

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Уральский федеральный университет
имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»
Химико-технологический институт
Кафедра технологии органического синтеза

На правах рукописи

Гагарин Алексей Андреевич

**НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ТИАЗОЛИДИНОНА И ТИАЗОЛА:
ДИЗАЙН, СИНТЕЗ, ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И
ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ**

Специальность 1.4.3. Органическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор,
Бельская Наталия Павловна

Екатеринбург - 2025

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СИНТЕЗ И ПРИМЕНЕНИЕ ТИАЗОЛОВ И ТИАЗОЛИДИНОВ.....	11
1.1. Строение и свойства тиазолов	12
1.2. Синтез флуоресцентных тиазолов.....	14
1.3. Модификация тиазолов	24
1.3.1. Арилирование и гетероарилирование тиазольного цикла	24
1.3.2. Алкилирование гидрокситиазолов	27
1.3.3. Введение заместителей, содержащих C=C, C=N и N=N связи.....	29
1.4. Синтез тиазолидинонов.....	30
1.5. Оптические свойства тиазолов и тиазолидинонов	36
1.6. Биологическая активность тиазолов и тиазолидинонов	46
ГЛАВА 2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	50
2.1. Синтез и свойства 2,3-дигидро-5 <i>H</i> -тиазоло[3,2- <i>a</i>] пиридина и пиридо-тиазин-9-карбонитрилов.....	52
2.1.1. Синтез 2-цианопента-2,4-диентииоамидов.....	53
2.1.2. Взаимодействие 2-цианопента-2,4-диентииоамидов с производными ацетилендикарбоновой кислоты.....	55
2.1.3. Взаимодействие 2-цианопента-2,4-диентииоамидов 4а-г с метилпропиолатом	62
2.1.4. Механизм 1,6-электроциклизации.....	64
2.1.5. Оптические свойства 2,3-дигидро-5 <i>H</i> -тиазоло[3,2- <i>a</i>]пиридинов.....	67
2.1.6. Биологические исследования 2,3-дигидро-5 <i>H</i> -тиазоло[3,2- <i>a</i>]пиридинов	74
2.2. Синтез и свойства производных 2-арилдентиазола.....	76
2.2.1. Синтез 4-арил-2-арилден-5-метилтиазолов и 2-арилден-4,5-диарилтиазолов	76
2.2.2. Фотофизические свойства 4-арил-2-арилден-5-метилтиазолов	81
2.2.3. Фотофизические свойства 2-арилден-4,5-диарилтиазолов.....	89

2.2.4. Исследование поведения 4-арил-2-арилиден-5-метилтиазолов и 2-арилиден-4,5-диарилтиазолов в биологических условиях	96
2.3. Синтез и свойства биоконъюгатов арилидентиазолов и биологически активных молекул	97
2.3.1. Синтез биоконъюгатов на основе 4-арил-2-арилиден-5-метилтиазолов	103
2.3.2. Фотофизические свойства биоконъюгатов.....	111
2.3.3. Хромато-масс-спектрометрическое изучение продуктов фотодиссоциации конъюгатов 27 и 29	119
2.3.4. Определение кинетических параметров и квантового выхода фотодиссоциации биоконъюгатов.....	126
2.3.5. Гидролиз конъюгатов 27 и 29 в ДМСО-Н ₂ O (9:1, об/об), ДМСО-буфер (1:1, об/об), MeCN-Н ₂ O (9:1, об/об) и MeOH.....	132
2.3.6. Изучение механизма фотодиссоциации.....	134
2.3.7. Изучение токсичности биоконъюгатов с помощью МТТ-теста.....	138
2.3.8 Изучение поведения флуоресцентных биоконъюгатов в живых клетках с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.....	140
ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	144
3.1 Синтез 2-цианопента-2,4-диентиамидов.....	145
3.2. Синтез 2-(5-метилден-4-оксотиазолидин-2-илиден)ацетонитрилов и 3,4-дигидро-4-оксо-2 <i>H</i> -1,3-тиазина	146
3.3. Синтез 2,3-дигидро-5 <i>H</i> -тиазоло [3,2-а]пиридинов	147
3.4. Синтез 4 <i>H</i> ,6 <i>H</i> -пиридо[2,1- <i>b</i>][1,3]тиазинов	152
3.5. Синтез 2-(4-фенилбута-1-циано-1,3-диен-1-ил)тиазолов.....	153
3.6. Синтез -2-(5-метилтиазол-2-ил)акрилонитрилов	154
3.7. Синтез 4-арил-2-арилиден-5-бромтиазола.....	156
3.8. Синтез 2-арилиден-4,5-диарилтиазолов.....	156
3.9. Синтез 5-бромметилтиазолов и 5-гидроксиметилтиазола	159
3.10. Синтез биоконъюгатов на основе арилакрилонитрилтиазолов и модельных соединений, лекарственных препаратов, аминокислот и коротких пептидов.....	160
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	170

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	172
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	174
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ.....	194
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	212
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	219
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. КИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	222
ПРИЛОЖЕНИЕ 5. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	233

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. Молекулярные механизмы, управляющие многочисленными и разнообразными биологическими процессами в живых системах, чрезвычайно сложны. Мониторинг и, более того, влияние на состояние таких систем на молекулярном уровне требуют удобных инструментов для проведения точных пространственно-временных наблюдений за их функциями и, если это возможно, даже управления некоторыми из них. Разнообразие органических флуорофоров определяет широкий спектр их взаимодействий с биологическими молекулами, что дает возможность наблюдать за динамикой биологических процессов. Они позволяют детектировать ионы металлов и pH среды, изучать активность ферментов и сигнальных молекул. Органические флуорофоры являются наиболее чувствительным инструментом, позволяющим визуализировать и распознавать и здоровые и патологические клетки. Поиск новых способов понимания процессов, происходящих в здоровых и имеющих патологию биологических тканях, является актуальной задачей сегодняшнего дня. Одним из интенсивно развиваемых направлений биомедицинского применения флуорофоров в последнее время является создание систем доставки лекарств, состоящих из биомолекулы и флуорофора, используемого в качестве фотоактивируемой защитной группы (PPG). Стратегия использования фотозащитных групп в качестве фотоконтейнера в биологии, медицине и органической химии заключается в их способности временно скрывать биологическую активность или химическую реакционную способность препарата. Флуоресцентные защитные группы в этом случае имеют очевидные преимущества: они позволяют не только осуществлять временную защиту химически и биологически активных, агрессивных или токсичных молекул, но также визуализировать и количественно оценивать их распределение и локализацию. Воздействие света определенной длины волны вызывает разрыв ковалентной связи между флуорофором и биомолекулой, что приводит к восстановлению активности препарата и позволяет достичь пространственного и временного контроля его активности.

Принципиальным фактором в развитии систем для биовизуализации, а также для доставки лекарств или биомолекул является создание новых органических флуорофоров, обладающих необходимым набором фотофизических и физико-химических свойств для выполнения намеченных функций. Уникальной платформой для создания новых флуорофоров с заданными оптическими свойствами являются производные тиазола. Структура этого гетероцикла позволяет вводить заместители, функциональные группы, виниленовые и диеновые фрагменты, дополнительные ароматические циклы, что создает возможности не

только настраивать фотофизические свойства, но и вводить активные центры, способные взаимодействовать с биомолекулами.

Анализ литературных данных показал, что существует большое количество методов синтеза замещенных тиазолов, в том числе обладающих флуоресценцией. Тиазольное кольцо является удобным скаффолдом, позволяющим создавать разнообразные молекулярные структуры и сопряженные системы для их использования в качестве фотоактивных соединений. До настоящего исследования были известны тиазолидиноны лишь с одной боковой двойной С=С связью. Для получения эффективных флуорофоров необходимо разработать методы синтеза тиазолидинонов, содержащих бутадиеновый фрагмент во втором положении цикла. Синтез и реакции 5-арил(алкил)-2-циано-2,4-диентиоамидов мало представлены в литературе, а примеры их реакций с производными пропиоловой и ацетилендикарбоновой кислот для синтеза тиазолидинонов в литературе не представлены совсем.

С момента первых публикаций в 1960-х годах были предложены разнообразные флуорофоры в качестве фотокурьера для направленной доставки биомолекул и лекарственных препаратов. Однако требования, установленные медициной и биологией, настолько сложны, а иногда и противоречивы, что поиск подходящих флуорофоров остается актуальной проблемой в настоящее время. Наиболее изученными фотокурьерами являются кумарины, карбазолы, BODIPY, перилены, *o*-нитробензолы, пирены и карбоцианины, каждый из которых имеет свои недостатки и ограничения. Примеры использования флуоресцентных тиазолов в качестве фоточувствительной компоненты для временной защиты биологически активных молекул до наших исследований не были опубликованы.

Таким образом, синтез новых флуорофоров на основе производных тиазола и их биоконъюгатов с лекарственными препаратами и биомолекулами, изучение поведения полученных соединений в биологических средах и определение параметров высвобождения активной молекулы в ходе фотодиссоциации являются актуальным направлением исследований как в области органической химии и фотохимии, так и в биологии и медицине.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант РФФ № 20-13-00089) и грантов РФФИ (№18-33-00859 и 19-03-00720).

Цель работы: синтез новых люминесцентных молекул на основе тиазолидинонов и тиазолов, изучение их фотофизических свойств в средах, приближенных к биологическим, и определение перспектив их использования для биовизуализации, а также разработка методов получения молекулярных флуоресцентных конъюгатов тиазолов и биологически активных молекул, содержащих карбоксильную функцию для применения в биологии и медицине, в

первую очередь для адресной доставки при лечении или диагностике социально-значимых заболеваний.

Для достижения поставленной цели были обозначены следующие *задачи*:

- ✓ Разработать методы синтеза флуоресцентных тиазолидинонов, содержащих 4-арил(алкил)бутадиеновый фрагмент во втором положении цикла и флуоресцентных 2-арилидентиазолов с настраиваемыми фотофизическими характеристиками.
- ✓ Изучить фотофизические свойства полученных соединений, установить влияние электронных и пространственных эффектов заместителей, структурных фрагментов и растворителей на оптические свойства.
- ✓ Разработать методы синтеза конъюгатов арилидентиазолов и биологически активных и природных веществ, содержащих карбоксильную группу. Изучить их фотофизические свойства, механизм фотовысвобождения биологически активных веществ, количественные характеристики фотодиссоциации; идентифицировать продукты фоторазложения.
- ✓ Исследовать поведение полученных флуорофоров и биоконъюгатов в биологических средах и оценить потенциал использования полученных соединений для биовизуализации и в качестве фотокурьерных систем.

Научная новизна и теоретическая значимость работы.

- ✓ Впервые изучена реакция 5-арил(алкил)-2-цианопента-2,4-диентиамидов с производными ацетиленкарбоновых кислот и обнаружено, что в этой реакции происходит образование редко встречающихся гетероциклических систем: 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридинов и 4-оксо-4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазинов. На основании квантово-химических расчетов и данных рентгеноструктурного анализа предложен моноротаторный вариант механизма 1,6-электроциклизации. Показано, что несмотря на дефицит подвижных электронов и низкую ароматичность, 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридины обладают поглощением в видимой области и желтой флуоресценцией в растворах и в твердом виде.
- ✓ Получены новые более эффективные флуорофоры на основе 2-арилидентиазола. Установлено влияние комбинации структурных фрагментов во втором, четвертом и пятом положениях цикла на оптические свойства.
- ✓ Впервые получены биоконъюгаты 2-арилиден-5-метилтиазолов, содержащие модельные, биологически активные и природные соединения, и показано, что наиболее вероятным механизмом фототрансформации является гетеролитическая фотодиссоциация связи С-О, объединяющей флуорофор и биомолекулу.
- ✓ Установлено, что скорость фотодиссоциации биоконъюгата определяется как электронным эффектом заместителей в фотозащитной группе, так и структурой биомолекулы, и может быть использована для программируемого высвобождения активного вещества.

✓ Изучено поведение биоконъюгатов в биологических условиях. Показана их способность легко проникать в живые клетки и селективно накапливаться в эндоплазматическом ретикулуле (ЭР), митохондриях, лизосомах или липидных каплях в зависимости от структуры биомолекулы, что открывает перспективы для субклеточной направленной и многоцелевой доставки молекулы в клеточные компартменты.

✓ Предложены новые гетероциклические флуорофоры в качестве фотокурьера для временной маскировки органических кислот, в том числе биологически активных и природных.

Практическая значимость работы. Разработан метод получения новых 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридинов и 4-оксо-4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазинов, а также предложен альтернативный путь их синтеза, позволяющий расширить область применения этого метода. Синтезированы новые арилидентиазолы с настраиваемыми фотофизическими свойствами и показаны перспективы их использования для биовизуализации. Разработан метод синтеза и получены биоконъюгаты на основе 2-арилиден-5-метилтиазолов, обладающие зеленой, желтой и оранжевой флуоресценцией. Определены их оптические характеристики, параметры фотодиссоциации в условиях, близких к биологическим, продемонстрированы возможности разработки на их основе новых эффективных фоточувствительных групп для временной маскировки биологически активных и природных соединений, содержащих карбоксильную функцию.

Методология и методы диссертационного исследования. Для проведения исследований использован набор традиционных методов синтеза, выделения и очистки органических соединений. Для установления структурных особенностей и чистоты соединений использован комплекс физико-химических методов: спектроскопия ЯМР ^1H , ^{13}C , масс-спектрометрия высокого разрешения, ИК-спектроскопия, рентгеноструктурный анализ. Для изучения процесса фотодиссоциации использовались УФ-спектроскопия и хромато-масс-спектрометрия. Изучение оптических свойств (спектров поглощения и флуоресценции) в растворах проводились в соответствии со стандартными методиками. Для анализа геометрии и электронной структуры основного и возбужденного состояния молекулы, а также теоретического расчета спектральных характеристик (абсорбция, эмиссия) флуорофоров, изучения механизмов электроциклизации и фотодиссоциации были использованы квантово-механические расчеты с помощью теории функционала плотности с учетом влияния растворителя.

Достоверность полученных данных обеспечена использованием современных методов исследования и воспроизводимостью экспериментальных данных. Все новые химические соединения охарактеризованы комплексом спектральных данных. Измерения

физико-химических и фотофизических характеристик проведены на сертифицированном оборудовании на базе Центра коллективного пользования Уральского федерального университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина. Биологические исследования проводились на сертифицированном оборудовании на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН по стандартизованным методикам. Квантово-механические расчеты выполнены с использованием современного программного обеспечения в Сибирском суперкомпьютерном центре Института вычислительной математики и математической геофизики СО РАН и Информационно-вычислительном центре Новосибирского государственного университета.

Положения, выносимые на защиту:

- ✓ Методы синтеза 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридинов и 4-оксо-4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазинов. Результаты изучения особенностей их строения спектральными и теоретическими методами.
- ✓ Методы синтеза 2-арилдентиазолов с различными по электронной природе заместителями и структурными фрагментами во втором, четвертом и пятом положении тиазольного цикла. Синтез биоконъюгатов на основе 2-арилден-5-метилтиазолов с модельными соединениями и биологически активными и природными веществами.
- ✓ Результаты исследования оптических свойств, электронной структуры и геометрии полученных флуорофоров и биоконъюгатов с помощью спектральных методов и квантово-химических расчетов.
- ✓ Результаты кинетических исследований, количественных характеристик и механизма фотодиссоциации биоконъюгатов; идентификация продуктов фототрансформации.
- ✓ Результаты исследования поведения флуорофоров и биоконъюгатов в биологических средах, а также фотовысвобождения цитостатика хлорамбуцила в клетках после облучения. Оценка параметров флуоресценции и фотодиссоциации новых фоточувствительных курьерных систем и известных в литературе.

Личный вклад соискателя. Автор осуществлял сбор, систематизацию и анализ литературных данных, постановку целей и задач исследования, планирование и проведение работ по синтезу новых соединений, выполнял фотофизические и кинетические исследования, определение квантового выхода фотореакции. Соискатель принимал участие в обработке и обсуждении полученных результатов, подготовке публикаций.

Апробация работы. Результаты работы доложены (с опубликованием тезисов) на XXI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019), III Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (MOSM2019) (Екатеринбург,

2019), Международной научной конференции «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (Екатеринбург, 2020), XXXII Российской молодежной научной конференции с международным участием "Проблемы теоретической и экспериментальной химии" (Екатеринбург, 2022), всероссийской конференции «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (Лоо, Сочи, 2022), XXXIII Российской молодежной научной конференции с международным участием "Проблемы теоретической и экспериментальной химии" (Екатеринбург, 2023), VIII научно-практической конференции с международным участием «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (MOSM 2024) (Екатеринбург, 2024).

Публикации. Содержание работы было опубликовано в 10 научных работах, в том числе в 3 научных статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ и Аттестационным Советом УрФУ и входящих в международные базы цитирования Scopus и Web of Science, и в 7 тезисах докладов на международных и всероссийских конференциях.

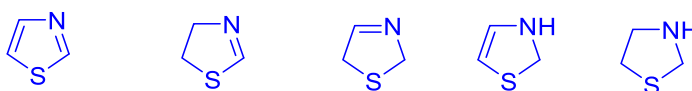
Автор выражает благодарность доктору Э. Бенасси (Университет Модены и Реджонель-Эмилии, Италия) за проведение квантово-химических расчетов, ведущему инженеру испытательной аналитической лаборатории УрФУ к.х.н. **Шевырину В. А.** за проведение хромато-масс-спектрометрического исследования, руководителю группы рентгеноструктурного анализа Института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН к.х.н **Слепухину П. А.**, м.н.с Института физики металлов УрО РАН **Минину А. С.** за проведение биологических исследований, сотрудникам лаборатории комплексных исследований и экспертной оценки органических материалов ЦКП УрФУ и заведующему лабораторией к.х.н. **Ельцову О. С.** за проведение спектральных исследований.

Структура и объём диссертации. Диссертационная работа выполнена на 235 листах машинописного текста, состоит из введения, литературного обзора (*Глава 1*), обсуждения результатов (*Глава 2*), экспериментальной части (*Глава 3*), списка сокращений и условных обозначений, заключения, списка литературы и 5 приложений. Работа содержит 113 схем, 53 рисунка и 35 таблиц. Библиографический список включает 209 ссылок на литературные источники.

ГЛАВА 1. СИНТЕЗ И ПРИМЕНЕНИЕ ТИАЗОЛОВ И ТИАЗОЛИДИНОВ

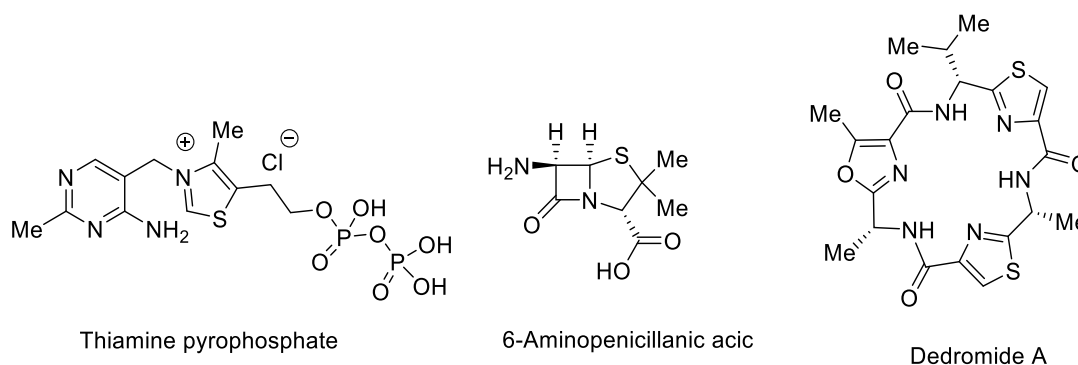
Тиазол и его дигидрированные и тетрагидрированные производные (Схема 1.1) известны давно, но до сих пор они привлекают внимание химиков, что связано с широким спектром промышленных, синтетических и фармацевтических применений этих соединений [1].

Схема 1.1



Тиазольное кольцо и его гидрированные аналоги присутствуют в таких природных и синтетических соединениях, как тиаминпирофосфат, 6-аминопенициллановая кислота, а также других вторичных метаболитах, например, в структуре дендроамида А (Схема 1.2) [2, 3].

Схема 1.2



Удобные методы синтеза тиазолов, доступность исходных веществ способствовали созданию большой палитры различных производных на основе этого гетероцикла с разнообразными функциональными и структурными фрагментами, а также с множеством комбинаций и сочетаний с другими ароматическими и гетероароматическими циклами. Это многообразие структур обеспечивает широкий спектр физико-химических, фотофизических и биологических свойств тиазолов и увеличивает возможности и перспективы их применения в органическом синтезе, биологических исследованиях, медицине и химии материалов [1].

Наиболее распространёнными среди гидрированных тиазолов являются тиазолидиноны – оксопроизводные тиазолидина, в которых карбонильная группа может располагаться во втором, четвертом или пятом положении. Следует особо отметить 4-

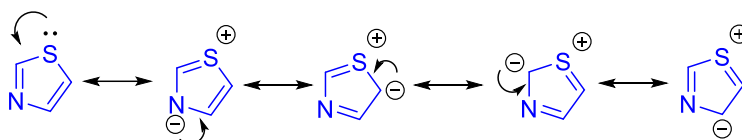
тиазолидиноны, которые можно назвать уникальным классом соединений, обладающим практически всеми видами биологической активности [4-7].

В этом обзоре рассмотрены методы синтеза и оптические свойства 2-, 3- и 4-замещенных тиазолов и 4-тиазолидинонов, их производных, а также направления их использования. Особый акцент сделан на фотофизических свойствах и применении этих соединений в медицине и биологии.

1.1. Строение и свойства тиазолов

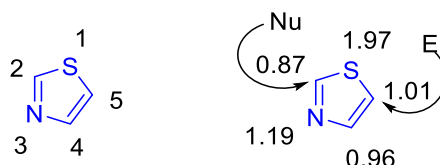
Как и молекулы других азолов, молекула тиазола обладает гетероароматической π -электронной системой. По своим химическим свойствам тиазол приближается к пиридину и тиофену [8].

Схема 1.3



Ароматический характер тиазольного кольца также подтверждается данными ЯМР ^1H спектроскопии. Химический сдвиг атомов водорода в кольце составляет от 7.27 до 8.77 м.д., что явно указывает на сильный диамагнитный эффект. Кроме того, рассчитанная плотность π -электронов определяет С(5)-положение как предпочтительное место для электрофильного замещения, а С(2)-положение — для нуклеофильного замещения (Схема 1.4) [9].

Схема 1.4



Расчет магнитного и геометрического критериев ароматичности тиазола, имидазола и оксазола показал, что ароматичность тиазола составляет 39–42% по сравнению с бензолом, что больше, чем для оксазола (34–40%), но меньше, чем для имидазола (57–59%) [10]. С точки зрения значений энергии ароматической стабилизации (ASE) для этого ряда гетероциклов тиазол является чуть более ароматичным, чем имидазол (Табл. 1.1).

Тиазол, по сравнению с другими пятичленными гетероциклами, такими как имидазол и оксазол, обладает уникальными особенностями из-за низколежащих С-S σ^* -орбиталей. Это создает области с пониженной электронной плотностью у атома серы [11].

Присутствие серы оказывает значительное влияние на валентные углы, длину связей в тиазоле (Схема 1.5). Более того, тиазолы показывают значения $c\text{LogP}$ и $c\text{LogD}$ (величины, связанные с липофильностью соединений), близкие к 0,5, а pK_a и $pK_{\text{внх}}$ (эта величина связана с возможностью образования водородных связей) 2,53 и 1,37 соответственно (Табл. 1.1)

Схема 1.5

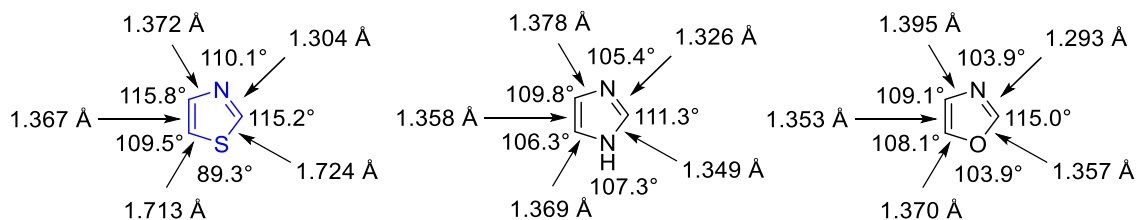


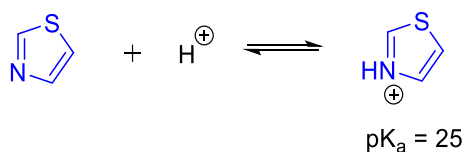
Таблица 1.1

Физико-химические свойства тиазола, в сравнении с имидазолом и оксазолом.

Характеристика	Тиазол	Имидазол	Оксазол
Дипольный момент, D	1,61	3,80	1,50
pK_a	2,53	6,95	0,80
$pK_{\text{внх}}$	1,37	2,42	1,30
$c\text{LogP}$	0,49	-0,03	0,18
$c\text{Lod } D_{7.0}$	0,44	-0,50	0,12
Энергия ароматической стабилизации, ккал/моль	19,43	18,98	12,39

Тиазол является слабым основанием и протонируется в кислых условиях, как показано на Схеме 1.6. [12].

Схема 1.6



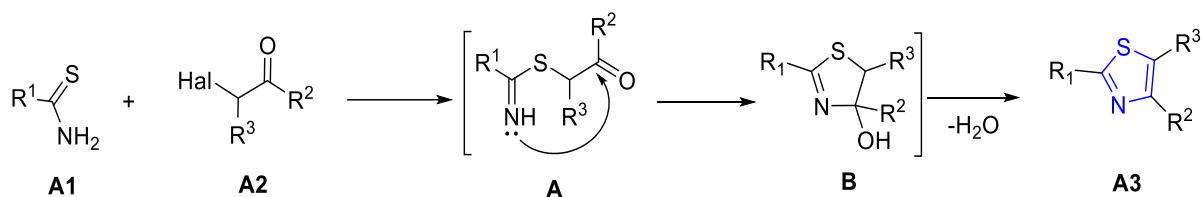
Основность или кислотность зависят от типа заместителей в тиазольном кольце. Основность и нуклеофильность молекулы увеличиваются, когда электронодонорная группа, такая как метил-, вводится в положения C2, C4 или C5. В случае присутствия в тиазольном кольце сильной электроноакцепторной группы, например нитрогруппы, основность и нуклеофильность молекулы уменьшаются [13].

1.2. Синтез флуоресцентных тиазолов

Методы синтеза флуорофоров с требуемыми для конкретной области применения фотофизическими характеристиками диктуют необходимость введения строго определенных заместителей, функциональных групп, кратных связей и ароматических или гетероароматических циклов. Важное значение имеют электронные свойства заместителей и их расположение в молекуле. Необходимые для обеспечения определенных свойств заместители могут быть введены из исходных соединений при формировании гетероциклического ядра или с помощью модификации уже полученного гетероцикла [14].

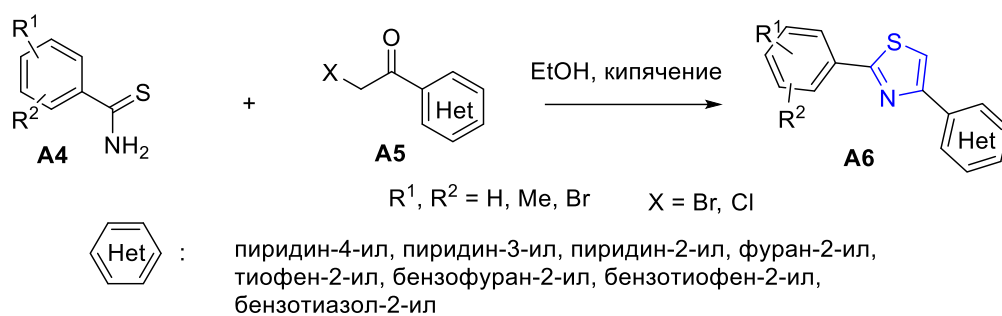
Наиболее широко используемым методом построения тиазольного цикла является реакция конденсации тиоамидов с α – галогенкарбонильными соединениями при комнатной температуре или нагревании в различных растворителях (этанол, ДМФА, ацетон, уксусная кислота, толуол) в присутствии каталитических количеств основания (триэтиламин, ацетат натрия, диизопропилэтиламин) или без них (синтез Ганча). Этот синтетический подход обычно не требует жестких условий, дорогих реагентов или катализаторов. Кроме того, можно получить большое разнообразие тиазолов, электронная структура которых контролируется и настраивается путем изменения электронной природы и пространственных параметров заместителей в исходных соединениях. С помощью этого метода синтеза (Схема 1.7) с хорошими выходами синтезированы различные 2,4-дизамещенные и 2,4,5-тризамещенные тиазолы [15-35].

Схема 1.7



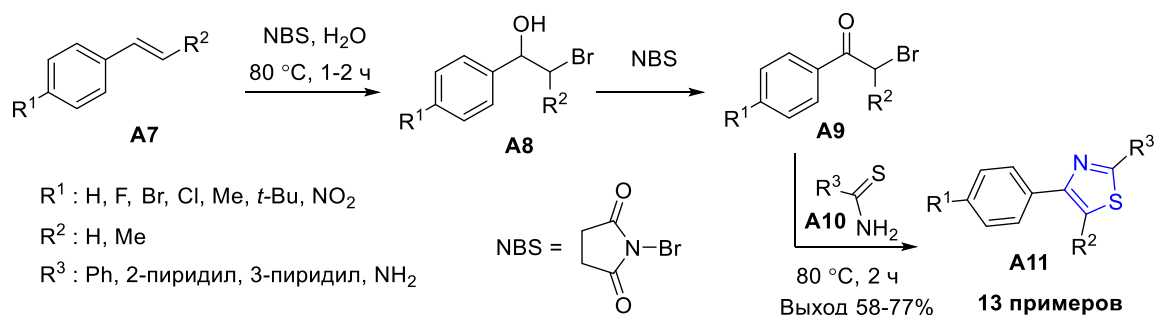
Часто используемыми конденсирующими агентами являются ароматические и гетероциклические α – галогенкарбонильные соединения [17,20,21,23,24,26,32-34]. Так, были синтезированы гетероарилтиазолы **A6** с хорошими выходами (Схема 1.8).

Схема 1.8



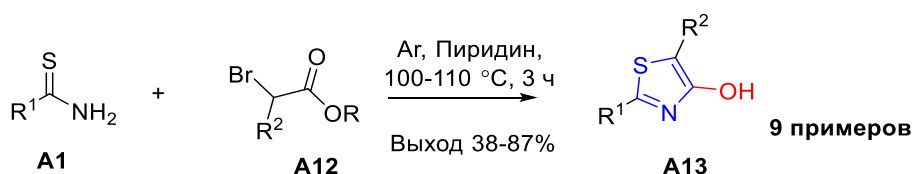
Бромацетофеноны можно синтезировать из стиролов с водным *N*-бромсукцинимидом (NBS) и использовать без выделения и очистки в реакции с карботиоамидом **A10**. Это позволило получить ряд 2,4-ди- и 2,4,5-тризамещенных тиазолов **A11** с умеренными и хорошими выходами (Схема 1.9) [36]. Механизм реакции заключается в образовании бромгидрина **A8** и последующим его превращением под действием *N*-бромсукцинимида в бромкетон **A9**.

Схема 1.9



Производные 4-гидрокситиазола известны давно, но в качестве флуорофоров привлекли к себе внимание исследователей лишь в последние 15 лет. В 2009 году Беккерт и его коллеги обнаружили, что 4-алкокситиазолы и 4-гидрокситиазолы обладают флуоресценцией [37-39]. Метод синтеза включал конденсацию тиоамида **A1** с α -галогенэфирами **A12** (Схема 1.10). Необходимо отметить, что эффективность синтеза сильно зависит от реакционной способности исходных соединений. Эта реакция протекала при повышенных температурах без растворителя или с добавлением небольшого количества растворителя. Природа заместителя во втором положении гидрокситиазолов может широко варьироваться от электронодефицитных пиридина и пиразина до насыщенных электронами фурана, тиофена и пиррола [37].

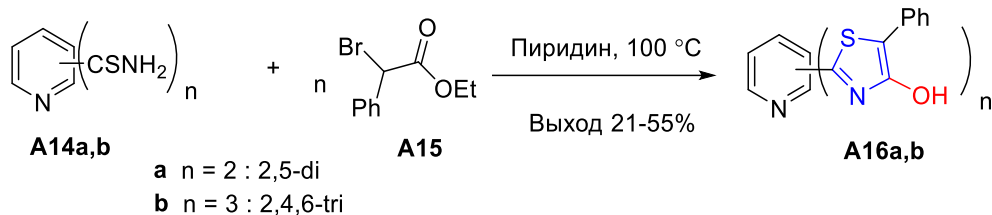
Схема 1.10



R^1 : 2-пиридил, 4-пиридил, пиазинил, 2-фурил, 2-тиенил,
 2-(1,5- Me_2 -пирролил), 2,6-пиридил
 R^2 : Me, Ph, 4- BrC_6H_4 , 4- MeOC_6H_4 , $\text{C}_{10}\text{H}_{21}$

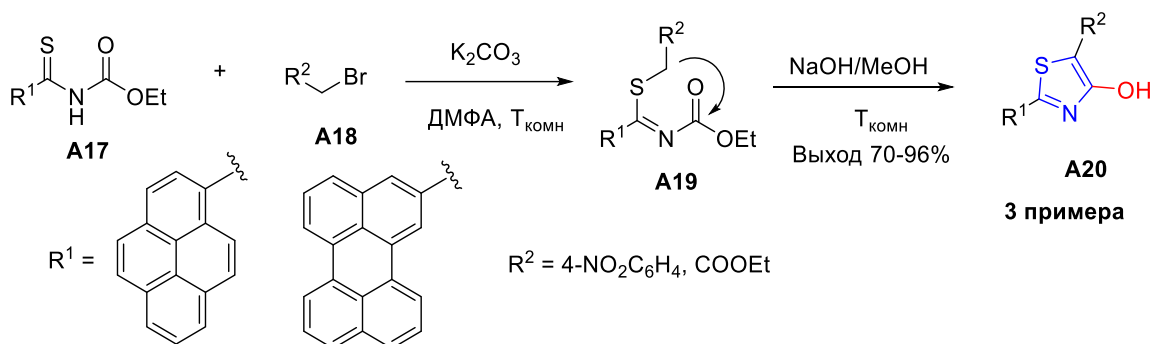
Этот метод оказался удобным для синтеза новых бис- и трис(4-гидрокситиазолов) **A16** (Схема 1.11) [38]. Соединение **A16a** было получено из соответствующего дитиоамида **A14a** ($n=2$) и двух эквивалентов этилбромацетата **A15** ($n=2$). Трис(тиазол) **A16b** ($n=3$) был получен с хорошими выходами из пиридин-2,4,6-трикарботиоамида **A14b** ($n=3$).

Схема 1.11



Взаимодействие карбамата **A17** с нитробензилбромидом или этил-2-бромацетатом **A18** с последующей циклизацией тиоимидата **A19** в присутствии MeONa позволило получить 2,5-диарил-4-гидрокситиазолы **A20** (Схема 1.12) [40,41].

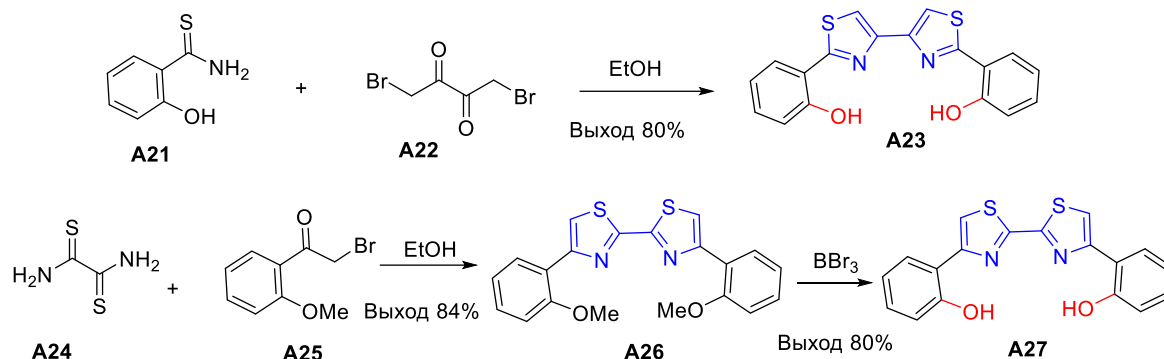
Схема 1.12



Серия работ была посвящена синтезу тиазолов, содержащих OH -группы в качестве заместителя в боковых фрагментах. Так, 2'-бис(тиазол) **A27** и его изомер - 4,4'-бис(тиазол) **A23**, были получены с хорошими выходами конденсацией 2-гидрокситиобензамида **A21** с 1,4-

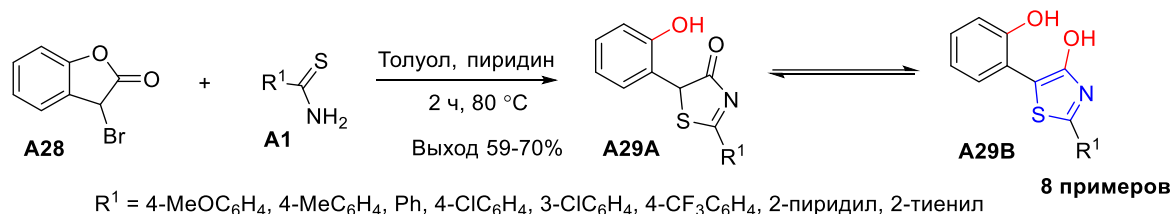
дибром-2,3-бутандионом **A22** и дитиооксамида **A24** с 2-бром-2-метоксиацетофеноном **A25** в кипящем этаноле (Схема 1.13) [42].

Схема 1.13



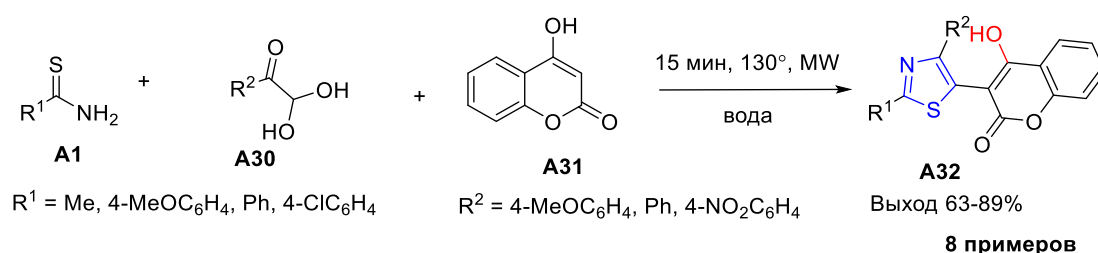
2-Арил-4-гидрокси-5-(2-гидроксифенил)-1,3-тиазолы **A29** были получены с помощью модифицированного синтеза Ганча при использовании бромированного лактона **A28** в качестве исходного соединения [43]. Для этого превращения были успешно применены два основания: водный раствор аммиака и пиридин в толуоле (Схема 1.14) [43].

Схема 1.14



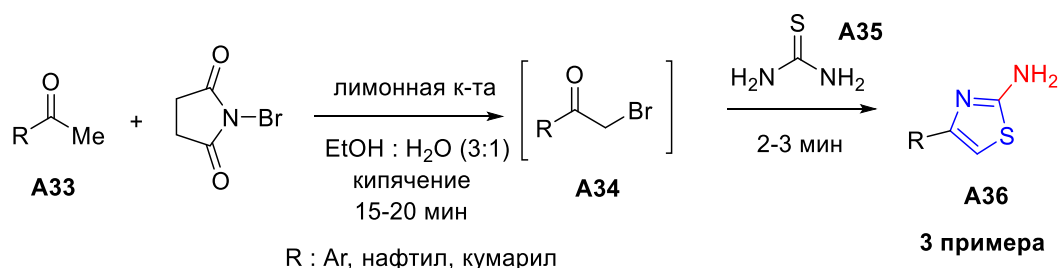
Эффективная многокомпонентная домино-реакция арилглиокселей **A30**, циклических 1,3-дикарбониллов **A31** и тиоамидов **A1** в микроволновом реакторе привела к образованию тризамещенных тиазолов **A32** (Схема 1.15) [44]. Реакция соответствует принципам зеленой химии: в качестве растворителя используется вода. Использование других органических растворителей (толуол, тетрагидрофуран, ацетонитрил и ДМФА) привело к более низким химическим выходам по сравнению с водой.

Схема 1.15



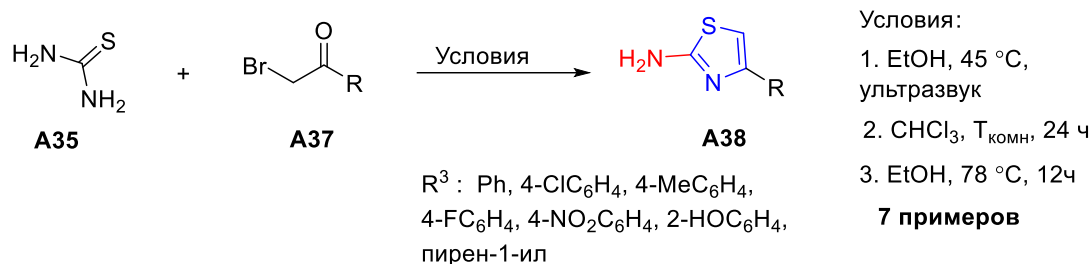
В литературе представлен одnoreакторный метод синтеза 2-амино-4-арилтиазолов **A36** с использованием доступных арилалкилкетонов **A33**, NBS и тиомочевины **A35**. В качестве катализатора использовали лимонную кислоту (Схема 1.16) [45].

Схема 1.16



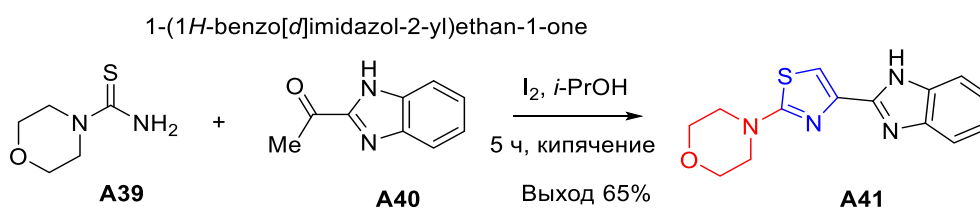
Использование тиомочевины **A35** для конденсации с галогенкетонами **A37** позволило получить различные 2-аминотиазолы **A38** (Схема 1.17) [46-48].

Схема 1.17



Новый пуш-пульный краситель **A41**, содержащий в составе флуоресцентный бензимидазольный и тиазольный циклы был синтезирован из морфолинкарботиамида **A39** и 2-ацетилбензоимидазола **A40** (Схема 1.18). Реакция протекает через образование промежуточного α -иодкарбонильного соединения с последующей гетероциклизацией с морфолинкарботиамидом **A39**.

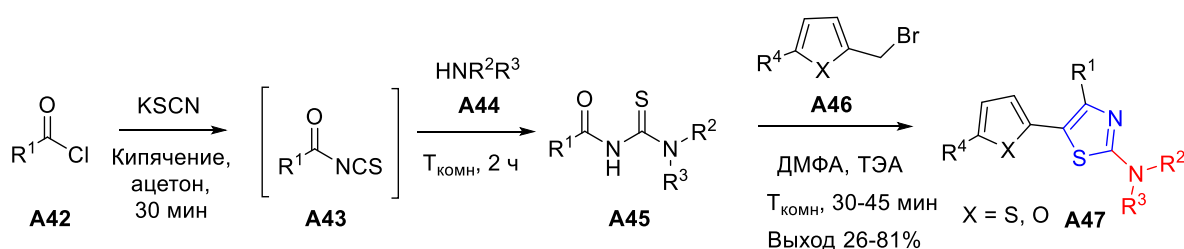
Схема 1.18



Тиазол **A41** оказался полярным соединением и плохо растворялся в органических растворителях [49-51].

Новый подход к построению тиазольного цикла был предложен группой Радхакришнана [52-54]. 4,5-Дизамещенные 2-аминотиазолы **A47** были получены однореакторным способом (Схема 1.19). Этот метод включал в себя несколько последовательных стадий: (1) синтез 1-(ацил/ароил)-3,3-(дизамещенных)тиомочевины **A45**; (2) реакция алкилирования тиомочевины **A45** бромтилетероареном **A46**, (3) и последующая внутримолекулярная конденсация по Кневенагелю. Основными преимуществами этой реакции являются непродолжительное время реакции, выходы продуктов от хороших до превосходных и широкий спектр реагентов, которые обеспечивают получение различных мультигетероциклических производных **A47** [54].

Схема 1.19



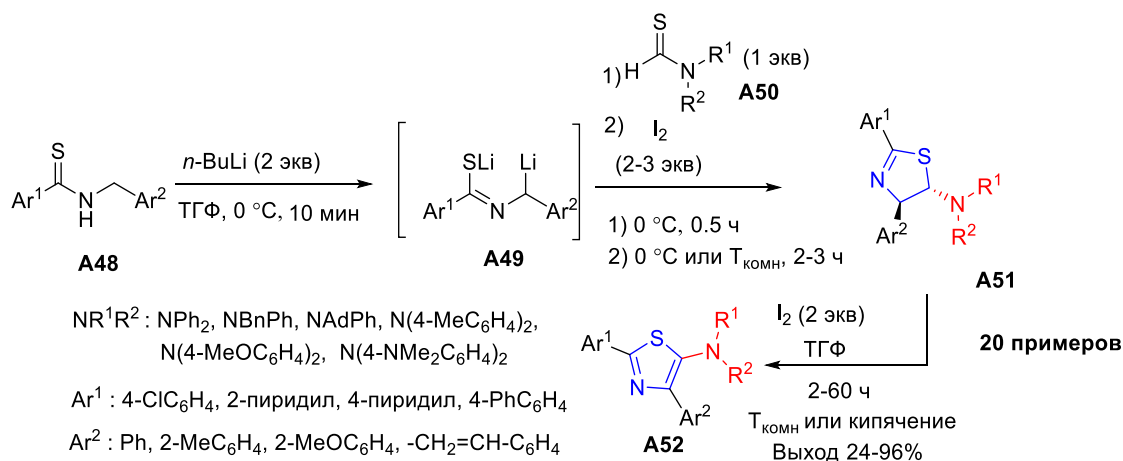
R^1 : Ph, 4-BrC₆H₄, 4-MeC₆H₄, фуран-2-ил, тиафен-2-ил,
-CH(Ph)₂, 2-нафтил, 4-PhC₆H₄, бензофуран-2-ил, 4-Me₂NC₆H₄

NR^2R^3 : NMe₂, NEt₂, морфолин-4-ил, пиперидин-1-ил, NPh₂

27 примеров

5-Аминотиазолы **A52** были получены реакцией вторичных тиоамидов **A48** с тиоформамидами **A50** через образование промежуточного соединения **A49** в присутствии избытка йода. Эта реакция позволяет вводить различные заместители во 2, 4 и 5 положение цикла (Схема 1.20) [55].

Схема 1.20



NR^1R^2 : NPh₂, NBnPh, NAdPh, N(4-MeC₆H₄)₂,
N(4-MeOC₆H₄)₂, N(4-NMe₂C₆H₄)₂

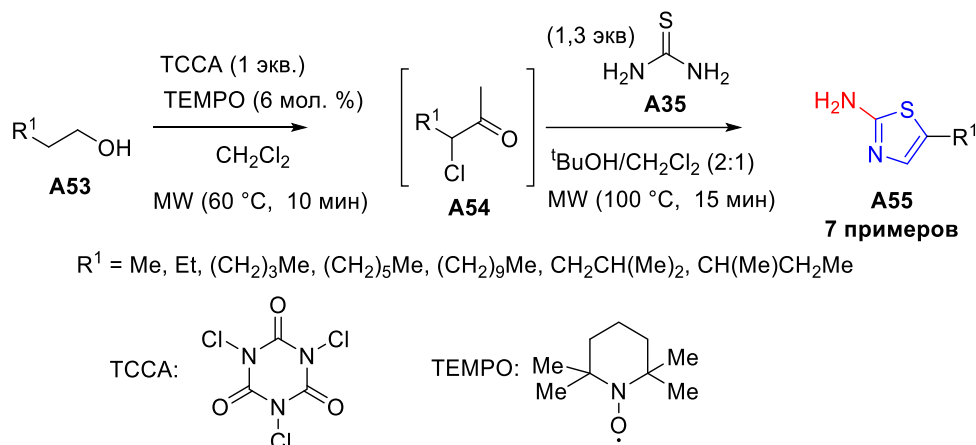
Ar^1 : 4-ClC₆H₄, 2-пиридил, 4-пиридил, 4-PhC₆H₄

Ar^2 : Ph, 2-MeC₆H₄, 2-MeOC₆H₄, -CH₂=CH-C₆H₄

20 примеров

Однореакторный метод получения 2-амино-1,3-тиазолов **A55** был разработан исследователями под руководством Герра [56]. Взаимодействие тиомочевины с первичными спиртами в присутствии трихлоризоциануровой кислоты (ТССА) в качестве окислителя и источника хлора и TEMPO в качестве соокислителя протекало в течение 25–45 минут в микроволновом реакторе (Схема 1.21).

Схема 1.21



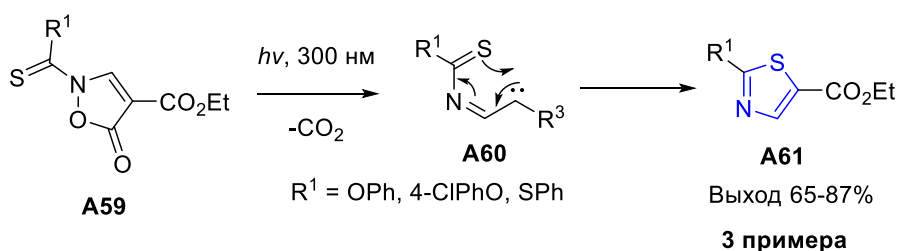
Катализируемое триметилсилилхлоридом [4+1] циклоприсоединение изоцианидов **A57** и производных *N*-ацилимина **A56** привело к получению различных 5-амино-4-арил-2-фенилтиазолов **A58** (Схема 1.22) [57].

Схема 1.22



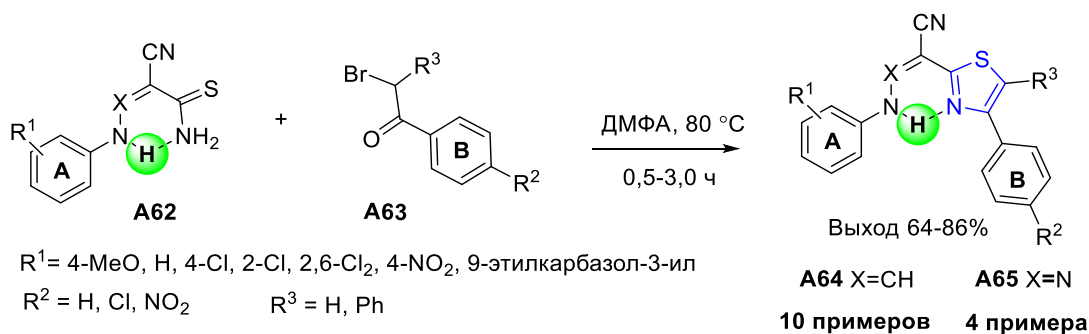
N-Тиоацилизоксазол-5(2*H*)-оны **A59** подвергаются внутримолекулярной циклизации через промежуточный иминокарбен **A60** с образованием этил тиазол-5-карбоксилатов **A61** при облучении светом в течение 30 минут (Схема 1.23) [58].

Схема 1.23



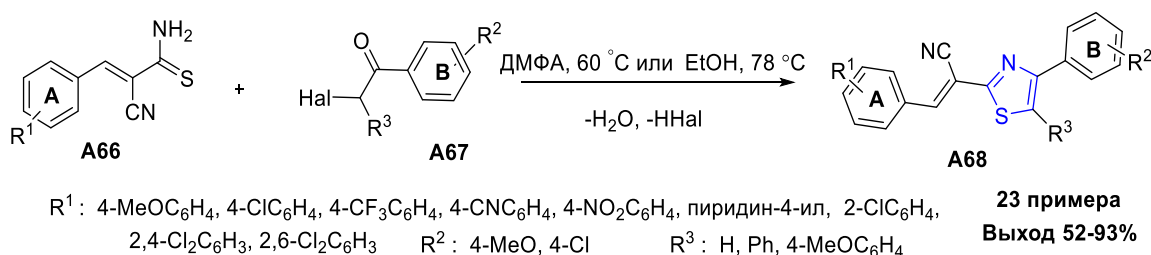
В случае использования пропентиоамидов и арилгидразонотиоамидов **A62**, были получены два набора новых тиазолов **A64** и **A65**, в которых сопряженная система увеличена за счет присоединения ариленаминовой или арилазаенаминовой боковых групп при атоме С(2) тиазольного цикла (Схема 1.24) [28-31].

Схема 1.24



Другой вариант увеличения хромофорной системы был продемонстрирован на примере синтеза 3-арил-2-(тиазол-2-ил)акрилонитрилов из арилдентиоацетамидов **A66** и α -галогенкарбонильных соединений **A67** в ДМФА или этаноле (Схема 1.25) [32,35]. Эта схема синтеза позволила получить производные тиазола **A68**, содержащие большой набор электронодонорных и электроноакцепторных заместителей в ароматических циклах А и В.

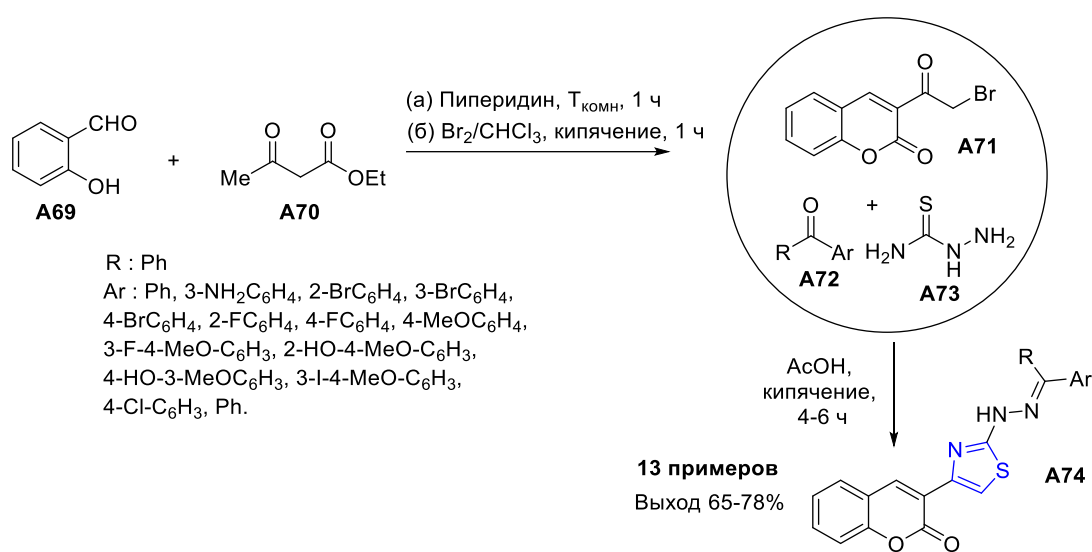
Схема 1.25



Производные кумарина и пиран-2-она представляют важный класс кислородсодержащих гетероциклических соединений с интересными фотофизическими и

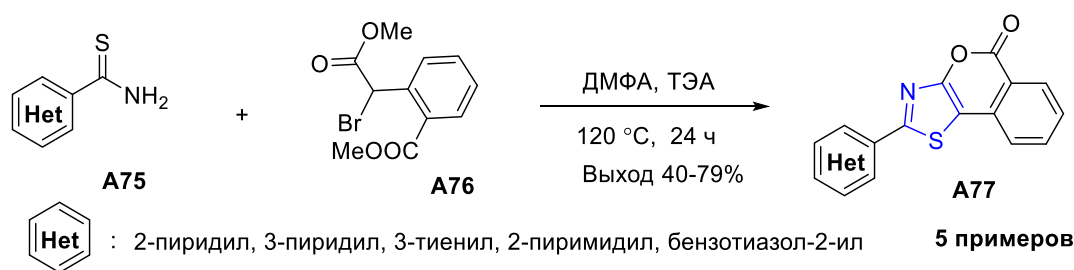
физико-химическими свойствами. Было синтезировано множество гетероциклических систем, включающих эти кислородсодержащие и тиазольные циклы [59-61]. Для синтеза тиазолов **A74** была использована стратегия многокомпонентных реакций (Схема 1.26) [61]. Сначала проводили конденсацию салицилового альдегида **A69** с этилацетоацетатом **A70**, далее бромирование промежуточного 3-ацетил-2*H*-хромен-2-она привело к образованию бромкетона **A71**, который при взаимодействии с тиосемикарбазоном превращался в 3-(2-гиразинил-4-ил)-2*H*-хромен-2-он и далее в гидразоны **A74** в присутствии уксусной кислоты в качестве катализатора [61].

Схема 1.26



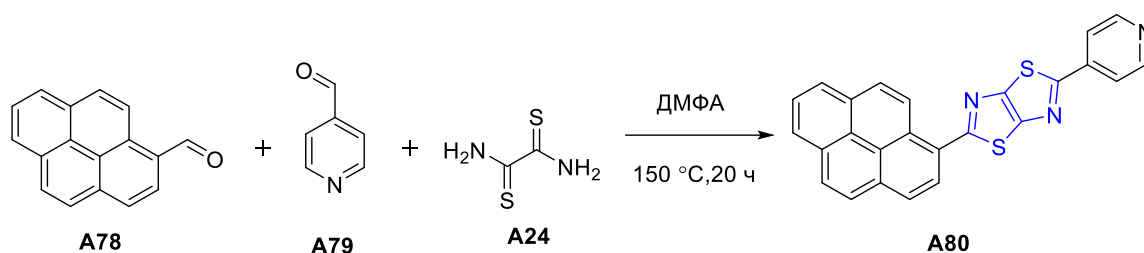
Трициклические лактоны **A77** конденсированные с 2-гетарил-1,3-тиазолами были получены реакцией эфира **A76** с различными гетероциклическими тиоамидами **A75** с последующей внутримолекулярной этерификацией (Схема 1.27) [62].

Схема 1.27



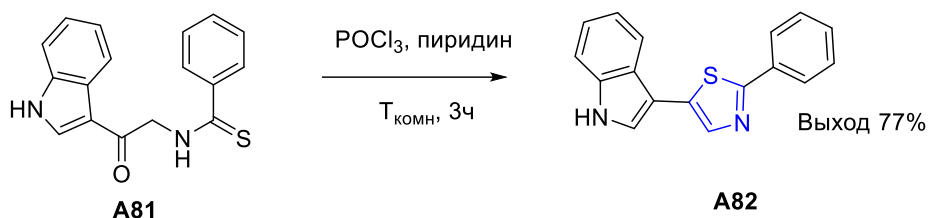
Дитиазол **A80** был получен в ходе одnoreакторной трехкомпонентной реакции 4-пиридинкарбоксальдегида **A79** с дитиооксамидом **A24** и пиренкарбоксальдегидом **A78** в сухом ДМФА при кипячении в течение 20 часов (Схема 1.28) [63].

Схема 1.28



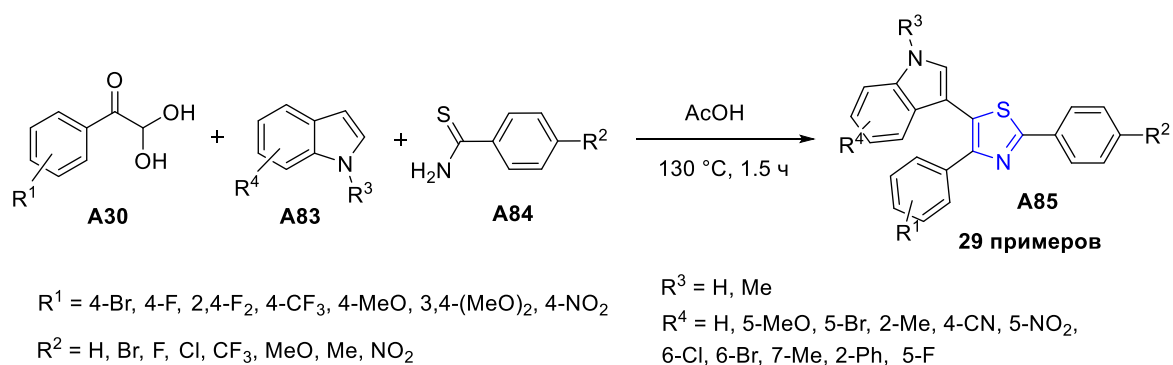
Тиобензамид **A81** при обработке смесью POCl_3 :пиридин = 1:5 при комнатной температуре образует 5-(1*H*-индол-3-ил)-2-фенилтиазол **A82** (реакция циклодегидратации Робинсона-Габриэля) (Схема 1.29) [64].

Схема 1.29



Новые диарилзамещенные флуоресцентные 5-индолтиазолы **A85** были получены в ходе трехкомпонентной реакции арилглиокселей **A30**, индолов **A83** и арилтиоамидов **A84** в уксусной кислоте в герметичной ампуле с хорошими выходами (Схема 1.30) [65].

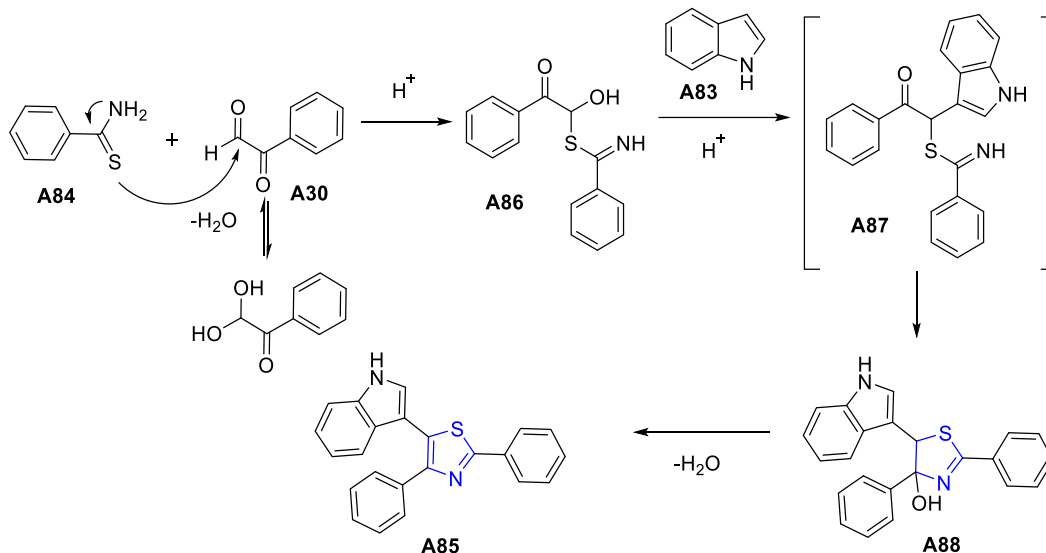
Схема 1.30



Дополнительные эксперименты помогли установить предполагаемый механизм реакции (Схема 1.31) [65]. На первой стадии фенилглиоксаль **A30**, существующий в форме кетоальдегида, взаимодействует с тиобензамидом **A84** с образованием интермедиата **A86**. далее взаимодействие индола **A83** и интермедиата **A86** приводит к бензимиidotиоату **A87**,

который далее циклизуется в 4,5-дигидротиазол-4-ол **A88**. Тривалентный тиазол **A85** образуется в ходе последующей дегидратации циклоаддукта **A88**.

Схема 1.31



Таким образом, в настоящее время синтезировано множество замещенных производных тиазола. Имеющиеся методики синтеза из широкого ряда субстратов позволяют конструировать циклы с различным набором заместителей, вводить аминогруппу во второе и пятое положение, гидроксильную группу в четвертое, а также удлинить систему сопряжения за счет введения боковых групп (арилиденовой, арилгидразоновой, ариленаминовой).

1.3. Модификация тиазолов

Известно, что тиазол вступает в реакции электрофильного замещения. Его реакционная способность снижается вследствие *N*-протонирования или комплексообразования с кислотами Льюиса. Однако, в отсутствие кислот Льюиса реакции электрофильного замещения в среде уксусного ангидрида и бромирование в бензоле идут в пятое положение через образование σ -комплекса. Три C-N связи в тиазоле не являются химически эквивалентными, что влияет на селективность при введении заместителей. При этом реакционная способность уменьшается в ряду 5- > 2- > 4-положение. Кроме того, в молекулу тиазола могут быть введены такие реакционноспособные группы, как OH-, NH₂-, которые легко подвергаются алкилированию, ацилированию, конденсации.

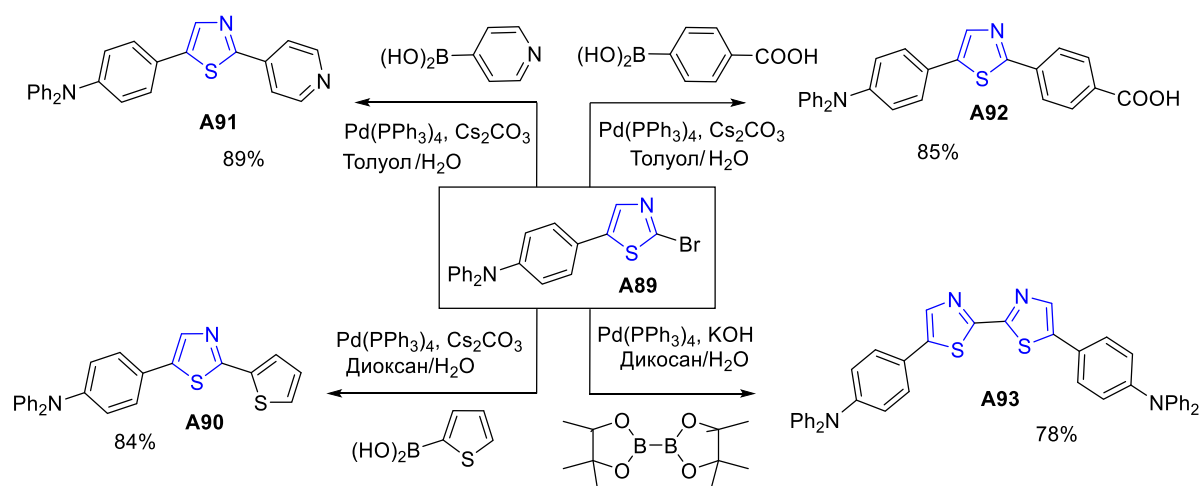
1.3.1. Арилирование и гетероарилирование тиазольного цикла

Катализируемые палладием реакции кросс-сочетания являются удобным методом введения дополнительных ароматических и гетероароматических фрагментов к тиазольному циклу [35, 66–77]. 1,3-Тиазолы содержат три атома углерода, которые могут быть в этом

случае реакционноспособными центрами. Однако для проведения реакций кросс-сочетания предварительно требуется активация атома углерода гетероцикла введением в это положение атома галогена.

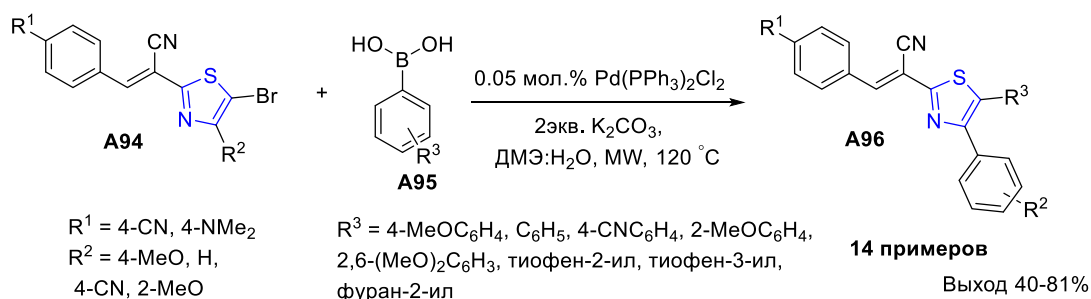
Функционализированные тиазолы **A90–93** были получены с помощью однореакторного сочетания Сузуки-Мияуры, которому предшествовала активация с помощью введения в положение C(2) атома Br и получения 2-Br-замещенного интермедиата **A89** (Схема 1.32) [73].

Схема 1.32



Диарилзамещенные производные 3-арил-2-(тиазол-2-ил)акрилонитрилов **A96** были получены в ходе кросс-сочетания Сузуки-Мияуры 5-бромтиазолов **A94** и арил- и гетерилбороновыми кислотами **A95** (Схема 1.33) [35] в микроволновом реакторе. В результате было получено 14 соединений с заместителями, обладающими различными электронными свойствами.

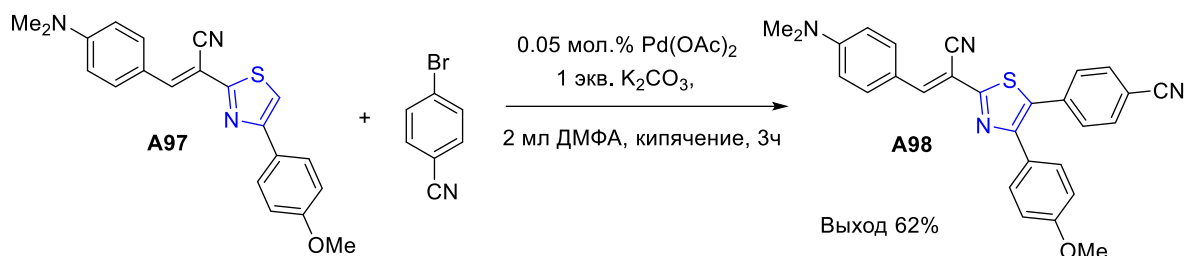
Схема 1.33



Описано прямое C–N арилирование тиазола, но возможности этой реакции сильно ограничены. Тризамещенный тиазол **A98** (Схема 1.34) [35] получен в реакции тиазола **A97** с 4-бромбензонитрилом. В случае использования в этой реакции тиазолов, содержащих

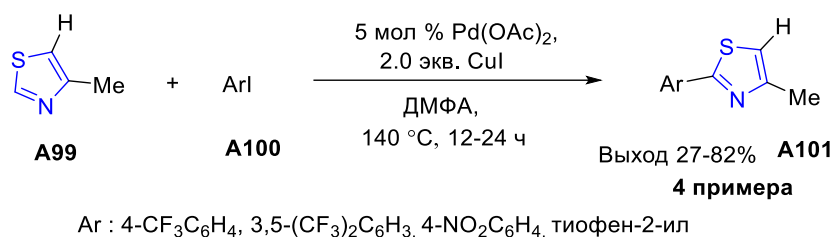
электроноакцепторные заместители, образование продукта прямого арилирования не происходило.

Схема 1.34



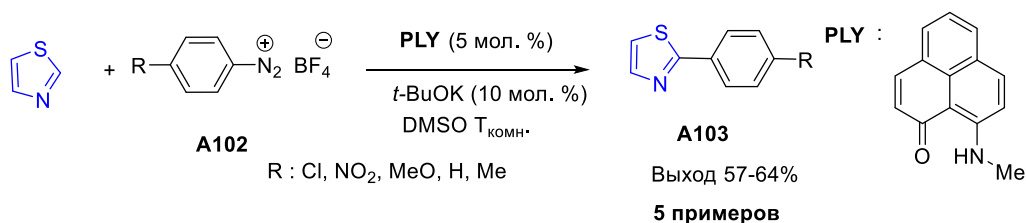
Применение арилиодидов **A100** позволило осуществить прямое C–H-арилирование 4-метилтиазола **A99** селективно по второму положению тиазольного цикла с образованием 2-арил-4-метилтиазолов **A101** (Схема 1.35) [70].

Схема 1.35



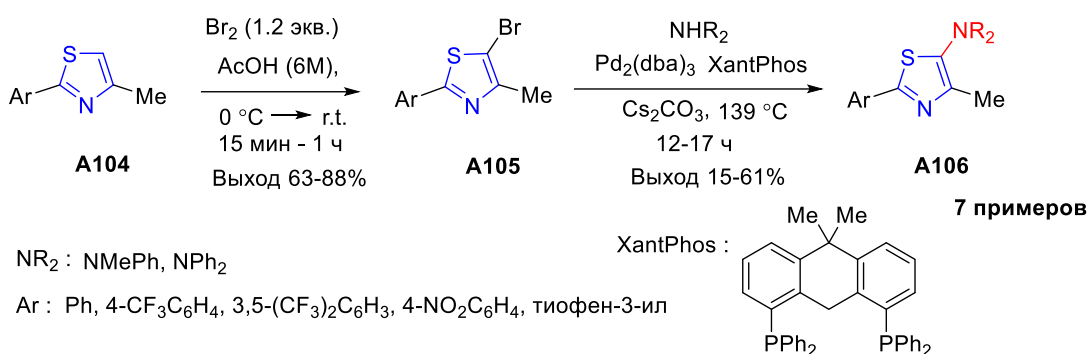
В литературе представлен пример прямого C–H арилирования тиазола с использованием соли арилдiazония **A102** (Схема 1.36) [77]. 2-Арилтиазолы **A103** получены с умеренными выходами.

Схема 1.36



Возможность применения аминирования Бухвальда-Хартвига для введения NR₂-заместителя в тиазольный цикл была показана на примере реакции 5-бромтиазола **A105** с вторичными аминами. Аминирование в пятое положение тиазолов **A104** осуществлено с использованием катализатора Pd₂(dba)₃ и XantPhos в качестве лиганда. (Схема 1.37) [70].

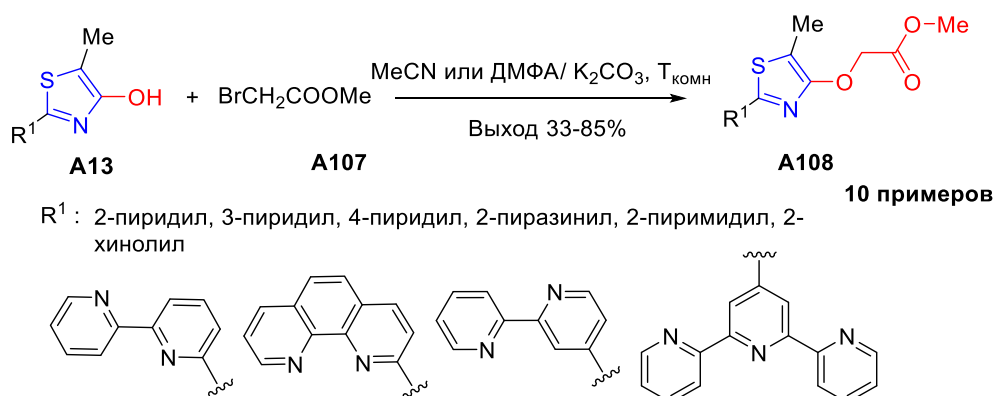
Схема 1.37



1.3.2. Алкилирование гидрокситиазолов

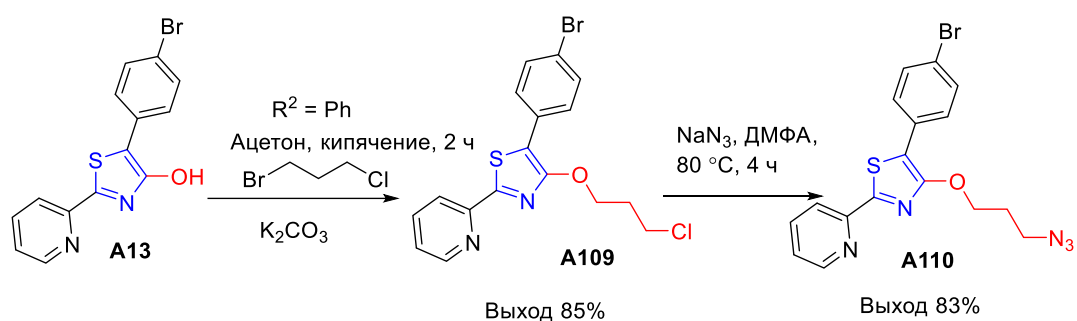
Алкилирование является распространенным способом модификации гидрокситиазолов. Эта функционализация приводит к резкому изменению оптических свойств тиазолов и повышению их растворимости в органических растворителях [37-40, 78–84]. Гидроксильная группа подвергается алкилированию алкилиодидами и алкилбромидами (Схема 1.38) [78].

Схема 1.38



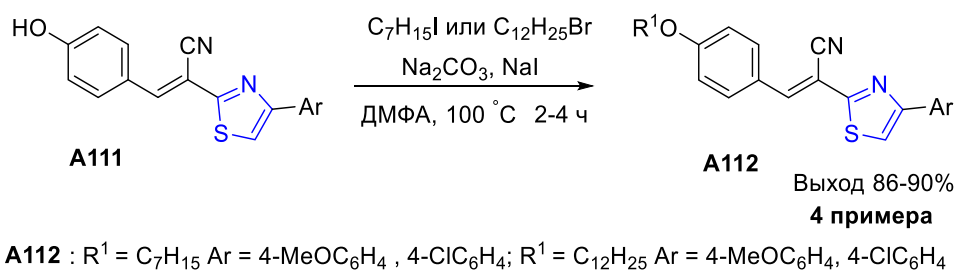
Эта реакция представляет собой удобный метод введения различных функциональных групп. Так, из гидрокситиазола **A13** был получен 4-(3-азидопропокси)тиазол **A110**, который может быть использован для синтеза флуоресцентных 1,2,3-триазолов (Схема 1.39) [85].

Схема 1.39



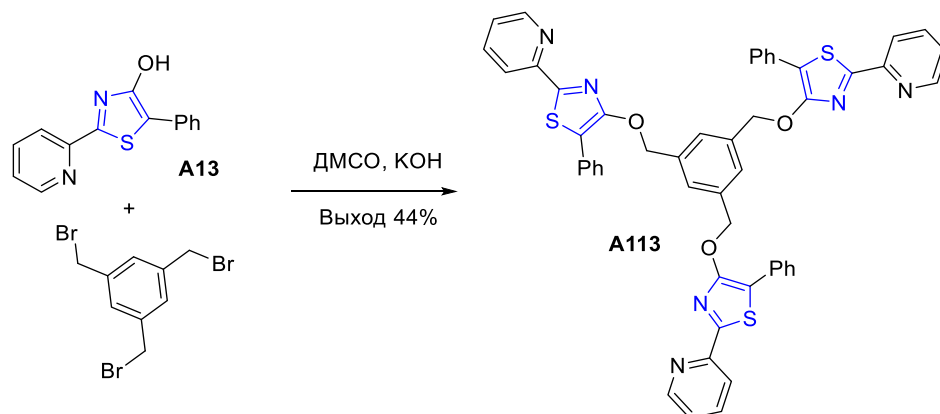
Алкилирование 3-(4-гидроксифенил)-2-(тиазол-2-ил)акрилонитрила **A111** гептилиодидом и додецилбромидом привело к получению флуоресцентных производных тиазола **A112** с отличными выходами (Схема 1.40) [86].

Схема 1.40



1,3,5-Трис(тиазол) **A113** был синтезирован при алкилировании трех молекул 4-гидрокситиазола **A13** 1,3,5-трис(бромметил)бензолом (Схема 1.41) [37]. Полученное соединение с гибкими алкильными заместителями демонстрировало сильную флуоресценцию и жидкокристаллические свойства.

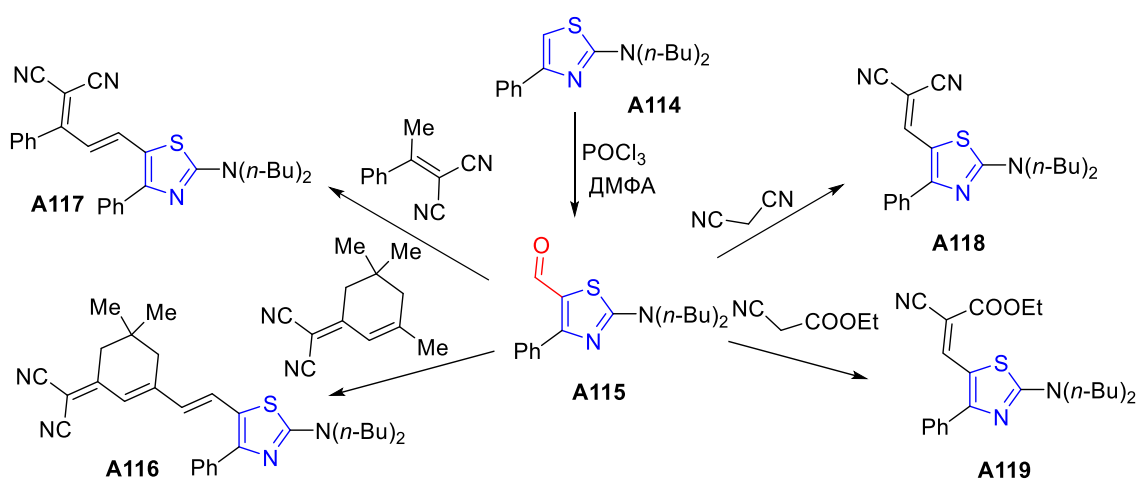
Схема 1.41



1.3.3. Введение заместителей, содержащих C=C, C=N и N=N связи

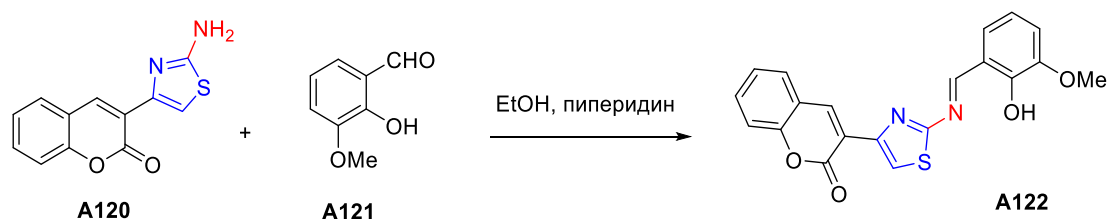
Одним из способов увеличения системы сопряжения тиазолов являются реакции конденсации альдегидов и аминов. Альдегидная группа может быть введена в структуру тиазола при помощи формилирования Вильсмейера-Хаака [49, 87–94]. Как показано на Схеме 1.42, 2-амино-4-фенилтиазол **A114** подвергали формилированию, а образовавшийся альдегид **A115**, вступал в реакции с различными активными метиленовыми соединениями в абсолютном этаноле в присутствии каталитического количества пиперидина, что привело к получению красителей **A116-A119** [92].

Схема 1.42



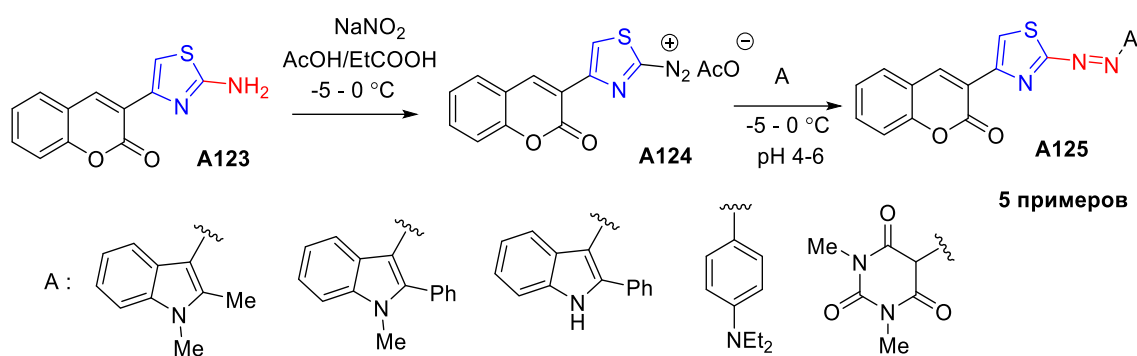
Хемосенсор на цианид-ионы **A122** был синтезирован путем конденсации производного 2-аминотиазола **A120** с 2-гидрокси-3-метоксибензальдегидом **A121** в этаноле с отличным выходом 85% (Схема 1.43) [93].

Схема 1.43



Новые кумарин-производные тиазола **A125** были получены диазотированием 2-аминотиазола **A123** с последующим азосочетанием образовавшейся соли диазония **A124** с различными СН-кислотами (Схема 1.44) [94].

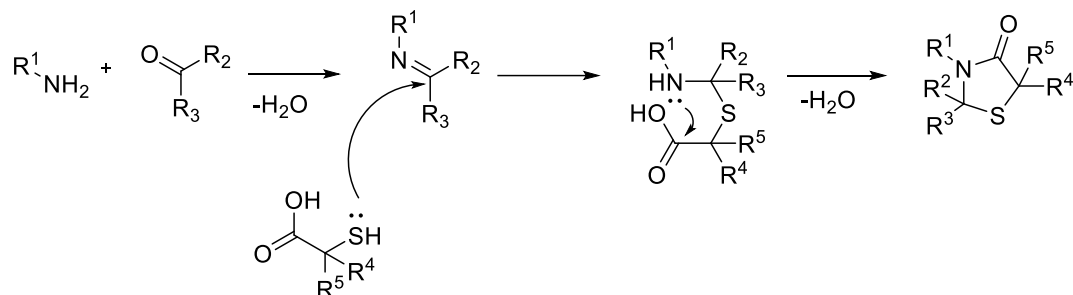
Схема 1.44



1.4. Синтез тиазолидинонов

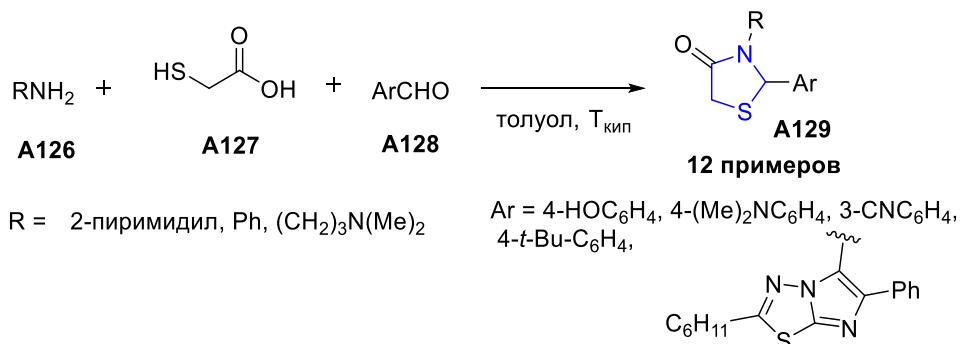
Анализ литературы показывает, что 4-тиазолидиноны могут быть получены разными способами [95, 96, 97]. Наиболее распространенный путь синтеза этих соединений основан на взаимодействии трех реагентов: альдегида, амина и меркаптоуксусной кислоты. Реакция протекает через первоначальное образование имина, который подвергается атаке нуклеофильного атома серы с последующей внутримолекулярной циклизацией и отщеплением воды (Схема 1.45) [95]. Воду обычно удаляют азеотропной отгонкой. Дициклогексилкарбодиимид (DCC) также может быть использован для дегидратации.

Схема 1.45



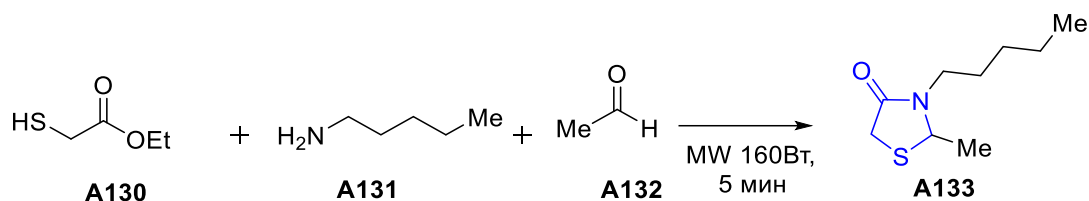
Конденсация замещенных ароматических альдегидов **A128** с эквимольным количеством аминов **A126** в присутствии избытка меркаптоуксусной кислоты **A127** в кипящем толуоле привела к образованию производных 4-тиазолидинона **A129** (Схема 1.46) [98-100].

Схема 1.46



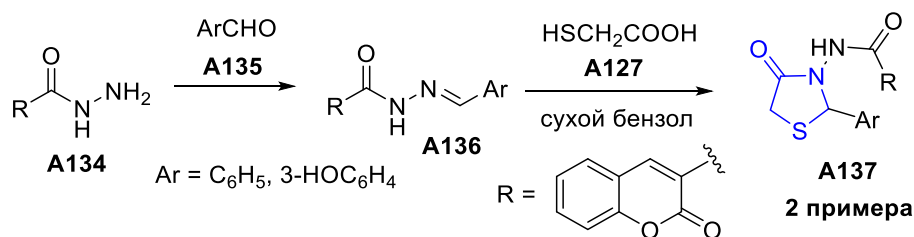
2-Метил-3-пентилтиазолидин-4-он **A133** был получен с хорошим выходом при нагревании смеси *n*-пентиламина **A131**, ацетальдегида **A132** и этилтиогликолята **A130** в микроволновом реакторе без растворителя (Схема 1.47) [101].

Схема 1.47



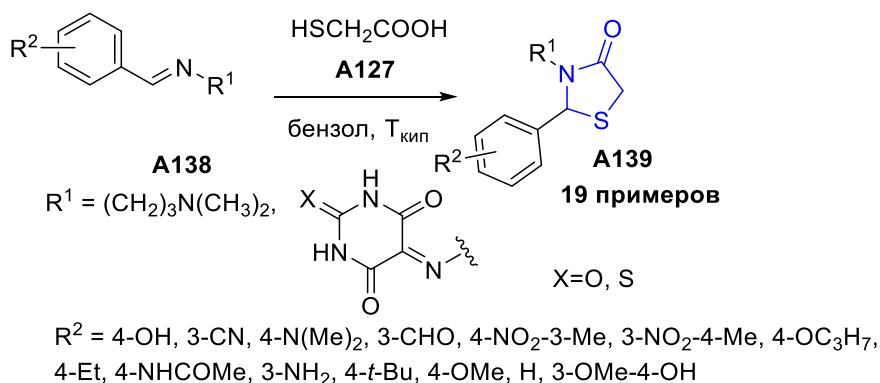
Взаимодействие гидразида **A134** с ароматическими альдегидами **A135** привело к образованию арилиденгидразинкарбонила **A136**, который в результате конденсации с тиогликолевой кислотой **A127** в сухом бензоле привел к производным 4-тиазолидинона **A137** (Схема 1.48) [102].

Схема 1.48



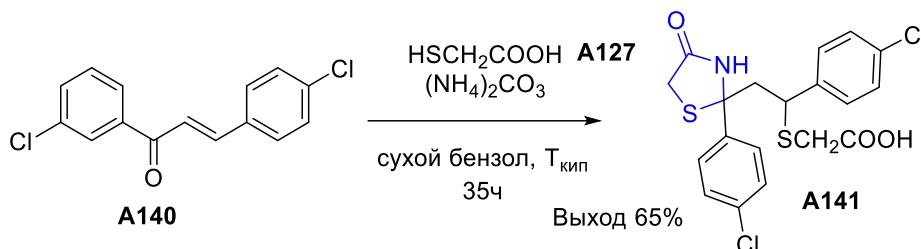
Производные 4-тиазолидинона **A139** были получены кипячением имина **A138** и тиогликолевой кислоты **A127** в сухом бензоле (Схема 1.49) [103, 104].

Схема 1.49



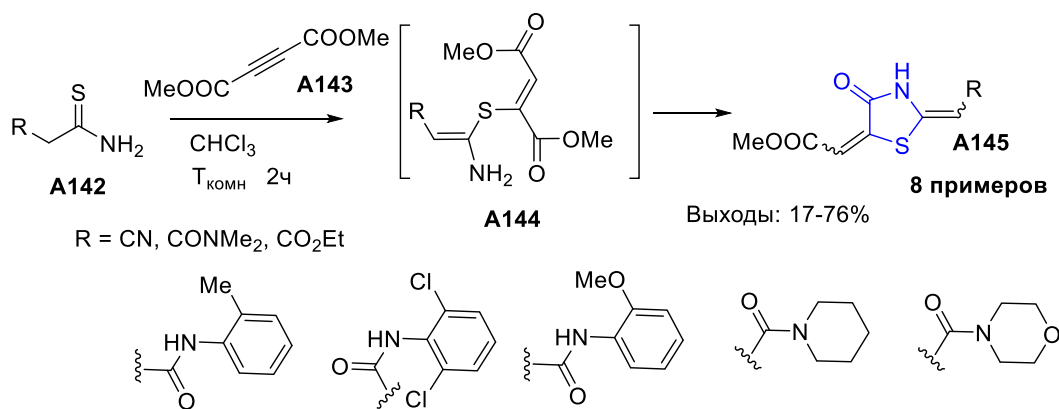
Кипячение в сухом бензоле смеси халкона **A140** с тиогликолевой кислотой **A127** и карбонатом аммония в молярном соотношении 1:2,5:5 привело к образованию 4-тиазолидинона **A141** с выходом 65% (Схема 1.50) [105]

Схема 1.50



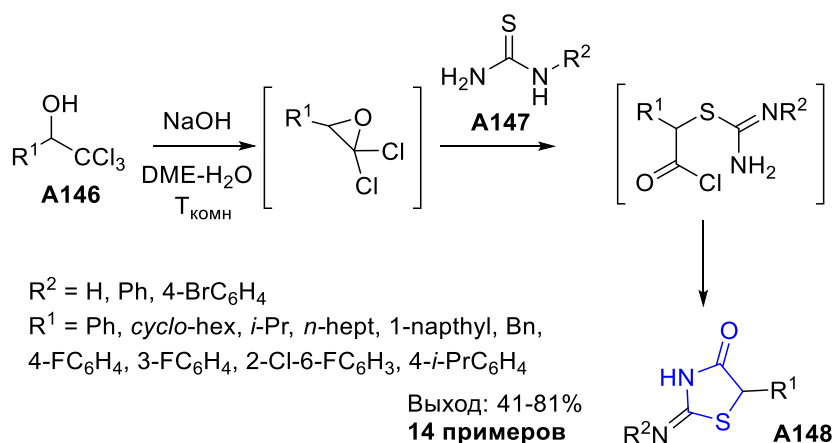
Другим распространённым методом синтеза 4-оксотиазолидинонов является реакция тиоамидов **A142** с диметилowym эфиром ацетилендикарбоновой кислоты (ДМАД) **A143** в хлороформе при комнатной температуре, которая протекает через стадию образования S-алкилпроизводного **A144** с последующей циклизацией, приводящей к пятичленному тиазолидиноновому циклу с двумя C=C экзоциклическими связями **A145** (Схема 1.51) [106].

Схема 1.51



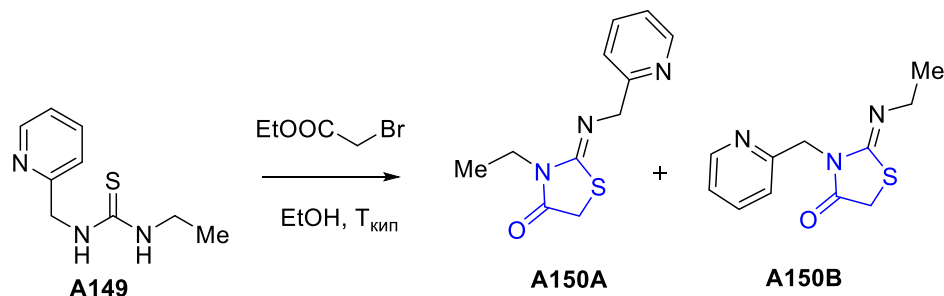
2-Иминотиазолидин-4-оны **A148** были получены в ходе конденсации трихлорметилкарбинолов **A146** и тиомочевин **A147** при комнатной температуре в смеси диметоксиэтана с водой в присутствии гидроксида натрия (Схема 1.52) [107].

Схема 1.52



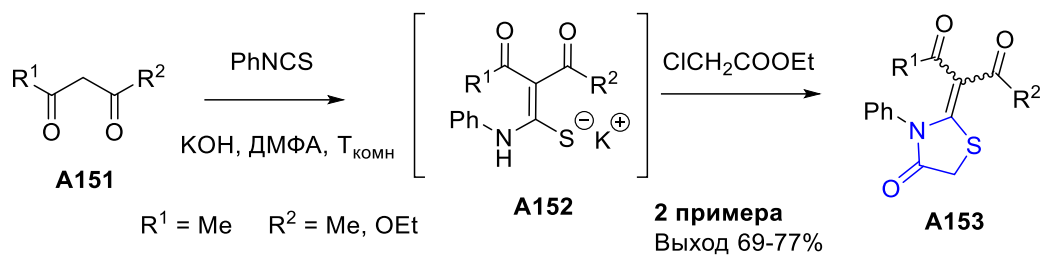
Кипячение в этаноле в течение двух часов несимметричной тиомочевины **A149** с бромацетатом в присутствии двух эквивалентов ацетата натрия привело к образованию двух региоизомеров иминотиазолидинона **A150A** и **A150B** в соотношении 1:1,4 соответственно. В случае отсутствия в реакционной массе ацетата натрия наблюдалось образование единственного производного **A150B** (Схема 1.53) [108].

Схема 1.53



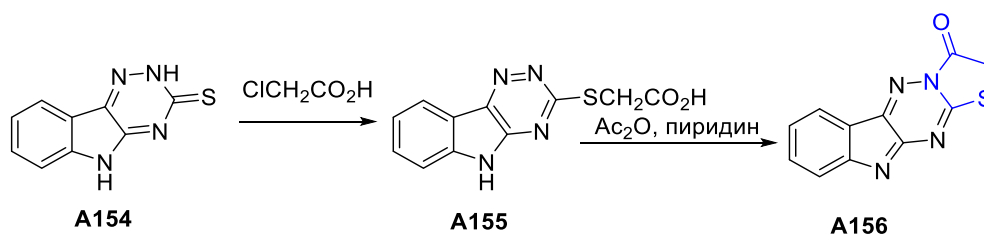
Соединения, содержащие активную метиленовую группу, также могут выполнять роль субстратов для формирования тиазолидинонового цикла. Так, реакция этилацетоацетата **A151** с фенилизотиоционатом в сухом ДМФА при комнатной температуре привела к образованию интермедиата **A152**, который затем был превращен в 3-фенил-4-тиазолидинон **A153** в реакции с хлорацетатом (Схема 1.54) [109].

Схема 1.54



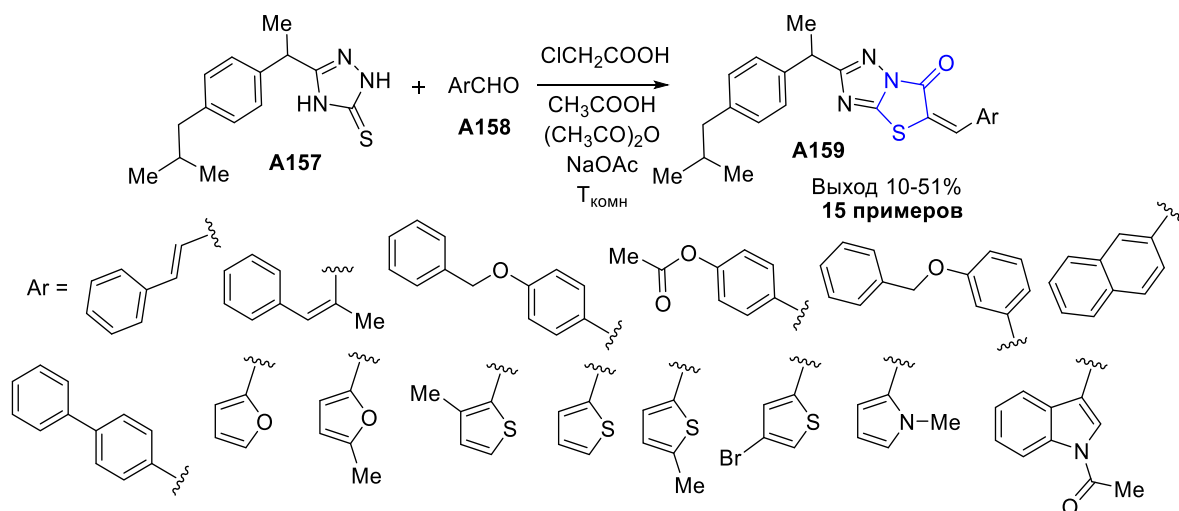
Показано, что 5*H*-2,3 дигидро-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индол-3-тион **A154** вступает в реакцию с хлоруксусной кислотой с образованием 5*H*-[1,2,4]триазино[5,6-*b*]индол-3-тиогликолевой кислоты **A155**. Последняя в реакции с уксусным ангидридом и пиридином циклизуется в тиазоло[3',2',2,3][1,2,4]триазино[5,6-*b*]индол-3-(2*H*)-он **A156** с количественным выходом (Схема 1.55) [110].

Схема 1.55



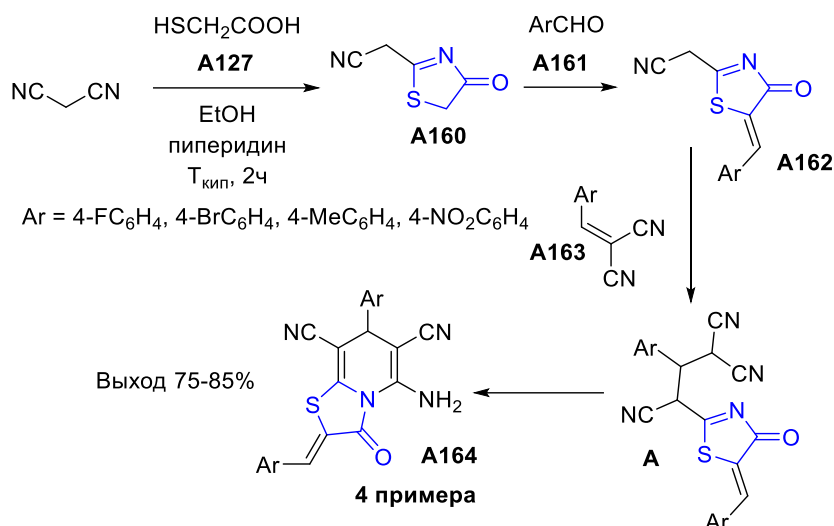
Серия производных ибупрофена, содержащих фрагмент тиазоло[3,2-*b*]-1,2,4-триазол-5-(6*H*)-она **A159** была получена для исследования в качестве анальгезирующего и противовоспалительного средства с минимальным язвобогенным риском (Схема 1.56) [111].

Схема 1.56



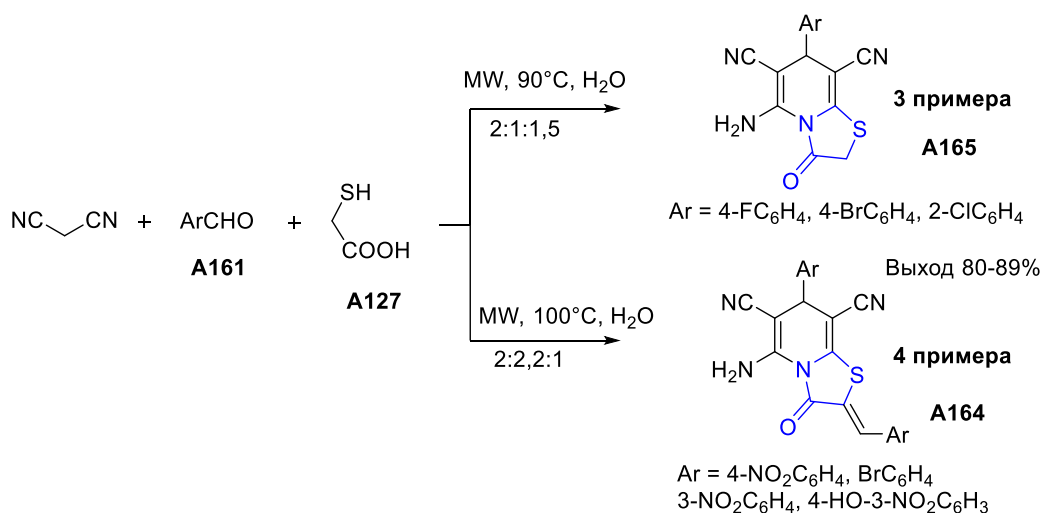
Тиазоло[3,2-*a*]пиридины **A164** образуются в ходе одnoreакторной конденсации альдегидов **A161** с малононитрилом и тиогликолевой кислотой **A127** в соотношении (2 : 2 : 1), соответственно (Схема 1.57) [112]. Реакцию проводили в абсолютном этаноле в присутствии пиперидина. Синтезированные соединения показали антимикробную активность.

Схема 1.57



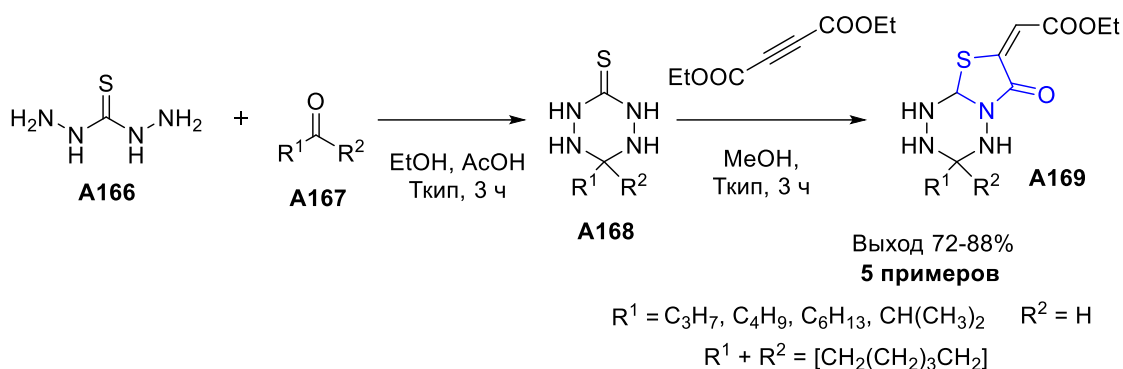
Синтез тиазоло[3,2-*a*]пиридинов **A164** и **A165**, соответствующий принципам зеленой химии, был осуществлен в воде в результате микроволновой трехкомпонентной реакции между малононитрилом, ароматическими альдегидами **A161** и 2-меркаптоуксусной кислотой **A127** в мольных соотношениях 2:1:1,5 и 2:2,2:1 соответственно (Схема 1.58). Изучение биологической активности 4-тиазолидинонов **A164** и **A165** показало их антиоксидантную активность [113].

Схема 1.58



В литературе описан двухстадийный метод синтеза тиазоло[3,2-*b*][1,2,4,5]тетразин-7(6*H*)-илиденацетатов **A169**. На первой стадии были получены замещенные 1,2,4,5-тетразиан-3-тионы **A168** из тиокарбогидраза **A166** и альдегидов/кетонов **A167** при кипячении в абсолютном этаноле в присутствии каталитических количеств уксусной кислоты с выходами 88–91%.

Схема 1.59



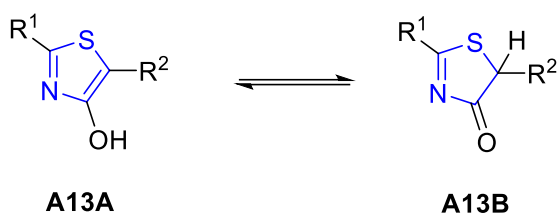
Далее 1,2,4,5-тетразиан-3-тионы **A168** вступали в реакцию с диэтиловым эфиром ацетилендикарбоновой кислоты с образованием конденсированных тиазолидинонов **A169** (Схема 1.59) [114].

1.5. Оптические свойства тиазолов и тиазолидинонов

Тиазольный цикл содержит sp^2 -гибридизованный атом азота и атом серы, которые могут выступать в качестве доноров электронов [54, 78]. Присутствие электронодонорных и электроноакцепторных заместителей изменяет электронный характер молекулы. Более того, заместители могут представлять собой объемные группы или ароматические/гетероароматические кольца, что сильно влияет на конформацию молекулы. Эти электронные и пространственные особенности влияют на их фотофизические свойства [54]. Наиболее известными примерами флуоресцентных тиазолов являются 4-гидрокситиазолы, 2- и 5-аминотиазолы и тиазолы, содержащие системы сопряженных связей.

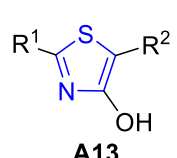
4-Гидрокси-1,3-тиазолы могут существовать в двух таутомерных формах: ароматической енольной форме (А) и кето-форме (Б) (Схема 1.60). ЯМР-исследования показали, что введение хотя бы одного ароматического заместителя во 2- или 5-положение приводит к образованию енольной формы. Квантово-химические расчеты для соединения **A13** в CHCl_3 и ДМСО показали, что 4-гидрокситиазольный таутомер **A13А** предпочтительнее таутомера **A13В** [78, 115].

Схема 1.60



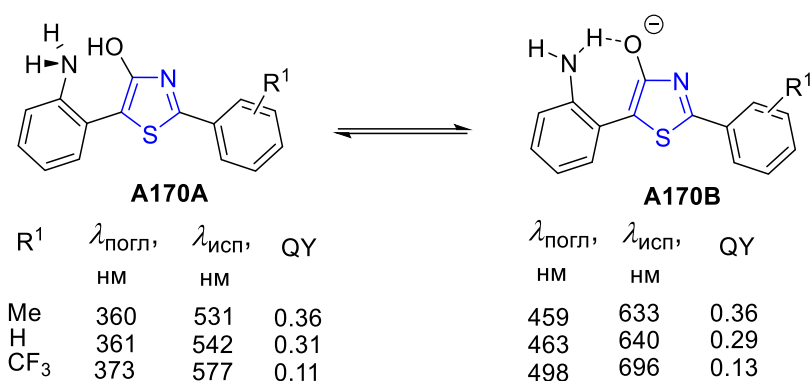
Растворы 4-гидрокситиазола обычно демонстрируют синюю флуоресценцию (440–480 нм) и широкий диапазон квантовых выходов до 87% [115]. На максимум испускания влияют заместители R^1 и R^2 (Схема 1.61). Было показано, что комбинация электронодефицитного гетероцикла (пиразина) во втором положении тиазола и богатого электронами ароматического кольца с *n*-метоксигруппой в четвертом положении оказывают батохромный эффект на максимумы поглощения и эмиссии. Однако производные с сильной электроакцепторной группой NO_2 в пиридине проявляют слабую флуоресценцию, в отличие от тиазолов с $\text{Me}_2\text{NC}_6\text{H}_4$ группой (сильный донор электронов) [115]. Как правило, пиридилзамещенные 4-гидрокситиазолы имеют более сильный батохромный сдвиг максимумов поглощения и эмиссии, чем фенилзамещенные производные.

Схема 1.61

	R^1	R^2	$\lambda_{\text{полг}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	
 <p style="text-align: center;">A13</p>	A13a	2-Пу	Ph	381	450
	A13б	3-Пу	Ph	384	474
	A13в	3-Пу	Me	351	442
	A13г	3-Пу	4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$	410	430
	A13д	Пиразин	4- MeOC_6H_4	411	520
	A13е	2-(4- NO_2)Пу	Me	346	441
	A13ж	2-(4- NMe_2)Пу	Me	347	475

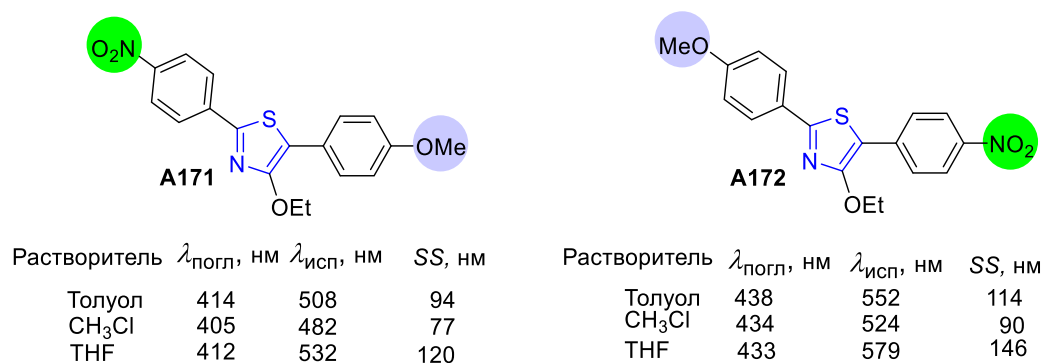
Эффект внутримолекулярного переноса протона в возбужденном состоянии (ESIPT) возрастает с увеличением кислотности или основности донорных и акцепторных групп при фотооблучении [15, 17, 42, 78, 115, 116]. Молекулы, подвергающиеся ESIPT, имеют термодинамически более выгодную енольную форму в основном состоянии, которая стабилизируется внутримолекулярной водородной связью. После облучения светом кислотность донора протонов (ОН-группы) и основность акцептора протонов (NH_2 -группы) группы возрастает из-за перераспределения плотности заряда в хромофоре **A170A** (Схема 1.62) [115]. Этот процесс приводит к миграции протона из кислотного в основной центр, образуя таутомер **A170B**, который демонстрирует большой батохромный сдвиг (99–125 нм) максимумов поглощения и эмиссии и большой сдвиг Стокса ($9000\text{--}9500\text{ см}^{-1}$).

Схема 1.62



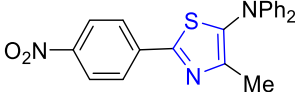
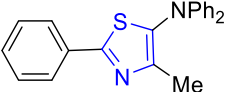
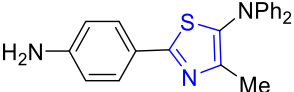
Превращение 4-гидрокситиазола в эфир увеличивает растворимость в органических растворителях и приводит к высокому квантовому выходу и большому сдвигу Стокса [37-39, 78–85, 117, 118]. Отличные результаты были получены при исследовании оптических свойств тиазолов **A171** и **A172** (Схема 1.63) [83]. Эти соединения имели различную окраску в растворе ТГФ (**A171** — желто-зеленый; **A172** — оранжевый). Такая простая замена метокси- и нитрозаместителей в структуре тиазолов **A171** и **A172** привела к значительным различиям в поглощении и эмиссии. Длинноволновая полоса поглощения сместилась в длинноволновую область на 21 нм и на 47 нм в спектрах флуоресценции, а сдвиг Стокса увеличился с 120 до 146 нм.

Схема 1.63



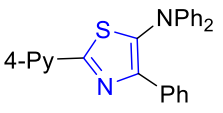
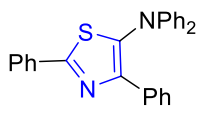
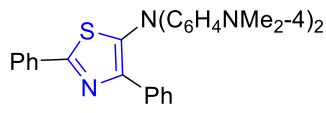
Аминотиазолы представляют собой большой класс активно изучаемых соединений благодаря их интересным оптическим свойствам [47, 48, 52–55, 70, 87]. Например, 5-аминотиазолы **A106** демонстрируют сильное поглощение в диапазоне длин волн от 353 до 430 нм и испускание в диапазоне от 467 до 726 нм в зависимости от заместителей во втором, четвертом и пятом положениях [70]. Как правило, электронодонорные заместители в пятом положении и электроноакцепторные во втором приводят к батохромному сдвигу максимума поглощения и эмиссии (Схема 1.64).

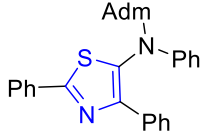
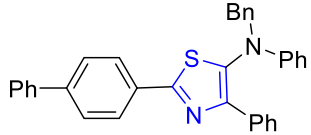
Схема 1.64

												
A106a	A106b	A106c										
$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	SS, нм/см ⁻¹	QY	$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	SS, нм/см ⁻¹	QY	$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	SS, нм/см ⁻¹	QY	
CH ₃ Cl	430	726	296/9482	0.05	378	472	94/5269	0.44	353	467	108/6637	0.17
THF	420	631	211/7961	0.36								
Гексан	412	507	95/4548	0.38								

Длинноволновые максимумы поглощения для *N,N*-дифениламинотиазолов **A173** в CHCl₃ находятся в диапазоне 334–412 нм [55]. Замена ароматического заместителя во втором положении тиазола на 4-пиридинильную группу приводит к батохромному смещению до 394 нм. Замена *N*-арильной группы на *N*-бензильный или *N*-адамантильный фрагмент приводила к гипсохромному сдвигу максимумов поглощения до 33 нм. На спектры поглощения не влияет полярность используемого растворителя, в то время как максимумы флуоресценции показали положительный флуорохромизм. Тиазолы **A173** показали большой сдвиг Стокса (до 142 нм). Данные спектров испускания показывают, что электронодонорные и электроноакцепторные группы в ароматических кольцах во втором положении и аминогруппа в пятом положении могут быть введены для настройки максимумов длины волны флуоресценции (Схема 1.65).

Схема 1.65

											
A173a	A173b	A173c									
$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	SS, нм	QY	$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	SS, нм	QY	$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	SS, нм	QY
394	492	98	0.80	367	463	96	0.43	412	554	142	0.01

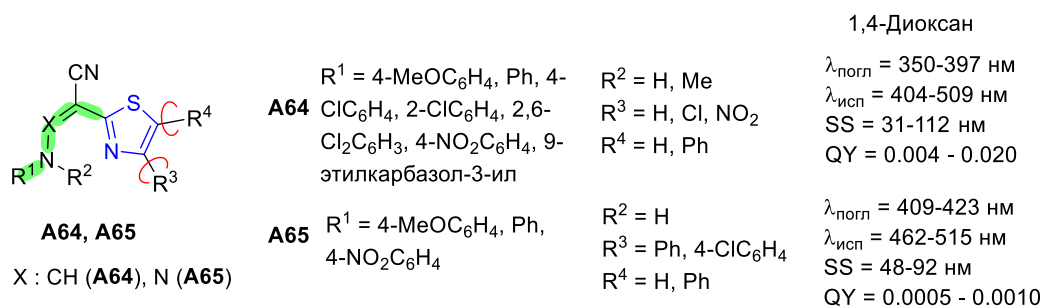
							
A173d	A173e						
$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	SS, нм	QY	$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	SS, нм	QY
334	471	137	0.04	360	468	108	0.23

Длина и тип линейной цепи в сочетании с ароматическими/гетероароматическими циклами и другими заместителями или хромофорными/флуорофорными группами являются

основными факторами, влияющими на фотофизические свойства. Среди этих групп наиболее распространены гидразонные, енаминовые, этиленовые. Для удлинения сопряженной системы в пятом и втором положении тиазола были использованы различные линкеры [30-32, 35, 49–51, 89–93]. В литературе представлены тиазолы **A64**, **A65** и **A68** с линейными сопряженными системами, включающими енаминовый **A64**, азаенаминовый **A65** и акрилонитрильный **A68** фрагменты во втором положении тиазольного кольца [30, 32, 35].

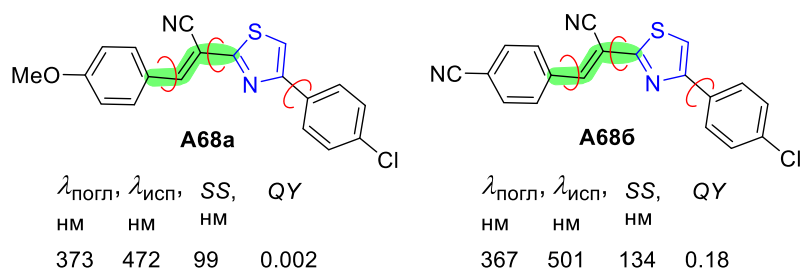
В случае тиазолов **A64** наибольшие квантовые выходы наблюдаются для соединений с заместителями в *o*-положениях ароматического цикла в енаминовом фрагменте (Схема 1.66) [30]. Авторы предполагают, что это объясняется ограничением вращения ароматического цикла вокруг σ -связи из-за пространственного влияния заместителя. Значения сдвига Стокса варьируется в диапазоне от 31 до 112 нм в зависимости от комбинации электронных и пространственных эффектов заместителей. Тиазолы **A16**, имеющие противоположные по электронным эффектам заместители в ароматических кольцах, демонстрируют наибольшие значения сдвига Стокса. Включение флуоресцентного карбазольного фрагмента в структуру тиазола приводит к батохромному сдвигу в спектре поглощения до 390 нм, но существенно уменьшает сдвиг Стокса. Квантовые выходы тиазолов **A65**, содержащих азаенаминовый фрагмент, низки и составляют 0,05–0,10%.

Схема 1.66



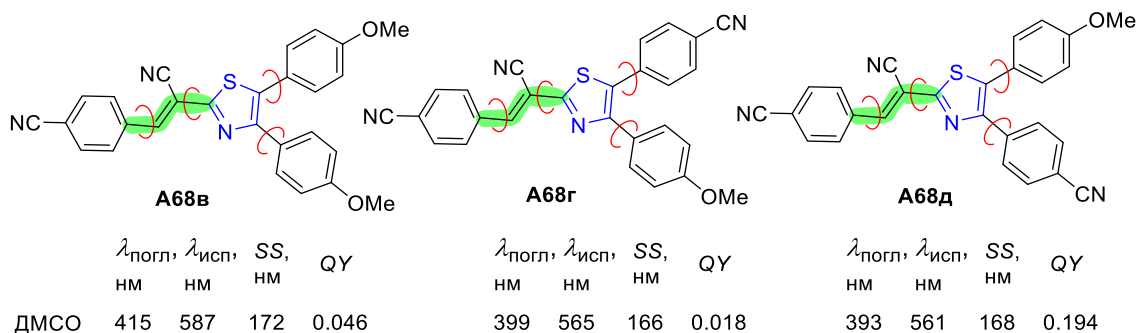
Тиазолы **A68** продемонстрировали хорошие фотофизические свойства и большие возможности для их настраивания модификацией заместителей и структурных фрагментов. Замена электронодонорной метоксигруппы на акцепторную CN-группу в арилакрилонитрильном фрагменте флуорофора **A686** привела к батохромному смещению максимума эмиссии на 29 нм и увеличению квантового выхода с 0,2 до 18% в ацетонитриле (Схема 1.67) [32].

Схема 1.67



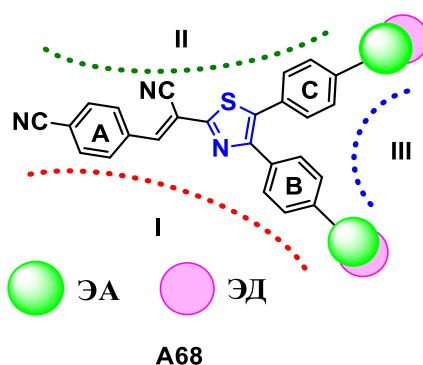
Введение дополнительного ароматического фрагмента в пятое положение тиазольного цикла приводит к значительному улучшению оптических характеристик и смещает максимумы поглощения и испускания в длинноволновую область (Схема 1.68). Более того, авторы продемонстрировали, как изменяя электронную природу заместителей в ароматических кольцах в С(4) и С(5) положениях тиазола, можно настраивать значения квантовых выходов и максимумов поглощения и испускания [32, 35].

Схема 1.68



В структуре тиазолов **A68** присутствует несколько систем сопряжения (Схема 1.69) [35]. Наиболее протяженной является система **A** ← **C**, вовлекающая в возбуждение наибольшее количество электронных пар и обладающая способностью генерировать хиноидную структуру при возбуждении. Система сопряжения **B** ← **C** менее протяженная, но оказывает сильное влияние на поглощение и эмиссию в зависимости от электронной природы заместителей. Так, введение электронодонорной группы в кольцо **B** приводит к батохромному сдвигу максимума эмиссии и в то же время к снижению интенсивности флуоресценции. В более слабой системе сопряжения **A** ← **B** кольцо **B** участвует лишь в качестве заместителя, способствуя безызлучательным потерям энергии после перехода в возбужденное состояние и геометрической релаксации за счет вращения вокруг σ -связи.

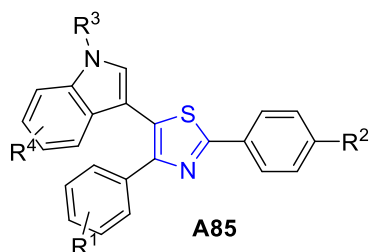
Схема 1.69



Авторы выдвинули гипотезу, что оптимальным вариантом, обеспечивающим длинноволновое поглощение и испускание и высокую интенсивность флуоресценции, будет наличие ЭД-заместителя в кольце **C** и ЭА- или слабого ЭА-заместителя в кольце **B** [35].

Полосы поглощения и испускания 5-(1*H*-индол-3-ил)-2,4-дифенилтиазолов **A85** смещаются в широком диапазоне длин волн в зависимости от заместителей и используемых растворителей (Схема 1.70) [65]. В полярном ДМСО наблюдался батохромный сдвиг максимумов поглощения и испускания, что, вероятно, происходит вследствие стабилизации состояния внутримолекулярного переноса заряда в полярном растворителе.

Схема 1.70



$\lambda_{\text{погл}} = 345\text{-}420 \text{ нм}$
 $\lambda_{\text{исп}} = 452\text{-}519 \text{ нм}$
 $SS = 107\text{-}167 \text{ нм}$
 $QY = 0.02 - 0.80$

$R^1 = 4\text{-Br}, 4\text{-F}, 2,4\text{-F}_2, 4\text{-CF}_3, 4\text{-MeO}, 3,4\text{-(MeO)}_2, 4\text{-NO}_2$
 $R^2 = \text{H}, \text{Br}, \text{F}, \text{Cl}, \text{CF}_3, \text{MeO}, \text{Me}, \text{NO}_2$

$R^3 = \text{H}, \text{Me}$
 $R^4 = \text{H}, 5\text{-MeO}, 5\text{-Br}, 2\text{-Me}, 4\text{-CN}, 5\text{-NO}_2,$
 $6\text{-Cl}, 6\text{-Br}, 7\text{-Me}, 2\text{-Ph}, 5\text{-F}$

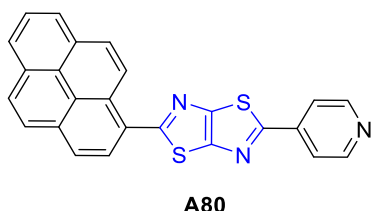
Значительный квантовый выход был обнаружен для соединений, имеющих в тиобензамидном кольце группы 4-Cl (QY=0,42), 4-Br (QY =0,49), 4-CF₃ (QY=0,69), в то время как заместители 4-F (QY=0,19), 4-MeO (QY=0,04), 4-Me (QY=0,11) показали меньшие квантовые выходы (Схема 1.70) [65]. Соединение **A85**, содержащее в тиобензамидном кольце нитрогруппу, не проявляло флуоресценции. При варьировании заместителей в арилгликосальном фрагменте наибольшие квантовые выходы показали соединения, содержащие 4-F (QY=0,27) и 4-MeO (QY=0,32), тогда как 4-Br (QY=0,09) и 4-CF₃ (QY=0,04) вызывали снижение квантового выхода в отличие от аналогичных замещенных в

тиобензамидном кольце веществ. Изучение влияния заместителей на индольное кольцо показало значительные квантовые выходы флуоресценции в случае введения 5-MeO (QY=0,31), 2-Me (QY=0,32), 7-Me (QY=0,32) и N-Me (QY=0,26) групп, а электроноакцепторные заместители снижали квантовый выход: 5-Br (QY=0,14), 4-CN (QY=0,08), 5-NO₂ (QY=0,00), 6-Cl (QY=0,09), 6-Br (QY=0,10), 2-Ph (QY=0,02) и 5-F (QY=0,12).

Фотофизические характеристики конденсированного бициклического тиазола **A80** были изучены в растворителях с различной полярностью (Схема 1.71) [63]. Было обнаружено, что спектры поглощения практически не изменяются при увеличении полярности растворителя в связи с неполярной природой хромофора в основном состоянии. Однако спектры эмиссии претерпевают красный сдвиг от неполярного толуола к полярному метанолу, что говорит о полярности структуры флуорофора в возбужденном состоянии.

Схема 1.71

	λ_{abs}	λ_{em}	SS	QY
	нм	нм	нм	
толуол	407	472,500	93	0.98
ТГФ	404	485	80	0.95
этаноламин	399	482	81	0.91
CH ₂ Cl ₂	395	490	105	0.92
MeCN	390	496	106	0.59
DMCO	408	506	98	-
MeOH	397	509	112	-

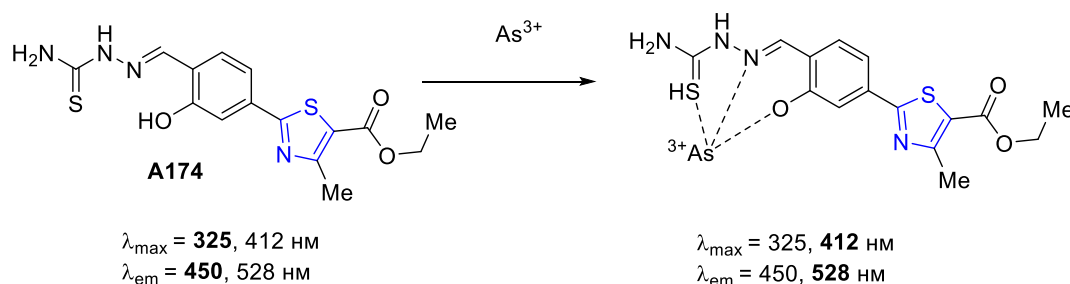


Флуоресцентные хемосенсоры для распознавания катионов и анионов металлов привлекают большое внимание благодаря их разнообразным экологическим и биологическим сферам применения [119]. Следует отметить, что в результате координации с ионами металлов могут возникнуть различные эффекты, такие как изменения интенсивности или длинноволновые сдвиги. Так, ионы парамагнитных переходных металлов Fe²⁺, Fe³⁺ и Cu²⁺ координировались с тиазольными сенсорами, но частично или полностью тушили свечение флуоресценции за счет очень быстрой безызлучательной потери энергии возбужденных состояний, в результате переноса электронов или энергии между открытой оболочкой d-орбиталей ионов металла и тиазола.

Основной фокус исследований оптических свойств тиазола **A174** был направлен на взаимодействие с различными металлами: Ag⁺, Al³⁺, Co²⁺, Cd²⁺, As³⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Pb²⁺, Hg²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺ и Ni²⁺. Тиазол **A174** показал селективное взаимодействие с As³⁺ с изменением цвета раствора от бесцветного к желтому (Схема 1.72) [120]. Кроме того, при облучении УФ-светом с длиной волны 365 нм только раствор, содержащий ионы As³⁺, проявлял зеленую флуоресценцию, тогда как присутствие ионов других металлов не вызывало каких-либо заметных изменений. При добавлении 10 мкМ ионов As³⁺ интенсивность полосы поглощения

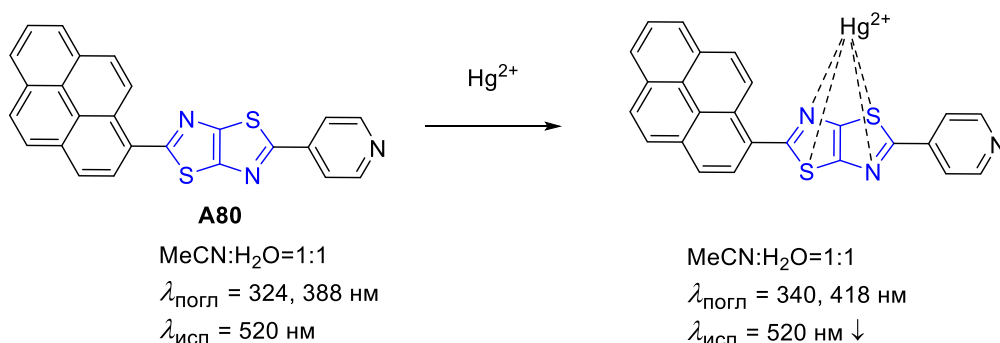
при 325 нм постепенно уменьшалась, в то же время увеличивалась интенсивность новой полосы поглощения при 412 нм. Следует отметить наличие отчетливой изобестической точки при 370 нм. В спектре эмиссии раствора тиазола **A174** при возбуждении светом с длиной волны 412 нм наблюдалась полоса с максимумом при 450 нм и плечевым пиком при 528 нм. Добавление к раствору 10 мкМ ионов As^{3+} усиливало интенсивность флуоресценции при 528 нм.

Схема 1.72



Изучение чувствительности тиазола **A80** к ионам металлов Na^+ , Ca^{2+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Co^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Gd^{3+} и Ru^{2+} показало, что только добавление ионов Hg^{2+} приводит к изменению оптических свойств. Титрование раствора тиазола **A80** в смеси ацетонитрил:вода = 1:1 ионами Hg^{2+} с различной концентрацией (0-50 экв.) продемонстрировало батохромное смещение полос поглощения с 324 и 388 нм до 340 и 418 нм соответственно (Схема 1.73) [63]. Появление изобестической точки при 418 нм указывало на образование нового комплекса. Также наблюдалось изменение цвета раствора от оливкового зеленого до желтого. Интенсивность флуоресценции падала по мере увеличения концентрации ионов металла.

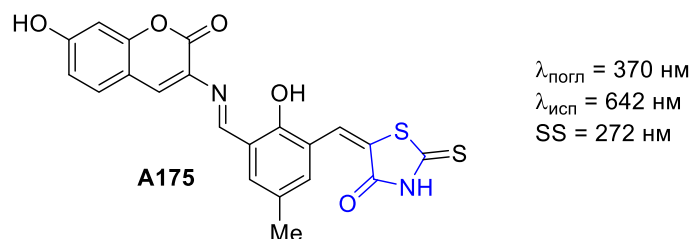
Схема 1.73



Использование производных тиазолидинонов в качестве флуоресцентных соединений ограничено несколькими примерами в литературе [121, 122]. Так, было предложено использование 2-тиоксотиазолидин-4-она **A175** в качестве флуоресцентной пробы на аргинин

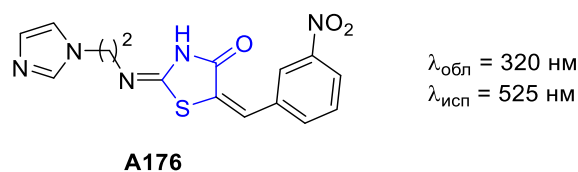
(Схема 1.74) [121]. Добавление аргинина приводило к резкому уменьшению интенсивности эмиссии при 642 нм.

Схема 1.74



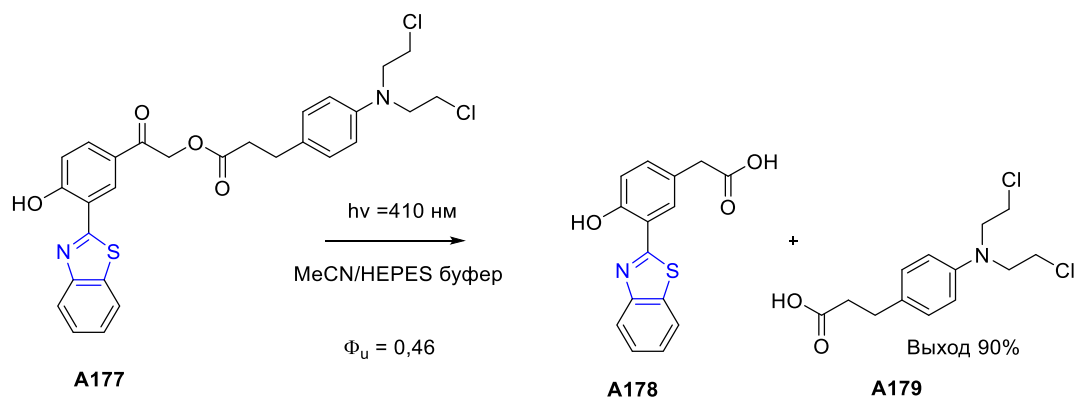
Связывание молекулы тиазолидин-4-она **A176**, обладающего противомикробным действием, с ДНК лосося изучалось с помощью измерения интенсивности флуоресценции (Схема 1.75) [122]. Увеличение концентрации ДНК лосося приводило к уменьшению интенсивности излучения без изменения длины волны максимума эмиссии.

Схема 1.75



Одним из современных направлений применения флуоресцентных соединений является использование их в качестве фотозащитной группы для доставки лекарственных препаратов и биомолекул. Этот способ терапии позволяет маскировать биологическую активность лекарства, отслеживать его распределение в биологических тканях и проводить выделение активного вещества при облучении светом определенной длины волны.

Схема 1.76

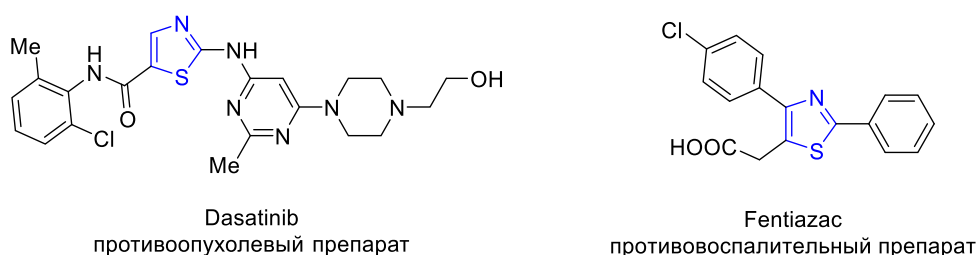


Так, в литературе описан бензотиазол **A177** в качестве фотозащитной группы для цитостатического препарата «хлорамбуцил» **A179** (Схема 1.76) [123]. Высвобождение хлорамбуцила **A179** происходило при облучении светом с длиной волны 410 нм в течение 15 минут с выходом 90%.

1.6. Биологическая активность тиазолов и тиазолидинонов

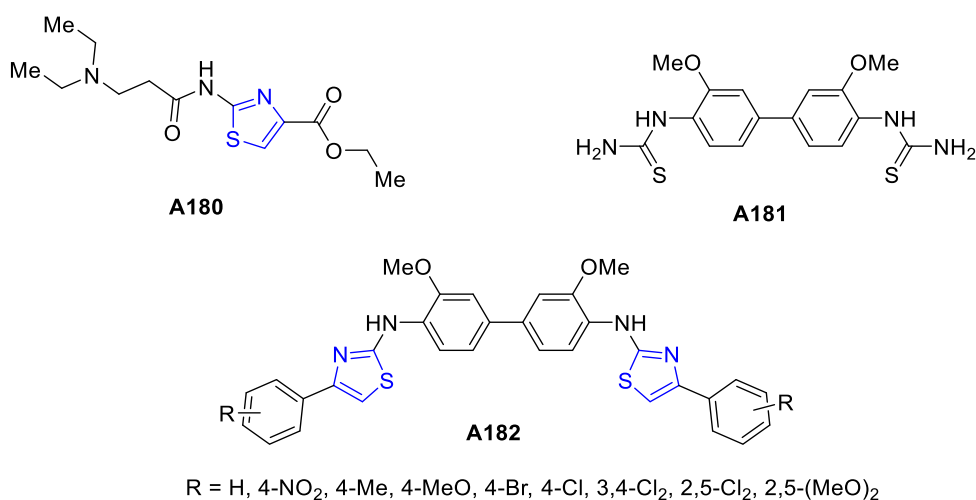
Тиазолы привлекают внимание исследователей поскольку широко используются в качестве строительных блоков при разработке новых потенциальных биологически активных соединений, например, противоопухолевых и противовоспалительных препаратов (Схема 1.77) [1, 124–126].

Схема 1.77



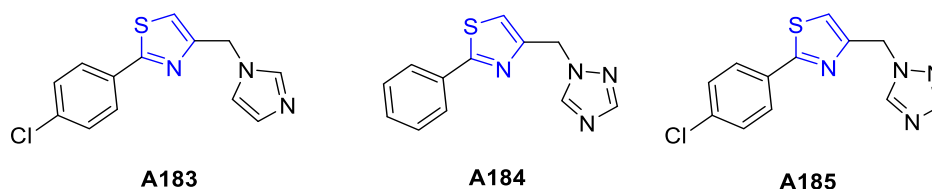
Этил 2-(3-(диэтиламино)-пропанамидо)-тиазол-4-карбоксилат **A180** показал заметную активность против линии клеток лейкемии РМІ-8226 (Схема 1.78) [127]. Было обнаружено, что введение тиазольного фрагмента в производные бис-тиомочевины **A181** и **A182** повысило их активность против линий клеток А549 (аденокарцинома легких человека) и С6 (глиома крысы) [128].

Схема 1.78



4-((1*H*-Имидазол-1-ил)метил)тиазол **A183** и 4-((1*H*-1,2,4-триазол-1-ил)метил)тиазолы **A184** и **A185** показали высокую противосудорожную активность, обнаруженную на мышцах с использованием моделей максимального электрошока (MES) и пентилентетразола (PTZ) (Схема 1.79) [129].

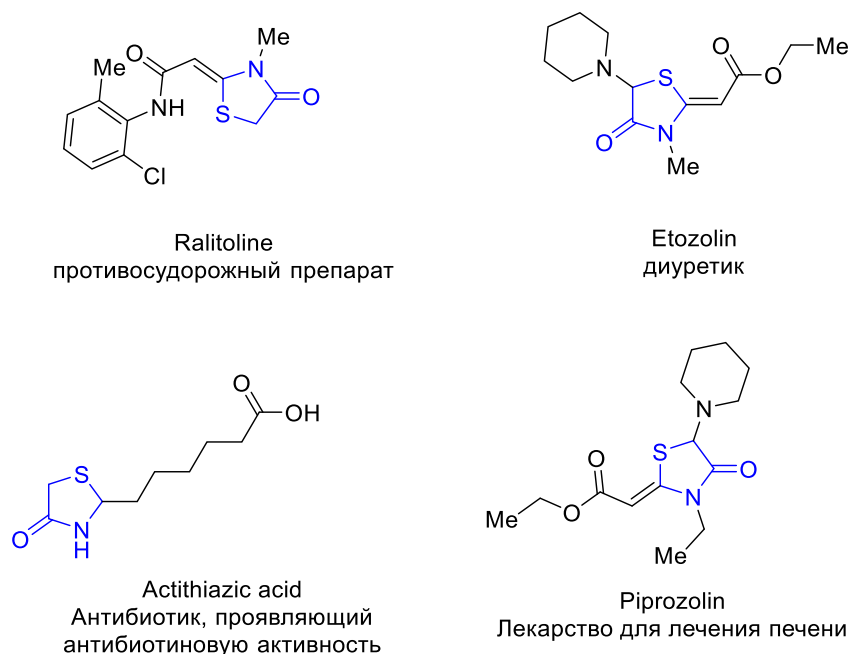
Схема 1.79



Производные 4-тиазолидинона действуют как антибактериальные, противогрибковые, противосудорожные, противораковые, противотуберкулезные, противоопухолевые, гербицидные средства, противовоспалительные, анальгетические и антипсихотические средства [4-7].

Как показано на Схеме 1.80, соединения, содержащие 4-тиазолидиноновый фрагмент, одобрены для использования Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) [130].

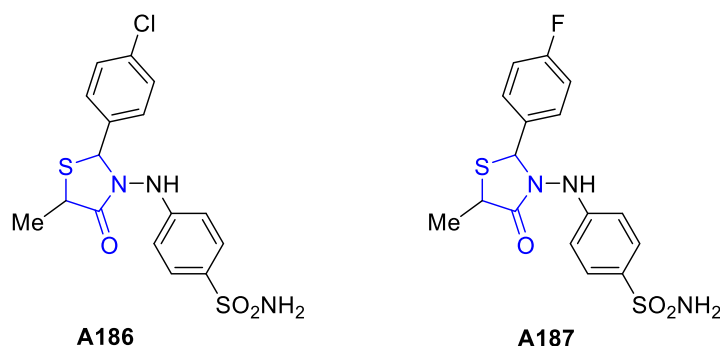
Схема 1.80



3-(4-Аминосульфонилфениламино)-2-арил-5-метил-4-тиазолидиноны **A186** и **A187** проявили наиболее мощную ульцерогенную активность, чем целекоксиб и ибупрофен. Соединения **A186** и **A187** вызывают в меньшей степени или вообще не вызывают язву желудка

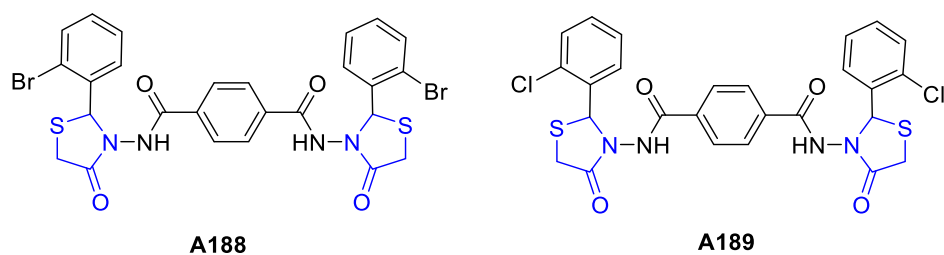
по сравнению со стандартными препаратами (Схема 1.81). Это означает, что они более безопасны для слизистой оболочки желудка, чем целекоксиб и ибупрофен [131].

Схема 1.81



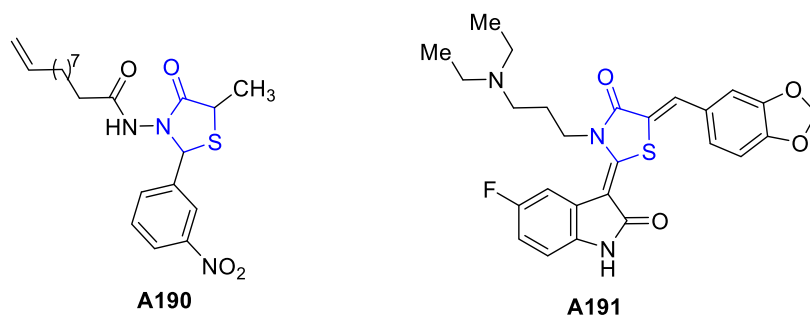
Производные N^1, N^4 -бис(2-(арил)-4-оксотиазолидин-3-ил)терефталамида **A188** и **A189** были протестированы на антибактериальную активность и показали хорошую активность против *Bacillus cereus* и *Salmonella typhimurium* (Схема 1.82) [132].

Схема 1.82



Соединение **A190** было протестировано против девяти типов опухолей и показало значительную цитотоксическую активность в случае рака легких, меланомы и рака почек, где снижение роста составило 75%, 97% и 84% соответственно при концентрации $1,0 \times 10^{-4}$ мкМ (Схема 1.83) [133]. Тиазолидин-4-он **A191** был проверен против трех линий клеток рака (HT-29, H460 и MDA-MB-231) с помощью анализа МТТ и показал $IC_{50} = 0,025, 0,075$ и $0,77$ мкМ соответственно. Исследование зависимостей «структура-свойства» показало, что введение электроноакцепторного атома фтора в пятое положение индолин-2-онового кольца и 3-(диэтиламино)пропильной группы в третье положение 4-тиазолидинонового цикла привело к увеличению противоопухолевой активности [134].

Схема 1.83



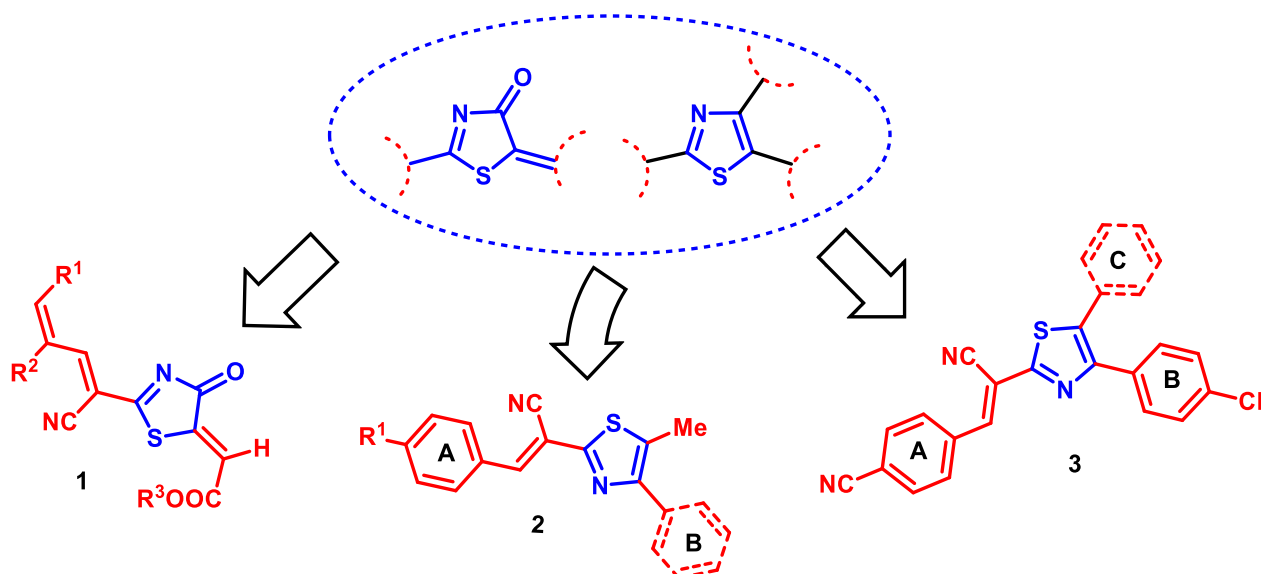
Широкая область применения производных тиазола свидетельствует о перспективности разработки новых производных этого гетероцикла, содержащих различные структурные фрагменты, способные влиять на физико-химические и фотофизические свойства, а также на биологическую активность.

ГЛАВА 2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Потребности быстро развивающихся отраслей, какими являются медицина, биология и техника, диктуют необходимость создания новых флуоресцентных веществ, обладающих высокой интенсивностью излучения, настраиваемых по всему диапазону длин волн испускания, характеризующихся стабильностью и одновременно такими технологическими показателями, как доступность исходных реагентов, мягкие условия и простота синтетических процедур. Выполнение этих требований возможно только при постоянном расширении исследований, связанных с поиском новых флуоресцирующих соединений, удовлетворяющих потребностям различных конкретных направлений их использования.

Доступность исходных реагентов и разнообразие синтетических подходов, хорошие фотофизические свойства и биологическая активность тиазолов делают их привлекательным объектом для получения новых флуорофоров и лекарственных веществ. Одним из уникальных производных тиазола являются 4-тиазолидиноны, продемонстрировавшие широкий спектр биологической активности и интересные оптические свойства. Среди методов их получения следует отметить реакции тиоамидов с производными ацетиленкарбоновой и ацетилендикарбоновой кислот. Благодаря разнообразию структуры используемых тиоамидов и ацетиленов получен большой массив тиазолидинонов с разными заместителями и функциональными группами, экзоциклическими кратными связями [34,106]. Для удлинения цепи сопряжения в молекуле тиазолидинона **1** (Схема 2.1) мы выбрали в качестве исходных производные коричной кислоты, которые раньше в эту реакцию не вовлекались.

Схема 2.1



Для построения ароматических производных тиазола **2**, **3** наиболее технологичным является предложенный Ганчем метод (Схемы 1.7 и 1.8), который позволяет не только сформировать гетероцикл, но и декорировать его разнообразными заместителями, а также

линейными и циклическими фрагментами. Более того, синтезированные таким образом тиазолы могут быть дополнительно модифицированы с помощью реакций Сузуки-Мияура и Бухвальда-Хартвига (Схемы 1.33 и 1.37), что позволит осуществить более эффективную настройку фотофизических и биологических свойств.

Таким образом, планируемые методы синтеза тиазолидинонов **1** и тиазолов **2**, **3** основаны на использовании доступных исходных реагентов, которые позволят ввести в структуру исследуемых веществ разнообразные функциональные группы способные повлиять на фотофизические свойства, устойчивость, физико-химические характеристики, поведение в биологических средах.

Для определения перспектив применения полученных флуорофоров мы планируем провести исследование фотофизических и физико-химических свойств, а также биологические эксперименты *in vitro*: изучение поведения синтезированных фотоактивных молекул с помощью лазерной сканирующей микроскопии (их локализацию и биосовместимость, проникновение через клеточные мембраны, распределение в клетке и проникновение во внутриклеточные структуры) и определение токсичности с помощью МТТ-теста.

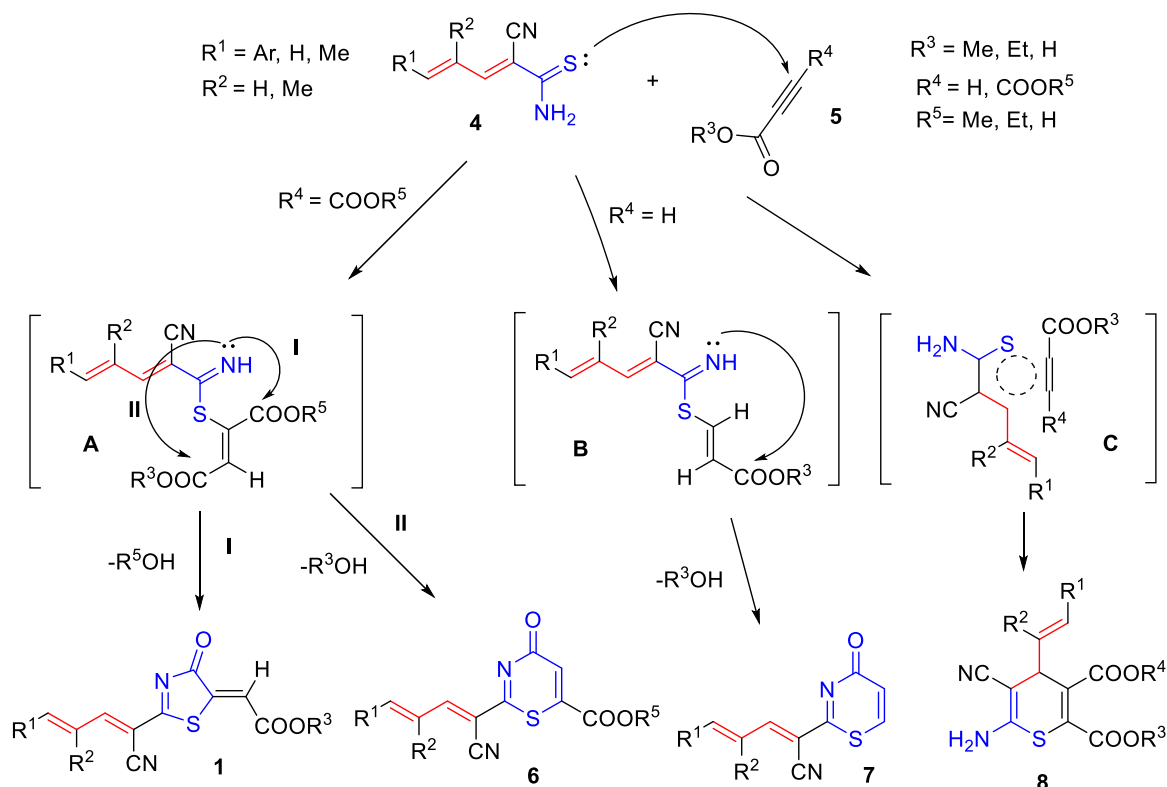
Следует отметить, в последнее десятилетие наряду с визуализацией биологических объектов и процессов активно развиваются исследования, связанные с использованием флуорофоров в качестве фотозащитных групп (триггеров, фотоконтейнеров), которые могут обеспечить временную защиту различных токсических или активных веществ в органическом синтезе, а также пространственный и пространственно-временной контроль или адресную доставку биоагентов (нейротрансмиттеров, сигнальных молекул), биомолекул, лекарственных препаратов, диагностиков или тераностиков в биологии и медицине. Мы планируем провести серию синтетических, спектральных, кинетических экспериментов для определения перспектив использования производных тиазола **2**, содержащих метильную группу в положении **5**, в качестве молекул-фотокурьеров. Проведение такого комплексного, мультидисциплинарного исследования позволит нам дать предварительные рекомендации для применения полученных флуорофоров.

Все это позволило сформулировать цель исследования: синтез новых люминесцентных молекул на основе тиазолидинонов и тиазолов, изучение их фотофизических свойств в различных средах и перспектив их использования как для биовизуализации, так и в составе молекулярных флуоресцентных биоконъюгатов для применения в биологии и медицине, в первую очередь, для адресной доставки при лечении или диагностике социально-значимых заболеваний.

2.1. Синтез и свойства 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*] пиридина и пиридо[2,3-*b*]тиазио[4,3-*c*]карбонитрилов

В реакции карботиоамидов с производными диалкилацетилендикарбоновой кислоты возможно осуществление различных взаимодействий в зависимости от растворителя, условий реакции, наличия в структуре фрагментов и заместителей различных по электронной природе и пространственным факторам [106, 135, 136]. Особое внимание привлекают превращения тиоамидов, содержащих несколько дополнительных нуклеофильных центров в молекуле или кратных связей. Как показали литературные данные, в этом случае возможно осуществление нескольких вариантов превращений и образование набора продуктов в зависимости от структуры исходных реагентов и условий реакции. В результате циклоприсоединения [135, 137-139], циклоконденсации [106, 136] и присоединения [34] в этих реакциях может происходить образование различных гетероциклических систем. В реакции 2-цианопента-2,4-диентоамидов **4** с эфирами ацетилендикарбоновой кислоты **5** можно ожидать образования тиазолидинонов **1** или тиазинонов **6, 7** в результате последовательных стадий присоединения, циклизации и элиминирования (Схема 2.2). Кроме этого, возможно циклоприсоединение по типу реакции гетеро-Дильса-Альдера с образованием тиопиранов **8**.

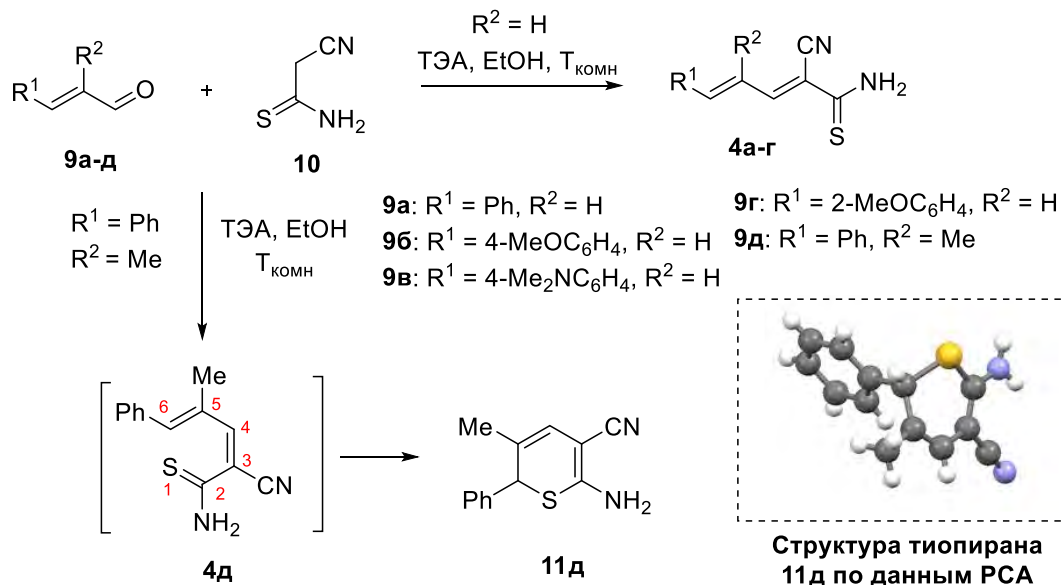
Схема 2.2



2.1.1. Синтез 2-цианопента-2,4-диентоамидов

Для синтеза исходного 5-фенил-2-цианопента-2,4-диентоамида **4а** мы использовали описанный в литературе метод, основанный на реакции Кневенагеля [140]. Однако, использование предложенных условий реакции показало, что она происходит гораздо дольше и приводит к желаемому продукту с меньшим выходом, по сравнению с опубликованными данными (Табл. 2.1, строки 1 и 5).

Схема 2.3



Для определения оптимальных условий была проведена серия экспериментов по изучению влияния условий реакции на выход продукта на примере конденсации коричневого альдегида **9а** и цианотиоацетамида **10** (Схема 2.3, Табл. 2.1). Результаты проведенных исследований показали, что увеличение температуры реакции до 60 °С, а также времени превращения, не приводит к увеличению выхода тиоамида **4а** (Табл. 2.1, строки 2–5). Максимальный выход тиоамида **4а** получен при комнатной температуре, но в этом случае, для завершения реакции требуется больше времени (3 часа) (Табл. 2.1, строки 6,7). Использование *N*-метилморфолина (NMM) вместо триэтиламина (ТЭА) в качестве основания не привело к желаемому результату. В результате в качестве оптимальных условий были выбраны: комнатная температура и добавление 0,05 экв. ТЭА (Табл. 2.1, строка 6). Использование усовершенствованной методики позволило получить 2-цианопента-2,4-диентоамиды **4а-г** с хорошими выходами (Табл. 2.1).

Выходы 2-цианопента-2,4-диентоамидов **4а-г**, условия и время превращения альдегидов **9а-д** в реакции конденсации с цианотиоацетамидом **10**

№, п/п	Соединение			Основание (экв.)	Температура (°С)	Время, (ч)	Выход, (%)
	№	R ¹	R ²				
1 ^а	4а	Ph	H	ТЭА (0.05)	40	0,5	98
2				ТЭА (0.05)	40	0,5	47 ^б
3				ТЭА (0.05)	40	4,0	47 ^б
4				ТЭА (0.05)	60	3,0	48
5				ТЭА (0.10)	60	0,5	50
6				ТЭА (0.05)	22	3,0	71
7				ТЭА (0.10)	22	3,0	65
8				NMM (0.05) ^в	22	24,0	30
9				NMM (0.10)	22	5,0	65
10	4б	4-MeOC ₆ H ₄	H	ТЭА (0.05)	22	1,0	75
11	4в	4-Me ₂ NC ₆ H ₄	H	ТЭА (0.05)	22	4,0	82
12	4г	2-MeOC ₆ H ₄	H	ТЭА (0.05)	22	6,0	24
13	4д	Ph	Me	ТЭА (0.05)	22	10,0	73 ^г

[а] Литературные данные [140]; [б] в реакционной массе присутствует большое количество исходных реагентов; [в] NMM - *N*-метилморфолин; [г] выход тиопирана **11д**.

В спектрах ЯМР ¹H полученных тиоамидов **4а-г** присутствуют все сигналы протонсодержащих групп с соответствующей мультиплетностью. Например, в спектре соединения **4а** сигналы ароматических протонов представлены в виде АА'ХХ' системы в области 7.03 и 7.68 м.д. с константой $J = 8.8$ Гц. Протоны диеновой системы регистрируются в виде двух дублетов с константами $J = 15.2$ Гц и $J = 11.3$ Гц и дублета дублетов в области 7.03 м.д., который совпадает с сигналом протонов АА'ХХ' системы. Следует отметить, что сигналы аминогруппы представлены в виде двух уширенных синглетов, что является характерным для первичных амидов и тиоамидов при 9.35 и 9.86 м.д.

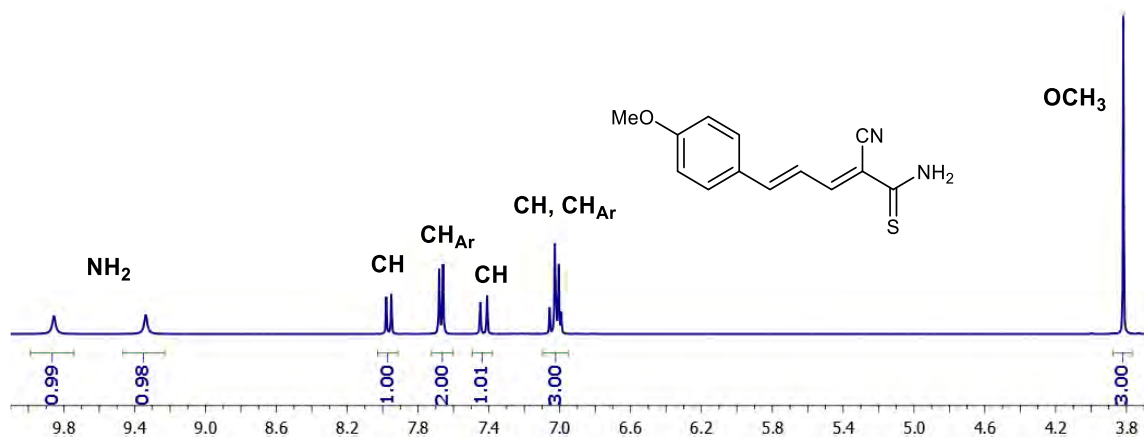


Рис. 2.1. Спектр ЯМР ^1H 5-(4-метоксифенил)-2-цианопента-2,4-диентиамида **4б** (ДМСО- d_6 , 400 МГц)

Конденсация α -метилкоричного альдегида **9д** с цианотиоацетамидом **10** даже при охлаждении привела к получению 2*H*-тиопирана **11д**, строение которого было подтверждено данными ЯМР спектроскопии, масс-спектрометрии и данными РСА. В спектре ЯМР ^1H сигнал аминогруппы регистрируется в виде двухпротонного синглета в области 6.95 м.д, в отличие от тиоамидов **4а-г**, для которых наблюдается два синглета в области 9.3-9.5 м.д. Синглет С(2)Н протона регистрируется в области сильного поля по сравнению с сигналом этого протона в тиоамидах **4а-г**, что связано с изменением гибридизации атома углерода (Рис. 2.2.).

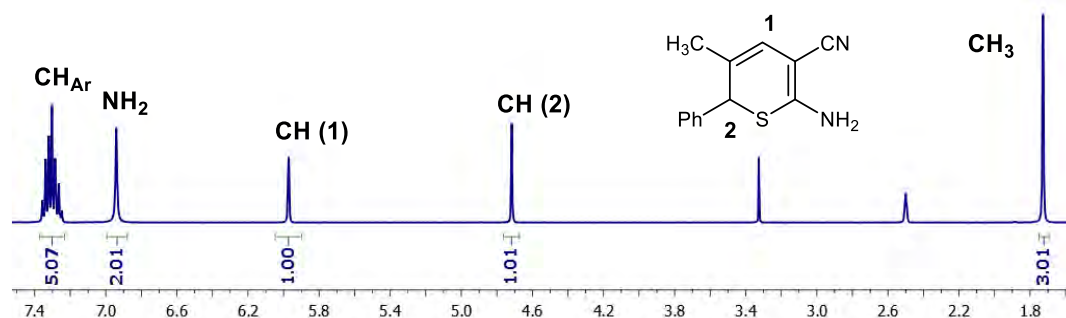


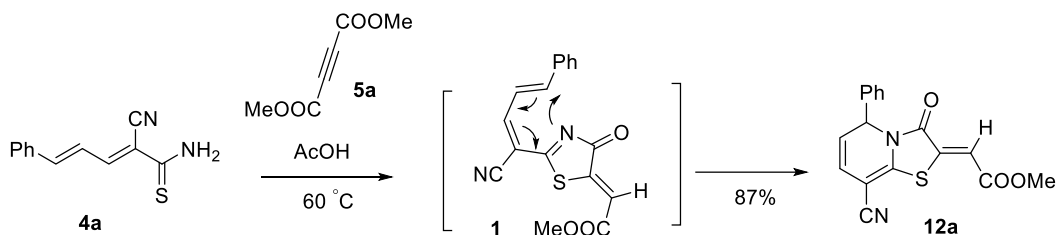
Рис. 2.2. Спектр ЯМР ^1H тиопирана **11д** (ДМСО- d_6 , 400 МГц)

Нагревание 2-цианопента-2,4-диентиамидов **4а-г** в различных растворителях (бензол, этанол, уксусная кислота) не приводит к образованию тиопиранов. Вероятно, решающим фактором, определяющим возможность электроциклизации 1-тио-1,3,5-гексатриеновой системы тиоамида **4д**, стало наличие электронодонорного заместителя во втором положении.

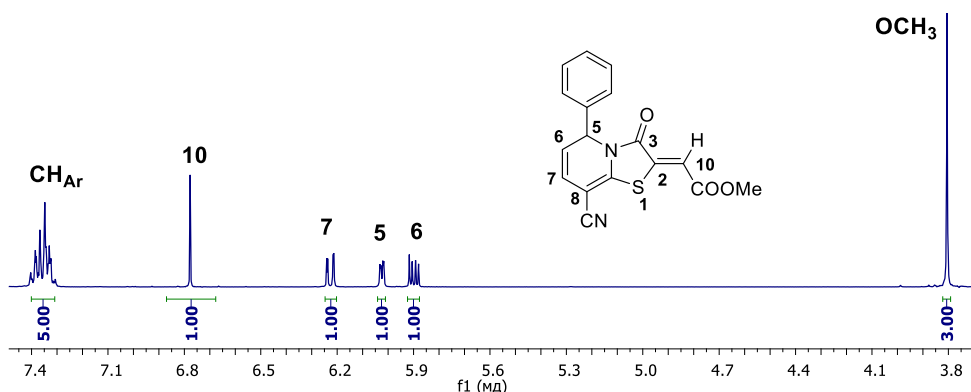
2.1.2. Взаимодействие 2-цианопента-2,4-диентиамидов с производными ацетилендикарбоновой кислоты

Реакция 5-фенил-2-цианопента-2,4-диентиамида **4а** с диметилловым эфиром ацетилендикарбоновой кислоты (ДМАД) **5а** проводили в метаноле, хлороформе, уксусной кислоте как при комнатной температуре, так и при нагревании. С помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) было обнаружено, что образование продукта наблюдается при нагревании реагентов при 60 °С в уксусной кислоте (Табл. 2.2). После завершения реакции (ТСХ) выделение продукта проводили с помощью жидкостной колоночной хроматографии после отгонки растворителя под вакуумом. Анализ спектральных данных показал, что структура синтезированного соединения соответствует структуре 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридина (ДТП) **12а** (Схема 2.4) [141].

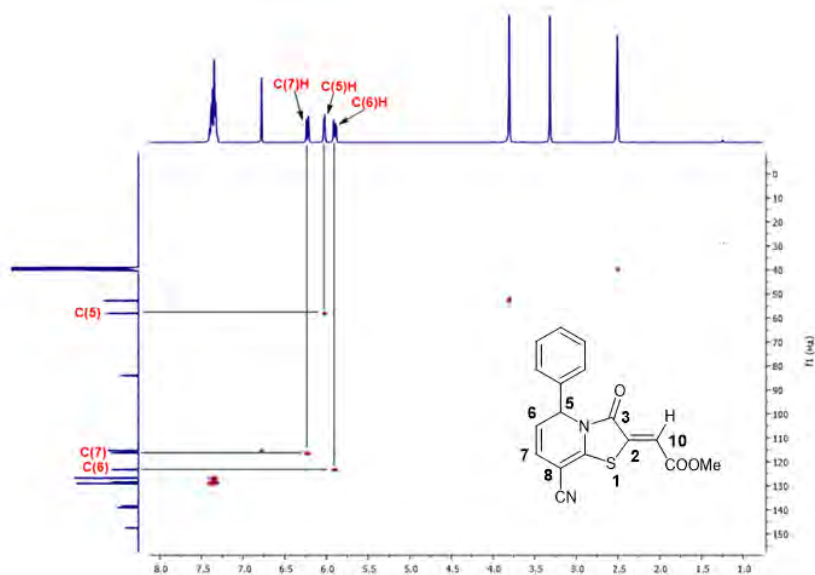
Схема 2.4



Так, в спектре ЯМР ^1H ДТП **12a** наблюдаются сигналы трех протонов C(5)H, C(6)H, C(7)H в виде дублета дублетов при 6.02 м.д. ($^3J = 4.5$, $^4J = 1.4$ Гц), 5.90 м.д. ($^3J = 9.8$, $^3J = 4.6$ Гц) и 6.23 м.д. ($^3J = 9.8$, $^4J = 1.5$ Гц). Однопротонный синглет C(10)H и трехпротонный синглет MeO-группы сложноэфирного фрагмента регистрируются при 6.78 и 3.81 м.д. соответственно, сигналы протонов фенильного цикла – в виде мультиплета в области 7.35 м.д. (Рис. 2.3.).



а



б

Рис. 2.3. (а) Спектр ЯМР ^1H и (б) двумерный спектр HSQC ДТП **12a** (DMCO- d_6 , 400 МГц).

Отнесение сигналов при атомах C5, C6 и C7 было проведено на основании двумерного спектра ЯМР HSQC (Рис. 2.36). Очевидно, что сигнал при 5.90 м.д. принадлежит C(6)H протону с вицинальными константами спин-спинового взаимодействия ($^3J = 9.8, 4.6$ Гц) с соседними протонами C(5)H и C(7)H. В двумерном спектре ЯМР HSQC (прямая корреляция ^1H и ^{13}C) наблюдается кросс-пик сигнала углерода при 58.1 м.д. и протона при 6.02 м.д. Поскольку sp^3 -гибридизованный атом углерода смещается в спектре ЯМР в слабое поле (58.1 м.д.), то на основании данных двумерной спектроскопии можно присвоить связанному с ним протону C(5)H сигнал в виде дублета дублетов в спектре ЯМР ^1H при 6.02 м.д. Кросс-пики сигналов протонов и углеродов C(7)H и C(6)H регистрируются при 6.23 и 116.2 м.д. и 5.90. и 123.3 м.д., соответственно.

Можно предположить, что образование 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридина (ДТП) **12a** произошло по многостадийному механизму, включающему (1) присоединение, (2) циклоконденсацию с образованием тиазолидинонового цикла **1** (Схема 2.4), который благодаря формированию 1-аза-1,3,5-гексатриеновой системы подвергается далее (3) 1,6-электроциклизации с образованием конденсированной тиазолопиридиновой системы.

Структура ДТП **12a** была подтверждена с помощью данных РСА¹, полученных для кристалла, выращенного из разбавленного раствора в ДМСО (Рис. 2.4). Таким образом, в ходе исследуемой реакции для 5-фенил—2-цианопента-2,4-диентиоамида, который отличается от арилтиоакриламидов только увеличением линейной цепи на одно C=C – звено, происходит образование бициклической системы 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридина. Анализ данных РСА для ДТП **12a**, показал, что центральный бициклический фрагмент практически плоский, в то время как фенильный цикл отклоняется от этой плоскости на угол 85,6° (Рис. 2.4б) В молекуле ДТП **12a** наблюдается образование нескольких нековалентных связей: (1) между атомом серы и карбонильным атомом кислорода сложноэфирной группы ($l = 2,751\text{Å}$, $R_{\text{S-O}} = 3,250\text{Å}$), (2) между атомами водорода экзоциклической двойной связи и кислорода метоксигруппы ($l = 2,405\text{Å}$, $R_{\text{O-H}} = 2,600\text{Å}$). Кристаллическая ячейка включает две молекулы *R*- и *S*-энантиомеров ДТП **12a**, которые расположены антипараллельно (Рис. 2.4в). В кристаллической упаковке ДТП **12a** молекулы расположены стопками, в которых они ориентированы антипараллельно друг другу (Рис. 2.4г-е). Поскольку плоскости дигидротиазолопиридинового фрагмента в молекулах, лежащих в соседних слоях в стопке, значительно смещены, а между слоями расположен фенильный фрагмент, который, таким образом, отодвигает их друг от друга, то можно предположить, что π - π взаимодействие между слоями достаточно слабое.

¹ Рентгено-структурный анализ проведен к.х.н Слепухиным П.А., ИОС УрО РАН

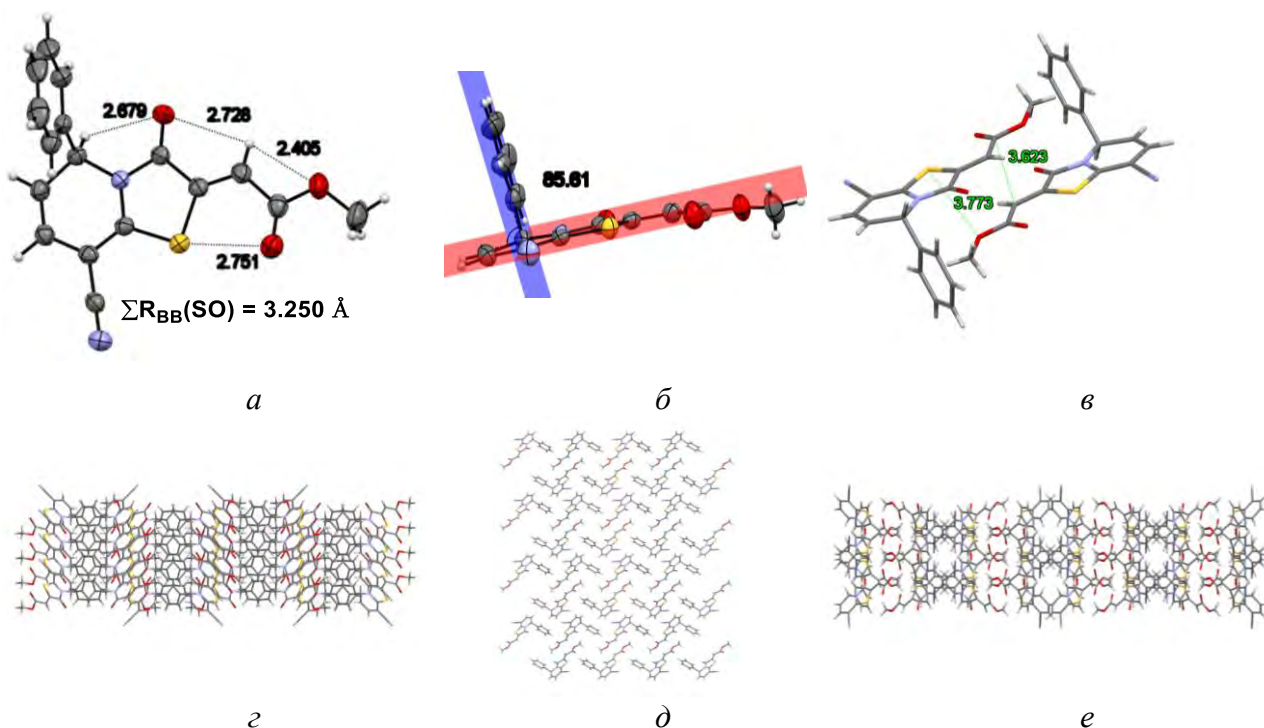
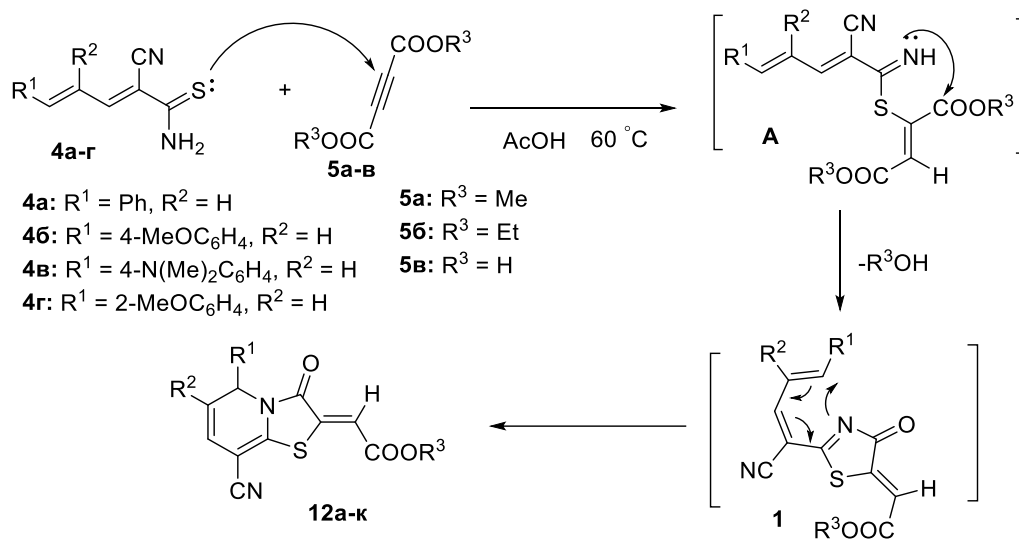


Рис. 2.4. Структура ДТП **12a** по данным РСА: (а) фронтальный вид; (б) вид сбоку; (в) молекулы *R*- и *S*-энантиомеров в кристаллической ячейке; упаковка молекул **12a** в кристалле: вид по оси а (г), b (д) и с (е).

С целью определения области распространения обнаруженных превращений было проведено взаимодействие 2-цианопента-2,4-диентоамидов **4a-г** с ацетилендикарбоновой кислотой **5в** и ее метиловым и этиловым эфирами **5a,б** в тех же условиях. Это позволило получить ряд новых ДТП **12a-к** с умеренными и хорошими выходами (Схема 2.5, Табл. 2.2).

Схема 2.5



Выходы ДТП **12а-к** и время превращения тиоамидов **4а-г** в реакции с производными ацетилендикарбоновой кислоты **5а-в**.

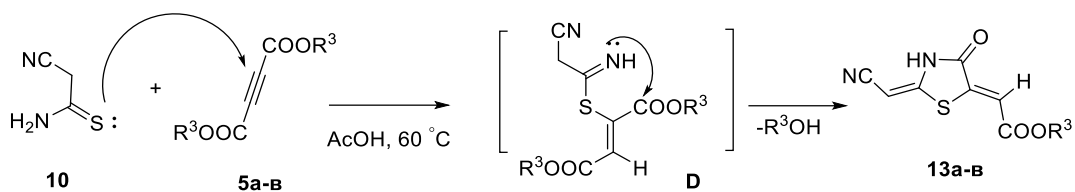
№ п/п	Реагенты	Продукты			Время, (ч)	Выход, (%)
		№	R ¹	R ³		
1	4а+5а	12а	Ph	Me	10	87
2	4б+5а	12б	4-MeOC ₆ H ₄	Me	1	66
3	4в+5а	12в	4-Me ₂ NC ₆ H ₄	Me	1	50
4	4г+5а	12г	2-MeOC ₆ H ₄	Me	1	38
5	4а+5б	12д	Ph	Et	5	45
6	4б+5б	12е	4-MeOC ₆ H ₄	Et	10	78
7	4в+5б	12ж	4-Me ₂ NC ₆ H ₄	Et	5	30
8	4г+5б	12з	2-MeOC ₆ H ₄	Et	48	48
9	4а+5в	12и	Ph	H	3	59
10	4б+5в	12к	4-MeOC ₆ H ₄	H	1	68

Уксусная кислота, по-видимому, играет активную роль в реакции, ускоряя конденсацию с ацетиленовыми реагентами, активируя их электрофильные центры и связывая выделяющийся в ходе реакции метанол. Снижение выхода реакции тиоамида **4в** с эфирами **5а,б** может быть связано с возможностью протонирования N(Me)₂-группы, что приводит к уменьшению активности нуклеофильных центров тиоамидного фрагмента.

Ключевым интермедиатом этого превращения является промежуточный тиазолидинон **1** (Схема 2.5), который может быть получен альтернативным методом конденсацией соответствующих α,β-ненасыщенных альдегидов с (5-илиден-4-оксотиазолидин-2-илиден)ацетонитрилами **13**. Очевидно, что при использовании тиазолидинонов **13** в реакции тиоамидов с альдегидами **9**, мы могли бы избежать побочного превращения цианопента-2,4-диентоамидов в тиопираны, которое является существенным препятствием для вовлечения в превращение более широкого круга исходных соединений.

Синтез тиазолидинона **13а** был ранее описан в литературе при взаимодействии 2-циантиоацетамида **10** и ДМАД **5а** в хлороформе при комнатной температуре [106]. Основываясь на ранее сделанных нами выводах об активизирующем влиянии уксусной кислоты, мы провели реакцию цианотиоацетамида **10** с ДМАД **5а** при нагревании в этой кислоте (Схема 2.6, Табл. 2.3).

Схема 2.6



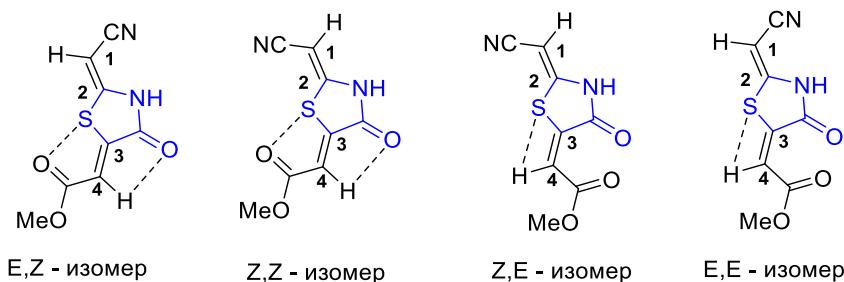
Мы распространили эту методику на реакции цианотиоацетамида **10** с ацетилендикарбоновой кислотой **5в** и ее этиловым эфиром **5б** и получили описанные ранее в литературе тиазолидиноны **13а,б** с большими выходами, а также новое производное этого ряда - тиазолидинон **13в** (Табл. 2.3).

Таблица 2.3

Выходы тиазолидинонов **13а-в** и время превращения цианотиоацетамида **10** в реакции с производными ацетилендикарбоновой кислоты **5а-в**.

№, п/п	Соед-ние	R ³	Время, (ч)	Выход, (%)
1	13а	Me	3	68
2	13б	Et	3	84
3	13в	H	2	71

В спектре ЯМР ¹H наблюдается двойной набор сигналов протонсодержащих групп в соотношении 1:5, что может быть связано с существованием соединений **13** в форме двух изомеров (Рис. 2.5 и 2.6), хотя наличие двух экзоциклических двойных С=C связей предполагает возможность образования четырех геометрических изомеров.

Рис. 2.5. Стереизомеры тиазолидинона **13а**

Можно предположить, что наиболее стабильными изомерами для соединений **13** будут *E,Z*- и *Z,Z*-изомеры, поскольку для них возможна стабилизация структуры за счет нековалентных внутримолекулярных взаимодействий, которые, по данным литературы, характерны для соединений такого типа [139].

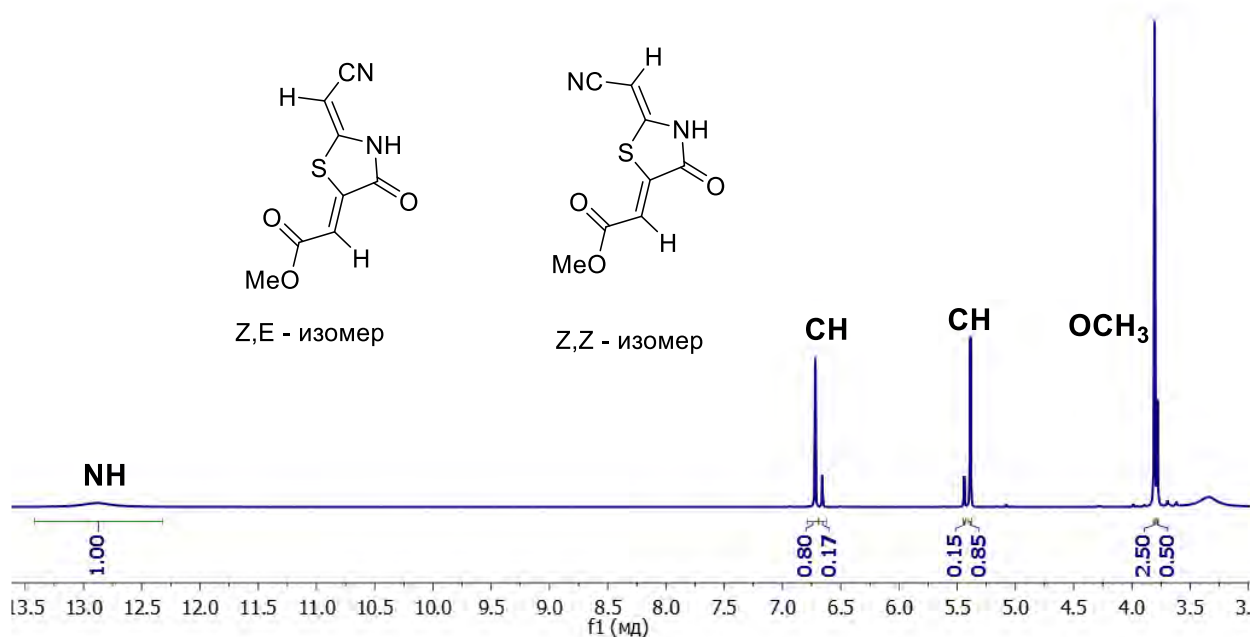


Рис. 2.6. Спектр ЯМР ^1H метил 2-(4-оксо-2-(цианометилен)тиазолидин-5-илиден)ацетата **13a** (ДМСО- d_6)

Конденсация тиазолидинонов **13a** и **13б** с коричным альдегидом при кипячении в уксусной кислоте в присутствии ацетата натрия привела к образованию ДТП **12a** и **12д** (Схема 2.7). Однако, выходы их были меньше, чем по альтернативному варианту (см. Схема 2.5, Табл. 2.2. и 2.4.). Реакция тиазолидинонов **13a** и **13б** с метилкоричным, тиглевым и кротоновым альдегидами **9e-з** позволила получить ряд новых ДТП **12л-п** (Табл. 2.4).

Схема 2.7

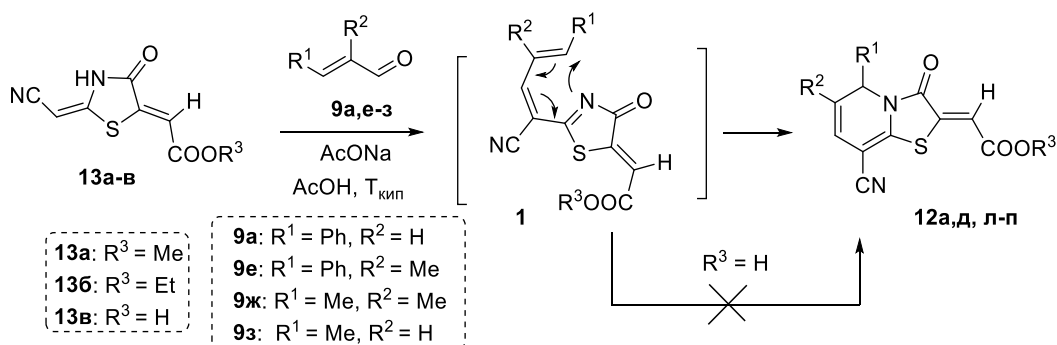


Таблица 2.4

Выходы ДТП **12a,д,л-п** и время реакции альдегидов **9a,e-з** с тиазолидинонами **13a-в**.

№, п/п	Реагенты	Продукты				Время, (ч)	Выход, (%)
		№	R^1	R^2	R^3		
1	9a+13a	12a	Ph	H	Me	15	39
2	9a+13б	12д	Ph	H	Et	14	34
3	9e+13a	12л	Ph	Me	Me	15	59
4	9ж+13a	12м	Me	Me	Me	18	22
5	9з+13a	12н	Me	H	Me	14	15

6	9е+13б	12о	Ph	Me	Et	18	34
7	9ж+13б	12п	Me	Me	Et	16	26

Следует отметить, что ДТП **12а,д,л-п** были получены с умеренными и даже небольшими выходами. Использование других растворителей (1,4-диоксан, этанол, хлороформ и ацетонитрил), добавление оснований (*N*-метилморфолин, триэтиламин, карбонат калия, диизопропиламин) и ангидрида уксусной кислоты, проведение реакции при нагревании или в микроволновом реакторе не приводит к повышению выходов ДТП **12а,д,л-п** или даже к образованию целевых продуктов (контроль реакции с помощью ТСХ не показал расходования исходных реагентов). Ужесточение условий реакции сопровождалось образованием продуктов деструкции.

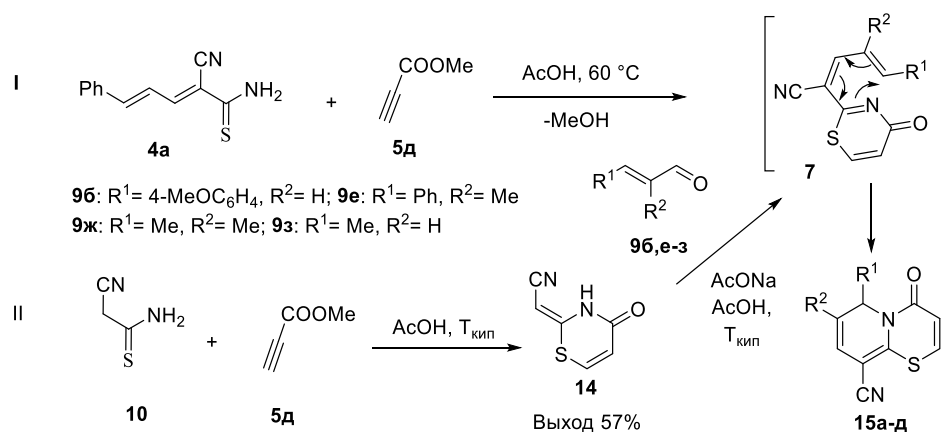
Поскольку кислота **13в** не растворялась в уксусной кислоте и других органических растворителях (CHCl₃, EtOH, MeCN, ацетон, бензол), то ее не удалось ввести в реакцию с альдегидами **9**.

Все полученные продукты были выделены с помощью жидкостной колоночной хроматографии, структуры подтверждены с помощью набора спектральных данных (ЯМР ¹H и ¹³C спектроскопия, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения).

2.1.3. Взаимодействие 2-цианопента-2,4-диентиамидов **4а-г** с метилпропиолатом

Следующей стадией нашей работы стало исследование возможности использования в исследуемых превращениях близкого аналога ацетиленкарбоновой кислоты – метилового эфира пропиоловой кислоты. Взаимодействие 2-цианопента-2,4-диентиамидов **4** с метиловым эфиром пропиоловой кислоты **5д** в условиях, разработанных нами ранее (Схема 2.5), завершилось образованием продукта только для реакции тиамида **4а**. В результате был получен 4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазин-9-карбонитрил (ПТЗ) **15а** (Схема 2.8 метод I).

Схема 2.8



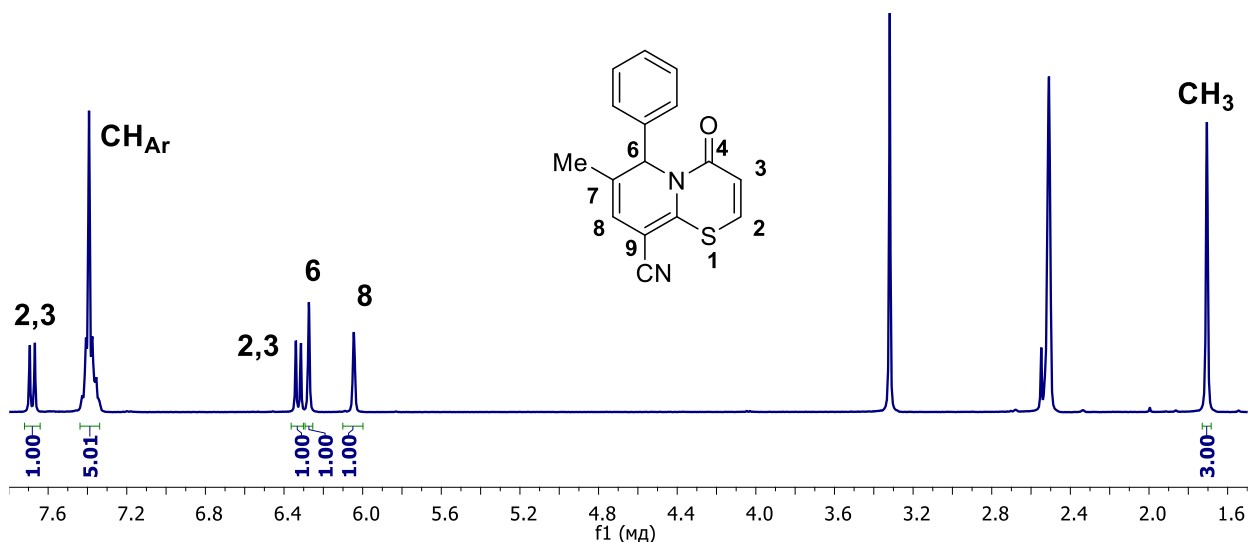
Для осуществления альтернативного пути реакции (Схема 2.8 метод II) мы получили тиазинон **14** и провели реакцию с альдегидами **9б**, **е-з**. В результате кипячения реагентов в уксусной кислоте в присутствии ацетата натрия были получены новые ПТЗ **15б-д** (Табл. 2.5).

Таблица 2.5

Выходы и время превращения в синтезе ПТЗ **15а-д**.

№, п/п	Соед-ние	Заместители		Время, (ч)	Выход, (%)	Метод
		R ¹	R ²			
1	15а	Ph	H	30	62	1
2	15б	4-MeOC ₆ H ₄	H	14	11	2
3	15в	Ph	Me	8	46	2
4	15г	Me	Me	20	33	2
5	15д	Me	H	13	15	2

Структура полученных соединений была подтверждена набором спектральных данных (Рис. 2.7) и данных РСА, полученных для кристалла соединения ПТЗ **15а**, выращенного из разбавленного раствора в ДМСО (Рис. 2.8). В спектре ЯМР ¹H ПТЗ **15в** регистрируются синглеты С(6)H, С(8)H в области 6.04 и 6.27 м.д., сигналы протонов С(2)H и С(3)H тиазинонового цикла в виде системы АХ в области 6.33 и 7.68 м.д. с константой $J = 10.3$ Гц, а также синглет протонов С(6)CH₃ группы и ароматических протонов в области 1.71 и 7.39 м.д. соответственно (Рис. 2.7).

Рис. 2.7. Спектр ЯМР ¹H ПТЗ **15в** (ДМСО-d₆, 400 МГц)

Данные рентгеноструктурного анализа показали, что пиридо-тиазиновый бицикл практически плоский, в то время как фенильный фрагмент отклоняется от этой плоскости на 89,4 °С (Рис. 2.8). В молекуле наблюдается образование водородной связи между атомами водорода при С5 атоме пиридинового цикла и кислорода С=О группы тиазинового фрагмента

($l = 2,243 \text{ \AA}$), что меньше, чем сумма Ван-дер-Ваальсовых радиусов для этих атомов (2.6 \AA). В кристаллической ячейке два энантиомера ориентированы друг к другу гетероциклическими фрагментами, в то время как фенильные циклы расположены ортогонально.

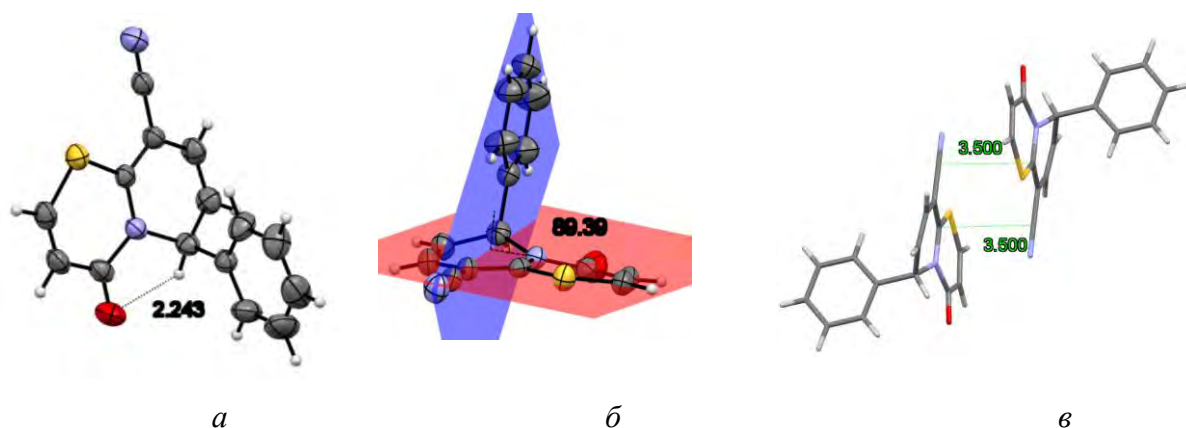


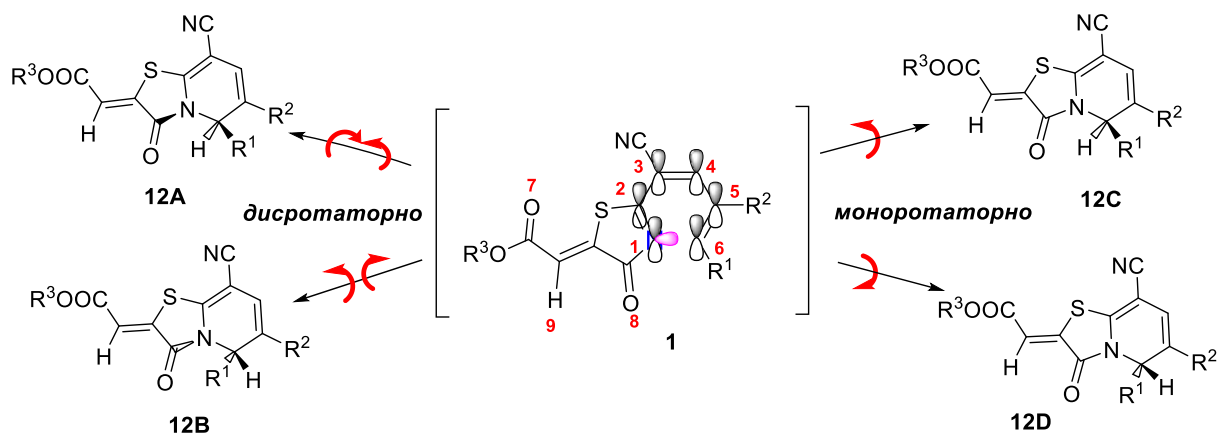
Рис. 2.8. Строение ПТЗ **15a** по данным РСА: (а) фронтальный вид; (б) вид сбоку; (в) молекулы *R*- и *S*-энантиомеров в кристаллической ячейке.

2.1.4. Механизм 1,6-электроциклизации

Основной структурной особенностью тиазолидинонов **1** и 4*H*-1,3-тиазинонов **7** является 1-аза-1,3,5-гексатриеновая система, содержащая $(4n+2)$ π -электронов, для которой возможно осуществление 1,6-электроциклизации при термической активации (Схема 2.5, 2.7, 2.8). Согласно принципу сохранения орбитальной симметрии, этот процесс должен протекать дисротаторно, и в зависимости от направления вращения орбиталей концевых атомов триеновой системы возможно образование двух диастереомеров: **12A** и **12B**. Два цикла, входящие в состав конденсированной гетероциклической системы, в таком случае должны быть расположены под углом, что является следствием образования новой связи в результате поворота π -орбиталей концевых атомов гетерогексатриеновой системы на 90° . Однако, присутствие гетероатома в положении 1 триеновой системы интермедиатов **1** и **7**, имеющего несвязывающую орбиталь с двумя электронами, расположенную в плоскости образующегося цикла, создает возможности для осуществления моноротаторного варианта циклизации. Новая связь образуется за счет вращения только одной орбитали атома С(6). В результате реакции должно происходить формирование энантиомеров **12C** и **12D**, в которых тиазолпиридиновый гетероциклический фрагмент является плоским, а фенильный фрагмент, в результате вращения концевой орбитали связанного с ним атома углерода, располагается ортогонально плоскости гетероциклического остова молекулы. Эти особенности пространственного строения ДТП **12** и ПТЗ **15** подтверждаются данными РСА, полученными для соединений **12a**, **15a**. Бициклическая плоская структура стабилизируется слабыми взаимодействиями между

атомами S и O(7), O(8) и H(C9), которые удерживают фрагменты молекулы в одной плоскости и приводят к формированию так называемой квази-полициклической структуры (Схема 2.9).

Схема 2.9



Для определения термодинамических характеристик стадии 1,6-электроциклизации соединений **4a**, **1a**, **7a** были проведены квантово-механические расчеты (DFT) с учетом эффекта растворителя (AcOH) при 333 K². Значения ΔG и ΔH последней стадии циклизации с образованием тиопирана **11a**, тиазолопиридина **12a** и пиридоптиазина **15a** были рассчитаны (Табл. 2.6; Приложение 1, Табл. 1) для более стабильных ротамеров.

Таблица 2.6

Значения ΔG and ΔH стадии 1,6-электроциклизации соединений **4a**, **1a** и **7a**

№, п/п	Стадия 1,6-электроциклизации	ΔG , кДж/моль	ΔH , кДж/моль
1	4a → 11a	-11.7 – 8.5	-21.9 – 1.2
2	1a → 12a	-67.9 – -50.8	-76.9 – -30.7
3	7a → 15a	-49.3 – -35.7	-64.1 – -44.1

Сравнение энергии Гиббса и энтальпии для этих превращений показало, что наиболее благоприятной с точки зрения термодинамики является реакция электроциклизации с образованием ДТП **12a**, для которой величина свободной энергии Гиббса имеет наименьшее значение. Энергия Гиббса также имеет большое отрицательное значение для превращения интермедиата **7a** в ПТЗ **15a**. Несмотря на то, что циклизация в тиопиран **11a** менее вероятна, она все же возможна. Эти данные согласуются с экспериментальными данными и общими закономерностями процесса 1,6-электроциклизации.

На основании данных PCA (см. Рис. 2.4 и 2.8), согласно которым отклонение фенильного фрагмента от плоскости гетероциклического остова составляет практически 90°,

² Расчеты проведены Э. Бенасси, Университет Модены и Реджо-Эмилии, Италия.

можно предположить моноротаторный вариант реакции электроциклизации и образование *R*- и *S*-энантиомеров. Бициклическая плоская структура стабилизируется слабыми взаимодействиями между атомами S и O(7), O(8) и H(9), которые удерживают фрагменты молекулы в одной плоскости (см. Рис. 2.9).

Возможность образования нековалентных внутримолекулярных взаимодействий в молекуле тиазолопиридина была проверена с помощью расчета приведенного градиента электронной плотности (RDG) (Рис. 2.9), который представляет собой один из современных методов для исследования слабых внутри- и межмолекулярных взаимодействий [142,143].

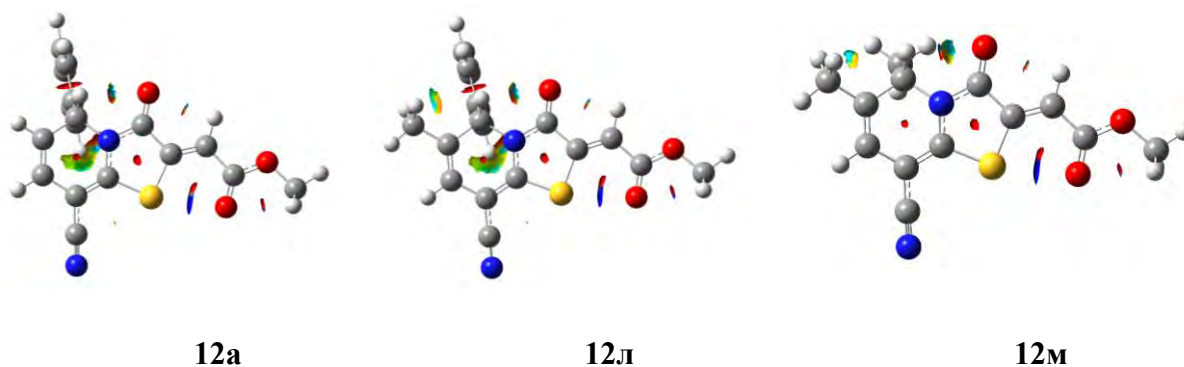
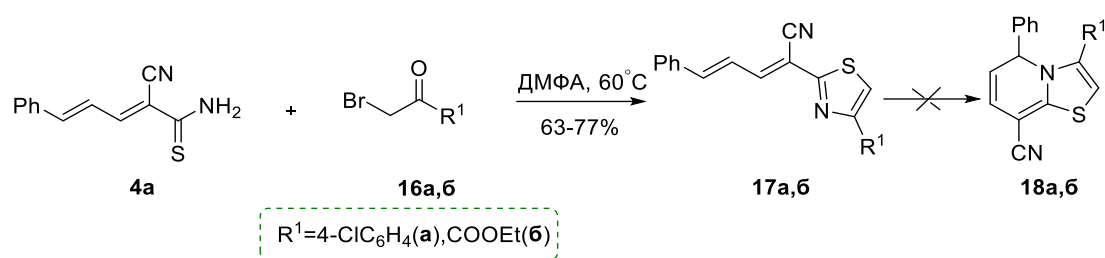


Рис. 2.9. График RDG ДТП **12а,л,м** в растворе ДМСО. Цвета изоповерхностей: красный (сильное отталкивание), желто-зеленый (слабое отталкивание), зелено-бирюзовый (слабые взаимодействия) и синий (сильные взаимодействия). Цвета атомов: белый (H), серый (C), синий (N), красный (O) и желтый (S).

Анализ межмолекулярных взаимодействий подтвердил вероятность образования Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий (фигура зелено-бирюзового цвета), водородной связи (синий цвет) между атомами водорода экзоциклической двойной связи и атомом кислорода метоксигруппы и донорно-акцепторного взаимодействия серы с атомом кислорода карбонильной группы. Эти особенности структуры тиазолопиридина создают особую более стабильную архитектуру молекул этого соединения, так как большинство ее фрагментов и заместителей закреплены внутримолекулярными взаимодействиями и образуют квази-полицикл.

Следует отметить, что аналогичная гексатриеновая система в тиазолах **17** не активна, и даже кипячение этих соединений в *m*-ксилоле, уксусной кислоте и бензоле или воздействие микроволнового излучения не приводит к образованию соответствующих тиазолопиридинов **18** или тиопиранов и завершается образованием тиазолов **17а,б** (Схема 2.10).

Схема 2.10



2.1.5. Оптические свойства 2,3-дигидро-5H-тиазоло[3,2-а]пиридинов

ДТП **12а-п** хорошо растворяются в ДМСО, CHCl_3 , CH_2Cl_2 , ДМФА, умеренно растворяются в EtOH и практически не растворяются в гексане. Растворы ДТП **12а-п** обладают желтой флуоресценцией. Фотофизические свойства ДТП **12а-п** были изучены в ДМСО (Рис. 2.10, Табл. 2.7).

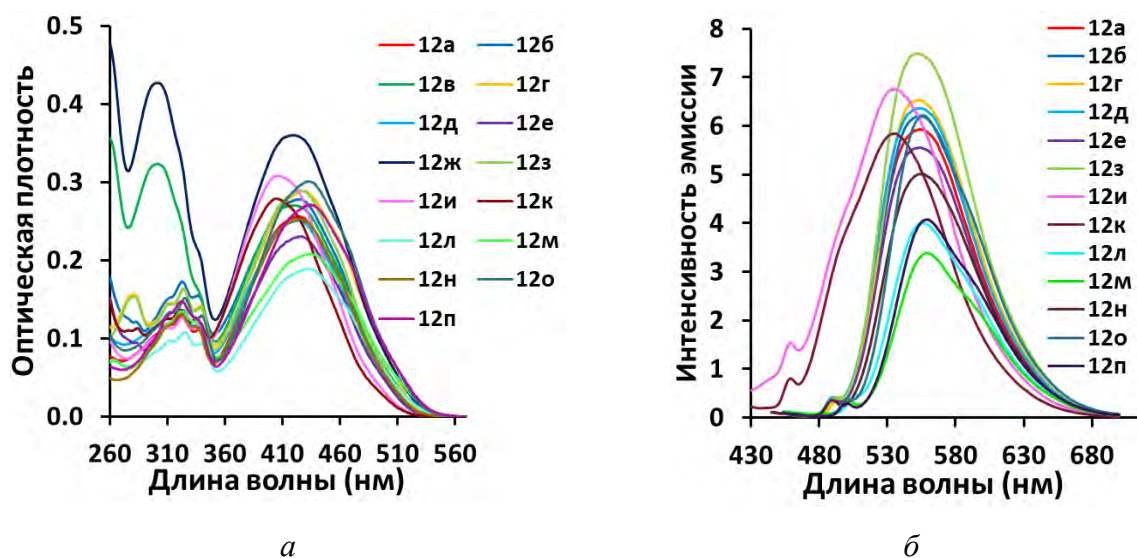


Рис. 2.10 Спектры (а) поглощения (ДМСО, $C = 2,5 \times 10^{-5}$ М) и (б) эмиссии (ДМСО, $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М) ДТП **12а-п**.

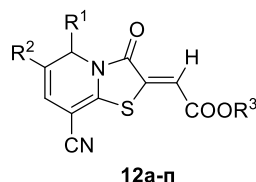
В спектрах поглощения ДТП **12а-п** длинноволновый максимум поглощения расположен в области 404–434 нм (Рис. 2.10а). Максимумы испускания регистрируются в области 534–559 нм (Рис. 2.10б). Для ДТП **12а,б,г-е,з-п** характерны большие значения сдвига Стокса (124-132 нм / $5141\text{-}6096 \text{ см}^{-1}$) (Табл. 2.7). Молярные коэффициенты экстинкции изменяются в диапазоне $\epsilon = 7520\text{--}14400 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Низкая интенсивность флуоресценции может быть вызвана значительными потерями поглощенной энергии за счет безызлучательных процессов во время геометрической релаксации вследствие неароматической структуры ДТП **12а-п**. Соединение ДТП **12в** не обладает флуоресценцией в растворах ДМСО, ДМСО- H_2O и MeCN. Однако добавление к его

раствору в ДМСО трифторуксусной кислоты вызывало появление эмиссии, по-видимому, из-за протонирования группы N(Me)₂ (Приложение 2, Табл. 1).

Таблица 2.7

Данные спектров поглощения и испускания ДТП **12а-п** (ДМСО, для поглощения $C = 2,5 \times 10^{-5}$ М, для испускания $C = 5,0 \cdot 10^{-6}$ М).



№, п/п	Соед-ние	R ¹	R ²	R ³	λ _{полг.} , ^[а] нм	ε, М ⁻¹ см ⁻¹	λ _{исп.} , ^[б] нм	QY, ^[в] %	SS, ^[г] нм/см ⁻¹
1	12а	Ph	H	Me	424	10200	555	0,9	131/5567
2	12б	4-MeOC ₆ H ₄	H	Me	424	11100	555	0,9	131/5567
3	12в	4-Me ₂ NC ₆ H ₄	H	Me	421	10800	-	-	-
4	12г	2-MeOC ₆ H ₄	H	Me	428	11500	553	1,0	125/5281
5	12д	Ph	H	Et	424	10000	555	1,0	131/5567
6	12е	4-MeOC ₆ H ₄	H	Et	425	9200	554	1,0	129/5479
7	12ж	4-Me ₂ NC ₆ H ₄	H	Et	419	14400	-	-	-
8	12з	2-MeOC ₆ H ₄	H	Et	425	11600	552	1,1	127/5413
9	12и	Ph	H	H	405	12300	534	1.2	129/5965
10	12к	4-MeOC ₆ H ₄	H	H	404	11200	536	0,8	132/6096
11	12л	Ph	Me	Me	432	7500	556	0,6	124/5163
12	12м	Me	Me	Me	434	8300	559	0,6	125/5152
13	12н	Me	H	Me	425	10100	554	0,8	129/5479
14	12о	Ph	Me	Et	433	12000	557	0,8	124/5141
15	12п	Me	Me	Et	434	10800	559	0,6	125/5152

[а] $C = 2,5 \times 10^{-5}$ М представлен только длинноволновый максимум поглощения ДТП **12а-п**; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М; [в] относительный квантовый выход, определенный относительно стандарта (раствор хинин сульфата; $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄ с QY = 54,0 %); [г] сдвиг Стокса.

Следует отметить, что максимумы поглощения и испускания метиловых (ДТП **12а,б**) и этиловых (ДТП **12д,е**) эфиров близки и находятся в области 419-425, 432-434 и 553-559 нм, соответственно. Максимумы поглощения и испускания ДТП **12и,к**, содержащих остаток карбоновой кислоты, сдвинуты в коротковолновую область и располагаются при 404-405 и 534-536 нм, соответственно (Рис. 2.11). Заместители в ароматическом цикле практически не оказывают влияния как на положение максимумов поглощения и эмиссии, так и на их интенсивность.

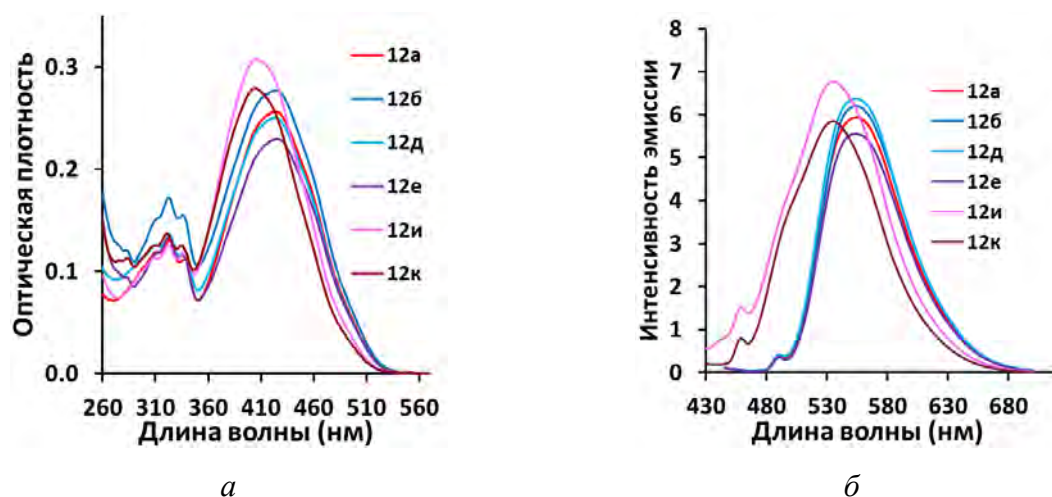
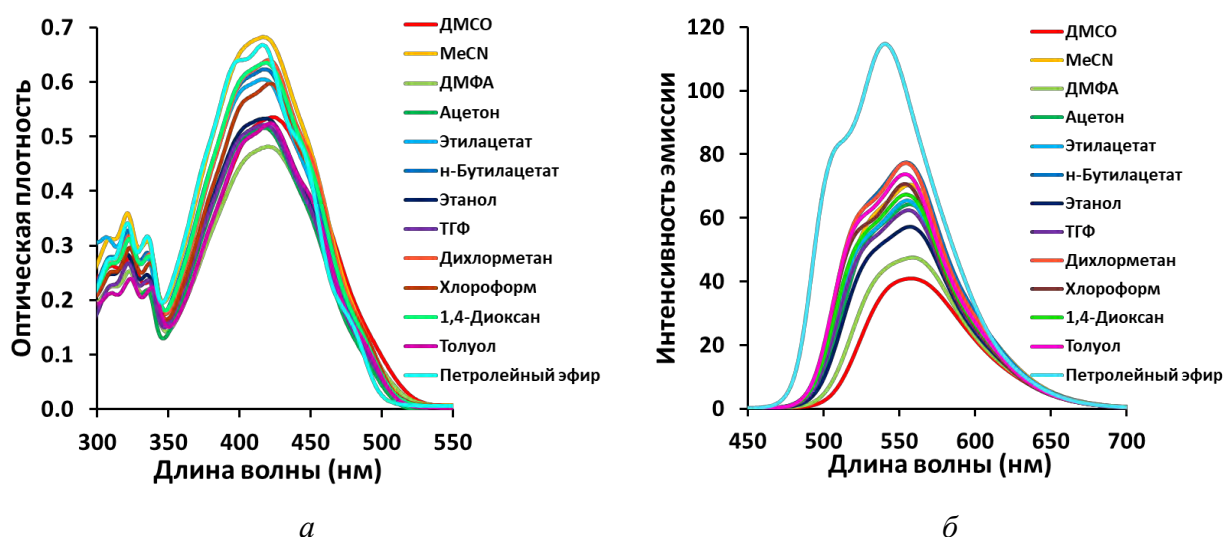


Рис. 2.11. Спектры (а) поглощения (ДМСО, $c = 2,5 \times 10^{-5}$ М) и (б) испускания ДТП 12а,б,д,е,и,к (ДМСО, $c = 5,0 \times 10^{-6}$ М).

Фотофизические свойства соединения ДТП 12а были изучены в растворителях с различной полярностью (Рис 2.12, Табл. 2.8). Положение длинноволнового максимума поглощения практически не зависит от полярности растворителя и располагается в области от 416 до 423 нм. Максимум эмиссии более чувствителен к полярности растворителя и смещается гипсохромно от 559 нм в растворе полярного ДМСО до 541 нм в неполярном гексане. Таким образом ДТП 12а демонстрирует незначительную положительную сольватохромию и более выраженную сольватофлуорохромию. Следует отметить увеличение квантового выхода флуоресценции с 1 до 2,7% при уменьшении полярности растворителя.



а



б

Рис. 2.12. Спектры (а) поглощения и (б) испускания ДТП **12а** в растворителях с различной полярностью ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М). Фотографии растворов ДТП **12а** в растворителях с различной полярностью при облучении видимым (в) и УФ-светом (г).

Таблица 2.8

Характеристики спектров поглощения и испускания ДТП **12а** в различных растворителях.

№, п/п	Растворитель	$\lambda_{\text{погл}},^{[a]}$ нм	$\epsilon, \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{исп}},^{[б]}$ нм	QY, $^{[в]}$ %	SS, $^{[г]}$ нм/см ⁻¹
1	ДМСО	423	11400	559	1,0	136/5752
2	MeCN	416	11900	557	1,5	141/6085
3	ДМФА	421	10800	559	1,2	138/5864
4	Ацетон	416	10800	557	1,6	141/6085
5	AcOEt	416	11100	555	1,8	139/6020
6	AcOBu	418	11900	555	1,8	137/5905
7	EtOH	418	11900	558	1,2	140/6002
8	ТГФ	418	11400	556	1,5	138/5938
9	CH ₂ Cl ₂	420	12100	555	1,9	135/5792
10	CHCl ₃	422	12200	553	1,9	131/5613
11	1,4-Диоксан	418	11200	554	1,9	136/5872
12	Толуол	422	11300	553	2,2	131/5614
13	Гексан	416	12200	541	2,7	125/5554

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М представлен только длинноволновый максимум поглощения ДТП **12а-п**; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М; [в] относительный квантовый выход, определенный относительно стандарта (раствор хинин сульфата; $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄ с QY = 54,0 %); [г] сдвиг Стокса.

Для использования флуорофоров в биологических исследованиях необходимо знать их поведение и оптические свойства в воде. Поскольку триазолопиридины **12а-п** не растворяются в воде, их оптические свойства были изучены в смеси ДМСО:вода (1:9, об/об) (Приложение 2, Табл. 2). Следует отметить, что добавление к растворам ДТП **12** воды в соотношении 1:9 (об/об) не вызвало образования суспензии или агрегатов. Максимумы поглощения и испускания показали незначительный батохромный сдвиг до 437 и 559 нм. Квантовый выход уменьшился в 1,2–5,5 раз. Наибольшее снижение наблюдалось для соединений ДТП **12б** и **12е**.

Порошки ДТП **12а,б,г,л-н** имеют темно-желтый, оранжевый и кирпично-красный цвет и показывают желтую и красную флуоресценцию при облучении (Рис. 2.13).

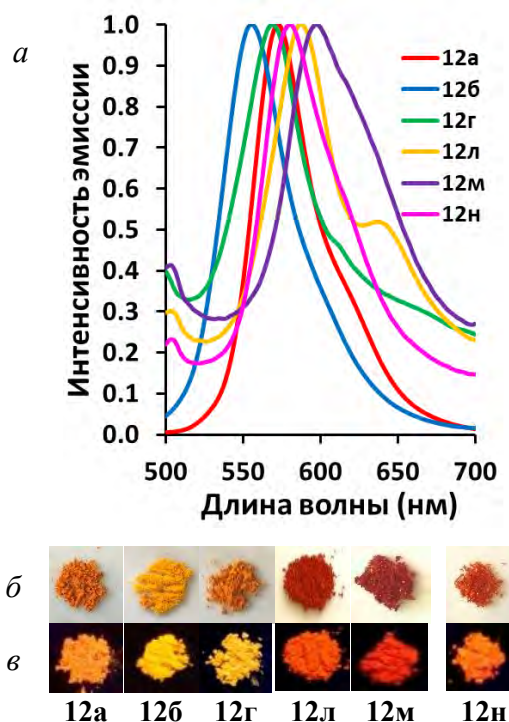


Рис. 2.13 Спектры (а) эмиссии ДТП **12а,б,г,л-н** в твердом состоянии и фотографии порошков при облучении видимым (б) и УФ-светом (в) 365 нм

ДТП **12а,б,г,л-н** продемонстрировали батохромные сдвиги максимумов эмиссии в твердом состоянии (~20-40 нм) по сравнению с максимумами флуоресценции в растворе ДМСО. Сравнение спектров испускания ДТП **12а,б,г,л-н** в твердом состоянии показало, что максимум эмиссии сдвигается батохромно от 556 нм для соединения ДТП **12б** ($R^1 = 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{Me}$) до 598 нм для соединения ДТП **12м** ($R^1 = \text{Me}$, $R^2 = \text{Me}$, $R^3 = \text{Me}$) (Табл. 2.9). Значения квантовых выходов оказались невысокими – 0,6–1,2%.

Таблица 2.9

Данные спектров возбуждения и испускания ДТП **12а,б,г,л-н** в твердом состоянии.

№ п/п	Соединение	$\lambda_{\text{возб}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	QY ^[а] , %	SS ^[б] , нм/см ⁻¹
1	12а	463	573	1,6	110/4146
2	12б	417	556	0,9	139/5995
3	12г	463	570	1,2	107/4054
4	12л	463	587	1,0	124/4562
5	12м	463	598	0,6	135/4876
6	12н	463	580	0,8	117/4357

[а] Абсолютный квантовый выход; [б] сдвиг Стокса.

Появление флуоресценции в твердом виде обычно объясняется увеличением жесткости системы, что приводит к уменьшению безызлучательных потерь энергии при ограничении колебаний и вращений в возбужденном состоянии при геометрической релаксации [119]. На основании данных РСА (Рис. 2.4г, д, е) и квантово-механических расчетов (см. далее) можно предположить, что для ДТП **12а,б,г,л-н** тушение флуоресценции в твердом виде за счет передачи энергии при взаимодействиях между возбужденной и невозбужденной молекулами флуорофора снижено благодаря расположению между молекулярными слоями фенильного цикла.

Для выявления особенностей геометрии и электронных свойств ДТП **12а,л,м** в основном и возбужденных состояниях были использованы квантово-механические расчеты с помощью теории функционала плотности TD-(DFT) с учетом эффектов растворителя (модель поляризуемого континуума (PCM (DMCO, MeCN))). Геометрия наиболее стабильных ротамеров в основном и возбужденном состояниях представлена в приложении 1, рис. 1.

Основными структурными особенностями ДТП **12а,л,м** являются планарность бициклического гетероциклического остова и экзоциклической двойной связи C=C. Ароматическое кольцо в положении C3 и гетероцикл почти перпендикулярны друг другу. Длины одинарных связей C5-C6, C6-CN, C8-C9, C10-C11 и связей C7-N, N-C8, C8=O, C11=O уменьшаются, а двойных C6=C7, C9=C10 увеличиваются, что говорит о наличии достаточно сильной системы сопряжения в молекуле даже в основном состоянии (Приложение 1, Табл. 2). При возбуждении и последующей геометрической релаксации длины связей в молекулах ДТП **12а,л,м** еще больше выравниваются и сопряжение увеличивается (Приложение 1, Табл. 3). Внутримолекулярная водородная связь между C(8)O и C(11)H становится слабее (Приложение 1, Табл. 4).

Для наиболее стабильных ротамеров ДТП **12а,л,м** были рассчитаны: сила осциллятора (f_{01} и f_{10}), модули электрических дипольных моментов для основного состояния (μ_0), вертикального возбужденного состояния Франка-Кондона (μ_{1v}), низшего возбужденного состояния после геометрической релаксации (μ_{1r}), углы, показывающие изменение направления вектора дипольного момента ($\theta_{0,1v}$ и $\theta_{0,1r}$).

Таблица 2.10

Электронные характеристики ДТП **12а,л,м**, полученные в результате квантово-механических расчетов ((TD-)DFT)^[a]

№ п/п	Соед-ние	Раст-ль	f_{01}	μ_0 , D	μ_{H-L}	f_{10}	μ_{L-H}	μ_{1v} , D	μ_{1r} , D	$\theta_{0,1v}$, °	$\theta_{0,1r}$, °
1	12а	DMCO	0.682	6.0	0.6848	0.601	0.6928	6.4	7.3	88.2	92.8
2		MeCN	0.680	5.9	0.6849	0.598	0.6929	6.4	7.3	88.1	92.6

3	12л	ДМСО	0.697	6.3	0.6861	0.621	0.6948	7.9	8.9	90.1	94.1
4		MeCN	0.694	6.3	0.6862	0.618	0.6948	7.9	8.8	90.0	93.9
5	12м	ДМСО	0.708	6.3	0.6869	0.625	0.6957	8.2	9.2	109.5	112.3
6		MeCN	0.705	6.3	0.6870	0.623	0.6957	8.2	9.1	109.2	111.9

[a] Длина волны поглощения (λ_{01}) и эмиссии (λ_{em}), сила осциллятора (f_{01}) при переходе в возбуждённое состояние и флуоресценции (f_{10}), модули электрического дипольного момента в основном состоянии (μ_0), в вертикальном возбужденном (μ_{1v}), в возбужденном состоянии после геометрической релаксации (μ_{1r}) и углы, сформированные векторами дипольного момента ($\theta_{0,1v}$ и $\theta_{0,1r}$).

Абсолютная величина электрического дипольного момента при возбуждении и релаксации постепенно увеличивается, при этом направление вектора дипольного момента изменяется незначительно (Табл. 2.10).

Распределение электронной плотности ВЗМО и НСМО для ДТП **12а,л,м** представлено на Рис. 2.14 и 2.15. Электронная плотность ВЗМО распределена по бициклическому остову, экзоциклической связи С=C и захватывает частично фенильный фрагмент и метильный заместитель в С4 положении пиридинового кольца (см. Рис 2.3а). В НСМО происходит небольшое, но заметное смещение электронной плотности от дигидропиродина к сложноэфирному фрагменту, что указывает на незначительный внутримолекулярный перенос заряда (ICT) [119]. Фенильное кольцо в распределении электронной плотности НСМО не участвует. Вероятность переходов в возбужденное состояние и последующая флуоресценция количественно характеризуются величиной силы осциллятора. Для ДТП **12а** процесс поглощения ($f_{01} = 0,6802-0,7081$) и испускания ($f_{10} = 0,5980-0,6257$) характеризуются значительной величиной силы осциллятора.

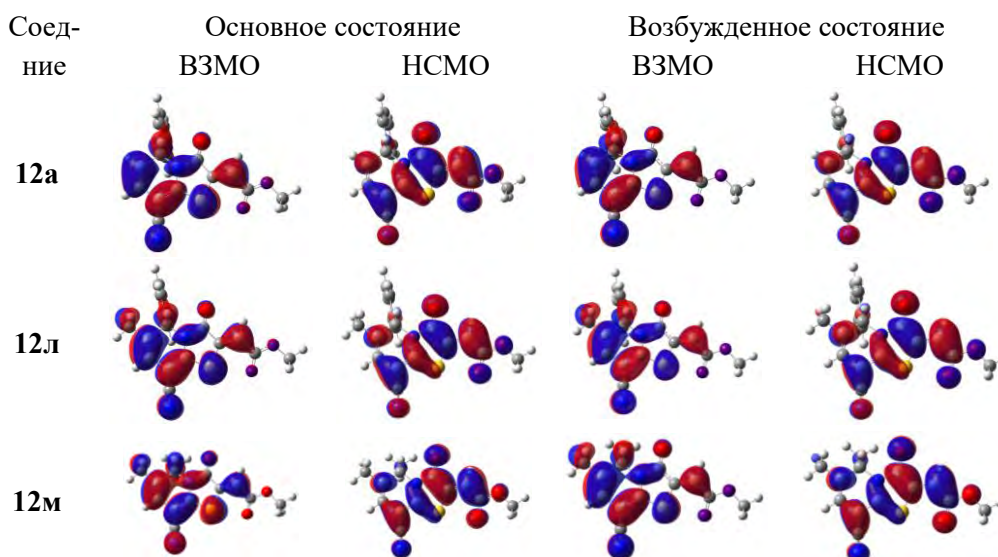


Рис. 2.14. Граничные молекулярные орбитали, ВЗМО и НСМО, в основном и возбужденном состояниях для ДТП **12а,л,м** с учетом влияния растворителя (ДМСО): (TD-)DFT ω -B97X-D/6-311++G**//IEF-PCM(UFF).

Карта молекулярного электростатического потенциала (МЭП) демонстрирует наличие в структуре ДТП **12а,л,м** нескольких активных центров для нуклеофильной и электрофильной атаки, что создает перспективы формирования водородных связей и других слабых межмолекулярных взаимодействий (Рис. 2.15). Активность всех центров усиливалась при поглощении квантов света и переходе молекулы в возбужденное состояние.

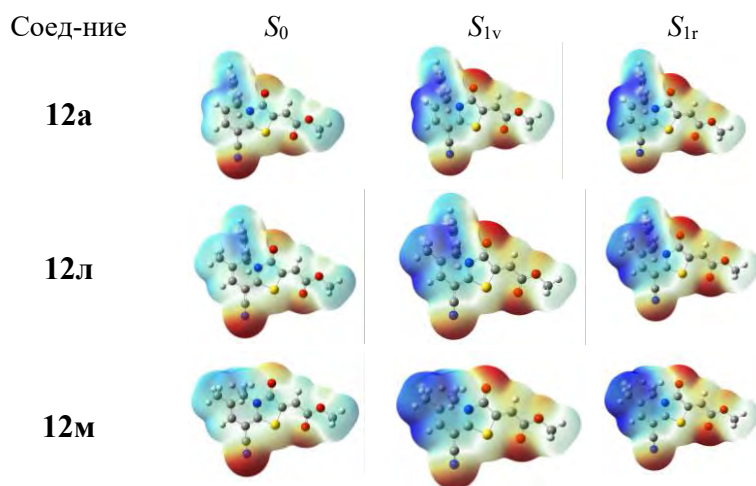


Рис. 2.15. Карты молекулярного электростатического потенциала (МЭП) ДТП **12а,л,м** рассчитанные с помощью TD-DFT (Метод: ω -B97X-D / 6-311++G** // IEF-PCM(UFF)) для основного и возбужденного состояний в ДМСО. Цвета: красный (отрицательный потенциал) и синий (положительный потенциал). Элементы: водород (белый), углерод (серый), азот (синий), кислород (красный), сера (желтый).

2.1.6. Биологические исследования 2,3-дигидро-5*H*-гиазоло[3,2-*a*]пиридинов

Полученные соединения **12а-п** имеют максимум поглощения в видимой области. Это является безусловным преимуществом для использования их в биологических исследованиях, поскольку воздействие видимым излучением является более безопасным для живых организмов и живых клеток. Для того, чтобы определить перспективы использования полученных соединений ДТП **12** в биологии и медицине, было проведено исследование их поведения в биологических системах с помощью конфокального лазерного микроскопа [144,145]. Для экспериментов использовалась культура эпителиальных клеток зеленой мартышки (*Vero*). Клетки инкубировали с ДТП **12а,в,л** в течение 30 минут, оставшийся в межклеточном пространстве краситель отмывали фосфатным буфером. Флуоресценция регистрировалась после окрашивания и промывки клеток.³

Исследования показали, что ДТП **12а** и **12л** легко проникают в клетки и накапливаются в лизосомах (Рис. 2.16). Вещества ДТП **12а** и **12л** флуоресцируют в желтом диапазоне (550–

³ Биологические исследования проведены м.н.с. Мининым А.С. в институте ИИФ УрО РАН

580 нм) при возбуждении лазером длиной волны 405 и 488 нм. В клетках, окрашенных ДТП **12в**, флуоресценция была слегка смещена в синюю область (510–550 нм). Следует отметить, что при возбуждении лазером с длиной волны $\lambda = 405$ нм флуоресценция наблюдается в синей области (450–500 нм), а при возбуждении $\lambda = 488$ нм флуоресценция смещается в желто-зеленый диапазон (500–550 нм). Необходимо отметить, что в ходе исследований ДТП **12а,в,л** не проявили ни токсического, ни фототоксического эффекта на живые клетки.

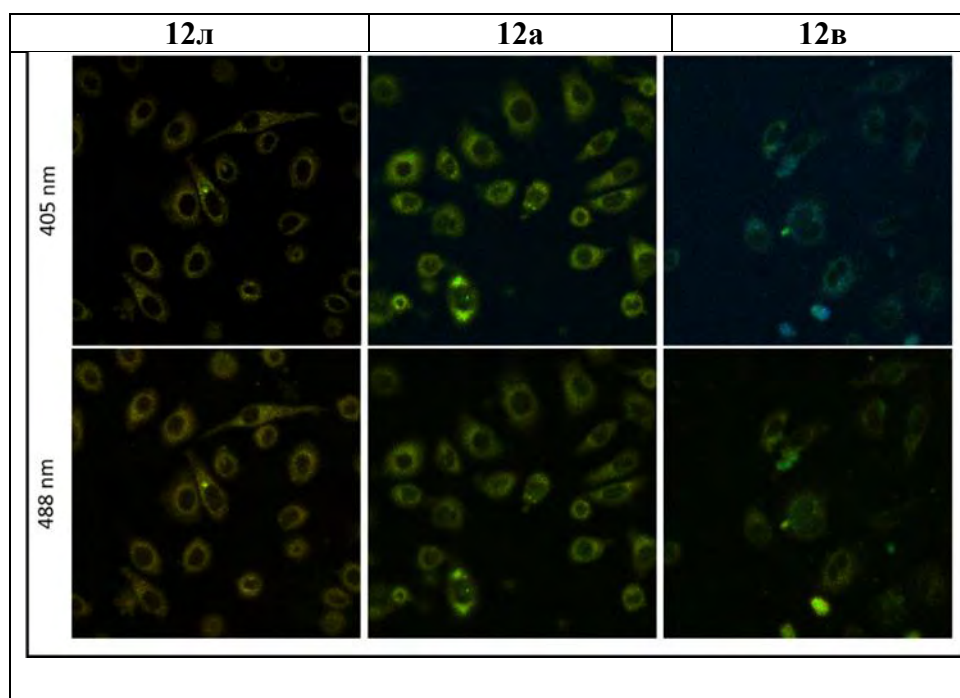


Рис. 2.16. Визуализация клеток (*Vero*), инкубированных с веществами ДТП **12а,в,л** (1.0 μ М) в фосфатном буфере в течение 0,5 ч при 37 °С с помощью конфокального микроскопа при возбуждении лазером $\lambda = 405$ нм и $\lambda = 488$ нм.

Соединение ДТП **12в** не проявляло эмиссию в растворах ДМСО и ДМСО:Н₂О (1:9), и только добавление ТФУ приводило к появлению флуоресценции. По-видимому, в лизосомах более низкое значение рН = 4,5, характерное для этих компартментов, вызывает появление флуоресценции ДТП **12в**.

Таким образом, были получены 1-арил-2-цианопента-2,4-диентииоамиды **4**, и впервые изучено их взаимодействие с ацетилендикарбоновой и пропиоловой кислот и их эфирами. В результате синтезированы соединения, содержащие две редко встречающиеся гетероциклические системы – 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридины **12а-п** и 4-оксо-4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазины **15а-д**. Предложен альтернативный путь синтеза дигидротиазолопиридинов и дигидропиридотиазинов, который позволил получить новые производные этого ряда гетероциклических соединений

Анализ результатов квантово-механических расчетов и данных рентгеноструктурного анализа позволил предположить, что 1,6-электроциклизация происходит моноротаторно.

ДТП **12а-п** продемонстрировали поглощение в видимой области (404–434 нм) и желтую флуоресценцию (534–559 нм) в растворах органических растворителей, а также желтую, оранжевую и красную эмиссию в твердом состоянии. Биологические эксперименты с помощью конфокального сканирующего микроскопа показали, что ДТП **12а,в,л** легко проникают в живые клетки (*Vero*) и накапливаются в лизосомах, о чем свидетельствует желтая и зелено-желтая флуоресценция при возбуждении лазером $\lambda = 405$ и 488 нм.

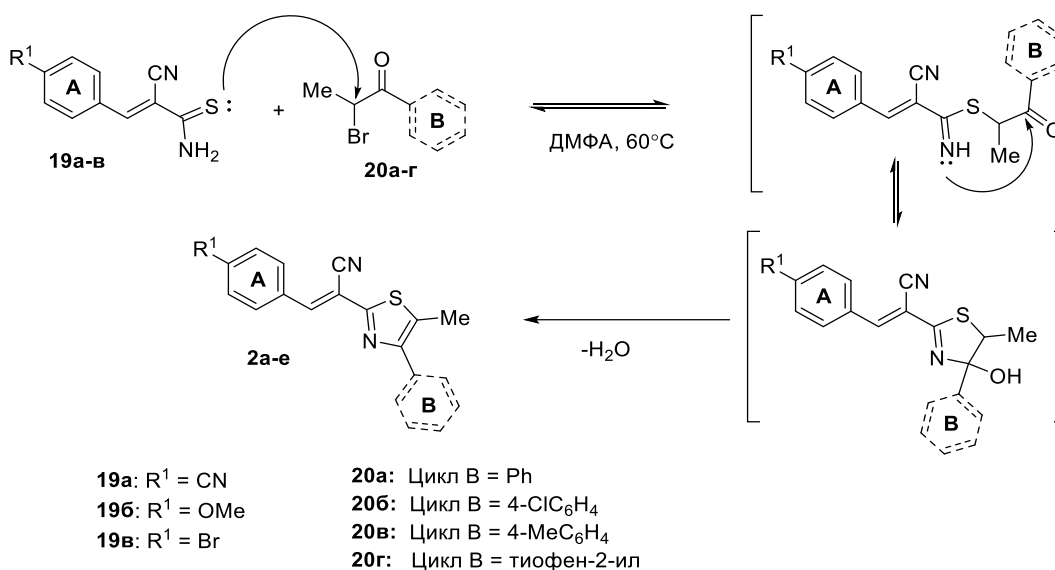
2.2. Синтез и свойства производных 2-арилдентиазола

Анализ литературных данных показал, что тиазолы **A68** (схема 1.67 и 1.68), содержащие во втором положении гетероцикла арилиденный структурный фрагмент [31,35], обладают хорошими фотофизическими свойствами, которые изменяются довольно существенно в зависимости от природы заместителей в концевых ароматических циклах А, В и С. Наиболее значительные фотофизические свойства (сочетание максимумов поглощения и флуоресценции, а также интенсивности флуоресценции) были достигнуты для соединений, содержащих электроноакцепторный заместитель (CN) в цикле А и слабый электроноакцепторный заместитель в цикле В (Cl). Для более полного представления влияния структуры арилдентиазолов на фотофизические свойства необходимо изучить влияние природы заместителя в положении С(5) гетероцикла на распределение электронной плотности в молекуле, что поможет наилучшим образом настроить ее оптические свойства.

2.2.1. Синтез 4-арил-2-арилиден-5-метилтиазолов и 2-арилиден-4,5-диарилтиазолов

3-Арил-2-(4-арил-5-метилтиазол-2-ил)акрилонитрилы **2а-е** (Me-АТЗ) были получены при нагревании тиоамидов **19а-в** с 1-арил-2-бромпропан-1-онами **20а-д** в ДМФА (Схема 2.11) [30,146,147]. Выбор ДМФА был обусловлен растворимостью исходных соединений, а также высоким дипольным моментом и диэлектрической проницаемостью растворителя, что способствует образованию и стабилизации активных частиц и интермедиатов в этом многоступенчатом превращении. Предварительные эксперименты показали, что использование этих условий приводит к образованию продукта даже без использования основания.

Схема 2.11



После окончания реакции (ТСХ) суспензию охлаждали, разбавляли этиловым спиртом и фильтровали. Выходы Ме-АТЗ **2a-e** и время реакции тиоамидов **19a-v** с 1-арил-2-бромпропан-1-онами **20a-г** представлены в таблице 2.11.

Таблица 2.11

Время реакции тиоамидов **19a-v** с бромкетонами **20a-д** и выходы Ме-АТЗ **2a-e**, **3a**.

№, п/п	Соединение	R ¹	Цикл В	Время, ч	Выход, %
1	2a	CN	Ph	20	69
2	2б	OMe	Ph	40	65
3	2в	Br	Ph	22	63
4	2г	CN	4-ClC ₆ H ₄	18	65
5	2д	CN	4-MeC ₆ H ₄	23	62
6	2е	CN	Тиофен-2-ил	26	57

Ме-АТЗ **2a-e** являются новыми соединениями, поэтому для подтверждения их структуры использовали набор спектральных данных (ЯМР ¹H и ¹³C спектроскопия, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения). На рисунке 2.17 представлен спектр ЯМР ¹H Ме-АТЗ **2a**.

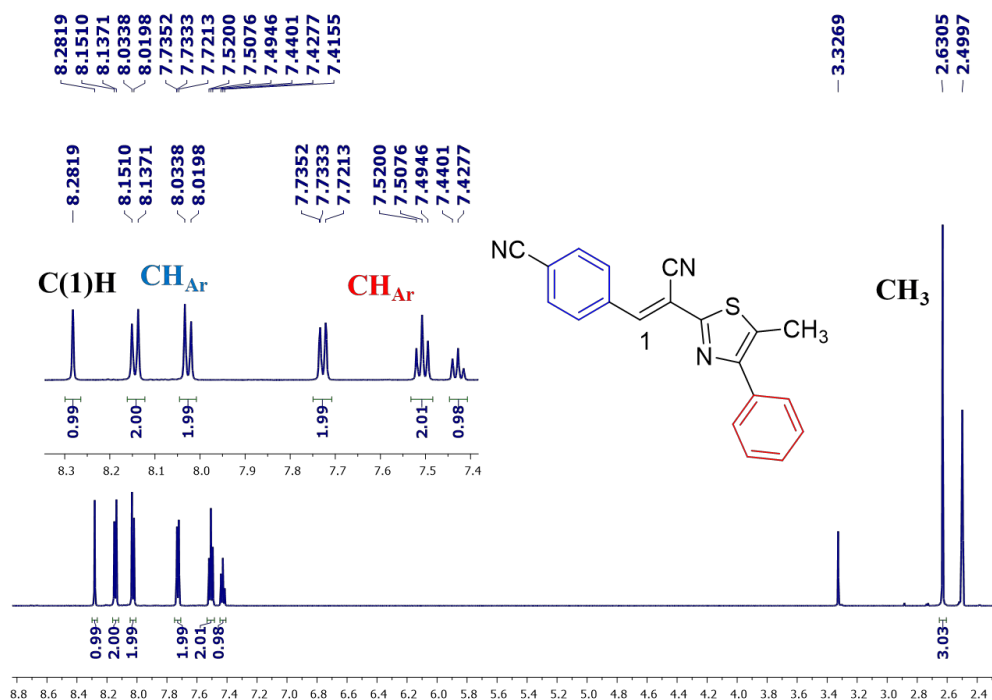


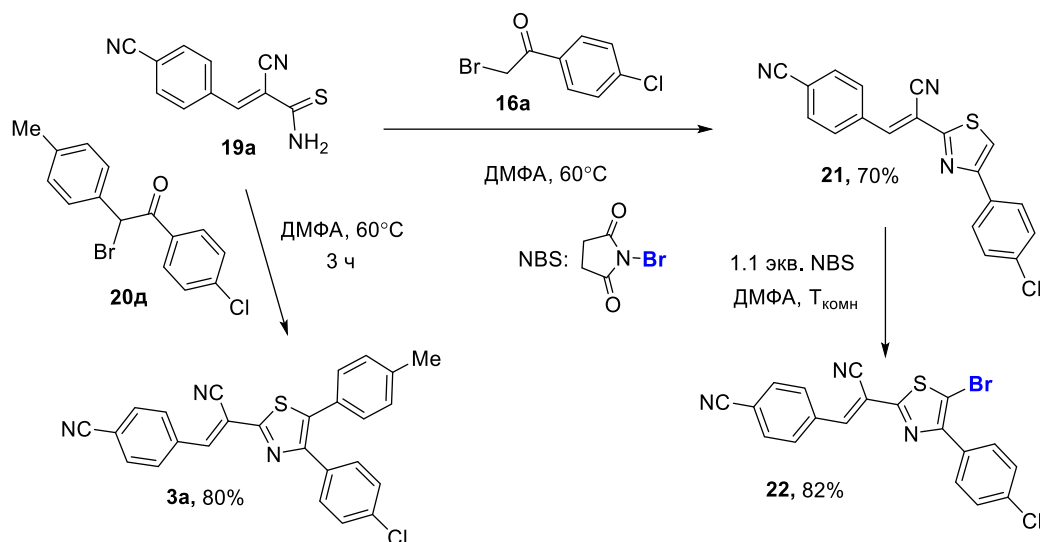
Рис. 2.17. Спектр ЯМР ^1H Me-AT3 **2a** (ДМСО- d_6 , 400 МГц).

Следует отметить, что положение сигнала протона C(1)H в спектрах ЯМР ^1H изменяется в зависимости от природы заместителя в ароматических циклах А и В. Так, при увеличении электронодонорных свойств заместителя в цикле А для соединений **2a-в** происходит смещение сигнала в сильное поле на 0.18-0.19 м.д. Подобное изменение электронной природы заместителя в кольце В Me-AT3 **2г-е** также приводит к смещению синглета протона C(1)H в сильное поле на 0.11-0.14 м.д. Положение сигналов системы AA'XX' протонов ароматического кольца А Me-AT3 **2a-в** в значительной степени зависит от электронных свойств заместителя R¹ и при изменении его свойств от электроноакцепторного к электронодонорному смещается в сильное поле на 0.18–1.04 м.д. Изменение электронной природы заместителя в цикле В соединений Me-AT3 **2a,г-е** не влияет на положение сигналов цикла А в спектрах ЯМР ^1H и наоборот. Это говорит о слабом сопряжении концевых циклических фрагментов А и В в молекуле (см. раздел квантово-химические расчеты). Синглет протонов метильной группы Me-AT3 **2a-д** регистрируется в области 2.61–2.64, кроме тиазола **2e**, для которого сигнал смещен в слабое поле на 0.06-0.09 м.д. Количество сигналов в спектре ЯМР ^{13}C соответствует количеству атомов углерода в структуре соединения. В ИК-спектрах Me-AT3 **2a-е** присутствует полоса в области 2214–2227 cm^{-1} , соответствующая валентным колебаниям CN-группы.

Для получения 4,5-диарилтиазолов (ДАТЗ) **3a-ж** мы воспользовались двумя синтетическими подходами: (1) реакция Ганча арилидентоамидов с 2-бромэтаном **20д**, которая позволила получить тиазол **3a** в одну стадию и с хорошим выходом (Схема 2.12), и (2)

методика, основанная на модификации тиазола **21** с помощью реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияура (Схемы 2.12 и 2.13) через предварительную активацию субстрата **21** введением атома брома в положение 5 гетероцикла [35].

Схема 2.12



В литературе предложены различные условия и реагенты для синтеза производных 5-Br-тиазола: (1) бром в уксусном ангидриде или хлороформе [148,149]; (2) *N*-бромсукцинимид в различных растворителях (хлороформ, ДМФА, ацетонитрил, ТГФ) при охлаждении или при комнатной температуре [150-152]. Для получения 5-Br-АТЗ **22** мы использовали 1,1 экв. *N*-бромсукцинимида (NBS) в ДМФА при комнатной температуре (Схема 2.12). Выбор ДМФА обусловлен плохой растворимостью исходного АТЗ **21** в других растворителях, предложенных для подобной реакции в литературе. Реакция заканчивалась в течение 4 часов (ТСХ), после чего реакционную массу разбавляли этиловым спиртом и отфильтровывали конечный продукт.

В спектре ЯМР ^1H 5-Br-АТЗ **22** присутствуют все сигналы протонов с соответствующей мультиплетностью. Введение атома Br в С5 положение тиазола приводит к смещению сигнала протона С(1)Н в сильное поле на 0.26 м.д. по сравнению с АТЗ **21**. В масс-спектре высокого разрешения присутствует пик молекулярного иона $[\text{M}+\text{H}]^+$ с m/z 427.9443 и пик, соответствующий ионам, содержащим изотоп ^{81}Br , $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ с m/z 429.9418.

В реакции Сузуки-Мияуры важную роль играет выбор палладиевого катализатора и основания. В литературе представлены примеры использования Pd-катализаторов, содержащих различные лиганды: $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ с лигандом Xant-Phos [70,73,153,154]. В качестве основания обычно применяются неорганические соли, такие как K_3PO_4 , Cs_2CO_3 и K_2CO_3 .

Кросс-сочетание 5-Br-АТЗ **22** с арилбороновыми кислотами **23а-е** проводили в микроволновом реакторе в присутствии палладиевого катализатора ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$) и K_2CO_3 (Схема 2.13). После выделения с помощью колоночной хроматографии (элюент – петролейный эфир:этилацетат:дихлорметан=4:2:1) были получены новые производные 2-арилиден-4,5-диарилтиазолов **3б-ж** с хорошими и умеренными выходами (Табл. 2.12).

Схема 2.13

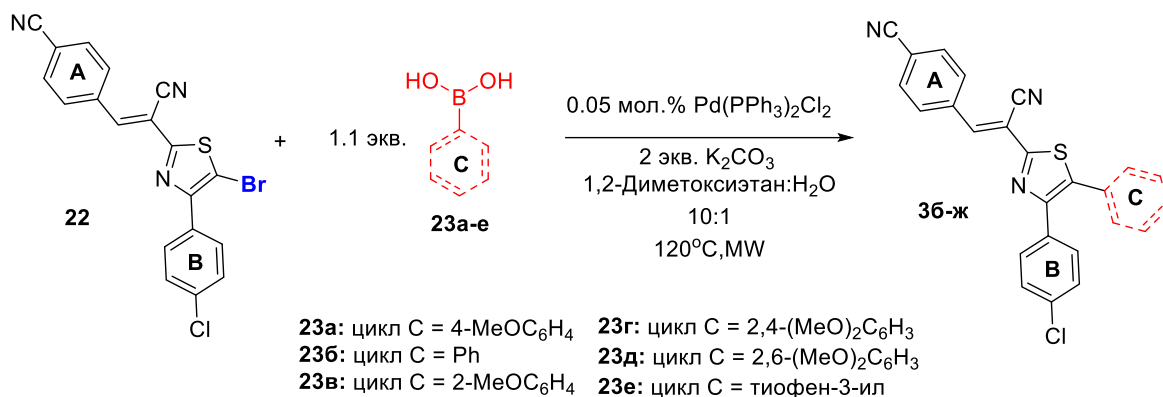


Таблица 2.12

Выходы ДАТЗ **3б-ж** и время реакции кросс-сочетания-АТЗ **22** с арилбороновыми кислотами **23а-е**.

№, п/п	Соед-ние	Цикл С	Время, ч	Выход, %
1	3б	4- MeOC_6H_4	1,0	60
2	3в	Ph	1,5	62
3	3г	2- MeOC_6H_4	2,0	51
4	3д	2,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$	2,5	46
5	3е	2,6-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$	2,5	14
6	3ж	Тиофен-3-ил	1,0	65

Структура полученных ДАТЗ **3а-ж** подтверждена с помощью ЯМР ^1H и ^{13}C спектроскопии, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. На Рис. 2.18 представлен ЯМР ^1H спектр ДАТЗ **3ж**, содержащего тиофеновый фрагмент в С5 положении гетероцикла.

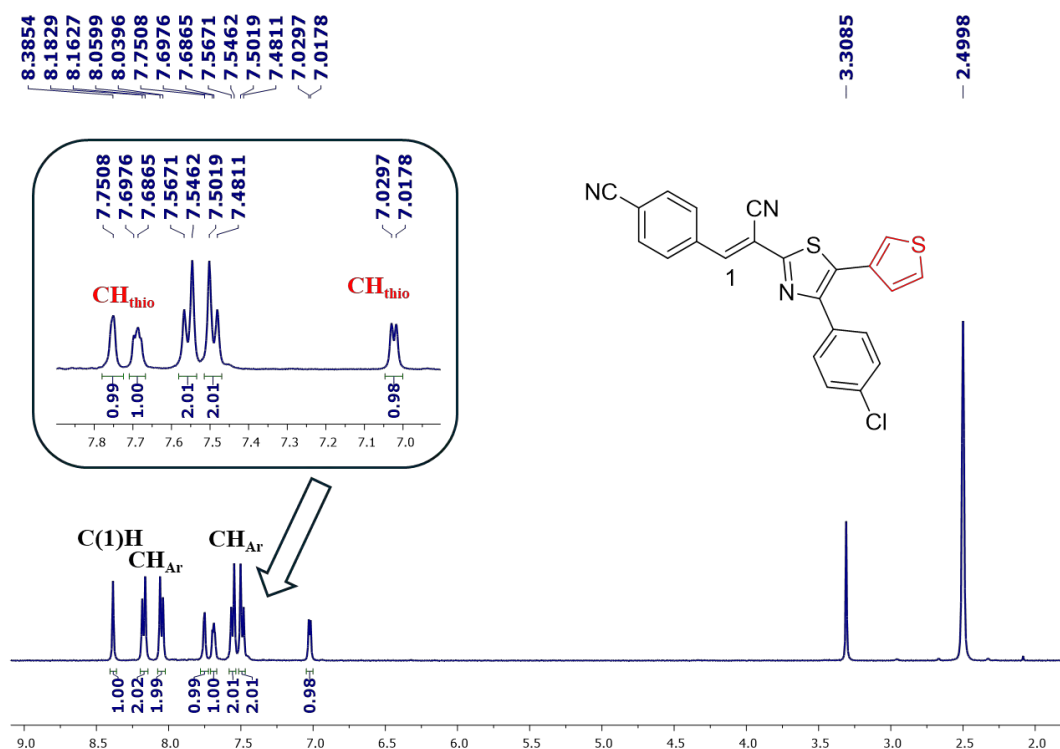


Рис. 2.18. Спектр ЯМР ^1H ДАТЗ **3ж** ($\text{DMSO-}d_6$, 400 МГц).

Электронная природа заместителей и их пространственное расположение в кольце С влияет на положение сигналов в спектре ЯМР ^1H . Для ДАТЗ **3б,г,д,ж**, содержащих сильные электронодонорные заместители в этом цикле, положение сигнала $\text{C}(1)\text{H}$ практически не изменяется, в то время как для ДАТЗ **3а,в,е** наблюдается смещение сигнала протона $\text{C}(1)\text{H}$ в сильное поле на 0.20 м.д. по сравнению с сигналом протона $\text{C}(1)\text{H}$ в исходном ДАТЗ **21**. Та же тенденция наблюдается и для цикла А: сигналы $\text{AA}'\text{XX}'$ системы для ДАТЗ **3а,в,е** смещены в сильное поле на 0.11–0.27 м.д. Введение цикла С оказывает наиболее сильное влияние на сигналы протонов цикла В ДАТЗ **3а–ж**: регистрируется значительное смещение сигналов в сильное поле на 0.07–0.56 м.д.

2.2.2. Фотофизические свойства 4-арил-2-арилиден-5-метилтиазолов

Новые флуорофоры Ме-АТЗ **2а–е** представляют собой кристаллические вещества желтого (Ме-АТЗ **2а–д**) и оранжевого (Ме-АТЗ **2е**) цвета. Растворы Ме-АТЗ **2а,в–е** обладают голубой, зеленой, желтой и оранжевой флуоресценцией, цвет которой изменяется значительно в зависимости от используемого растворителя (Рис. 2.20).

В УФ-спектрах разбавленных растворов Ме-АТЗ **2а–е** в ДМСО присутствуют две полосы поглощения (Рис. 2.19а). Длинноволновые максимумы поглощения расположены в области 373–399 нм и характеризуются хорошими значениями коэффициента молярной экстинкции ($12260\text{--}26800 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) (Табл. 2.13). Для Ме-АТЗ **2а–в** длинноволновый максимум

поглощения практически не изменяется при изменении природы заместителя R^1 в цикле А. Введение электронодонорной Ме-группы в цикл В в тиазоле **2д** или замена этого цикла на тиофеновый фрагмент в соединении **2е** приводит к bathochromному сдвигу максимума поглощения до 20 нм (1323 см^{-1}) по сравнению с Ме-АТЗ **2а,г**.

Максимумы испускания растворов Ме-АТЗ **2а,в-е** в ДМСО регистрируются в довольно широком диапазоне от 493 до 565 нм и зависят от комбинации заместителей в кольцах А и В (Рис. 2.19б, Табл. 2.13). Для Ме-АТЗ **2е** он находится в области более длинных волн, в то время как раствор Ме-АТЗ **2б** совсем не флуоресцирует. Наиболее высокие значения квантовых выходов наблюдались для Ме-АТЗ **2а,г,д**, ($QY = 22-25\%$). Следует отметить, что введение Ме-группы в С(5) положение гетероцикла практически не изменяет положение максимумов поглощения и излучения, но увеличивает квантовый выход примерно в 2 раза [32].

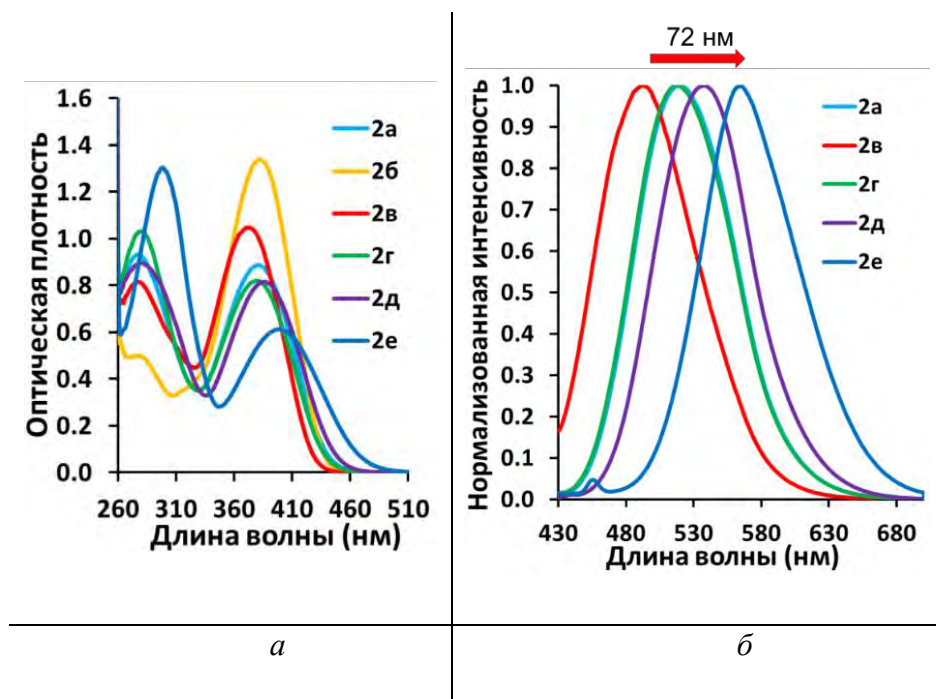
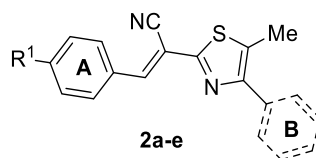


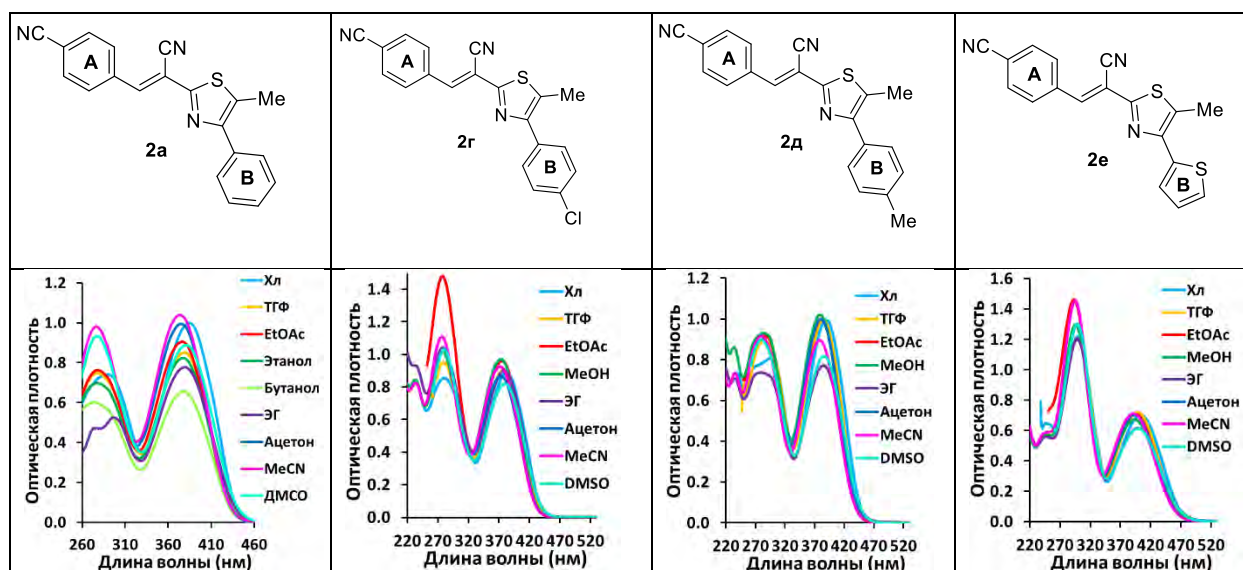
Рис. 2.19. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5} \text{ М}$) и (б) испускания Ме-АТЗ **2а-е** ($C = 5,0 \times 10^{-6} \text{ М}$ для Ме-АТЗ **2а,е**; $C = 2,5 \times 10^{-6} \text{ М}$ для Ме-АТЗ **2б-д**) в ДМСО.

Фотофизические характеристики Ме-АТЗ **2а-е** в ДМСО.

№, п/п	Соед-ние	R ¹	Цикл В	λ _{логл} , ^[а] нм	ε, М ⁻¹ см ⁻¹	λ _{исп} , ^[б] нм	QY, ^[в] %	SS, ^[г] нм/см ⁻¹
1	2а	CN	Ph	278, 380	17300, 17700	519	24,7	139/7048
2	2б	OMe	Ph	275, 381	10000, 26800	-	-	-
3	2в	Br	Ph	277, 373	16300, 21000	493	1,6	120/6526
4	2г	CN	4-ClC ₆ H ₄	281, 379	20700, 16400	518	23,6	139/7080
5	2д	CN	4-MeC ₆ H ₄	280, 386	17980, 16320	538	22,0	152/7319
6	2е	CN	Тиофен-2-ил	299, 399	26060, 12260	565	1,8	166/7364

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М для Ме-АТЗ **2а,е**, $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М для Ме-АТЗ **2в-д**; [в] относительный квантовый выход, определенный относительно стандарта (раствор хинин сульфата; $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄ с QY = 54,0 %); [г] сдвиг Стокса.

Результаты исследования оптических свойств флуорофоров Ме-АТЗ **2а,г-е** в растворителях с различной полярностью показали, что их длинноволновые максимумы поглощения изменяются незначительно (Рис. 2.20а-г, Табл. 2.14).



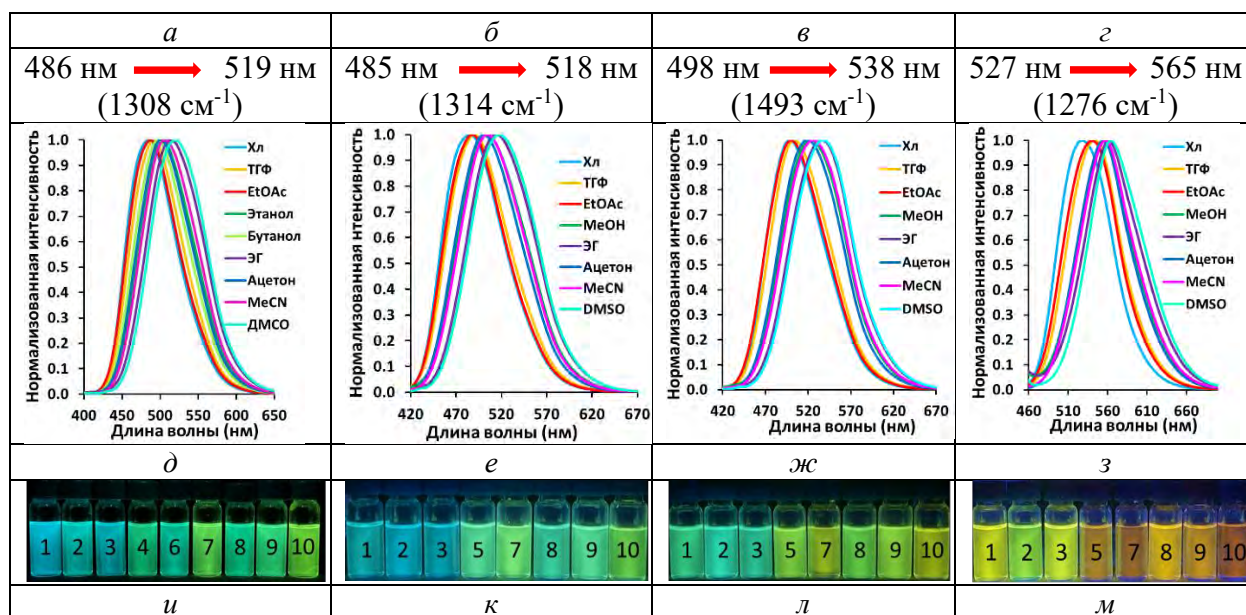


Рис. 2.20. Спектры (а,б,в,г) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (д,е,ж,з) испускания ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М для Ме-АТЗ **2а,е**; $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М для Ме-АТЗ **2г,д**) Ме-АТЗ **2а,г-е** в различных растворителях. Фотографии (и,к,л,м) растворов Ме-АТЗ **2а,г-е** в различных растворителях при УФ-облучении (365 нм). Растворители: 1 – Хлороформ (Хл), 2 – ТГФ, 3 – EtOAc, 4 – EtOH, 5 – MeOH, 6 – *n*-BuOH, 7 – этиленгликоль (ЭГ), 8 – ацетон, 9 – MeCN, 10 – ДМСО.

Таблица 2.14

Фотофизические характеристики Ме-АТЗ **2а,г-е** в различных растворителях.

№, п/п	Соединение	Раст-гель	$\lambda_{\text{погл.}}^{[a]}$ нм	$\epsilon, \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{исп.}}^{[б]}$ нм	QY ^[в] , %	SS ^[г] , нм/см ⁻¹
1	2а	ТГФ	278, 379	15000, 17000	492	33,3	113/6060
2		CHCl ₃	290, 384	14800, 12000	486	24,9	102/5466
3		EtOAc	278, 377	15300, 18100	488	28,6	111/6033
4		EtOH	277, 377	14000, 16500	503	27,4	126/6644
5		<i>n</i> -BuOH	276, 377	12000, 13100	498	28,5	121/6445
6		ЭГ	297, 379	10500, 15600	514	29,3	135/6930
7		Ацетон	375	19900	501	28,9	126/6707
8		MeCN-H ₂ O (9:1, об/об)	277, 374	17400, 18300	512	24,3	138/7207
9		MeCN	277, 374	19600, 20800	507	25,7	133/7014
10		ДМСО	278, 380	17300, 17700	519	24,7	139/7048
11	2г	ТГФ	280, 378	19100, 18060	491	24,3	113/6088

12		CHCl ₃	281, 384	17120, 17800	485	25,6	101/5423
13		EtOAc	278, 375	29600, 19240	488	22,4	113/6175
14		MeOH	234, 277, 374	16900, 20500, 19400	504	23,1	130/6897
15		ЭГ	278, 380	20900, 18000	515	29,4	135/6898
16		Ацетон	374	17300	501	27,0	127/6778
17		MeCN	234, 277, 372	16500, 22200, 18500	504	30,9	132/7040
18		ДМСО	281, 379	20700, 16400	518	23,6	139/7080
19		2д	ТГФ	286, 385	17780, 19920	504	37,6
20	CHCl ₃		296, 389	16240, 19900	498	40,8	109/5627
21	EtOAc		282, 382	18500, 20000	500	37,6	118/6178
22	MeOH		234, 282, 380	20400, 18600, 17200	524	23,0	144/7232
23	ЭГ		235, 279, 385	14200, 14800, 15500	536	15,4	151/7317
24	Ацетон		381	20000	518	31,3	137/6942
25	MeCN		235, 281, 378	14700, 18300, 17900	526	28,3	148/7444
26	ДМСО		280, 386	17980, 16320	538	22,0	152/7319
27	2е	ТГФ	298, 397	25860, 14420	543	11,4	146/6773
28		CHCl ₃	299, 403	24340, 14000	527	15,4	124/5839
29		EtOAc	293, 395	29300, 14140	540	12,1	145/6798
30		MeOH	295, 394	25960, 13460	556	2,0	162/7394
31		ЭГ	247, 298, 399	11180, 24120, 12340	561	0,8	162/7237
32		Ацетон	393	14100	554	5,7	161/7395
33		MeCN	296, 391	29080, 14220	557	4,6	166/7622
34		ДМСО	299, 399	26060, 12260	565	1,8	166/7364

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М; [б] для Me-ATЗ **2а,е** $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М, для Me-ATЗ **2г,д** $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М; [в] относительный квантовый выход, определенный относительно стандарта (раствор хинин сульфата; $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄ с QY = 54,0 %); [г] сдвиг Стокса.

Спектры излучения Me-ATЗ **2а,г-е** оказались более чувствительны к природе растворителя: максимумы флуоресценции смещаются bathochromно в полярных растворителях на 33-40 нм (1276 – 1493 см⁻¹) (Рис. 2.20д-з, Табл. 2.14), что свидетельствует о проявлении положительной сольватофлуорохромии. Следует отметить, что для Me-ATЗ **2а,г-е**

наблюдается смещение максимума флуоресценции в длинноволновую область в растворах в MeOH, EtOH и в этиленгликоле. По-видимому, для этих соединений важное значение имеют специфические взаимодействия с растворителем (водородные связи). Для растворов АТЗ в этиленгликоле, отличающимся большей вязкостью, можно было ожидать увеличения интенсивности флуоресценции за счет снижения безызлучательных потерь энергии в возбужденном состоянии за счет ограничения молекулярных колебаний и вращений. Этот эффект наблюдается для Me-АТЗ **2а,г**, в то время как для тиазолов **2д** и **2е** происходит сильное снижение квантового выхода, что может быть следствием более значительных потерь энергии при межмолекулярном взаимодействии с растворителем. Наибольшее значение квантового выхода флуоресценции наблюдается для Me-АТЗ **2д**, особенно в неполярном хлороформе ($QY = 41\%$).

Для растворов Me-АТЗ **2а,г-е** в ДМСО было определено время жизни флуоресценции. Кривая затухания флуоресценции для растворов Me-АТЗ **2а,г-е** в ДМСО аппроксимируется с помощью двухэкспоненциальных функций, что, по-видимому, связано с существованием в возбужденном состоянии двух флуоресцирующих частиц. Это может быть связано с образованием эксимеров, наноагрегатов, а также существованием при возбуждении как локального состояния, так и комплекса с переносом заряда. Константы скорости излучательного (k_r) (уравнение 2.1) и безызлучательного (k_{nr}) (уравнение 2.2) процессов представлены в таблице 2.15 [119].

$$K_r = \frac{\Phi_F}{\langle \tau \rangle_f} \quad (2.1)$$

$$K_{nr} = \frac{1-\Phi_F}{\langle \tau \rangle_f} \quad (2.2)$$

Таблица 2.15

Время жизни флуоресценции ($\langle \tau \rangle_f$), константа скорости излучательного (k_r) и безызлучательного (k_{nr}) процессов для растворов Me-АТЗ **2а,г-е** в ДМСО.

№, п/п	Соед-ние	τ_1^a , нс	A_1^b	τ_2^a , нс	A_2^b	$\langle \tau \rangle_f^c$, нс	χ^2_Γ	$k_r \times 10^{-9}/c^{-1}$	$k_{nr} \times 10^{-9}/c^{-1}$
1	2а	2,34	28,7	4,43	71,3	3,83	1,07	0,064	0,196
3	2г	2,52	41,1	5,04	58,9	4,00	1,08	0,059	0,191
2	2д	3,68	16,08	5,94	83,92	5,58	1,08	0,039	0,140
4	2е	2,50	51,75	4,18	48,25	3,31	1,17	0,005	0,297

[а] Время жизни флуоресценции; [б] фракционный вклад; [в] среднее время жизни; [г] χ^2 -фактор достоверности.

Полученные данные показывают, что исследованные Ме-АТЗ **2а,г-е** обладают достаточно большим значением времени жизни флуоресценции, а наибольшее значение имеет Ме-АТЗ **2д** (5,58 нс). Скорость безызлучательного процесса больше скорости излучательного процесса для всех исследованных соединений.

С помощью квантово-механических расчетов ((TD)-DFT), проведенных с учетом эффектов растворителя (в рамках модели поляризуемого континуума) были определены оптимальная геометрия, а также электростатические и электронные характеристики основного (ОС) и возбужденных состояний (ВС) Ме-АТЗ **2а-в, е** (Табл. 2.16; Приложение 1, Рис 2.).

Согласно полученным при оптимизации геометрии ОС данным для Ме-АТЗ **2б,в,е** три основных фрагмента молекулы (тиазол, ароматическое кольцо А и соединяющий их акрилонитрильный мостик) лежат практически в одной плоскости (Приложение 1, Табл. 5). Исключение составляет Ме-АТЗ **2а**, для которого торсионный угол между циклом А и акрилонитрильным линкером составляет $28,8^\circ$, хотя в возбужденном состоянии этот угол уменьшается значительно (до $0,6^\circ$) (Приложение 1, Табл. 6). Цикл В, как в основном, так и в возбужденном состоянии, значительно отклоняется от плоскости тиазола (на $22,3-36,2^\circ$ и $35,5-37,8^\circ$ соответственно), кроме Ме-АТЗ **2е**, для которого расчет параметров оптимальной геометрии показывает, что все фрагменты молекулы лежат практически в одной плоскости ($\theta_v = 0,0 - 4,0^\circ$).

Следует отметить, что полученные значения длин связей отличаются от стандартных значений: одинарные связи уменьшаются, а двойные увеличиваются (Приложение 1, Табл. 5,6). Эта тенденция усиливается при возбуждении [155].

И поглощение, и флуоресценция в основном происходят за счет переходов ВЗМО→НСМО и НСМО→ВЗМО, соответственно. Абсолютная величина электрического дипольного момента Ме-АТЗ **2а-в,е** достаточно большая в ОС, возрастает при переходе в возбужденное состояние (S_{1v}) и далее незначительно снижается после геометрической релаксации (S_{1r}) (Табл 2.16). Изменение направления вектора дипольного момента не имеет определенной тенденции, и если для Ме-АТЗ **2е** оно практически не изменяется, то для Ме-АТЗ **2б,в** отклоняется на $22,1-36,4^\circ$. Следует отметить сильное увеличение дипольного момента в возбужденном состоянии для Ме-АТЗ **2е**, что соответствует спектральным данным, полученным для этого соединения при изучении сольвато(флуоро)хромии. Наибольшая величина силы осциллятора, которая характеризует способность вещества к поглощению (f_{01}) и излучению (f_{10}), наблюдается для соединения **2а**, которое демонстрирует максимальное значение квантового выхода в исследуемом ряду соединений.

Электронные характеристики Me-ATЗ **2a-в,е**, полученные в результате квантово-механических расчетов ((TD-)DFT)^[a].

№ п/п	Соединение	Раст-ль	f_{01}	c_{H-L}	μ_0, D	f_{10}	c_{L-H}	μ_{1v}, D	μ_{1r}, D	$\theta_{0,1v}, ^\circ$	$\theta_{0,1r}, ^\circ$
1	2a	DMCO	1.163	0.6379	8.9	1.239	0.6824	15.5	15.2	7.6	8.8
2		MeCN	1.162	0.6408	8.8	1.236	0.6824	15.5	15.2	7.6	8.8
3	2б	MeCN	1.091	0.7051	6.3	0.883	0.7063	9.3	9.2	36.4	35.7
4		MeOH	1.090	0.7051	6.3	1.042	0.7063	9.3	9.1	36.4	35.7
5		DMCO	1.094	0.7051	6.3	1.046	0.7063	9.3	9.2	36.2	35.5
6	2в	MeCN	0.946	0.7050	4.9	0.945	0.7060	14.8	13.7	22.1	19.3
7		MeOH	0.944	0.7050	4.9	0.943	0.7060	14.8	13.7	22.1	19.3
8	2е	DMCO	0.622	0.7005	9.0	0.626	0.6998	28.2	27.0	1.1	3.3
9		MeCN	0.619	0.7005	9.0	0.624	0.6997	28.2	26.9	1.1	3.3

[a] Сила осциллятора (f_{01}) при переходе в возбуждённое состояние и флуоресценции (f_{10}), модули электрического дипольного момента в основном состоянии (μ_0), в вертикальном возбужденном (μ_{1v}), в возбужденном состоянии после геометрической релаксации (μ_{1r}) и углы, сформированные векторами дипольного момента ($\theta_{0,1v}$ и $\theta_{0,1r}$).

Электронная плотность ВЗМО Me-ATЗ **2a-в,е** в основном локализуется на тиазольном цикле, связанном с ним цикле В и метильной группе, а также на акрилонитрильном линкере, как в основном, так и возбужденном состояниях (Рис. 2.21). Следует отметить, что электронная плотность ВЗМО несколько снижена на цикле А по сравнению с противоположным фрагментом молекулы флуорофора. Особенно это заметно для Me-ATЗ **2a** и **2е**. Электронная плотность НСМО Me-ATЗ **2a-в,е** локализована на цикле А, акрилонитрильном линкере и тиазольном цикле, в то время как на цикле В и метильной группе полностью отсутствует. Таким образом, для Me-ATЗ **2a-в,е** наблюдается сдвиг электронной плотности в ВЗМО и НСМО. Особенно сильный сдвиг наблюдается для соединений **2a** и **2е**, что согласуется со спектральными данными (Табл. 2.13).

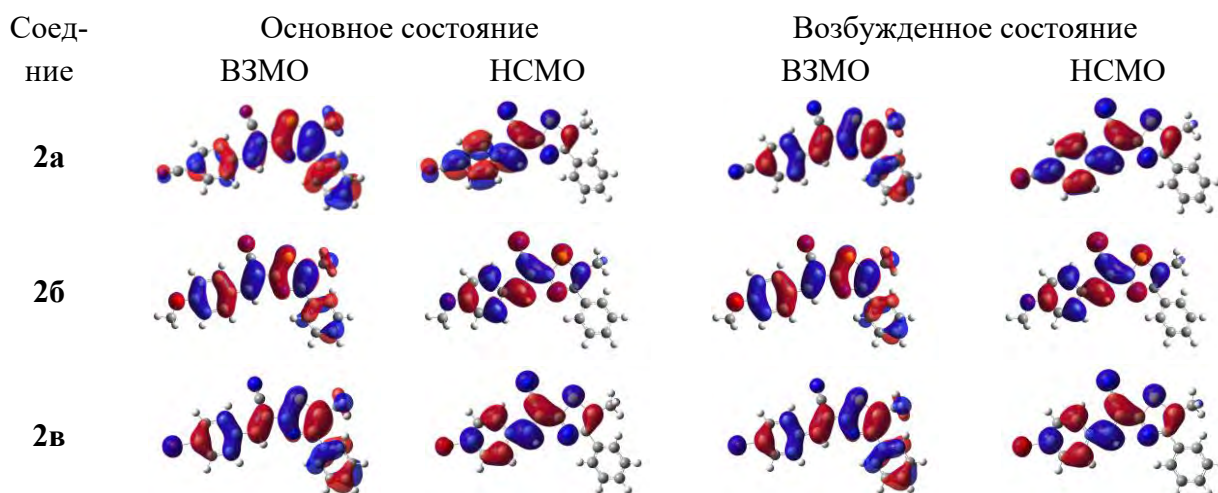




Рис. 2.21. Граничные молекулярные орбитали, ВЗМО и НСМО, в основном и возбужденном состояниях для флуорофоров Me-АТЗ **2а-в,е** с учетом влияния растворителя (DMCO): (TD-)DFT ω -B97X-D/6-311++G**//IEF-PCM(UFF).

2.2.3. Фотофизические свойства 2-арилиден-4,5-диарилтиазолов

ДАТЗ **3а-ж** представляют собой кристаллические вещества желтого и оранжевого цвета, хорошо растворимые в ДМСО, CHCl_3 , CH_2Cl_2 , ацетоне, MeCN и ДМФА. В спектрах поглощения растворов ДАТЗ **3а-ж** в растворе в ДМСО длинноволновый максимум расположен в области 387–401 нм (Рис 2.22, Табл. 2.17). Следует отметить, что для ДАТЗ **3г**, (Цикл С = 2-МеОС₆Н₄) и ДАТЗ **3е** (Цикл С = 2,6-(МеО)₂С₆Н₃) длинноволновый максимум смещен гипсохромно на 12–14 нм ($769\text{--}902\text{ см}^{-1}$) по сравнению с ДАТЗ **3б** (Цикл С = 4-МеОС₆Н₄). Такой эффект может быть связан со стерическими затруднениями, создаваемые заместителями в *o*-положении фенильного кольца С для ДАТЗ **3г,е**. Максимальное значение коэффициента молярной экстинкции ДАТЗ **3а-ж** достигает $22\,900\text{ М}^{-1}\text{ см}^{-1}$.

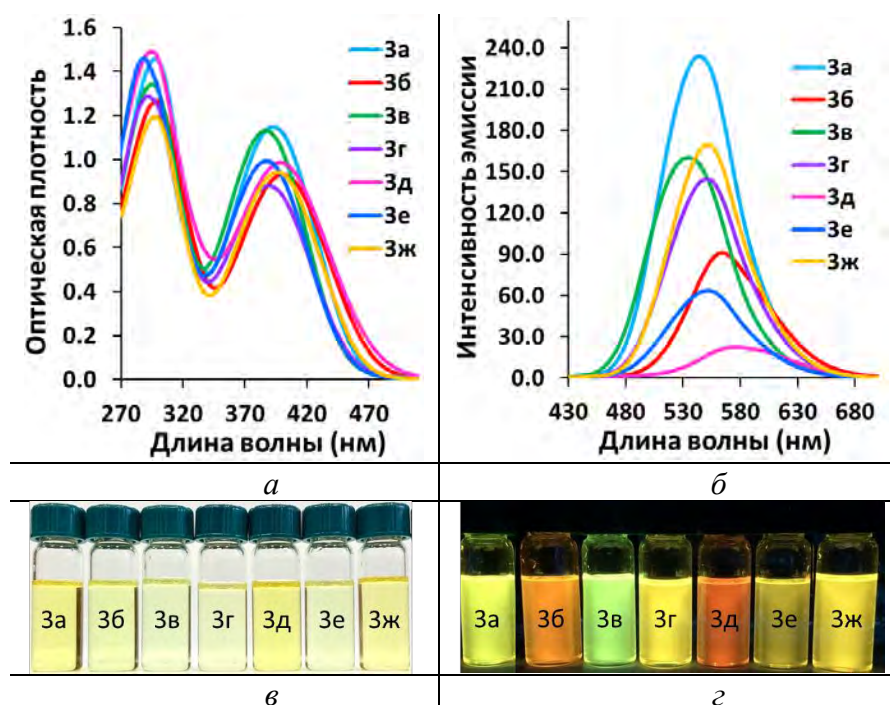


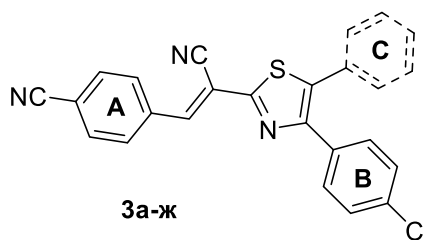
Рис. 2.22. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}\text{ М}$) и (б) испускания ($C = 5,0 \times 10^{-6}\text{ М}$) ДАТЗ **3а-ж** в ДМСО. Фотографии растворов ДАТЗ **3а-ж** в ДМСО (в) при видимом свете и (г) при УФ-облучении (365 нм).

В спектрах излучения ДАТЗ **3а-ж** максимумы наблюдаются в области 534–574 нм. Наибольший батохромный сдвиг регистрируется для соединения ДАТЗ **3д**, содержащего в *o*-

и *п*-положениях ароматического цикла С сильные электронодонорные группы. Сдвиг Стокса ДАТЗ **3а-ж** имеет большие значения (146–173 нм/7047-7724 см⁻¹) (Рис 2.22б, Табл. 2.17). Значения квантового выхода флуоресценции изменяются в широком диапазоне от 15,9% до 57,8%.

Таблица 2.17

Фотофизические характеристики ДАТЗ **3а-ж** в ДМСО.



№, п/п	Соед-ние	Цикл С	$\lambda_{\text{погл.}}$, ^[а] нм	ϵ , М ⁻¹ см ⁻¹	$\lambda_{\text{исп.}}$, ^[б] нм	QY ^[в] , %	SS ^[г] , нм/см ⁻¹
1	3а	4-МеС ₆ Н ₄	392	22900	545	57,8	152/7097
2	3б	4-МеОС ₆ Н ₄	401	18600	564	31,5	163/7207
3	3в	Ph	388	22600	534	40,6	146/7047
4	3г	2-МеОС ₆ Н ₄	389	17600	551	48,6	162/7558
5	3д	2,4-(МеО) ₂ С ₆ Н ₃	401	19700	574	15,9	173/7516
6	3е	2,6-(МеО) ₂ С ₆ Н ₃	387	19900	552	16,9	165/7724
7	3ж	Тиофен-3-ил	396	18800	552	53,0	156/7137

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М; [в] Абсолютный квантовый выход; [г] Сдвиг Стокса.

Введение цикла С в структуру ДАТЗ **3а-ж** приводит к батохромному сдвигу полосы поглощения (до 22 нм/1148 см⁻¹) и испускания (до 56 нм/ 1883 см⁻¹) и повышению квантового выхода соединения **3а** до 57,8% по сравнению с квантовым выходом Ме-АТЗ **2г** (цикл В = 4-С₁С₆Н₄).

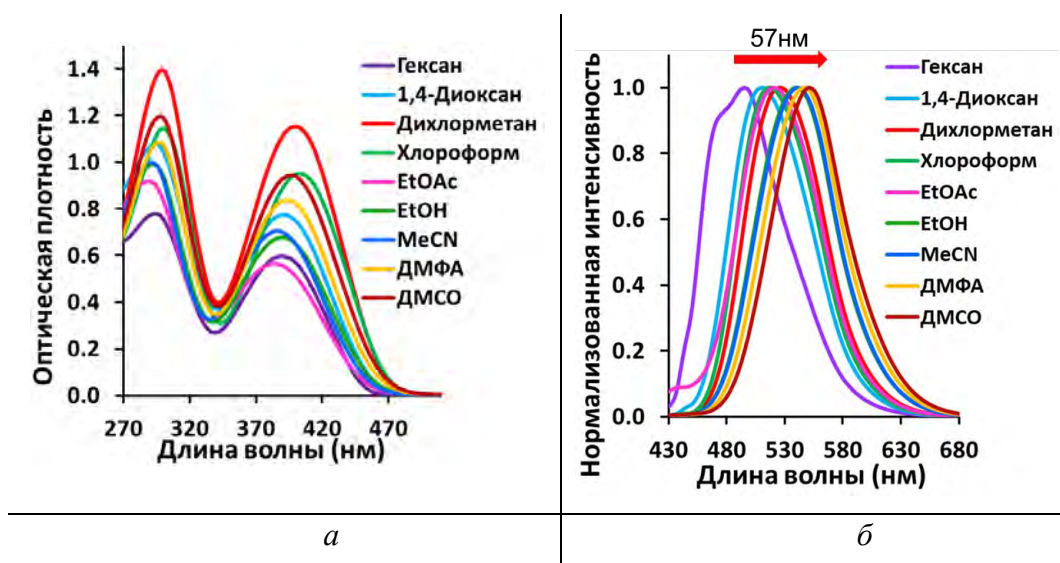
Затухание флуоресценции растворов ДАТЗ **3а-ж** в ДМСО описывается также как для Ме-АТЗ **2а,г-е** двухэкспоненциальным уравнением. ДАТЗ **3а-ж** обладают достаточно большим значением времени жизни флуоресценции, наибольшее значение зарегистрировано для ДАТЗ **3ж** (4,55 нс), содержащего тиофеновый фрагмент в пятом положении тиазола (Табл. 2.18). Константа скорости излучательного (k_r) для ДАТЗ **3а** и **3ж** превосходит константу скорости безызлучательного (k_{nr}) процесса.

Время жизни флуоресценции ($\langle\tau\rangle_f$), константа скорости излучательного (k_r) и безызлучательного (k_{nr}) процессов для растворов АТЗ **3а-ж** в ДМСО.

№, п/п	Соед-ние	τ_1^a , нс	A_1^b	τ_2^a , нс	A_2^b	$\langle\tau\rangle_f^b$, нс	χ^2_Γ	$k_r \times 10^{-9}/c^{-1}$	$k_{nr} \times 10^{-9}/c^{-1}$
1	3а	2,31	0,05	4,48	0,95	4,36	1,05	0,133	0,097
2	3б	2,16	0,08	4,27	0,92	4,10	1,04	0,077	0,167
3	3в	1,76	0,17	3,48	0,83	3,19	1,05	0,127	0,186
4	3г	2,18	0,11	4,40	0,89	4,17	1,03	0,117	0,123
5	3д	1,77	0,28	3,36	0,72	2,92	1,09	0,054	0,288
6	3е	1,34	0,76	2,28	0,24	1,56	1,07	0,108	0,533
7	3ж	2,40	0,05	4,66	0,95	4,55	1,07	0,116	0,103

[а] Время жизни флуоресценции; [б] фракционный вклад; [в] среднее время жизни; [г] χ^2 -фактор достоверности.

Изучение влияния природы растворителя на фотофизические характеристики триазолов было проведено на примере ДАТЗ **3ж** (цикл С = тиофен-3-ил) (Рис. 2.23). Полученные спектры излучения показали сильную чувствительность к природе растворителя и большой батохромный сдвиг с заметным увеличением сдвига Стокса от неполярного гексана к сильно полярному ДМСО (на 57 нм/2086 cm^{-1}). При увеличении полярности растворителя возрастает величина квантового выхода с 1,4% для гексана до 53,0% в ДМСО (Табл. 2.19). Это может быть связано с высокой полярностью возбужденного состояния ДАТЗ **3ж**, что подтверждается результатами квантово-химических расчетов (Табл. 2.21).



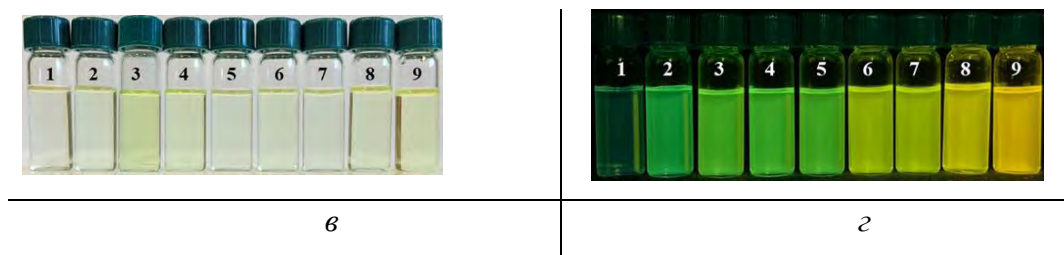


Рис. 2.23. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (б) испускания ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М) ДАТЗ **3ж** в различных растворителях. Фотографии растворов ДАТЗ **3ж** в различных растворителях при видимом свете (в) и УФ-облучении (г) (365 нм). Растворители: 1 – Гексан, 2 – 1,4-Диоксан, 3 – Дихлорметан, 4 – Хлороформ, 5 – EtOAc, 6 – EtOH, 7 – MeCN, 8 – ДМФА, 9 – ДМСО.

Таблица 2.19

Фотофизические характеристики ДАТЗ **3ж** в различных растворителях.

№, п/п	Растворитель	$\lambda_{\text{погл.}}^{[a]}$ нм	ϵ , М ⁻¹ см ⁻¹	$\lambda_{\text{исп.}}^{[б]}$ нм	QY ^[в] , %	SS ^[г] , нм/см ⁻¹
1	Гексан	390	11900	495	1,4	105/5439
2	1,4-Диоксан	391	15400	511	11,5	120/6006
3	CH ₂ Cl ₂ ^[д]	401	23000	526	44,5	125/5926
4	CHCl ₃	403	19000	517	40,1	114/5472
5	EtOAc	384	11300	520	36,5	136/6811
6	EtOH	389	13500	540	38,3	151/7188
7	MeCN	386	14100	540	37,0	154/7388
8	ДМФА	393	16700	547	51,9	154/7164
9	ДМСО	396	18800	552	53,0	156/7137

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М); [в] Абсолютный квантовый выход; [г] Сдвиг Стокса; [д] для CH₂Cl₂ $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М.

ДАТЗ **3а-ж** демонстрируют желтую и оранжевую эмиссию в твердом состоянии (Рис. 2.24) при облучении светом $\lambda = 365$ нм.

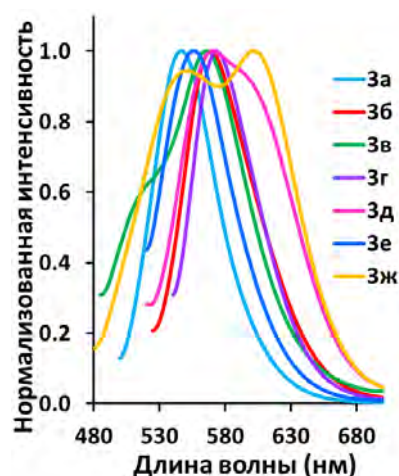


Рис. 2.24. Нормализованные спектры эмиссии ДАТЗ **3а-ж** в кристаллическом состоянии

Максимумы излучения тиазолов ДАТЗ **3а-ж** расположены в области 547–573 нм (Табл. 2.20). Для всех изученных соединений наблюдалось уменьшение квантового выхода в кристаллическом состоянии по сравнению с соответствующими растворами в ДМСО (Табл. 2.17). Самый большой квантовый выход наблюдается для соединения ДАТЗ **3а** (QY = 14,5%), для которого также получен наибольший квантовый выход в растворе (QY=57,8%) (Табл. 2.17).

Таблица 2.20

Фотофизические характеристики ДАТЗ **3а-ж** в кристаллическом состоянии.

№, п/п	Соед-ние	Структура	$\lambda_{\text{возб}}$, нм	$\lambda_{\text{исп}}$, нм	QY [a], %	SS ^[б] , нм/см ⁻¹	Дневной свет	УФ-облучение
1	3а		480	547	14,5	67/2552		
2	3б		505	569	8,1	64/2227		
3	3в		465	566	2,5	101/3838		
4	3г		520	573	13,2	53/1779		
5	3д		500	571	7,5	71/2487		
6	3е		500	556	10,4	56/2014		
7	3ж		460	552	8,1	92/3623		

[a] Абсолютный квантовый выход; [б] сдвиг Стокса.

Анализ оптимизированных геометрических параметров ДАТЗ **3г,ж** показал, что ароматическое кольцо А, акрилонитрильный фрагмент и тиазольный цикл лежат практически в одной плоскости (Приложение 1, Табл. 7). Ароматический фрагмент В в основном состоянии отклоняется от плоскости тиазола на угол $\theta_B = 37,80^\circ$, который немного уменьшается при переходе в возбужденное состояние (до $31,30^\circ$ – $33,93^\circ$). Наиболее значительное отклонение от плоскости наблюдается для кольца С соединения **3г** ($\theta_C = 53,24^\circ$), что, по-видимому, связано со стерическими затруднениями, вызванными наличием заместителя (MeO-группы) в *o*-положении. При переходе молекулы в возбужденное состояние этот торсионный угол уменьшается до $\theta_C = 41,11^\circ$. Похожий эффект наблюдался для Me-АТЗ **2б,в,е**, за исключением Me-АТЗ **2е**, в котором молекула практически полностью планарна как в основном, так и в возбужденном состоянии.

Значительные изменения в структуре ДАТЗ **3г,ж**, происходящие при возбуждении, также отражаются на длинах связей сопряженных систем (Приложение 1, Табл. 7). Например, длина σ -связи C2-C4 (1,413 Å) акрилонитрильного фрагмента становится практически равной длине центральной двойной связи C4-C5 (1,406 Å) для тиазола ДАТЗ **3г**. Длины связей C7-C8 и C9-C10, соединяющих кольца В и С с тиазольным кольцом также заметно уменьшаются. Следует отметить, что для Me-АТЗ **2а-в** длины связей в акрилонитрильном фрагменте изменяются в большей степени.

Абсолютная величина дипольного момента ДАТЗ **3г,ж** в основном состоянии имеет большое значение (8,1-9,9 D), которое увеличивается при возбуждении в ~ 3 раза (Табл. 2.21). Для АТЗ **3г** наблюдается небольшое изменение направления дипольного момента ($\theta_{0,1\nu} = 13,9^\circ$), в то время как для ДАТЗ **3ж** изменение является значительным ($\theta_{0,1\nu} = 148,5^\circ$). Дипольные моменты Me-АТЗ **2а-в** и ДАТЗ **3г,ж** близки по значениям. Поглощение кванта света и переход в ВС происходит с большим увеличением дипольного момента для ДАТЗ **3г,ж** по сравнению с Me-АТЗ **2а-в,е**, за исключением Me-АТЗ **2е** (цикл В = тиюфен-2-ил). Эти изменения в свойствах ДАТЗ **3г,ж** наглядно демонстрируют влияние введения цикла С на электронные свойства арилидентиазолов. Величина силы осциллятора в ОС и ВС (f_{01} и f_{10}) для ДАТЗ **3ж** при переходе от неполярного гексана к сильно полярному ДМСО увеличивается, что согласуется с данными, полученными в ходе исследований фотофизических свойств (Табл. 2.19) в разных растворителях.

Электронные характеристики ДАТЗ **Зг,ж**, полученные в результате квантово-механических расчетов ((TD-)DFT)^[a].

№ п/п	Соед-ние	Раст-ль	f_{01}	c_{H-L}	μ_0, D	f_{10}	c_{L-H}	μ_{1v}, D	μ_{1r}, D	$\theta_{0,1v}, ^\circ$	$\theta_{0,1r}, ^\circ$
1	Зг	ДМСО	0.9177	0.70036	8.4	1.0642	0.69908	29.1	27.4	13.9	14.2
2	Зж	ДМСО	0.8764	0.70112	9.9	0.9815	0.70010	25.9	24.0	148.5	38.4
3		CHCl ₃	0.7897	0.69949	9.0	0.7898	0.69807	24.7	22.9	147.8	40.3
4		Гексан	0.6675	0.69541	8.1	0.5655	0.69387	23.2	21.8	76.4	42.3

[a] Сила осциллятора (f_{01}) при переходе в возбуждённое состояние и флуоресценции (f_{10}), модули электрического дипольного момента в основном состоянии (μ_0), в вертикальном возбужденном (μ_{1v}), в возбужденном состоянии после геометрической релаксации (μ_{1r}) и углы, сформированные векторами дипольного момента ($\theta_{0,1v}$ и $\theta_{0,1r}$).

Анализ распределения электронной плотности ВЗМО и НСМО в ОС и ВС показал, что ВЗМО в основном и в возбужденном состояниях делокализована на акрилонитрильном фрагменте, гетероцикле и связанных с ним ароматических кольцах В и С (Рис. 2.25). При переходе ВЗМО→НСМО происходит значительный перенос электронной плотности с фрагментов В и С к ароматическому кольцу А. Такое распределение электронной плотности ВЗМО и НСМО подтверждает формирование состояния внутримолекулярного переноса заряда (ВПЗ).

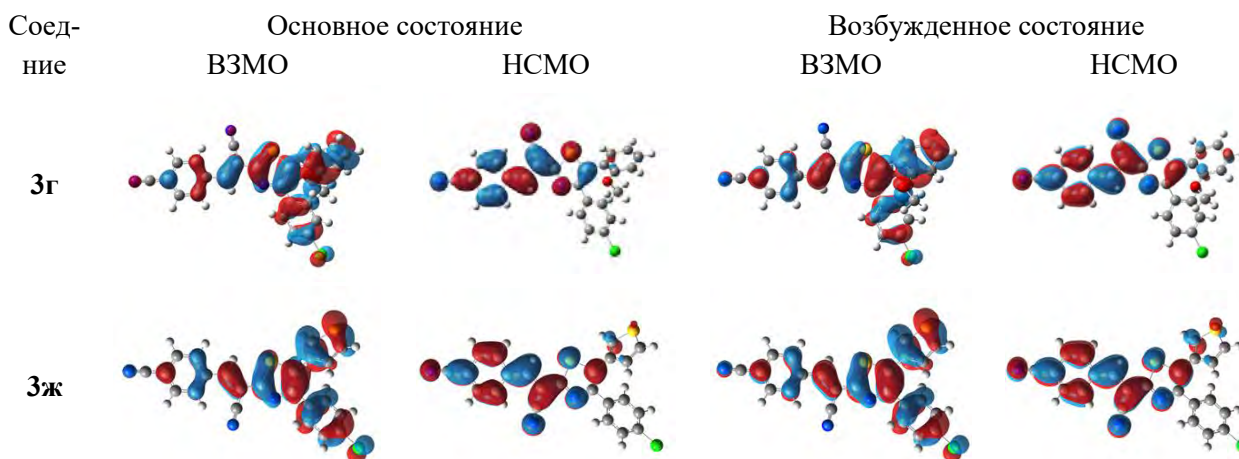
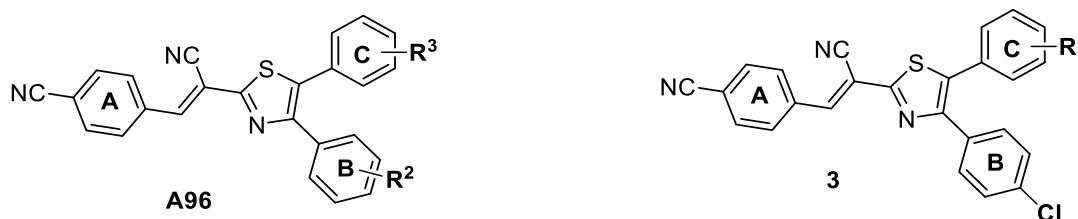


Рис. 2.25. Граничные молекулярные орбитали, ВЗМО и НСМО, в основном и возбужденном состояниях для флуорофоров ДАТЗ **Зг,ж** с учетом влияния растворителя (ДМСО): (TD-)DFT ω -B97X-D/6-311++G**//IEF-PCM(UFF).

Сравнение фотофизических характеристик ДАТЗ **3б,г,ж** и их близких аналогов **A96**.



Соед.	R ²	Цикл С	$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{ем}}$, нм	QY,%	Соед.	Цикл С	$\lambda_{\text{погл}}$, нм	$\lambda_{\text{ем}}$, нм	QY,%
A96a	CN	4-МеОС ₆ Н ₄	393	561	19,4	3б	4-МеОС ₆ Н ₄	401	564	31,5
A96б	4-МеО	4-МеОС ₆ Н ₄	415	587	4,6					
A96в	H	2-МеОС ₆ Н ₄	391	551	25,8	3г	2-МеОС ₆ Н ₄	389	551	48,6
A96г	H	Тиофен-3-ил	398	552	33,8	3ж	Тиофен-3-ил	396	552	53,0

Сравнение оптических характеристик, полученных ДАТЗ **3а-ж** с характеристиками их близких аналогов, представленных в исследовании (Табл. 2.22) [35], показало, что комбинация заместителей: в цикле А – электроакцептор (CN); в цикле В – слабый электроакцептор (Cl) и в цикле С – сильный электронодонор (ОСН₃) или электрононасыщенный тиофен, позволяет существенно увеличить квантовый выход флуоресценции, сохраняя положения максимумов поглощения и излучения.

2.2.4. Исследование поведения 4-арил-2-арилиден-5-метилтиазолов и 2-арилиден-4,5-диарилтиазолов в биологических условиях

Для оценки возможности использования полученных флуоресцентных арилидентиазолов для биовизуализации были проведены биологические исследования на культуре эпителиальных клеток зеленой мартышки (*Vero*). К 10 мкл/мл питательной среды был добавлен раствор Ме-АТЗ **2а** и ДАТЗ **3а,г** в ДМСО ($C = 10^{-3}$ ммоль/л). Проникновение флуорофоров в клетки и их распределение внутри живой клетки контролировали с помощью конфокального лазерного микроскопа. Излучение флуорофоров в клетке при возбуждении светом $\lambda_{\text{воз}} = 405$ нм и $\lambda_{\text{воз}} = 488$ нм оказалось достаточным для получения контрастного конфокального изображения. Фоновая флуоресценция питательной среды после отмывки отсутствовала. Краситель равномерно окрашивал клетки. В ходе инкубирования клеток с флуорофорами Ме-АТЗ **2а** и ДАТЗ **3а,г** существенных изменений в морфологии живой клетки не наблюдалось.

Флуорофор Ме-АТЗ **2а** показал яркую сине-зеленую эмиссию при облучении лазером $\lambda_{\text{воз}} = 405$ нм и, предположительно, накапливался в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) клетки (Рис. 2.26). При возбуждении лазером $\lambda_{\text{воз}} = 488$ нм наблюдалась флуоресценция в виде отдельных гранул в цитоплазме.

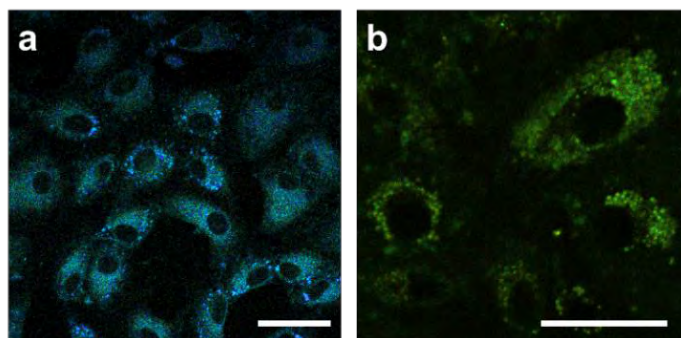


Рис. 2.26. Конфокальные флуоресцентные изображения клеток *Vero*, инкубированных с Me-AT3 **2a** (1,0 μM) в фосфатно-солевом буфере в течение 0,5 ч при 37 °С при возбуждении (a) $\lambda_{\text{воз}} = 405$ нм, (b) $\lambda_{\text{воз}} = 488$ нм. Масштабная линейка: 20 мкм.

ДАТЗ **3a,г** окрашивали клетки одинаково, предположительно накапливаясь в лизосомах и в меньшей степени в ЭР (Рис. 2.27).

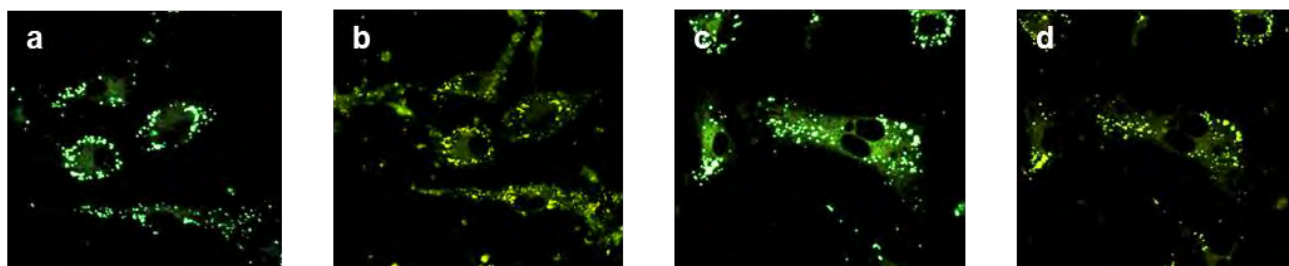
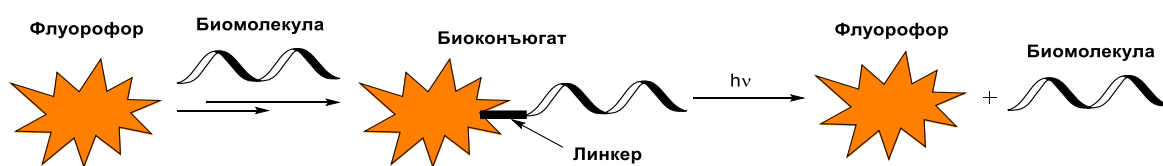


Рис. 2.27. Конфокальные флуоресцентные изображения клеток *Vero*, инкубированных с (a,b) ДАТЗ **3a** и (c,d) ДАТЗ **3г** (1,0 μM) в фосфатно-солевом буфере рН=7,5 в течение 0,5 ч при 37 °С, (a,c) $\lambda_{\text{воз}} = 405$ и (b,d) $\lambda_{\text{воз}} = 488$ нм.

2.3. Синтез и свойства биоконъюгатов арилидентиазолов и биологически активных молекул

Фотоактивируемые защитные группы (PPG) — это молекулы фотоактивного вещества (хромофора или флуорофора), которые могут ковалентно связываться с органическими (лекарствами, биомолекулами, высоко реакционноспособными или многофункциональными соединениями) веществами для временного блокирования их биологической или химической активности. Облучение УФ- или видимым светом длиной волны, соответствующей длинноволновому максимуму поглощения хромофора или флуорофора, вызывает разрыв связи (линкера), высвобождение молекулы и восстановление ее функций (Схема 2.14).

Схема 2.14



В литературе известны примеры использования в качестве биомолекулы различных биологически активных соединений, нейротрансмиттеров и газотрансмиттеров (NO, CO, H₂S), прекурсоров, флуоресцентных зондов, феромонов, ароматизаторов и т.д. [156]. Использование флуорофоров и хромофоров в качестве таких фотоконтейнеров/фотокурьеров – одно из наиболее важных современных применений фотохимии в различных областях исследований [156-159].

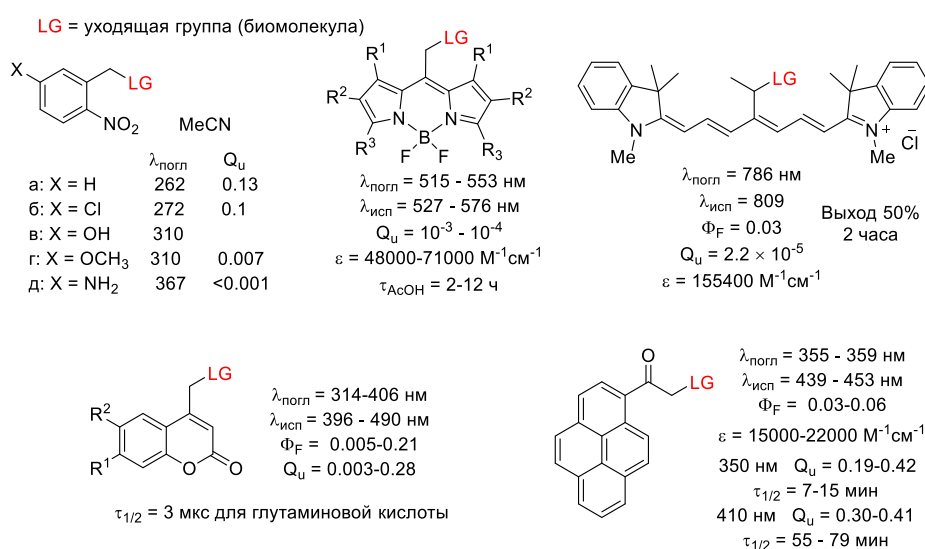
Необходимость выполнения строго определенных функций предъявляет к фотозащитным группам и их конъюгатам флуорофор-биомолекула или флуорофор-лекарство (далее конъюгат или биоконъюгат) ряд требований, которые диктует конкретная область их применения. Фотозащитные группы для биологических и медицинских целей должны соответствовать следующему ряду требований:

1. Эффективное поглощение света с длиной волны больше 300 нм (желательно ближе к 400 нм и выше) для того, чтобы избежать повреждения или гибели живых клеток при использовании УФ-излучения.
2. Следует учесть, что некоторые биомолекулы способны поглощать УФ-излучение, что вызывает нежелательные побочные фотопревращения или флуоресценцию (фенилаланин, триптофан, тирозин, восстановленные никотинамидадениндинуклеотид и никотинамидадениндинуклеотидфосфат).
3. Высвобождение активной молекулы должно осуществляться в определенный (установленный) промежуток времени в зависимости от поставленной задачи.
4. Отсутствие токсичных побочных продуктов, образующихся в ходе фототрансформации.
5. Преимуществом флуоресцентных защитных групп является возможность детектирования биоконъюгата.
6. Высокий квантовый выход фотохимической реакции высвобождения биомолекулы или лекарства.
7. Отсутствие токсического эффекта биоконъюгата в биологических системах (живых клетках).
8. Способность проникать через клеточные мембраны.

9. Необходимо представлять механизм фотодиссоциации. Это позволит понимать, каким образом можно управлять характеристиками фотодиссоциации, и знать структуру образующихся при этом продуктов, чтобы оценить их свойства, в том числе токсичность.

Одним из первых и самым распространенным классом соединений, предложенным в качестве фотозащитной группы, являются *o*-нитробензильные производные. Большинство из них не обладает флуоресценцией, а стремление сдвинуть максимум поглощения в длинноволновую область зачастую приводит к уменьшению квантовых выходов фоторазложения (Схема 2.15). Облучение в дальней УФ области (1) не позволяет свету проникать глубоко в ткани и (2) приводит к фототоксическому воздействию на живые клетки [160,161]. Объект активного изучения последних лет – производные BODIPY и цианины – поглощают в видимой области, но демонстрируют низкие значения квантового выхода фотодиссоциации и слабую флуоресценцию [157,162]. Пирены обладают хорошим квантовым выходом фотодиссоциации, но имеют максимум поглощения <360 нм, короткое время жизни флуоресценции и голубую флуоресценцию, которая соответствует флуоресценции биологического фона, как и в случае кумаринов. Следует учесть, что полиароматические углеводороды, к которым относятся пирен и перилен, часто проявляют токсический эффект. Многие из них обладают выраженной канцерогенной, мутагенной и тератогенной активностью [163-165].

Схема 2.15

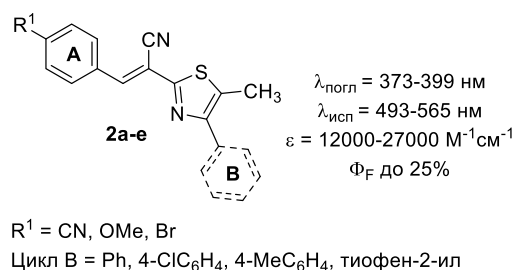


Требования, предъявляемые к фотозащитным группам, имеют противоречивый характер, что выражается в ухудшении одних показателей при улучшении других. Это затрудняет внедрение их в клиническую практику. Например, сдвиг максимума поглощения флуорофора в длинноволновую область уменьшает поглощенную биоконъюгатом энергию,

что ведет к снижению скорости высвобождения биомолекулы и квантового выхода фотодиссоциации [156, 157, 162]. Несмотря на интенсивное изучение различных фотозащитных групп, задача по разработке новых эффективных фотоcontainers остается актуальной в наше время.

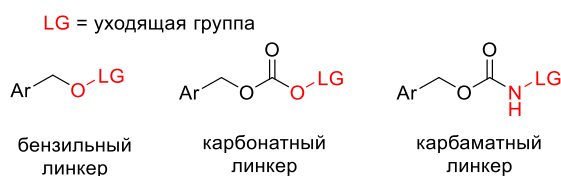
Флуорофоры **2a-e**, представленные в главе 2.2 диссертации, обладают хорошим поглощением на границе между ультрафиолетовой и видимой областями и интенсивной и контрастной флуоресценцией в биологических средах, поэтому мы исследовали возможность их использования в качестве фотозащитной группы (Схема 2.16). Наличие различных по электронной природе структурных элементов в кольцах А и В позволит изучить влияние строения флуорофора на параметры и механизм фотодиссоциации, а также на их биологическое поведение

Схема 2.16



Известно, что среди представленных в литературе линкеров для связывания биомолекул с фотозащитными группами наиболее распространены бензильный, карбонатный и карбаматный [156] (Схема 2.17).

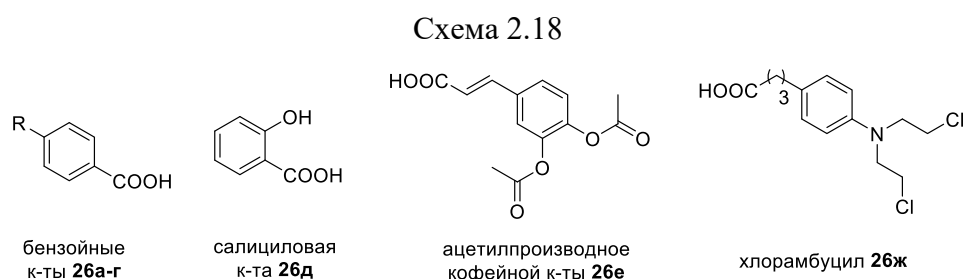
Схема 2.17



Бензильный тип линкера прост в получении и может быть использован для такого известного и важного класса соединений как органические кислоты. Карбоксильная группа содержится во многих природных соединениях и синтетических лекарственных средствах. Это позволит распространить результаты исследования на широкий ряд различных биологически активных соединений. Следует отметить, что при фотодиссоциации бензильного линкера не происходит образование углекислого газа, как в случае с карбонатным и карбаматным линкерами.

Me-ATЗ **2a-e** содержат метильную группа у C5 атома, которая является удобным фрагментом для создания электрофильного центра (CH_2Br) для получения биоконъюгатов с соединениями, содержащими карбоксильную группу.

В качестве биологически активных препаратов были выбраны салициловая кислота, обладающая противовоспалительным действием и используемая при производстве множества лекарств [166,167]; хлорамбуцил, являющийся цитостатическим препаратом [168-170]; кофеиновая кислота, обладающая противоопухолевым эффектом [171] (Схема 2.18). Гидроксигруппы кофеиновой кислоты были предварительно защищены ацетильными группами, поскольку наличие дополнительных активных центров может затруднить исследование.

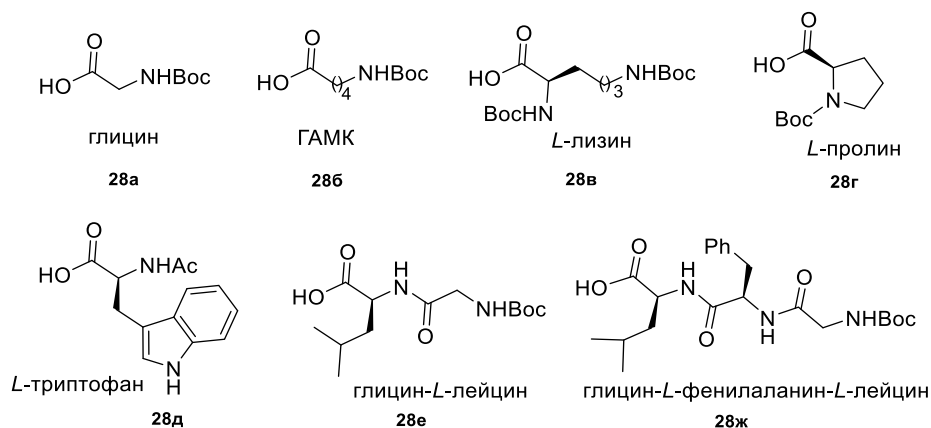


Для изучения зависимости параметров фототрансформации от электронной структуры биомолекулы было запланировано использовать модельные бензойные кислоты, содержащие различные по электронной природе заместители ($\text{R} = \text{H}, \text{OMe}, \text{Cl}, \text{NO}_2$) (Схема 2.18).

Большой массив аминокислот и их роль в метаболизме живых систем привлекает значительное внимание биологов к изучению их влияния на различные физиологические процессы в нормальных и патологических тканях, что инициировало их выбор в качестве биомолекул для создания гибридных структур. Так, протеиногенные α -аминокислоты, которые кодируются генетическим кодом и включаются в белки в процессе трансляции, являются ключевыми компонентами рецепторов, прямо или косвенно регулирующих клеточные биохимические процессы на поверхности клеточной мембраны и в цитоплазме [172, 173]. Кроме того, они являются частью активного центра некоторых ферментов (например, эстеразы, матриксной металлопротеиназы, β -галактозидазы), которые демонстрируют сверхэкспрессию в раковых клетках [174-175], и пептидов, которые используются в качестве терапевтических препаратов [176]. Кроме того, синтез конъюгатов «флуорофор-аминокислота» позволит визуализировать и отслеживать эти небольшие молекулы, а также определять их локализацию в клетке [177] и контролировать биологические процессы с участием аминокислот [178], например, такие как высвобождение нейроактивных аминокислот (гамма-аминомасляной кислоты, глицина, глутаминовой кислоты и др.) при

лечении нервно-психических заболеваний для изучения химических механизмов и кинетики синаптической передачи [179,180] (Схема 2.19).

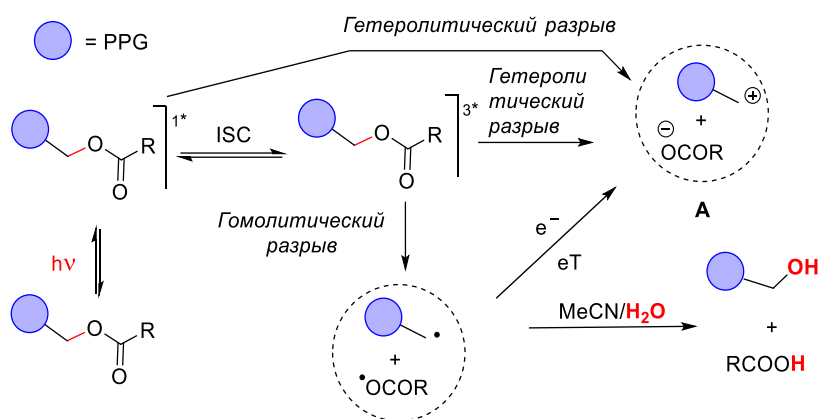
Схема 2.19



Ацетилирование/ацилирование лизина, являющееся динамической посттрансляционной модификацией, регулирует фундаментальные клеточные процессы, такие как метаболизм, транскрипция, трансляция, пролиферация клеток, восстановление повреждений ДНК [181]. Лизин в сочетании с пролином и витамином С участвует в предупреждении формирования липопротеинов, которые приводят к закупорке артерий [182]. L-триптофан является биохимическим предшественником метаболитов, которые существенно влияют на физиологию млекопитающих, включая желудочно-кишечные функции, иммунитет, метаболизм и нервную систему [183]. Аминокислоты и короткие пептиды должны быть защищены Boc- или ацетильной группой, чтобы избежать реакций с участием аминогруппы. С другой стороны, наличие соответствующего N-Boc-фрагмента позволит моделировать реакционную способность аминокислот, находящихся в терминальном положении пептидов.

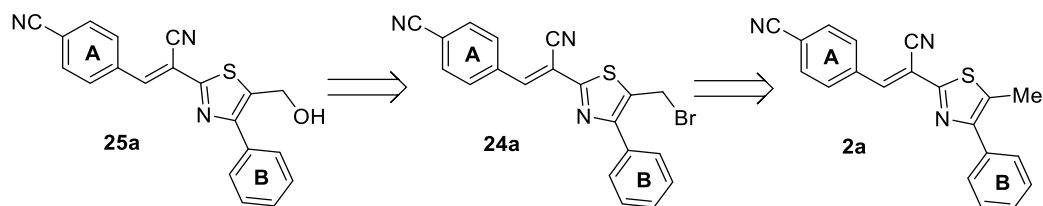
Согласно литературным данным, механизм фотодиссоциации биоконъюгатов, содержащих бензильный линкер, может протекать по гетеролитическому или гомолитическому пути разрыва C-O связи (Схема 2.20) [184, 185].

Схема 2.20



Таким образом, одним из продуктов фотодиссоциации в водных или буферных системах подобных биоконъюгатов, содержащих сложноэфирную группу, является гидроксипроизводное **25a**, которое может быть легко получено гидролизом бромпроизводного **24a** (Схема 2.21).

Схема 2.21



2.3.1. Синтез биоконъюгатов на основе 4-арил-2-арилиден-5-метилтиазолов

Бромирование метильных групп, связанных с ароматическими и гетероароматическими циклами, обычно проводят с помощью таких бромирующих агентов как бром, трибромидфосфора, *N*-бромсукцинимид (NBS). Однако, лучшие результаты в реакции бромирования тиазолов были получены при использовании *N*-бромсукцинимида в неполярном растворителе в присутствии инициатора радикалов [186]. Синтез бромпроизводных АТЗ-CH₂Br **24a-e** проводили при кипячении в CCl₄ с небольшим избытком *N*-бромсукцинимида (Схема 2.22) и добавлении дибензоилпероксида в качестве инициатора. АТЗ-CH₂Br **24a,в** были выделены и охарактеризованы, в то время как АТЗ-CH₂Br **24б,г-е** использовались в последующих превращениях без очистки (Таблица 2.23).

Схема 2.22

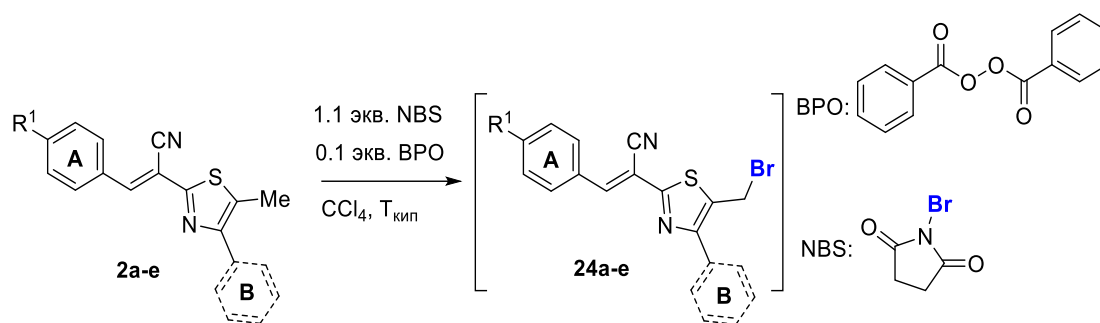


Таблица 2.23

Выходы АТЗ-CH₂Br **24а,в** и время реакции бромирования соединений **2а-е**.

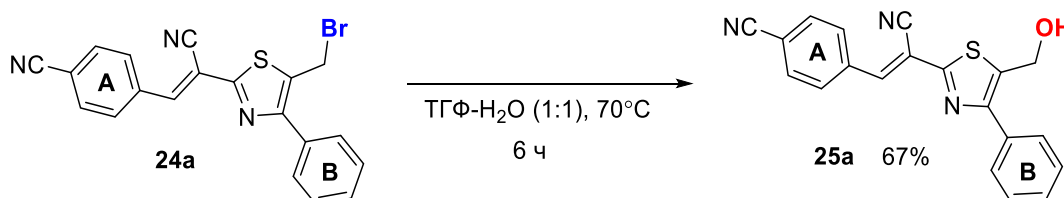
№, п/п	Соединение	R ¹	Цикл В	Время, ч	Выход, %
1	24а	CN	Ph	8	90
2	24б	OMe	Ph	14	-[a]
3	24в	Br	Ph	10	88
4	24г	CN	4-ClC ₆ H ₄	8	-[a]
5	24д	CN	4-MeC ₆ H ₄	12	-[a]
6	24е	CN	Тиофен-2-ил	10	-[a]

[a] – продукт использовался в дальнейшем превращении без выделения

В спектре ЯМР ¹H АТЗ-CH₂Br **24а** и **24в** регистрируется двухпротонный синглет, соответствующий группе CH₂Br в области 4.81–5.15 м.д., сигналы протонов ароматических циклов в области 7.48–8.17 м.д. и илиденового фрагмента при 8.19–8.41 м.д. В масс-спектре высокого разрешения присутствует пик молекулярного иона [M+H]⁺ с m/z 406.0006 и пик, соответствующий ионам, содержащим изотоп атома брома ⁸¹Br, [M+2+H]⁺ с m/z 407.9987.

Гидролиз **24а** проводили при нагревании в смеси тетрагидрофуран-вода (1:1 об.) (Схема 2.23). После отгонки растворителя и экстракции дихлорметаном АТЗ-ОН **25а** был выделен с помощью колоночной хроматографии (элюент – хлороформ).

Схема 2.23



Присутствие в спектре ЯМР ¹H АТЗ-ОН **25а** триплета ОН-группы в области 6.12 м.д. (Рис. 2.28) и дублета протонов CH₂-группы при 4.86 м.д., характеристическая полоса

валентных колебаний ОН-группы при 3408 см^{-1} в ИК-спектрах, а также данные масс-спектрометрии, подтверждают замещение атома галогена на ОН-группу.

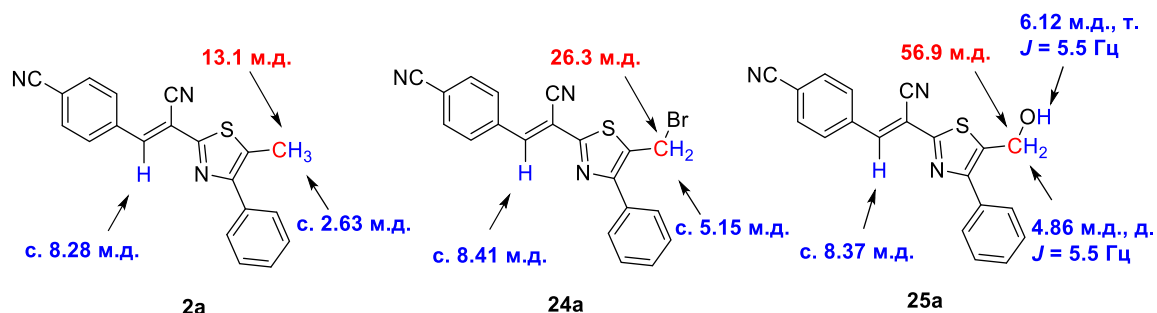


Рис. 2.28 Положение сигналов в спектрах ЯМР ^1H (ДМСО- d_6 , 400 МГц) и ^{13}C (ДМСО- d_6 , 101 МГц) АТЗ **2a**, **24a**, **25a**.

Эфиры карбоновых кислот **27a-м** были получены алкилированием карбоксильной группы ароматических кислот **26a-д**, а также кофейной кислоты **26е** и хлорамбуцила **26ж** АТЗ- CH_2Br **24a,г-е** при комнатной температуре в ДМФА в присутствии основания [165,187] (Схема 2.24, Табл. 2.24).

Схема 2.24

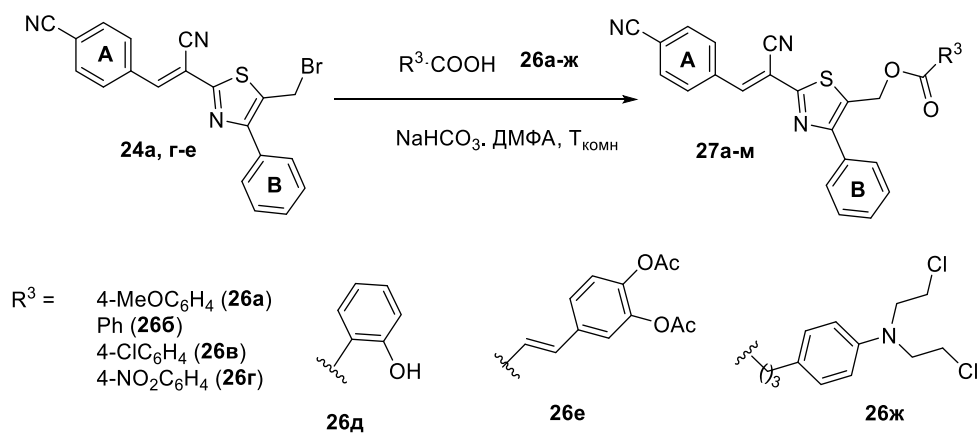
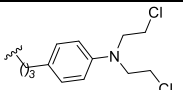
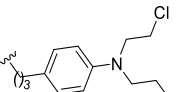
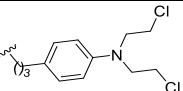
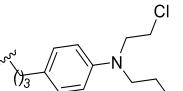


Таблица 2.24

Выходы конъюгатов **27a-м** и время реакции алкилирования кислот **26a-ж**.

№, п/п	Соединение 27			Время, ч	Выход, %
	№	Цикл В	R ³		
1	27a	Ph	4-MeOC ₆ H ₄	4	74
2	27б	Ph	Ph	3	58
3	27в	Ph	4-ClC ₆ H ₄	8	45
4	27г	Ph	4-NO ₂ C ₆ H ₄	2	53
5	27д	Ph	2-НОС ₆ H ₄	6	63
6	27е	Ph		7	52

7	27ж	Ph		4	65
8	27з	4-ClC ₆ H ₄	4-MeOC ₆ H ₄	5	52
9	27и	4-ClC ₆ H ₄		25	57
10	27к	4-MeC ₆ H ₄		4	57
11	27л	Тиофен-2-ил	4-MeOC ₆ H ₄	18	60
12	27м	Тиофен-2-ил		3	54

Для доказательства структуры полученных биоконъюгатов были использованы ЯМР ¹H и ¹³C спектроскопия, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения и рентгеноструктурный анализ (Рис. 2.29).

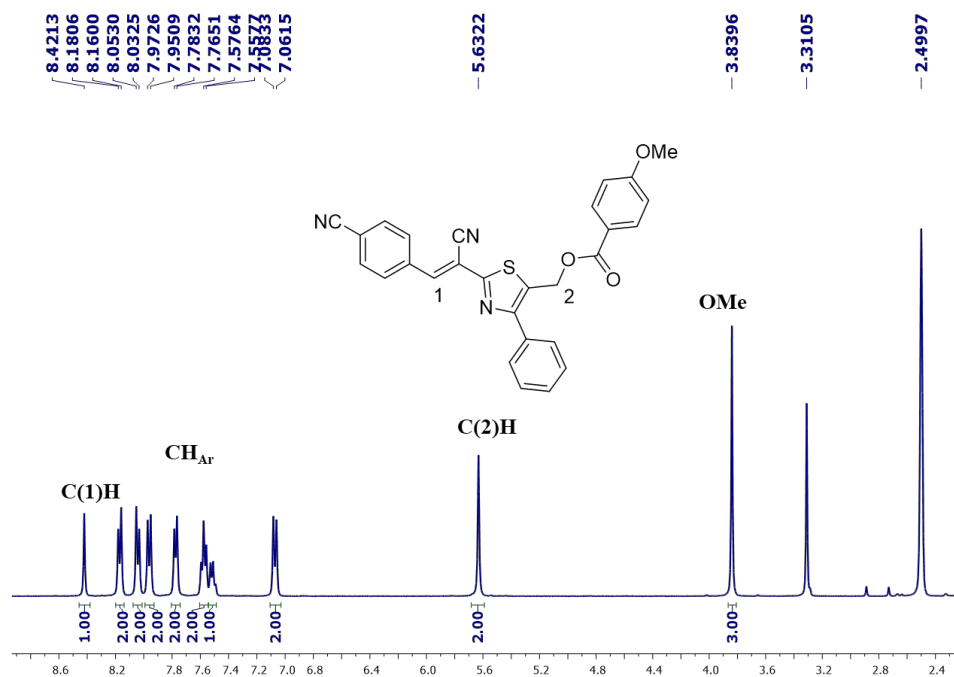


Рис. 2.29. Спектр ЯМР ¹H конъюгата **27а** (ДМСО-*d*₆, 400 МГц)

В спектрах ЯМР ¹³C эфира **27а-м** присутствуют сигналы всех атомов углерода. Сигнал углерода карбонильной группы регистрируется в области 164.9–173.2 м.д. В ИК-спектре присутствует полоса, соответствующая валентным колебаниям С=О связи сложноэфирного фрагмента молекулы при 1705–1737 см⁻¹, полоса CN-связи регистрируется при 2224–2230 см⁻¹.

Данные РСА для кристалла биоконъюгата **27д**, выращенного из разбавленного раствора ДМСО, подтвердили строение соединений **27** (Рис. 2.30) [146]. Циклические фрагменты в

молекуле соединения **27д** непланарны. Ароматическое кольцо А развернуто относительно плоскости тиазола на $\theta_1 = 17,27^\circ$. Фрагмент салициловой кислоты отклоняется от плоскости тиазольного цикла практически на $\theta_3 = 90^\circ$, а кольцо В – на $\theta_4 = 38,2^\circ$. Это может ограничивать степень его участия в системе сопряжения молекулы. Расстояние между атомами O(1)H и O(2) значительно меньше суммы Ван-дер-Ваальсовых радиусов для этих атомов (2.6 Å) и свидетельствует о формировании между ними водородной связи (Рис. 2.30а).

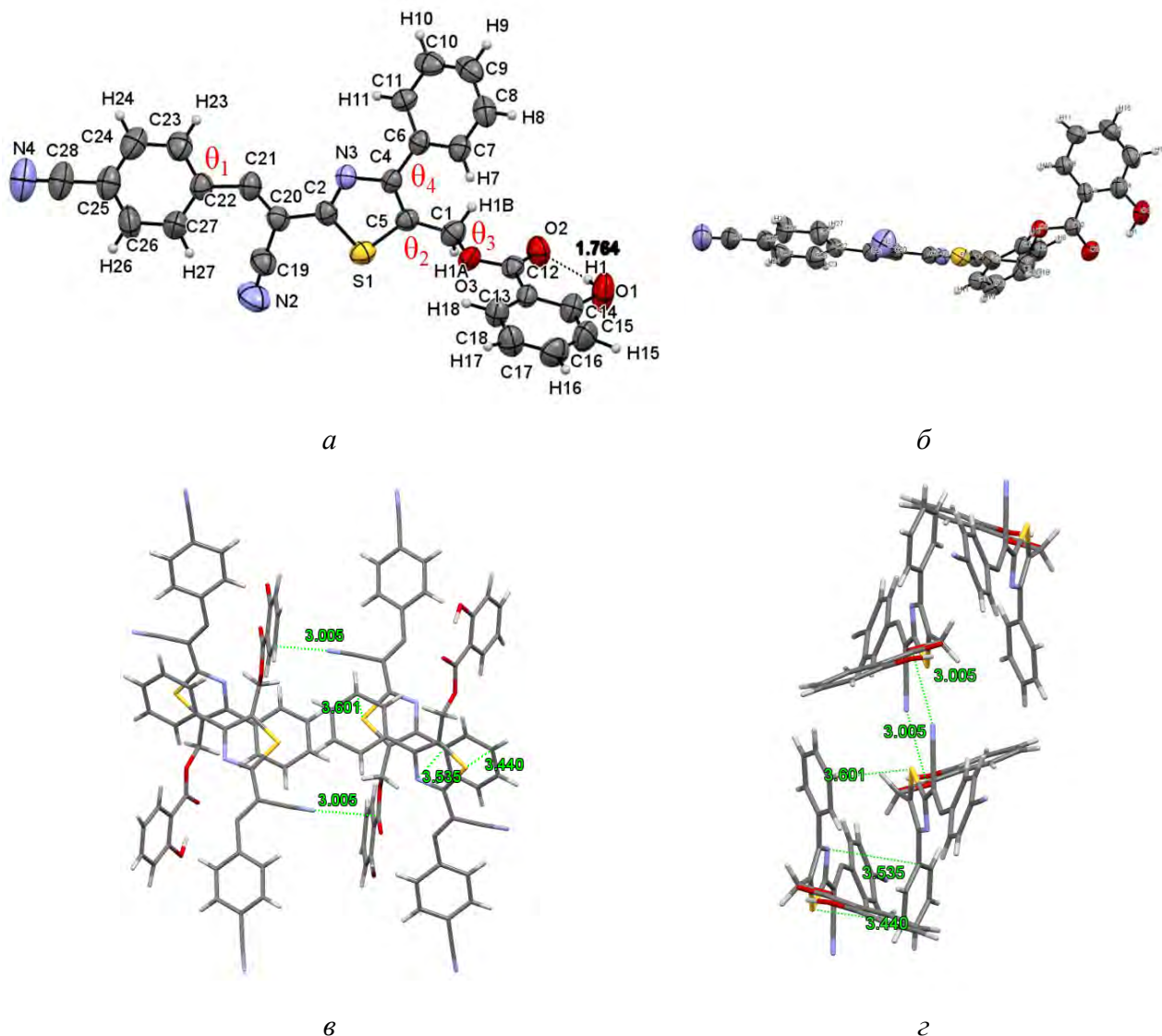
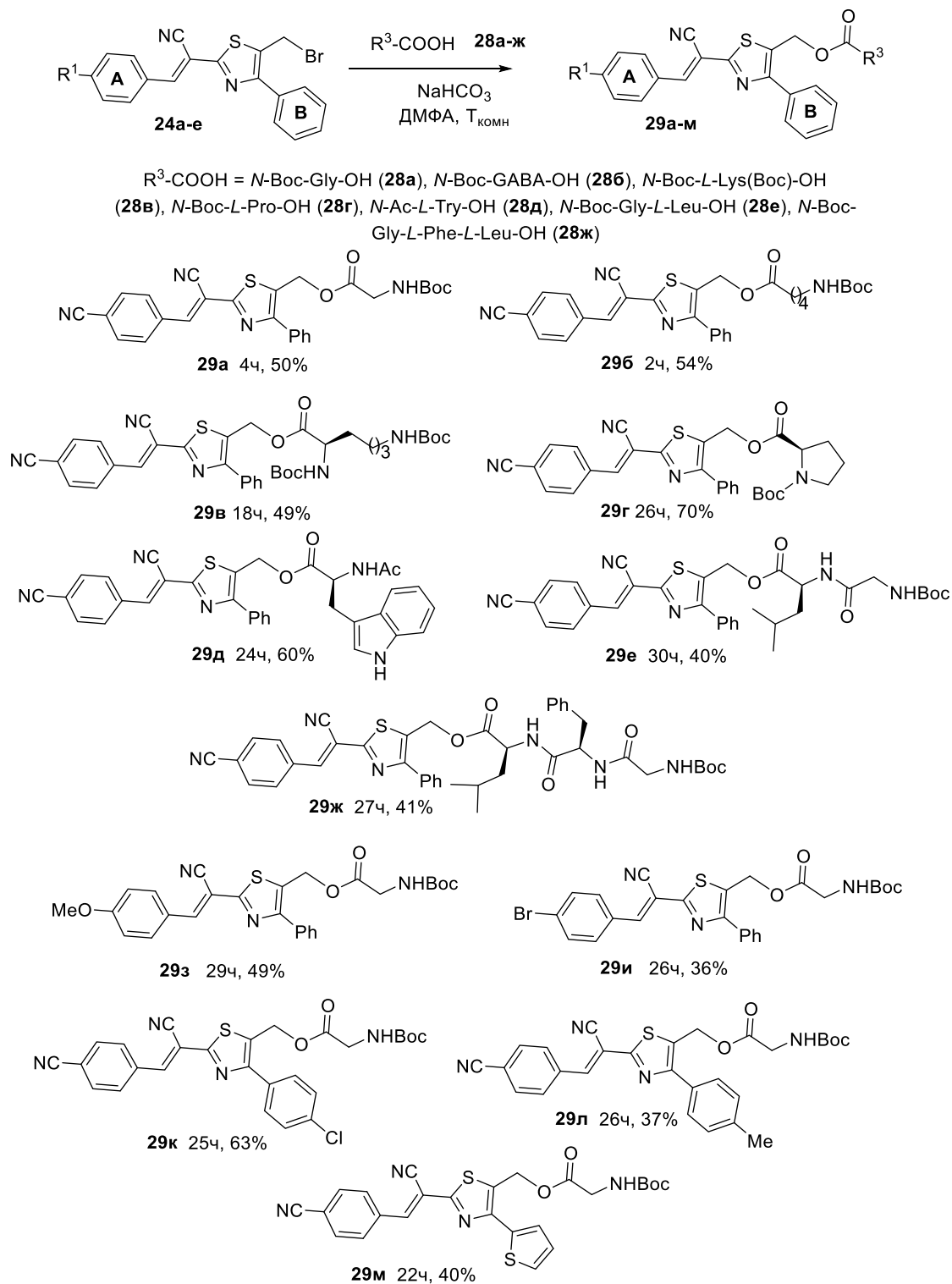


Рис. 2.30. Строение биоконъюгата **27д** по данным РСА: (а) фронтальный вид и (б) вид сбоку. Упаковка молекул биоконъюгата **27д** в кристалле: (в) вид по оси b, (г) вид по оси a.

Кристаллическая упаковка состоит из двух пар молекул, в каждой из которых молекулы расположены антипараллельно (Рис. 2.30в,г). Тиазольный цикл располагается над фенильным кольцом на расстоянии примерно 3.350–3.405 Å, что может способствовать формированию слабых π - π взаимодействий между этими циклами в-молекулах, расположенных в соседних слоях, поскольку их сближению мешает расположенный ортогонально ароматический фрагмент.

В результате алкилирования *N*-Вос- и ацетилзащищенных аминокислот и коротких пептидов **28а-ж** соединениями АТЗ-CH₂Br **24а-е** были получены новые биоконъюгаты **29а-м** с умеренными и хорошими выходами (Схема 2.25) [147].

Схема 2.25



Эфиры аминокислот и коротких пептидов **29а-м** были выделены с помощью колоночной хроматографии (элюент – петролейный эфир: этилацетат = 4:3). В спектрах ЯМР ^1H соединений **29а-м** регистрируются все сигналы протонсодержащих групп.

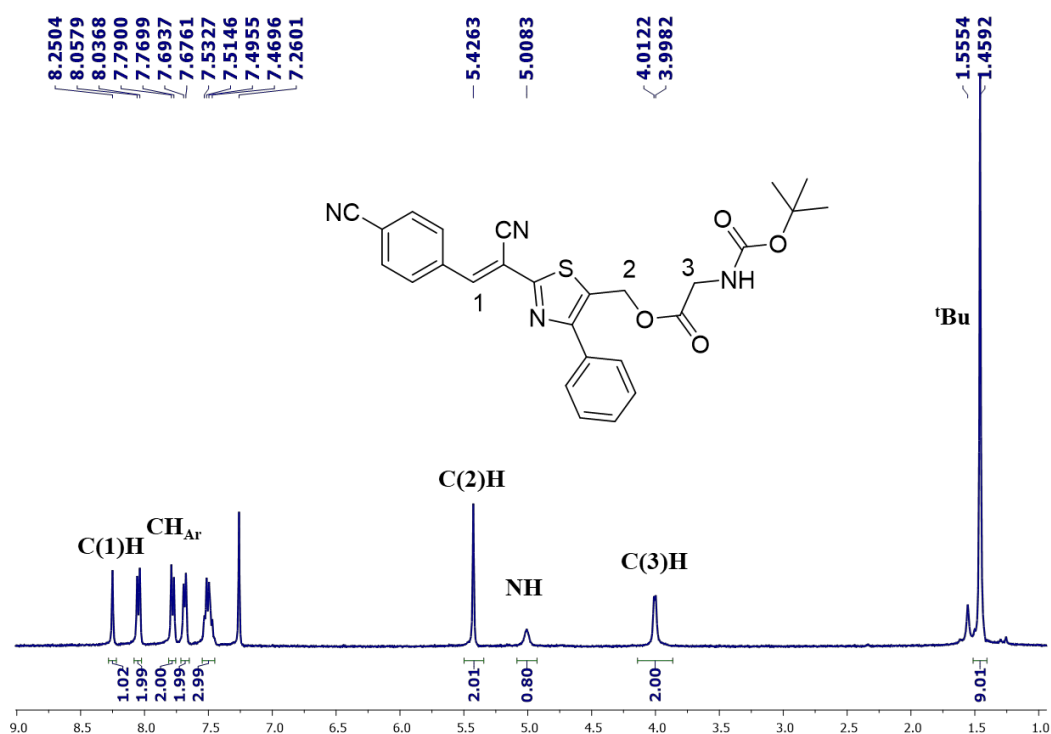


Рис. 2.31. Спектр ЯМР ^1H биоконъюгата **29а** (CDCl_3 , 400 МГц)

На рисунке 2.31 представлен пример спектра ЯМР ^1H биоконъюгата **29а**. Сигнал протона C(2)H группы расположен при 5.43 м.д. в виде синглета, как и для конъюгатов **27а-м**.

Протоны C(2)H эфиров **29в,д-ж** являются неэквивалентными и в спектре ЯМР ^1H регистрируются в виде АВ системы с КССВ $^2J = 13.3$ Гц. На рисунке 2.32 представлен фрагмент спектра ЯМР ^1H , демонстрирующий вид сигнала протонов C(2)H на примере биоконъюгата **29д**.

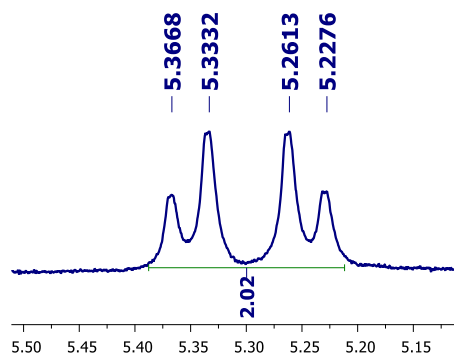


Рис. 2.32 Спектр ЯМР ^1H биоконъюгата **29д** ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц)

В спектре ЯМР ^1H биоконъюгата **29г** сигнал OCH_2 -группы регистрируется в виде двух АВ-систем с константой $^2J = 13.1\text{--}13.2$ Гц. Наблюдается двойной набор сигналов протонов *трет*-бутильной группы *Вос*-защиты в виде двух синглетов (соотношение интегральной интенсивности – 0,46:0,54) (Рис. 2.33). Такое усложнение сигналов в производных пролина связывают с образованием диастереомеров, зафиксировать которые в индивидуальном состоянии, как правило, не удастся, поскольку они легко взаимопревращаются в результате инверсии атома азота [188].

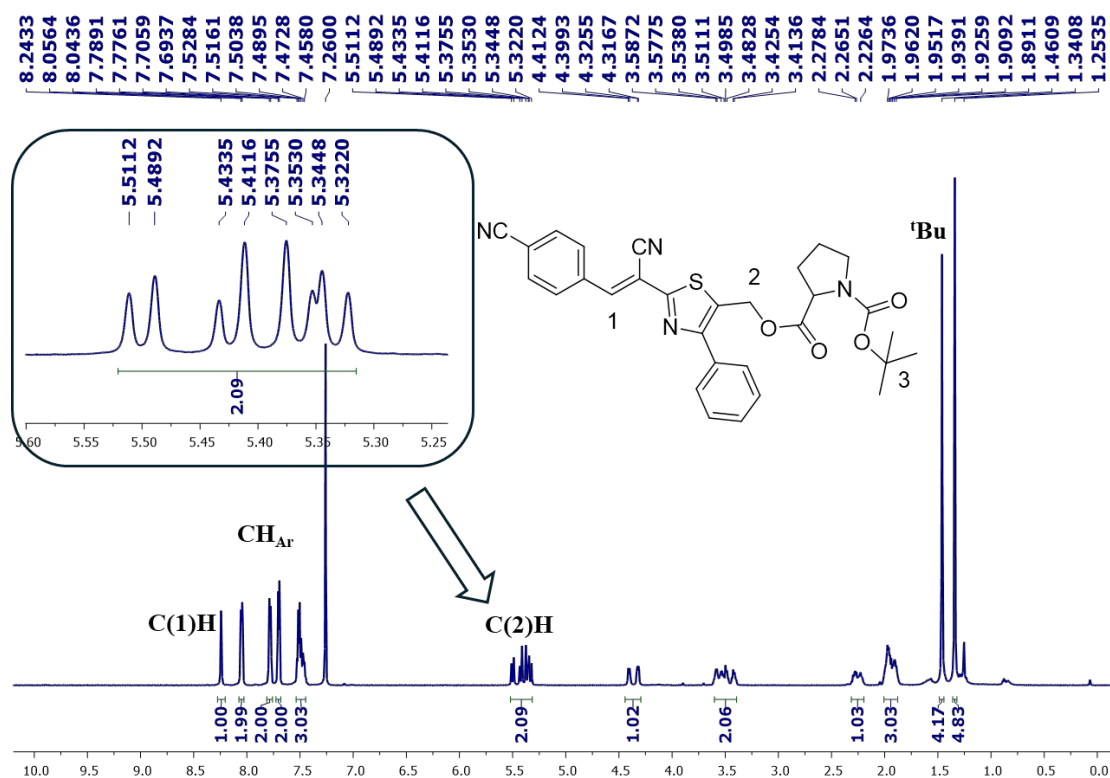


Рис. 2.33. Спектр ЯМР ^1H биоконъюгата **29г** (ДМСО- d_6 , 400 МГц)

В спектре ЯМР ^{13}C биоконъюгата **29г** присутствует двойной набор всех сигналов. Два сигнала атомов углерода карбонильных групп расположены в слабом поле при 173.0 и 172.7 м.д. ($-\text{COOCH}_2$) и еще два при 160.9 и 160.7 (N-CO) м.д.

В ИК-спектрах биоконъюгатов **29а-м** наблюдаются сильные полосы при 1656–1694 и 1710–1754 cm^{-1} , соответствующие валентным колебаниям амидной и сложноэфирной карбонильных групп соответственно, и одна полоса при 2217–2276 cm^{-1} , соответствующая валентным колебаниям связи CN.

Как следует из рисунка 2.34, изменение электронной природы фрагмента В практически не влияет на положение илиденового C(1)H протона в спектре, которое варьируется от 8.22 до 8.25 м.д. Положение сигналов протонов аминокислотного фрагмента не изменяется при изменении заместителей в ароматических циклах флуорофора. Следует

отметить смещение синглета протона OCH_2 -группы в слабое поле на 0.08–0.12 м.д. для биоконъюгата **29м**.

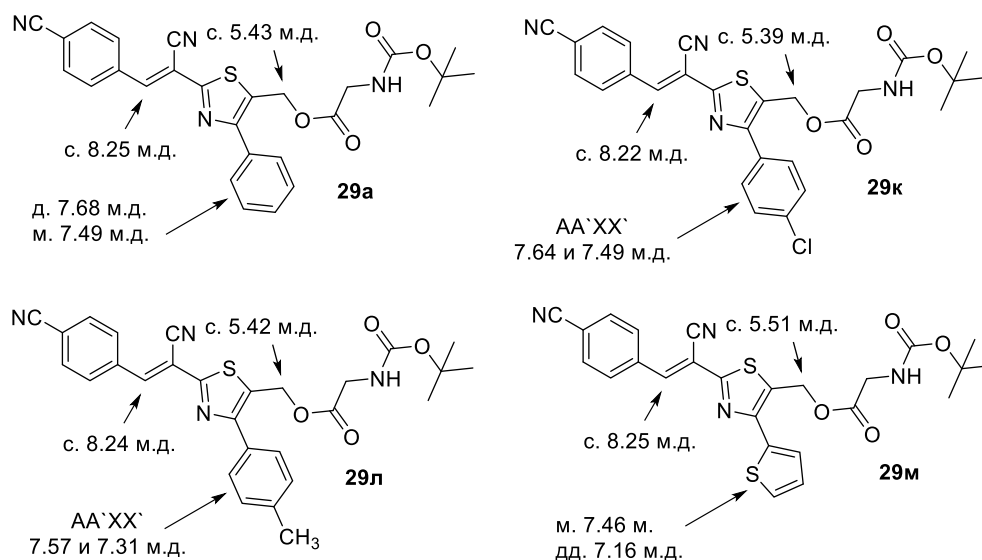


Рис. 2.34. Данные ЯМР ^1H для эфиров **29а,к-м** ($\text{DMCO-}d_6$, 400 МГц, для **29к** 600 МГц).

Таким образом, на основе флуорофоров Me-ATЗ **2а-е** было получено два набора конъюгатов, содержащих ароматические карбоновые кислоты, салициловую и кофейную кислоты, хлорамбуцил, а также аминокислоты и короткие пептиды для дальнейшего изучения их химических, фотофизических и биологических свойств.

2.3.2. Фотофизические свойства биоконъюгатов

В УФ-спектрах эфиров **27а-м** и **29а-м** в растворах в хлороформе и ДМСО присутствуют две полосы поглощения (Рис. 2.35а, Табл. 2.25; Приложение 2, Табл. 2,3). Длинноволновые максимумы поглощения расположены на границе УФ- и видимой областей спектра при 367–389 нм и характеризуются достаточно высокими значениями коэффициента молярной экстинкции (до $25\ 000\ \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), что указывает на хорошую поглощающую способность. Следует отметить, что максимумы поглощения конъюгатов **27а-м** и **29а-м** расположены в более длинноволновой области спектра по сравнению с аналогичными производными таких известных хромофоров как *o*-нитробензильные производные, а также флуорофоров на основе пирена и большей части (кумарин-4-ил)метилпроизводных [160,161,163,165].

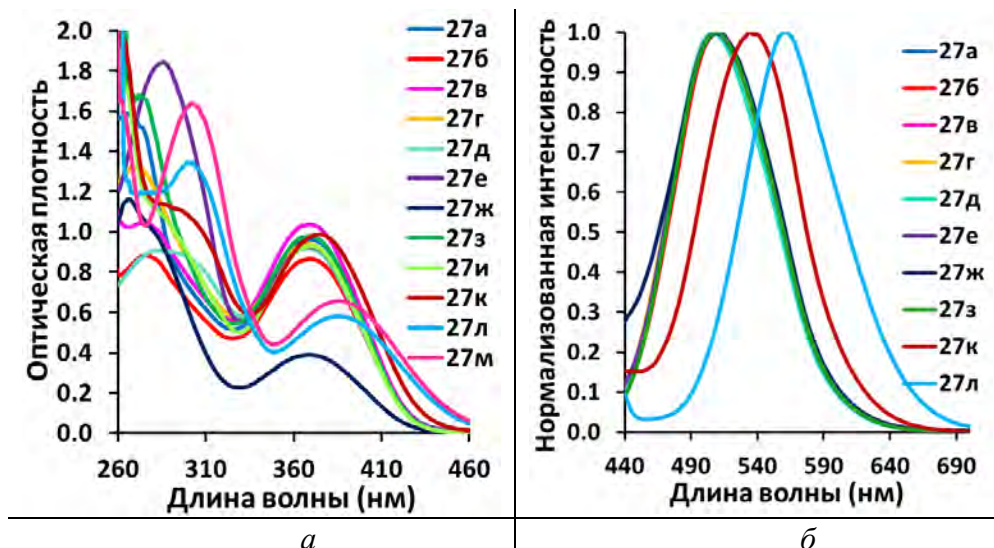


Рис. 2.35. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (б) испускания конъюгатов **27а-м** ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М **27а-ж,л**; $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М **27з,к**) в ДМСО.

Максимумы эмиссии растворов конъюгатов **27а-ж,з,к,л** и **29а-ж,и-м** в CHCl_3 и ДМСО регистрируются в диапазоне 469–565 нм в зависимости от используемого растворителя и заместителя в кольце В (Рис. 2.35). В сильно полярном ДМСО происходит батохромный сдвиг максимумов испускания на 31–44 нм по сравнению с неполярным CHCl_3 . Эти данные позволяют предположить формирование состояния внутримолекулярного переноса заряда и увеличение дипольного момента соединений **27а-ж,з,к,л** и **29а-ж,и-м** при поглощении кванта света и переходе в возбужденное состояние. Растворы демонстрируют контрастную флуоресценцию с квантовым выходом от 0,5 до 10,0% и значительным сдвигом Стокса (100–176 нм / $5723\text{--}8149 \text{ см}^{-1}$) (Табл. 2.25, Рис. 2.36), за исключением конъюгатов **27и,м** и **29з**, флуоресценция которых практически отсутствует.

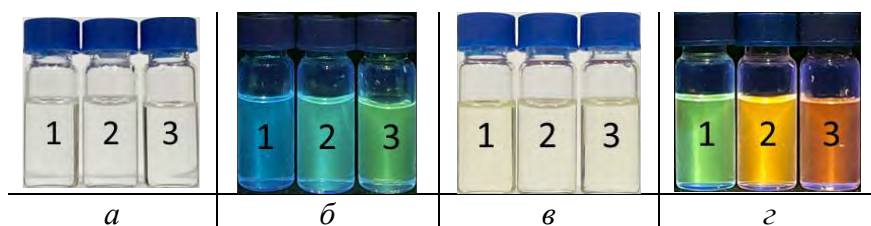
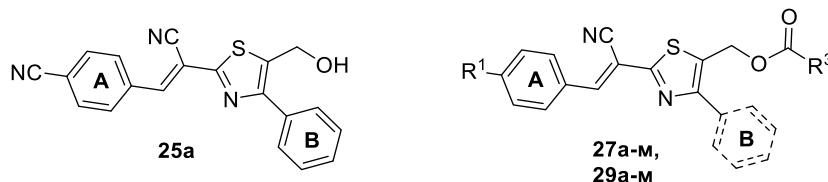


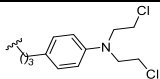
Рис. 2.36. Фотографии растворов конъюгатов (а,б) **27з** и (в,г) **27л** в различных растворителях при видимом свете (а,в) и УФ-облучении (б,г) (365 нм). Растворители: 1 – CHCl_3 , 2 – MeCN, 3 – ДМСО.

Следует отметить, что соединение **29з** демонстрирует низкую эмиссию в метаноле ($\lambda_{\text{исп}} = 405$ нм, $QY = 0,7\%$), однако, показывает высокую способность к поглощению ($\epsilon = 26\,600 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$), что является важнейшим параметром для последующего процесса фотодиссоциации.

Фотофизические характеристики конъюгатов **27а-м**, **29а-м** и АТЗ-ОН **25а** в различных растворителях.



№, п/п	Соединение	R ¹	Цикл В	R ³	Раств-ль	λ _{полг.} , ^[а] нм	ε, М ⁻¹ см ⁻¹	λ _{лисп.} , ^[б] нм	QY, ^[в] %	SS, ^[г] нм/см ⁻¹
1	25а	CN	Ph	-	CHCl ₃	291, 377	15600, 21000	485	20,7	108/5907
2					ДМСО	278, 379	18500, 17500	521	18,6	142/7191
3	27а	CN	Ph	4-МеОС ₆ Н ₄	CHCl ₃	262, 372	34600, 25300	477	9,2	105/5917
4					ДМСО	267, 370	31600, 19200	508	4,1	138/7342
5	27б	CN	Ph	Ph	CHCl ₃	276, 371	17300, 21300	475	7,3	104/5902
6					ДМСО	276, 369	17700, 17300	511	3,8	142/7531
7	27в	CN	Ph	4-ClC ₆ H ₄	CHCl ₃	371	24100	472	6,4	101/5768
8					ДМСО	275, 370	21000, 20700	509	3,7	139/7381
9	27г	CN	Ph	4-NO ₂ C ₆ H ₄	CHCl ₃	266, 370	25000, 23000	471	4,2	101/5796
10					ДМСО	270, 367	26500, 18700	507	3,0	140/7524
11	27д	CN	Ph	2-ОНС ₆ Н ₄	CHCl ₃	304, 370	21000, 24900	470	5,9	100/5750
12					ДМСО	284, 369	18200, 18300	507	4,9	138/7376
13	27е	CN	Ph		CHCl ₃	286, 371	38600, 21800	471	10,0	100/5723
14					ДМСО	286, 368	36900, 18500	508	4,1	140/7489
15	27ж	CN	Ph		CHCl ₃	297, 371	6300, 8200	474	2,5	103/5857
16					ДМСО	266, 369	23300, 7780	508	0,9	139/7415
17	27з	CN	4-ClC ₆ H ₄	4-МеОС ₆ Н ₄	CHCl ₃	268, 372	30000, 21600	477	6,9	105/5917
18					ДМСО	368	19600	509	4,6	141/7528
19	27и	CN	4-ClC ₆ H ₄		ДМСО	370	18600	-	-	-
20	27к	CN	4-МеС ₆ Н ₄		ДМСО	375	19800	535	1,5	160/7975
21	27л	CN	Тиофе н-2-ил	4-МеОС ₆ Н ₄	CHCl ₃	259, 302, 389	26400, 24600, 12900	517	7,4	128/6365
22					ДМСО	300, 385	26900, 11600	561	1,3	176/8149

23	27м	CN	Тиофе н-2-ил		ДМСО	301, 385	32700, 13100	-	-	-
24	29а	CN	Ph	<i>N</i> -Boc-Gly	CHCl ₃	296, 370	13100, 18600	475	6,8	105/5974
25					ДМСО	278, 369	16000, 17600	509	3,8	140/7454
26	29б	CN	Ph	<i>N</i> -Boc-GABA	CHCl ₃	292, 372	16200, 22200	473	9,6	101/5740
27					ДМСО	278, 371	17700, 19400	509	4,3	138/7308
28	29в	CN	Ph	<i>N</i> -Boc- <i>L</i> -Lys	ДМСО	277, 370	15900, 17400	507	3,6	137/7303
29	29г	CN	Ph	<i>N</i> -Boc- <i>L</i> -Pro	ДМСО	277, 367	16000, 17040	507	4,1	140/7524
30	29д	CN	Ph	<i>N</i> -Ac- <i>L</i> -Try	ДМСО	282, 369	17700, 14700	506	0,5	137/7337
31	29е	CN	Ph	<i>N</i> -Boc-Gly- <i>L</i> - Leu	ДМСО	278, 368	16000, 17600	510	4,2	142/7566
32	29ж	CN	Ph	<i>N</i> -Boc-Gly- <i>L</i> - Phe- <i>L</i> -Leu	ДМСО	275, 369	12500, 12900	508	3,7	139/7415
33	29з	OMe	Ph	<i>N</i> -Boc-Gly	ДМСО	378	21400	-	-	-
34					MeOH	238, 272, 373	16500, 6900, 26600	430	0,7	57/3554
35	29и	Br	Ph	<i>N</i> -Boc-Gly	ДМСО	273, 364	11500, 14300	469	0,6	105/6151
36	29к	CN	4- ClC ₆ H ₄	<i>N</i> -Boc-Gly	CHCl ₃	281, 370	17300, 19500	471	5,3	101/5796
37					ДМСО	280, 368	20200, 17500	509	3,9	141/7528
38	29л	CN	4- MeC ₆ H 4	<i>N</i> -Boc-Gly	CHCl ₃	299, 374	15800, 17900	491	15,5	117/6371
39					ДМСО	283, 373	18600, 17400	527	8,3	154/7834
40	29м	CN	Тиофе н-2-ил	<i>N</i> -Boc-Gly	CHCl ₃	246, 303, 387	14200, 26600, 14300	518	7,1	131/6535
41					MeOH	243, 299, 373	14600, 30500, 16500	551	2,0	178/8661
42					MeCN	243, 298, 376	11700, 28400, 13300	552	4,8	176/8480
43					ДМСО	303, 385	39700, 17800	561	1,3	176/8149

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М для конъюгатов **27а-ж,л, 29а,м**; $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М для конъюгатов **27з,к, 29б-л**; [в] относительный квантовый выход, определенный относительно стандарта (раствор хинин сульфата; $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄ с QY = 54,0 %); [г] сдвиг Стокса.

Увеличение электронодонорных свойств фрагмента В приводит к смещению максимумов поглощения и испускания в длинноволновую область. Интенсивность излучения растворов конъюгатов **27а-м** и **29а-м** ниже, чем у исходных флуорофоров Me-ATЗ **2а-е**, но величина квантового выхода сохранилась на детектируемом уровне и более высоком по сравнению с опубликованными примерами на основе BODIPY и пирена [157,165]. Большие

значения сдвига Стокса минимизируют потери энергии, связанные с самопоглощением излучения.

Изучение фотофизических свойств биоконъюгата **29м** в различных растворителях показало, что тип растворителя оказывает сильное влияние на положение максимума в спектрах эмиссии, который располагается в диапазоне от 518 нм в неполярном CHCl_3 до 561 нм в сильнополярном ДМСО. В метаноле наблюдается сильный батохромный сдвиг максимума испускаемого излучения до 551 нм, вероятно, не только из-за полярности этого растворителя, но и за счет образования водородных связей. Квантовый выход флуоресценции снижается при увеличении полярности растворителя с 7,1% в CHCl_3 до 1,3% в ДМСО (Рис. 2.37, Табл. 2.25)

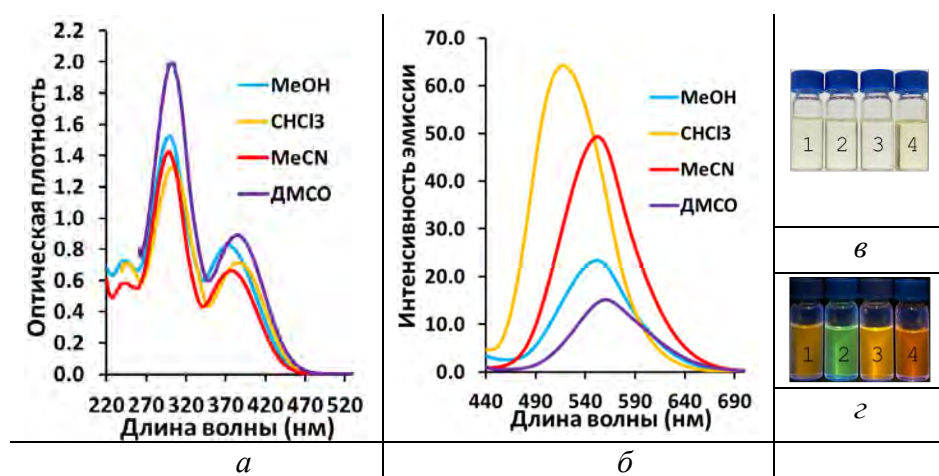


Рис. 2.37. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (б) испускания ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М) биоконъюгата **29м** в различных растворителях. Фотографии растворов биоконъюгата **29м** в различных растворителях при видимом свете (в) и УФ-облучении (г) (365 нм). Растворители: 1 – MeOH, 2 – CHCl_3 , 3 – MeCN, 4 – ДМСО.

Поведение флуорофоров в водных средах является решающим фактором для их применения в биологических системах. Поэтому мы изучили фотофизические характеристики растворов гибридов в бинарных смесях ДМСО и воды, а также ДМСО и фосфатного буфера (рН 7,5) (Рис. 2.38).

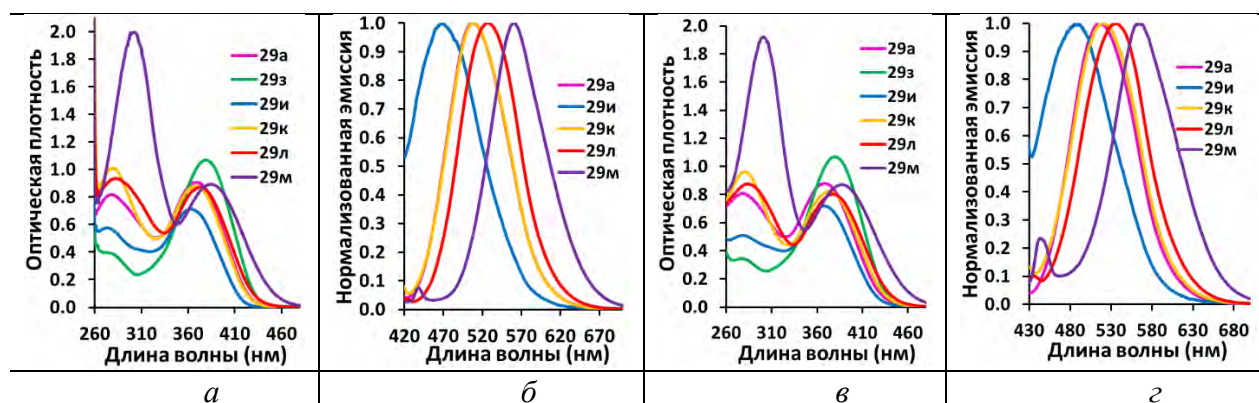
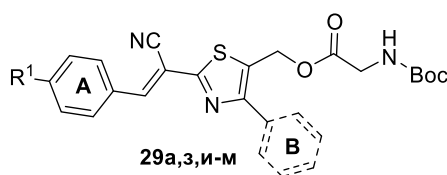


Рис. 2.38. Спектры (а,в) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (б,г) испускания биоконъюгатов **29а,з,и-м** ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М **29а,м**; $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М **29и-л**) в (а,б) ДМСО и (в,г) ДМСО-буфер 7,5 (1:1 об/об).

Максимумы поглощения и излучения одготипных соединений, например, биоконъюгатов **29а,з,и-м**, содержащих *N*-Вос-глицин (Табл. 2.26, Рис. 2.38), имеют близкие значения в ДМСО, ДМСО-Н₂О (1:1, об/об), ДМСО-буфер (1:1, об/об), за исключением соединения **29и**, для которого наблюдается гипсохромный сдвиг максимума эмиссии на 59 нм в смеси ДМСО-вода (1:1, об/об). Следует отметить уменьшение квантовых выходов биоконъюгатов в смеси ДМСО-вода и, в большей степени, в смеси ДМСО-буфер. Для биоконъюгата **29з** флюоресценция не регистрируется.

Таблица 2.26

Фотофизические характеристики биоконъюгатов **29а,з,и-м** в ДМСО, смесях ДМСО-вода и ДМСО-фосфатный буфер.^а



№, п/п	Соединение	R ¹	Цикл В	Растворитель	λ _{погл.} , ^[а] нм	ε, М ⁻¹ см ⁻¹	λ _{исп.} , ^[б] нм	QY, [в] %	SS, ^[г] нм/см ⁻¹
1	29а	CN	Ph	ДМСО	278, 369	16000, 17600	509	3,8	140/7454
2				ДМСО-Н ₂ О (1:1, об/об)	278, 363	15500, 17800	513	4,9	150/8055
3				ДМСО-буфер (1:1, об/об)	277, 369	16100, 17600	518	2,9	149/7795
4	29з	OMe	Ph	ДМСО	378	21400	-	-	-
5				ДМСО- Н ₂ О (1:1, об/об)	377	21000	-	-	-
6				ДМСО-буфер (1:1, об/об)	277, 380	6900, 21400	-	-	-
7	29и	Br	Ph	ДМСО	273, 364	11500, 14300	469	0,6	105/6151
8				ДМСО-Н ₂ О (1:1, об/об)	271, 358	10200, 11900	410	0,2	52/3542
9				ДМСО-буфер (1:1, об/об)	277, 367	10200, 14400	486	0,3	119/6671
10	29к	CN	4-ClC ₆ H ₄	ДМСО	280, 368	20200, 17500	509	3,9	141/7528
11				ДМСО-Н ₂ О (1:1, об/об)	279, 373	18900, 15900	513	3,5	140/7316

12				ДМСО-буфер (1:1, об/об)	282, 373	19200, 16400	521	1,2	148/7616
13	29л	CN	4- MeC ₆ H ₄	ДМСО	283, 373	18600, 17400	527	8,3	154/7834
14				ДМСО-Н ₂ O (1:1, об/об)	284, 376	17300, 15600	533	4,4	157/7834
15				ДМСО-буфер (1:1, об/об)	284, 377	17600, 16100	536	1,4	159/7868
16	29м	CN	Тиофен- 2-ил	ДМСО	303, 385	39700, 17800	561	1,3	176/8149
17				ДМСО-Н ₂ O (1:1, об/об)	300, 386	37200, 17000	561	<1,0	175/8081
18				ДМСО-буфер (1 : 1, об/об)	301, 387	38400, 17400	565	<1,0	178/8141

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М для биоконъюгатов **29а,м**; $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М для биоконъюгатов **29и-л**; [в] относительный квантовый выход, определенный относительно раствора хинин сульфата ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄, QY = 54,0 %); [г] сдвиг Стокса.

Для более детального изучения влияния строения конъюгатов **27а-в,л** и **29а,з,и,м** на их оптические свойства были проведены квантово-химические расчеты при использовании теории функционала плотности ((TD)-DFT) с учетом эффектов растворителя (ДМСО) (Приложение 1, Рис.3,4, Табл. 8-12). Все циклические фрагменты молекул биоконъюгатов **27а-в,л** непланарны. Кольцо А в структуре биоконъюгатов **27а-в,л** в ОС отклоняется от плоскости тиазольного цикла на угол $\theta_A = 25,4-29,0^\circ$ (за исключением эфира **27л**, $\theta_A = 0,1^\circ$), а цикл В - на угол $\theta_B = 35,0-36,6^\circ$ (так же, как это наблюдалось для Me-АТЗ **2а**) (Приложение 1, Табл. 8). Фрагмент карбоновой кислоты развернут на $\theta_C = 90,9-92,9^\circ$. Исключением является соединение **27л**, для которого θ_B и θ_C значительно меньше и составляют $\theta_B = 22,5^\circ$ и $\theta_C = 25,5^\circ$. в отличие от практически плоской структуры Me-АТЗ **2е**. Отличием структуры биоконъюгатов **29а,з,и,м** является копланарное расположение ароматического кольца А и тиазольного цикла (Приложение 1, Табл. 11-12). Рассчитанные параметры хорошо согласуются с данными рентгеноструктурного анализа кристалла соединения **27д**.

При возбуждении торсионные углы θ_A , θ_B в структуре конъюгатов **27а-в,л** и **29а,з,и,м** значительно уменьшаются, а в молекулах соединений **27л** и **29м** все циклы располагаются практически в одной плоскости (Приложение 1, Табл. 8,9,11,12). Эти изменения в геометрии молекул могут быть связаны с формированием внутримолекулярной нековалентной связи между атомами S тиазольного цикла и O карбоксильной группы (2,892-3,101 Å), которая значительно усиливается в возбужденном состоянии.

Абсолютная величина электрического дипольного момента биоконъюгатов в основном состоянии зависит от их структуры и изменяется от 3,9 D (для **27л**) до 12,6 D (для **27а**),

увеличиваясь при переходе в вертикальное возбужденное состояние, особенно для соединений **27л** и **29м** (цикл В = тиофен-2-ил) (Табл. 2.27). Для биоконъюгата **29з**, для которого флуоресценция не регистрируется, величина дипольного момента при возбуждении не меняется. При геометрической релаксации происходит небольшое уменьшение дипольного момента молекул. Для Ме-АТЗ **2а** и эфиров **27а-в**, **29а,з,и** характерны высокие значения силы осциллятора как в основном ($f_{01} = 1,162-1,452$) (Табл. 2.27), так и в возбужденном ($f_{10} = 1,239-1,461$) состояниях.

Таблица 2.27

Электронные характеристики Ме-АТЗ **2а,е** и конъюгатов **27а-в,л**, полученные в результате квантово-механических расчетов ((TD-)DFT)^[а].

№ п/п	Соед-ние	Раст-ль	f_{01}	ϵ_{H-L}	μ_0, D	f_{10}	ϵ_{L-H}	μ_{1v}, D	μ_{1r}, D	$\theta_{0,1v}, ^\circ$	$\theta_{0,1r}, ^\circ$
1	2а	ДМСО	1.163	0.6379	8.9	1.239	0.6824	15.5	15.2	7.6	8.8
2		MeCN	1.162	0.6408	8.8	1.236	0.6824	15.5	15.2	7.6	8.8
3	27а	ДМСО	1.254	0.6305	12.6	1.271	0.6808	16.8	16.2	8.4	11.3
4		MeCN	1.256	0.6309	12.6	1.269	0.6808	16.8	16.1	8.5	11.5
5	27б	ДМСО	1.246	0.6386	10.6	1.248	0.6815	14.9	14.3	8.2	9.4
6		MeCN	1.245	0.6309	10.6	1.248	0.6815	14.9	14.2	8.2	161.4
7	27в	ДМСО	1.259	0.6379	9.6	1.269	0.6811	13.8	13.0	10.9	99.7
8		MeCN	1.260	0.6318	9.6	1.268	0.6811	13.7	13.0	10.9	13.8
9	29а	MeCN	1.438	0.6636	8.0	1.453	0.6848	13.4	14.6	17.0	17.9
10		ДМСО	1.439	0.6634	8.0	1.454	0.6848	13.4	14.7	17.0	17.9
11	29з	MeCN	1.391	0.6784	6.3	1.461	0.6868	6.3	6.3	1.2	1.2
12		ДМСО	1.400	0.6774	6.3	1.460	0.6865	6.3	6.3	1.2	1.2
13	29и	MeCN	1.452	0.6862	6.2	1.301	0.6953	8.5	7.5	9.9	42.5
14		ДМСО	1.452	0.6862	6.2	1.305	0.6955	8.5	7.5	10.0	41.9
15	2е	ДМСО	0.622	0.7005	9.0	0.626	0.6998	28.2	27.0	1.1	3.3
16		MeCN	0.619	0.7005	9.0	0.624	0.6997	28.2	26.9	1.1	3.3
17	27л	ДМСО	0.614	0.7001	3.9	0.616	0.6993	23.3	21.9	18.4	24.0
18		MeCN	0.611	0.7000	3.9	0.613	0.6992	23.3	21.9	18.4	23.9
19	29м	MeCN	0.544	0.6996	6.8	0.524	0.6984	26.9	25.6	17.1	18.0
20		ДМСО	0.547	0.6997	6.8	0.528	0.6985	26.9	25.7	17.1	18.0

[а] Сила осциллятора (f_{01}) при переходе в возбуждённое состояние и флуоресценции (f_{10}), модули электрического дипольного момента в основном состоянии (μ_0), в вертикальном возбужденном (μ_{1v}), в возбужденном состоянии после геометрической релаксации (μ_{1r}) и углы, сформированные векторами дипольного момента ($\theta_{0,1v}$ и $\theta_{0,1r}$).

Исследование электронной структуры конъюгатов **27а-в,л** и **29а,з,и,м** показало, что для них наблюдается аналогичная картина распределения электронной плотности ВЗМО и НСМО, как для исходных тиазолов **2а,е** (Рис. 2. 39; Приложение 1, Рис. 5,6).

Соед-ние

Основное состояние

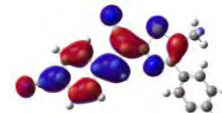
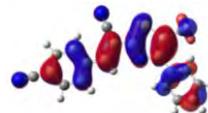
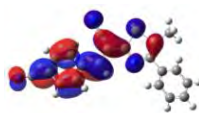
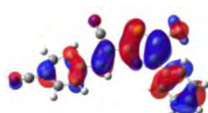
Возбужденное состояние

ВЗМО

НСМО

ВЗМО

НСМО

2а

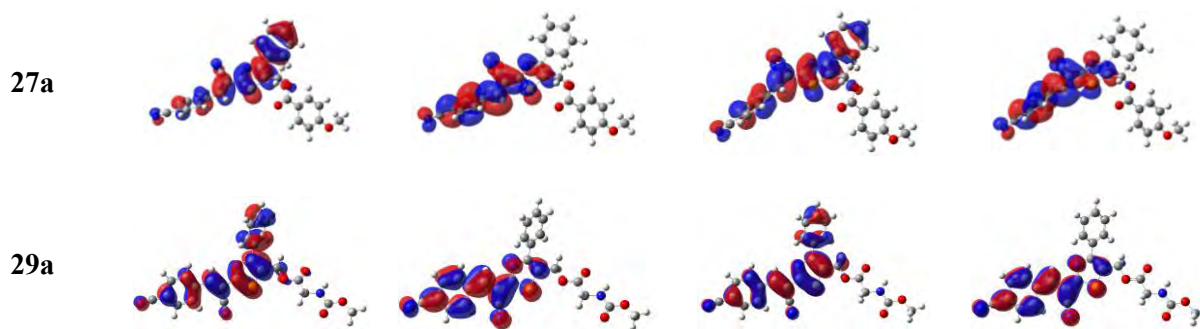


Рис. 2.39. Граничные молекулярные орбитали, ВЗМО и НСМО, в основном и возбужденном состояниях для Me-AT3 **2a** и конъюгатов **27a** и **29a** с учетом влияния растворителя (ДМСО): (TD-)DFT ω -B97X-D/6-311++G**//IEF-PCM(UFF).

Так, значительное смещение электронной плотности в НСМО от ароматического кольца В к электроноакцепторному заместителю (CN-группа) в кольце А подтверждает формирование состояния внутримолекулярного переноса заряда для исследуемых соединений. Следует отметить, что ароматический фрагмент сложноэфирной группы не участвует в системе сопряжения, поскольку отделен тремя σ -связями. Таким образом, присоединение биомолекулы практически не изменяет локализацию ВЗМО и НСМО по сравнению с исходными флуорофорами, что соответствует полученным спектральным характеристикам (Табл. 2.25). Уменьшение интенсивности излучения связано с увеличением массы биоконъюгатов и их гибкости, что повышает величину безызлучательных потерь энергии при геометрической релаксации. Образование нековалентной связи между атомами S и O, отмеченное ранее, увеличивает жесткость молекулы и препятствует уменьшению интенсивности излучения.

2.3.3. Хромато-масс-спектрометрическое изучение продуктов фотодиссоциации конъюгатов **27** и **29**

Фотодиссоциация конъюгатов, состоящих из флуорофора и биомолекулы, была проведена с использованием нескольких экспериментальных подходов, включающих хромато-масс-спектрометрический мониторинг процесса и определение образующихся продуктов, кинетические исследования, квантово-механические расчеты, определение эффективности процесса.

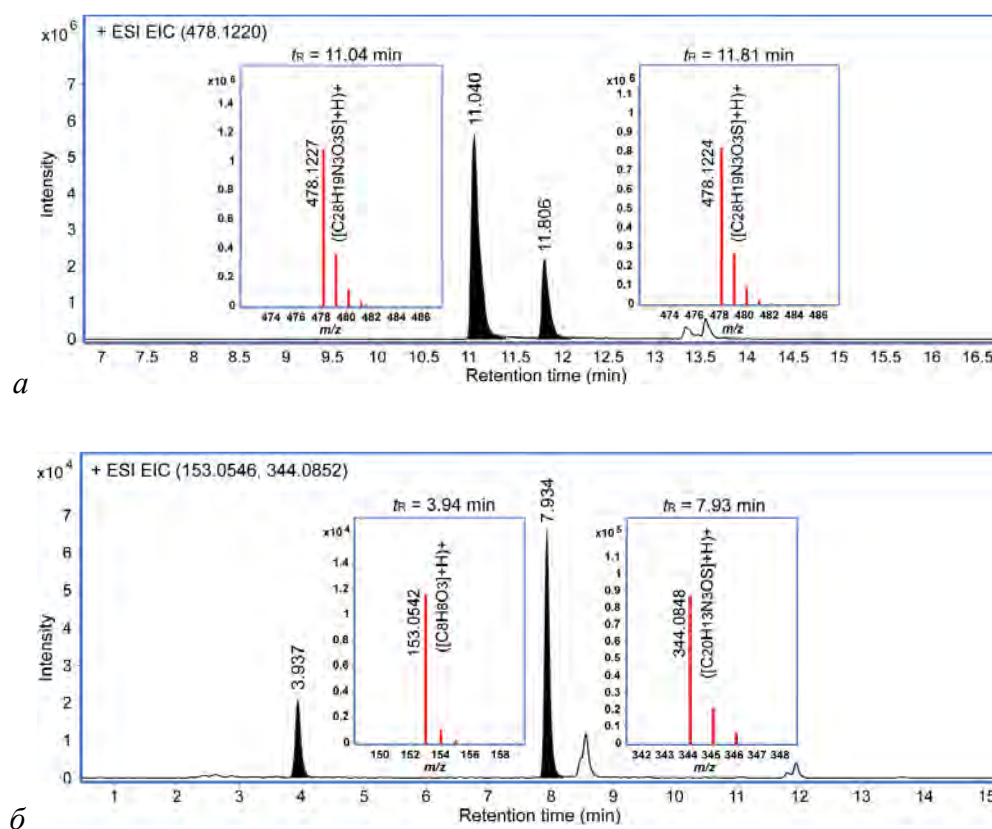
Хромато-масс-спектрометрические исследования являются чрезвычайно удобным методом для определения продуктов реакции, поскольку позволяет разделить их, определить точные молекулярные массы молекул и соответствующие им эмпирические формулы, а также контролировать изменение их содержания в реакционной смеси в ходе превращения. Анализ

площадей полос на хроматограммах, соответствующих конкретному реагенту или продукту, дает представление об изменении концентрации ключевых веществ⁴.

Для изучения механизма фотодиссоциации полученных в работе биоконъюгатов и определения параметров, определяющих механизм и эффективность фотолитического высвобождения биомолекул, мы использовали в качестве модельного соединения эфир **27a**, содержащий фрагмент *n*-метоксибензойной кислоты, и эфир **29a**, в структуре которого содержится фрагмент *N*-Вос-глицина. Для сравнения результатов нашего исследования с литературными данными мы выбрали условия с учетом опубликованных данных [187,189-191].

Реакцию фоторазложения проводили в фотореакторе Penn PhD M2 в смеси ацетонитрил-вода (9:1, 7:3 об/об) [192] при различной интенсивности облучения ($I = 20$ и 50 %). Концентрация раствора составляла $4,2 \times 10^{-4}$ М, длина волны облучения – $\lambda_{обл} = 365$ нм.

Анализ раствора соединения **27a** в смеси ацетонитрил-вода (9:1, об/об) после облучения ($I = 50\%$, $\lambda = 365$ нм) в течение 5 мин показал присутствие в масс-спектре не только пика, соответствующего исходному эфиру ($[M + H]^+ = 478,1227$ и $t_R = 11,81$ мин) (Рис. 2.40а), но и пика соединения, которое по молекулярной массе и брутто-формуле соответствует той же молекуле **27a**, но имеет более короткое время удерживания ($t_R = 11,04$ мин) (Рис. 2.40а).



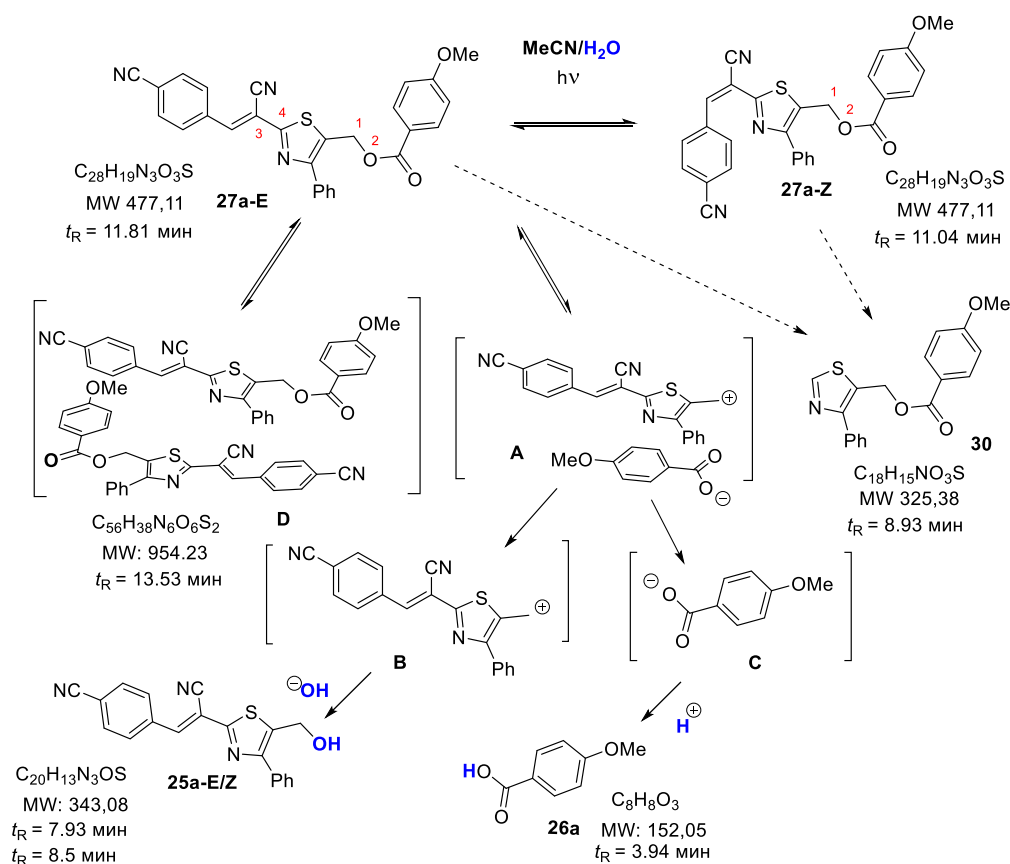
⁴ Хромато-масс-спектрометрические эксперименты проведены к.х.н. Шевыриным В.А., ведущим инженером испытательной аналитической лаборатории ХТИ УрФУ

Рис. 2.40. Хроматограммы ионов при $t_R = 11,04$ мин и $11,81$ мин (а), $t_R = 3,94$ мин и $7,93$ мин (б) после 5 мин облучения ($I = 50\%$, $\lambda_{\text{обл}} = 365$ нм) раствора **27a** в MeCN-H₂O (9:1, об/об) и соответствующие масс-спектры.

В масс-спектре наблюдаются два пика АТЗ-ОН **25a** с молекулярной массой ($[M + H]^+ = 344,0848$, $t_R = 7,93$ мин и $8,55$ мин) и пик 4-метоксибензойной кислоты **26a**, ($[M + H]^+ 153,0542$, $t_R = 3,94$ мин) (Рис. 2.40б). В ходе реакции было обнаружено образование димера **D** эфира **27a**, что наблюдалось на хроматограмме ($C_{56}H_{38}N_6O_6S_2$, $t_R = 13,53$ мин). Снижение интенсивности облучения в реакторе до 20% или использование длины волны $\lambda_{\text{обл}} = 254$ нм приводит к уменьшению скорости накопления первичных продуктов фотодиссоциации.

Появление на хроматограмме двух пиков с одинаковой массой, но разным временем удерживания для исходного соединения **27a** и гидроксисоединения **25a**, может быть результатом изомеризации этих соединений при фотооблучении и перехода *E*-изомера в *Z*-изомер, что часто наблюдается для органических соединений, содержащих кратные связи (Схема 2.26) [193].

Схема 2.26



Более продолжительное облучение раствора (в течение следующих 20 минут) приводит к увеличению содержания 4-метоксибензойной кислоты **26a** (в 3,5 раза), о чем свидетельствует увеличение площадей пиков на хроматограммах, соответствующих $m/z =$

153,0546. Далее содержание 4-метоксибензойной кислоты **26a** увеличивается примерно в 1,1–1,4 раза каждые 20 мин.

Площадь хроматограмм, соответствующих m/z 344,0852, показывают увеличение содержания АТЗ-ОН **25a** в реакционной смеси в 1,8 раза при увеличении времени облучения от 5 до 20 минут. В последующих пробах реакционной смеси происходит постепенное уменьшение количества гидроксисоединения **25a**, что может быть связано с разрывом связи С(3)-С(4) и образованием продукта **30**.

Опираясь на литературные данные и полученные результаты, можно представить предполагаемый механизм фотодиссоциации эфира **27a** через первоначальное образование *Z*-изомера и димера D, расщепление связи С-О и далее образование комплекса А, взаимодействие которого с водой дает соответствующий спирт **25a** и кислоты **26a**.

Эксперимент, в ходе которого раствор эфира **27a** облучали в этих же условиях в метаноле при длине волны $\lambda_{\text{обл}} = 365$ нм и интенсивности излучения 50%, показал, что в этом случае вместо АТЗ-ОН **25a** образуется метиловый эфир **31** ($[M + H]^+ = 358.1009$, $t_R = 10.38$ мин) (Схема 2.27, Рис. 2.41).

Схема 2.27

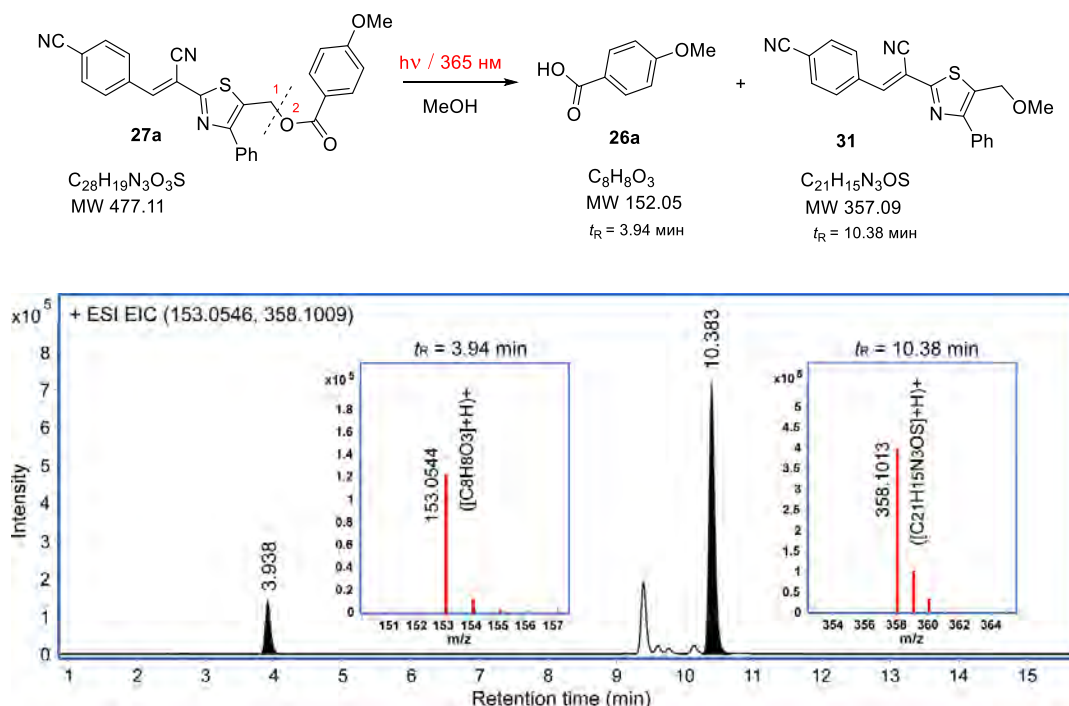


Рис. 2.41. Хроматограмма раствора конъюгата **27a** после облучения ($I = 50\%$, $\lambda_{\text{обл}} = 365$ нм) в MeOH для $t_R = 3,94$ мин и $t_R = 10,38$ мин и соответствующие им пики в масс-спектре.

Аналогичные эксперименты, проведенные для растворов эфиров **27д-ж** ($I = 50\%$, $\lambda = 365$ нм) показали для всех исследованных соединений образование *Z*-изомера исходного

соединения и АТЗ-ОН **25**, а также соответствующих кислот **26д-ж**, и продемонстрировали похожие закономерности накопления продуктов фотодиссоциации, установленные ранее для эфира **27а**.

Количественный выход кислоты в ходе фотодиссоциации был определен хромато-масс-спектрометрическим методом с помощью градуировочного графика кислоты **26а**. Концентрацию 4-метоксибензойной кислоты при фотодиссоциации определяли в аликвотах, отобранных из исследуемого раствора MeCN-H₂O (7:3, об/об) через определенные промежутки времени. После 6,5 часов облучения выход кислоты **26а** составил около 52%, хотя тенденция к увеличению концентрации кислоты сохранялась (Табл. 2.28).

Таблица 2.28

Изменение концентрации кислоты **26а** в ходе фотодиссоциации конъюгата **27а**.

№, п/п	Время, ч	t_R	Концентрация кислоты 26а , мкг/мл	Выход 26а , %
1	0,0	3,897	0,2254	0,3
2	0,5	3,900	7,8431	12,3
3	1,0	3,900	10,6579	16,7
4	2,0	3,894	13,9106	21,8
5	3,0	3,892	19,1875	30,1
6	4,0	3,894	24,6840	38,7
7	5,0	3,900	28,6771	45,0
8	6,5	3,898	32,9984	51,8

Для изучения процесса фотодиссоциации биоконъюгатов, содержащих в качестве биомолекулы аминокислоты, мы провели серию подобных экспериментов для соединений **29а** ($R^1 = CN$), **29з** ($R^1 = OMe$), **29и** ($R^1 = Br$) в смеси ацетонитрил-вода (7:3, об/об) при облучении $\lambda=365$ нм и интенсивности $I=50\%$. Аликвоты растворов биоконъюгата **29а** анализировали в начальный момент времени и далее после облучения через 5, 20, 40 и 60 мин. В результате этого эксперимента было обнаружено образование всех ожидаемых продуктов (Схема 2.28). Относительное соотношение пиков *Z*- и *E*-изомеров соединений **29а** изменяется в ходе наблюдения. Однако, при дальнейшем облучении суммарное содержание этих двух пиков постепенно уменьшается, что свидетельствует об их активном участии в процессе фотодиссоциации.

Схема 2.28

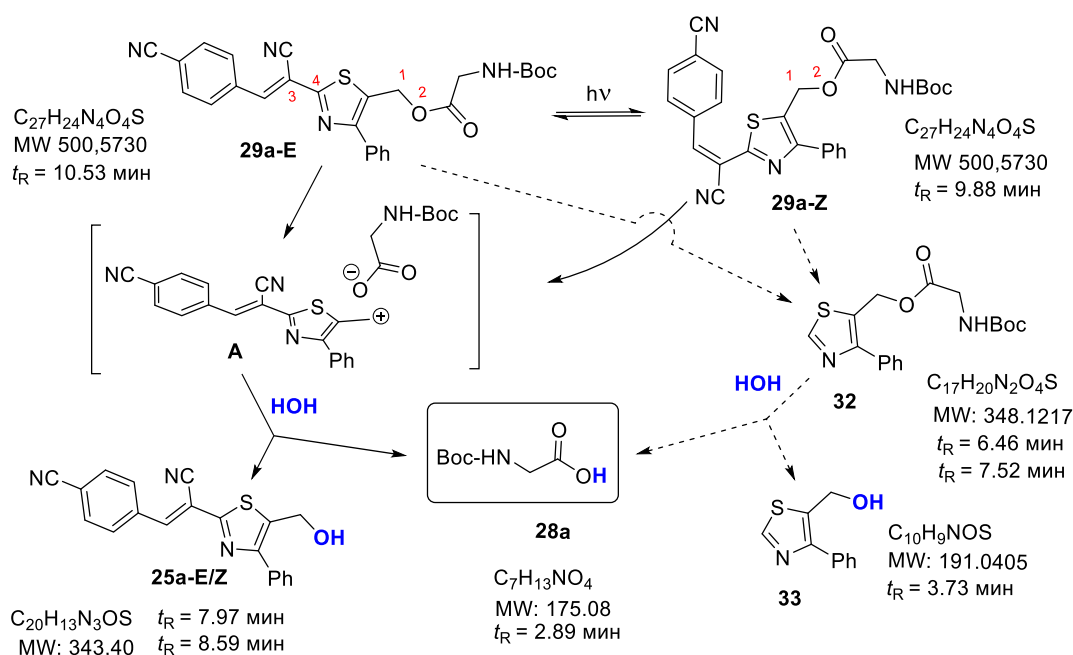


Схема фотодиссоциации биоконъюгата **29a** несколько отличается от схемы 2.26. Фотосольволиз биоконъюгата **29a** включает разрыв связи C(1)-O(2) сложноэфирной группы, что приводит к накоплению *N*-Вос-глицина **28a** и АТЗ-ОН **25a**. Это подтверждается постепенным увеличением на полученных хроматограммах площади пика со временем удерживания $t_R = 2,89$ минут, соответствующего молекуле глицина ($m/z = 76,0393$, $[(M - C_5H_8O_2) + H]^+$), образование которого происходит в электрораспылительном источнике ионизации в результате отщепления *N*-Вос-фрагмента, что было подтверждено при регистрации масс-спектра высокого разрешения *N*-Вос-глицина (Рис. 2.42). АТЗ-ОН **25a** в ходе фотодиссоциации образуется в форме *Z*- и *E*-изомеров, что подтверждается присутствием на хроматограмме двух пиков (Рис. 2.42). В ходе процесса площадь пиков АТЗ-ОН **25a** не увеличивается, по-видимому, в результате осуществления альтернативных превращений исходного соединения **29a**, одним из которых является расщепление связи C(3)-C(4) и образование фотопродукта **32**, который далее при разрыве связи C-O приводит к *N*-Вос-глицину и (4-фенилтиазол-5-ил)метанолу **33** (Схема 2.28).

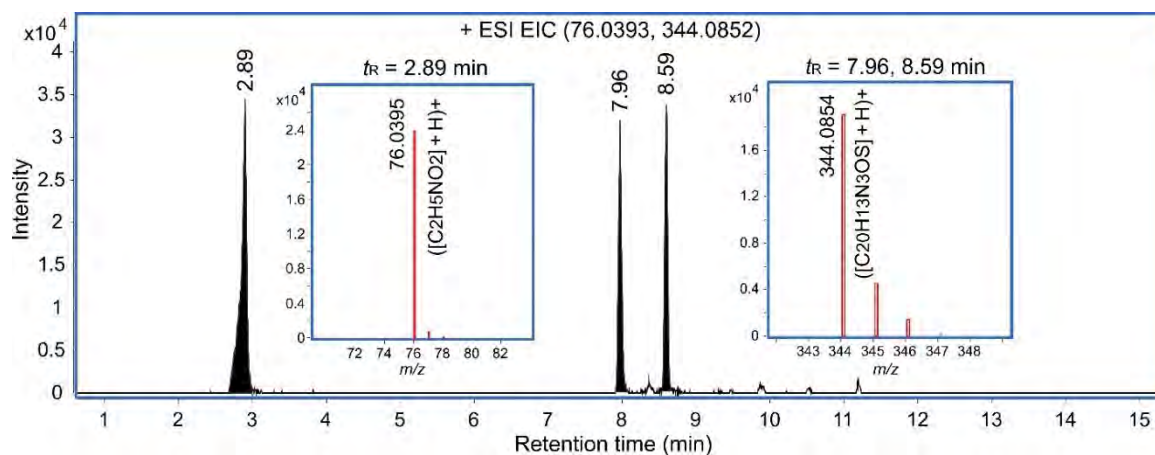


Рис. 2.42. Хроматограммы ионов при $t_R = 2,89$ мин и 7,96, 8,59 мин после 5 мин облучения (мощность 50%, $\lambda_{\text{обл}} = 365$ нм) раствора биоконъюгата **29a** в MeCN-H₂O (7:3, об/об) и соответствующие масс-спектры.

Соединения **29з,и**, содержащие *n*-метоксигруппу и атом Br в 4-положении кольца А, были изучены в тех же условиях и показали примерно такую же картину образования и накопления продуктов фотодиссоциации (Приложение 3, Рис. 1-4).

Изучение площадей пиков на масс-хроматограммах для реакционной смеси в ходе фотодиссоциации биоконъюгатов **29а,з,и** в растворах MeCN-H₂O (7:3, об/об) показало, что фотовысвобождение *N*-Вос-глицина происходит быстрее для биоконъюгата **29а** (Рис. 2.43а). Замена смеси растворителей MeCN-H₂O (7:3, об/об) на метанол для биоконъюгата **29а** привела к росту скорости фотодиссоциации, что выражалось в значительном увеличении площадей пиков *N*-Вос-глицина на масс-хроматограммах (Рис. 2.43б).

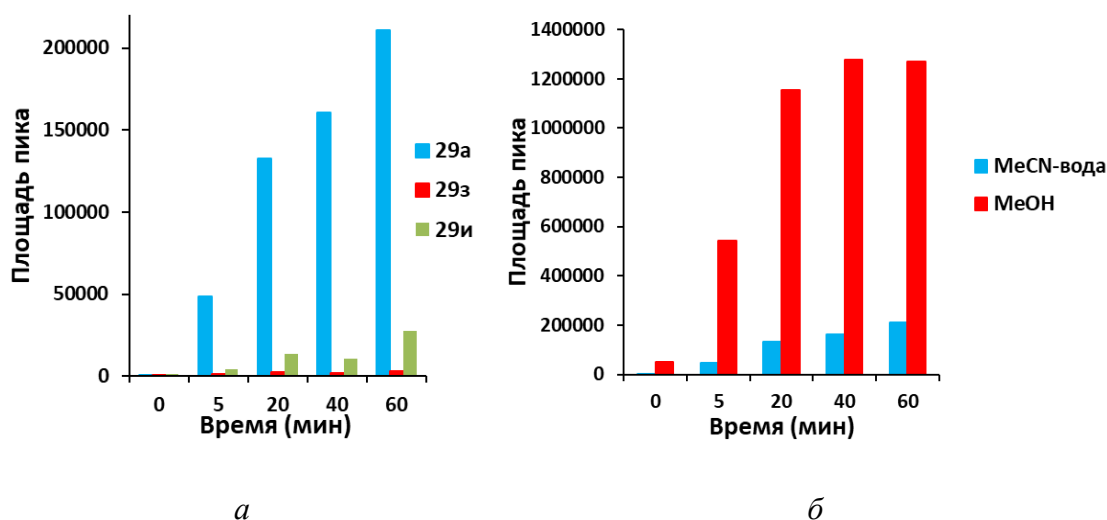


Рис. 2.43. (а) Изменение содержания *N*-Вос-глицина **28а** в ходе фотодиссоциации биоконъюгатов **29а,з,и** в смеси MeCN-H₂O (7:3, об/об); (б) изменение содержания *N*-Вос-

глицина **28a** в ходе фотодиссоциации биоконъюгата **29a** в смеси MeCN-H₂O (7:3, об/об) и MeOH.

Количественный эксперимент для определения выхода *N*-Вос-глицина в ходе фотодиссоциации биоконъюгата **29a** проводили с использованием градуировочной кривой, построенной для иона с $m/z = 76,0393$ в диапазоне концентраций 3,0–77,0 мкг/мл. Общее время облучения составило 360 мин с отбором проб с интервалом 30–60 мин (Табл. 2.29). В результате эксперимента был получен более высокий выход биомолекулы по сравнению с фотодиссоциацией эфира **27a**.

Таблица 2.29

Изменение концентрации кислоты **28a** в ходе фотодиссоциации биоконъюгата **29a**.

№, п/п	Время, ч	Выход кислоты 28a , %
1	0,0	0,0
2	0,5	21,8
3	1,0	35,8
4	2,0	47,5
5	3,0	54,9
6	4,0	62,5
7	5,0	73,0
8	6,0	89,0

Следует отметить, что выход *N*-Вос-глицина **28a** близок к значениям ранее опубликованных результатов для биоконъюгатов аминокислот с другими фотозащитными группами [165,187,191,194-197].

2.3.4. Определение кинетических параметров и квантового выхода фотодиссоциации биоконъюгатов

Важным фактором использования фотокурьерных систем является определение скорости фотодиссоциации биоконъюгата, поскольку позволяет определить перспективы программированного высвобождения биомолекулы или лекарства.

Одним из удобных и распространенных способов изучения кинетики фотодиссоциации является УФ-спектроскопия. Кинетические исследования фотодиссоциации биоконъюгатов проводили в бинарной смеси ДМСО-буфер (рН = 7,5; 1:1, об/об). Изменение концентрации исходного эфира контролировали по спектрам поглощения смеси при облучении светом $\lambda=365$ нм и $\lambda=420$ нм (интенсивность светодиода 20 и 50%, перемешивание 600 об/мин).

Изучение кинетики фототрансформации соединения **27a**, содержащего *n*-метоксибензойную кислоту, проводилось по изменению оптической плотности длинноволнового максимума (374 нм) в спектре поглощения. С увеличением времени

облучения в спектрах поглощения наблюдалось (1) равномерное уменьшение интенсивности полос поглощения при 374 и 274 нм, (2) появление нового максимума в коротковолновой области спектра при $\lambda = 251$ нм, который соответствует максимуму поглощения 4-метоксибензойной кислоты, и (3) формирование изобестической точки при $\lambda = 266$ нм (Рис. 2.44а). Константу скорости фотодиссоциации определили по наклону прямой линии, описывающей логарифмическую зависимость изменения оптической плотности во времени (Рис. 2.44б). Экспериментальные точки незначительно отклонялись от полученного линейного тренда ($R^2 = 0,98-0,99$).

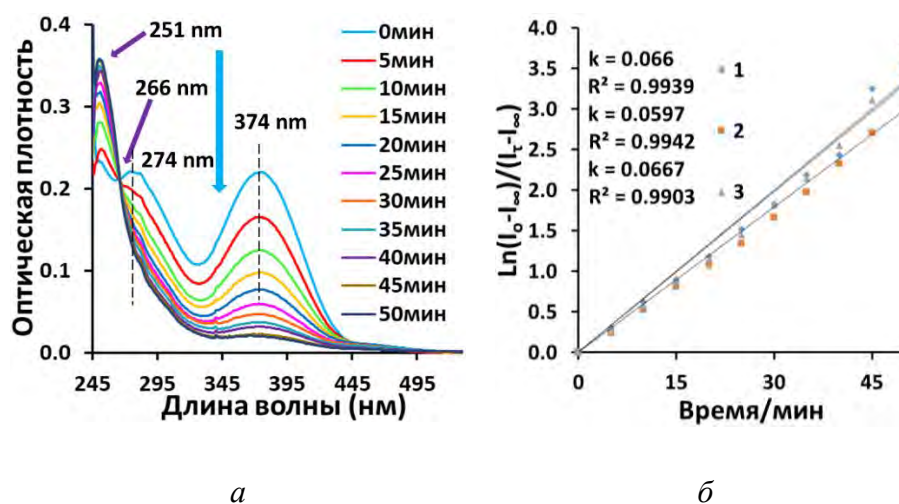


Рис. 2.44. (а) Изменение спектров поглощения раствора конъюгата **27а** ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М) в бинарной смеси растворителей ДМСО-буфер (рН 7,5) при облучении ($\lambda_{\text{обл}} = 365$ нм). (б) График зависимости $\ln[(I_0 - I_\infty)/(I_t - I_\infty)]$ от t для биоконъюгата **27а**.

Оценку скорости фотодиссоциации биоконъюгатов **27з-к,м** проводили по времени полупревращения, которое определяли с помощью кинетической кривой (Приложение 4, Рис. 1). В качестве примера на рисунке 2.45 представлены графики зависимости оптической плотности от времени фотооблучения с построенными логарифмическими линиями тренда для биоконъюгата **27м**.

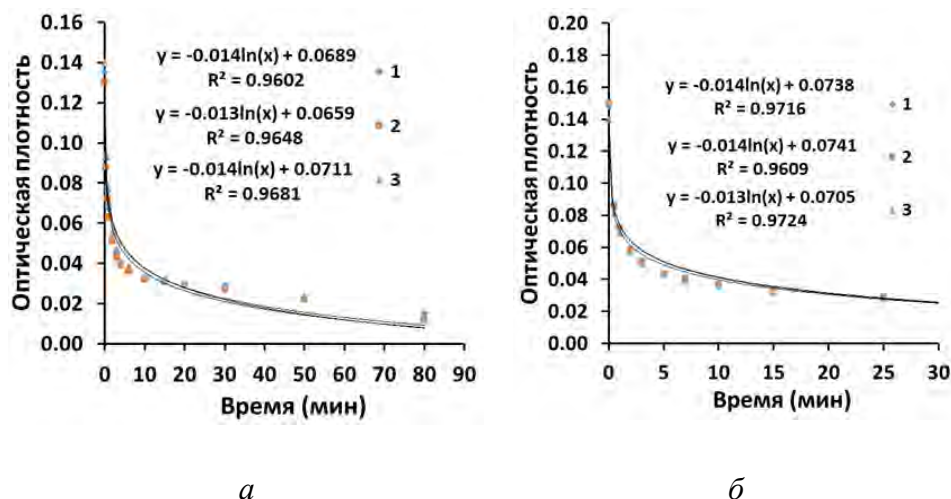
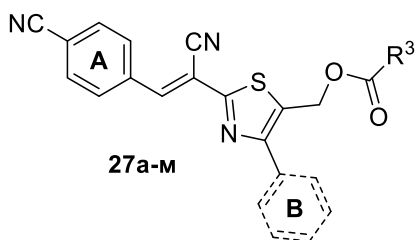


Рис. 2.45. Графики зависимости оптической плотности от τ для конъюгата **27м** при облучении светом с длиной волны (а) 365 нм и (б) 420 нм.

Наблюдаемая константа скорости (\bar{k}) и стандартное отклонение были определены на основе нескольких кинетических экспериментов для всех исследованных биоконъюгатов **27а,б,г-ж,з,л** (Приложение 4, Рис. 1). Данные кинетических исследований для эфиров **27а,б,г-ж** в смеси ДМСО-буфер (рН = 7,5; 1:1, об/об) представлены в таблице 2.30.

Анализ полученных данных показал, что (1) независимо от структуры цикла В и условий фотодиссоциации быстрее происходит высвобождение хлорамбуцила (Табл. 2.30, строки 6,9–12, 14,15); (2) введение в цикл В заместителя (R = 4-Me, 4-Cl) или замена его на тиофен приводит к значительному увеличению скорости реакции, за исключением биоконъюгата **27л**; (3) использование более длинноволнового излучения оказывает неоднозначное влияние на кинетику диссоциации: для **27з,м** происходит увеличение скорости (Табл. 2.30, строки 7,8,14,15), в то время как для биоконъюгатов **27и,к** скорость исследуемой реакции уменьшается (Табл. 2.30, строки 9–12); (4) присутствие электроноакцепторного заместителя в ароматическом цикле карбоновой кислоты соединения **27г** вызывает небольшое увеличение скорости реакции (Табл. 2.30, строка 3).

Данные кинетики фототрансформации растворов конъюгатов **27а,б,г-м** в смеси ДМСО-буфер (рН = 7,5) (1:1, об/об).



№, п/п	Соединение	Цикл В	R ³	λ _{обл} , нм	I, %	\bar{k} , мин ⁻¹ ^a	τ _{1/2} , мин	Q _u × 10 ⁴
1	27а	Ph	4-MeOC ₆ H ₄	365	20	0,064 ± 0,004	10,6	3,3
2	27б		Ph			0,071 ± 0,001	9,8	4,4
3	27г		4-NO ₂ C ₆ H ₄			0,072 ± 0,002	9,6	4,0
4	27д		2-HOC ₆ H ₄			0,062 ± 0,002	11,2	3,3
5	27е					0,068 ± 0,002	10,2	4,2
6	27ж					0,074 ± 0,003	9,4	5,0
7	27з	4-ClC ₆ H ₄	4-MeOC ₆ H ₄	365	50	0,218 ± 0,010	3,2	3,2
8			-	420		-	1,1 ^б	- ^в
9	27и		365	-		0,3 ^б	- ^в	
10			420	-		0,4 ^б	- ^в	
11	27к	4-MeC ₆ H ₄		365		-	0,3 ^б	- ^в
12			420	-		0,4 ^б	- ^в	
13	27л	Тиофен-2-ил	4-MeOC ₆ H ₄	420		0,012 ± 0,003	56,1	0,3
14	27м		365	-		0,6 ^б	- ^в	
15			420	-		0,5 ^б	- ^в	

[a] Указанные значения представляют собой среднеквадратичную ошибку, полученную в результате трех измерений; [б] время полупревращения определялось по кинетической кривой; [в] не определялся.

Одной из характеристик эффективности протекания фотохимической реакции является ее квантовый выход (Q_u), который определяется как отношение числа прореагировавших или образовавшихся молекул к числу фотонов поглощенного света [198].

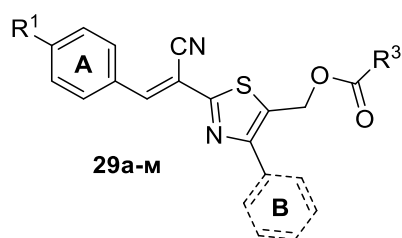
При поглощении одного фотона превращению подвергается одна молекула реагента. В таком случае квантовый выход фотореакции принимается Q_u = 1. Когда поглощение одного фотона вызывает превращение или образование более чем одной молекулы, квантовый выход Q_u > 1, а если меньше одной молекулы, то Q_u < 1 [199]. К причинам низкого квантового

выхода фотореакции относят: (1) дезактивацию возбужденных молекул до образования продуктов; (2) столкновение возбужденных молекул с невозбужденными молекулами, которые могут привести к потере энергии первых; (3) первичный фотохимический процесс может быть равновесным и скорость обратной реакции может быть высокой; (4) диссоциированные фрагменты могут рекомбинировать с образованием исходной молекулы; (5) потери энергии при флуоресценции.

Современные процедуры определения квантового выхода основаны на использовании метода химической актинометрии для определения потока фотонов [200]. Квантовые выходы фотодиссоциации биоконъюгатов **27а,б,г-з,л** были определены с помощью методики, основанной на использовании ферриоксалата калия ($K_3Fe(C_2O_4)_3 \times 3H_2O$) в качестве актинометра (Табл. 2.30) [200-202].

Кинетику фотодиссоциации биоконъюгатов **29а-м** изучали в бинарной смеси ДМСО-буфер (рН = 7,5; 1:1, об/об). Изменение концентрации исходного эфира контролировали по изменению оптической плотности длинноволнового максимума в спектрах поглощения при облучении образцов светом $\lambda = 365$ и $\lambda = 420$ нм при интенсивности светодиода 20 и 50%. Практически для всех изученных биоконъюгатов **29а-ж** исследуемый процесс хорошо соответствует уравнению кинетики первого порядка ($R^2 = 0,99$) (Табл. 2.31; Приложение 4, Рис. 2). Отклонение экспериментальных точек от полученного линейного тренда для биоконъюгатов **29з** ($R^2 = 0,98$) и **29и** ($R^2 = 0,96$), вероятно, вызвано небольшим вкладом побочных процессов.

Данные кинетики фототрансформации растворов биоконъюгатов **29а-м** в смеси ДМСО-буфер (рН = 7,5) (1:1, об/об).



№, п/п		Соединение	R ¹	Цикл В	R ³	λ _{обл} , нм	I, %	\bar{k} , мин ⁻¹ ^a	τ _{1/2} , мин	Q _u × 10 ⁴	
1	1	29а	CN	Ph	N-Вос-Gly	365	50	0,149 ± 0,003	4,6	1,9	
2	2						20	0,064 ^b ± 0,004	10,5	4,3	
3	3					420	0,043 ± 0,001	16,2	2,0		
6	4	29б			Ph	N-Вос-GABA	365	50	0,160 ± 0,002	4,3	2,2
7	5	29в				N-Вос-L-Lys			0,134 ± 0,004	5,1	1,9
8	6	29г				N-Вос-L-Pro			0,143 ± 0,001	4,8	2,1
9	7	29д				N-Ас-L-Try			0,136 ± 0,002	5,1	1,9
10	8	29е				N-Вос-Gly-L-Leu			0,140 ± 0,001	4,9	2,3
11	9	29ж				N-Вос-Gly-Phe-Leu			0,139 ± 0,003	4,9	2,2
12	10	29з				OMe			N-Вос-Gly	0,0073 ± 0,0001	94,9
13	11	29и	Br	N-Вос-Gly		0,023 ± 0,001			31,1	0,3	
14	12	29к	CN	4-ClC ₆ H ₄		N-Вос-Gly			365	-	1,0 ^в
15	13	29л		4-MeC ₆ H ₄	N-Вос-Gly	365	0,160 ± 0,001	4,3	2,6		
16	14			4-MeC ₆ H ₄	N-Вос-Gly	420	-	3,1 ^в	- ^б		
17	15	29м		Тиофен-2-ил	N-Вос-Gly	420	-	7,4 ^в	- ^б		

[a] Указанные значения представляют собой среднеквадратичную ошибку, полученную в результате трех измерений; [б] время полупревращения определялось по кинетической кривой; [в] не определялся.

Анализ полученных данных позволил сделать следующие выводы: (1) введение в цикл А электроноакцепторных заместителей (Табл. 2.31, строки 1, 10 и 11) приводит к заметному уменьшению констант скорости реакции; (2) ослабление интенсивности облучения с 50% до

20% приводит к значительному уменьшению константы скорости (Табл. 2.31, строки 1 и 2); (3) облучение $\lambda = 420$ нм вызывает уменьшение константы скорости в 3,5 раза для биоконъюгата **29a** (цикл В = Ph, Табл. 2.31, строки 1 и 3) (4) квантовый выход фотодиссоциации биоконъюгатов **29a-и,л** ($Q_u = 0,1-2,6 \cdot 10^{-4}$) несколько ниже значений, определенных ранее для биоконъюгатов **27a-з** ($Q_u = 3,2-5,0 \times 10^{-4}$). (Табл. 2.30 и 2.31).

Таким образом, кинетические исследования показали, что скорость фотодиссоциации сильно зависит от структуры соединений, длины волны облучения и мощности облучения. Замена фенильного кольца В тиазола на другие ароматические циклы с заместителями и тиофеновый фрагмент приводит к изменению кинетических характеристик.

2.3.5. Гидролиз конъюгатов **27** и **29** в ДМСО-Н₂О (9:1, об/об), ДМСО-буфер (1:1, об/об), MeCN-Н₂О (9:1, об/об) и MeOH

Диссоциация С-О связи сложноэфирного фрагмента может происходить при гидролизе в органическом растворителе или смеси растворителя и буфера. Для того, чтобы определить степень влияния гидролиза на фотодиссоциацию биоконъюгата **27a**, было проведено изучение его стабильности в смеси ДМСО-Н₂О (9:1, об/об), MeCN-Н₂О (9:1, об/об) и MeOH в темноте в течение 144 ч (6 дней) (Рис. 2.46, Табл. 2.32) спектрофотометрическим методом.

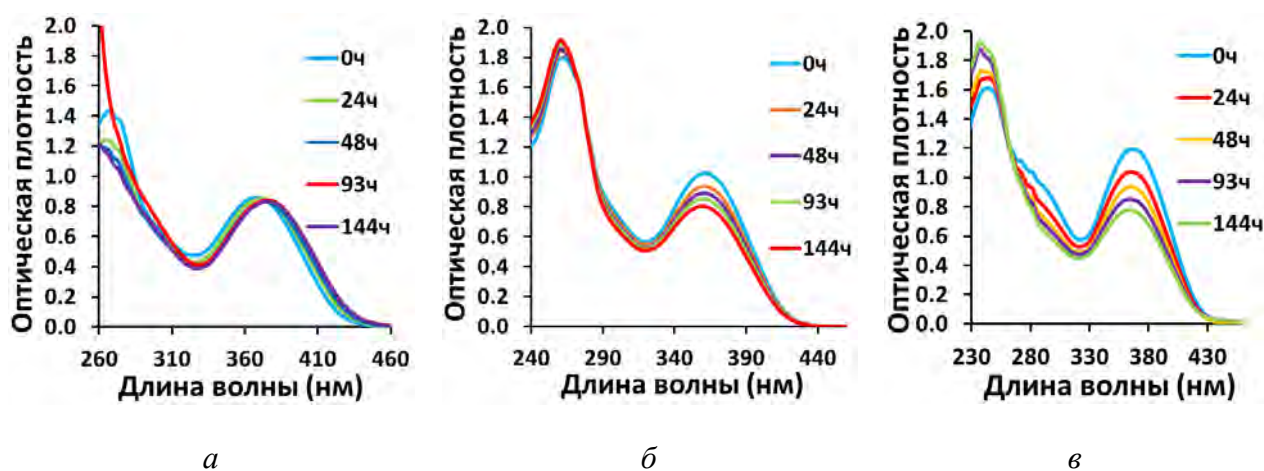


Рис. 2.46. (а-в) Изменение интенсивности максимумов поглощения при гидролитическом разложении растворов эфира **27a** в (а) ДМСО-вода (9:1, об/об), (б) MeCN-Н₂О (9:1, об/об) и (в) MeOH ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М).

Изменение поглощения растворов конъюгатов **27a** в смесях ДМСО-вода (9:1, об/об), MeCN-H₂O (9:1, об/об) и MeOH.

№, п/п	Время, сут	ДМСО-H ₂ O (9:1, об/об),		MeCN-H ₂ O (9:1, об/об),		MeOH	
		A	ΔA, %	A	ΔA, %	A	ΔA, %
1	0	0,857	0,0	1,029	0,00	1,192	0,0
2	1	0,847	1,2	0,939	8,8	1,040	12,8
3	2	0,819	4,4	0,892	13,3	0,938	21,3
4	4	0,819	4,4	0,851	17,3	0,851	28,6
5	6	0,809	5,6	0,801	22,2	0,776	34,9

В течение первых суток значение интенсивности поглощения растворов конъюгата **27a** уменьшилась на 1,2–12,8%.

Химическая стабильность для биоконъюгатов **27л,м** и **29а,к-м** была изучена спектрофотометрическим методом в смеси ДМСО-фосфатный буфер (pH = 7,5) (1 : 1, об/об) в отсутствие света в течение 24 ч (Рис. 2.47, Табл 2.33).

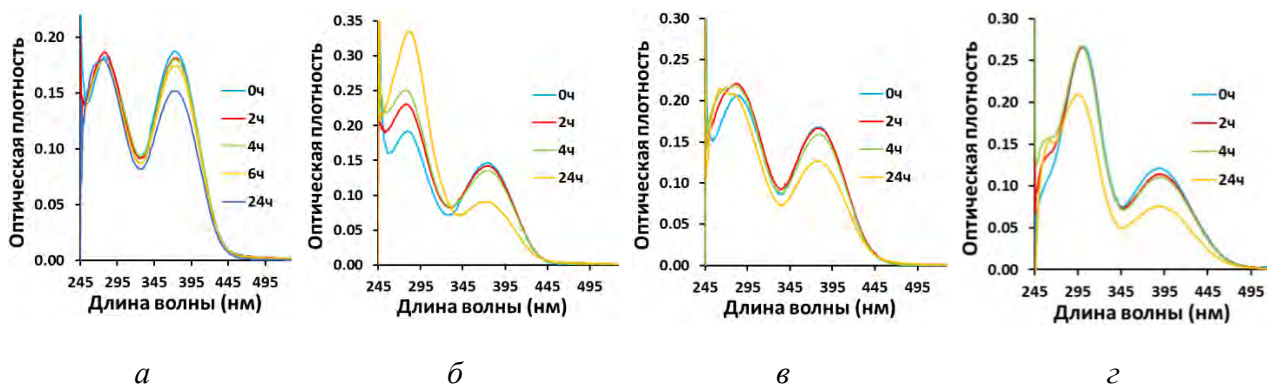


Рис. 2.47. Изменение интенсивности максимумов поглощения при гидролитическом разложении растворов биоконъюгатов, содержащих в качестве биомолекулы *N*-Вос-глицин, (а) **29a**, (б) **29к**, (в) **29л** и (г) **29м** в смеси ДМСО-буфер (1:1, об/об) ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М).

Изменение поглощения растворов биоконъюгатов **29а,к-м** в смеси ДМСО-буфер (pH = 7,4) (1:1, об/об) ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М).

№, п/п	Соединение	Структура	Время, ч	A	ΔA, %
1	29a		0	0,187	0,0
2			2	0,181	3,2
3			4	0,180	3,7
4			6	0,174	6,9
5			24	0,152	18,7

6	29к		0	0,147	0,0
7			2	0,142	3,4
8			4	0,135	8,2
9			24	0,091	38,1
10	29л		0	0,168	0,0
11			2	0,167	0,6
12			4	0,159	5,4
13			24	0,127	24,4
14	29м		0	0,121	0,0
15			2	0,114	5,8
16			4	0,110	9,1
17			24	0,076	37,2
18	27л		0	0,126	0,0
19			2	0,121	4,0
20			4	0,114	9,5
21			24	0,078	38,1
22	27м		0	0,121	0,0
23			2	0,114	5,8
24			4	0,110	9,1
25			24	0,076	37,2

Полученные данные показывают, что введение электронодонорного заместителя в цикл В или замена ароматического цикла на тиофеновый фрагмент уменьшает гидролитическую устойчивость биоконъюгатов в бинарном растворе ДМСО-фосфатный буфер. Изменение строения карбоновой кислоты в биоконъюгате не приводит к появлению значительных различий в его стабильности (Табл. 2.33 строки 16–30).

Сравнение результатов фотодиссоциации и гидролитического расщепления конъюгатов **27а-м** и **29а-м** показывает, что фотооблучение значительно ускоряет разрыв связи С-О сложноэфирного фрагмента и высвобождение биомолекулы или лекарства.

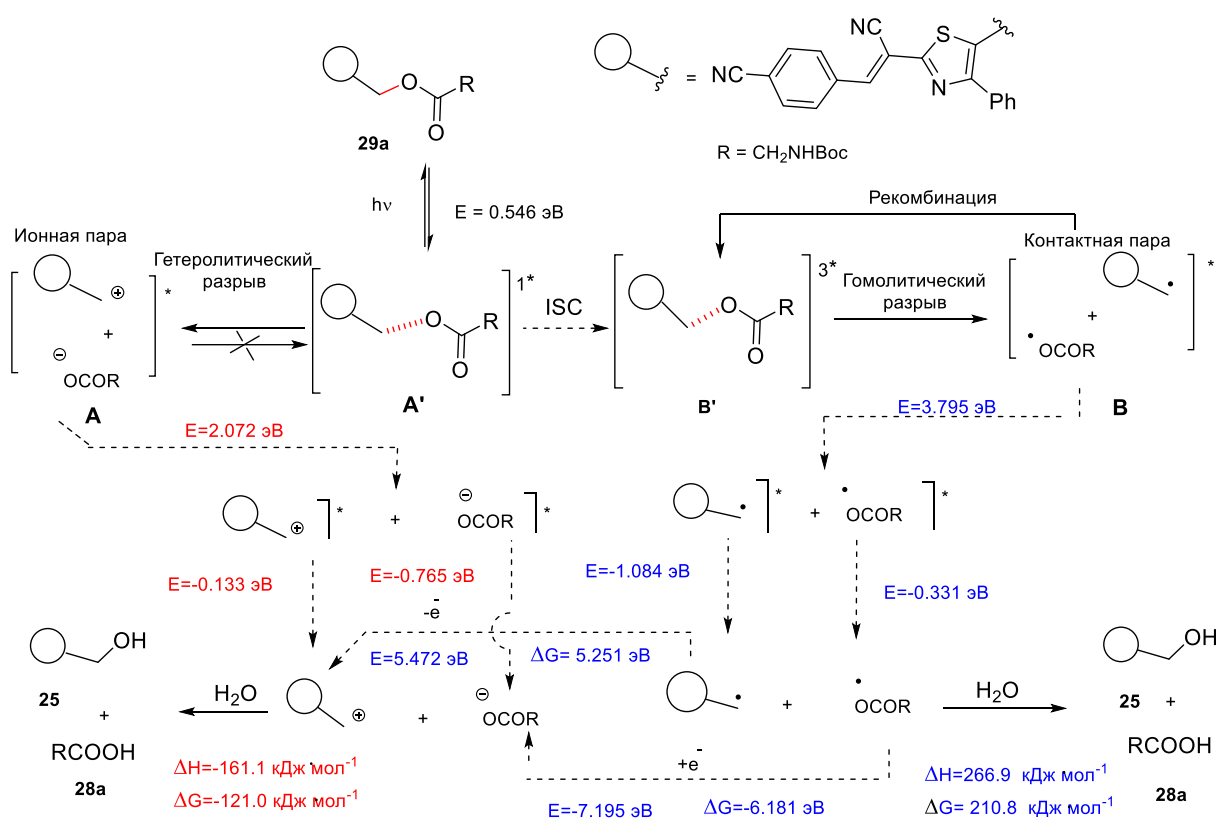
2.3.6. Изучение механизма фотодиссоциации.

Вероятный механизм, рассматриваемый в литературе для такого типа фотокурьеров, как сложные эфиры, представлен на схеме 2.20 [156]. Фотодиссоциация может протекать через гомолитический или гетеролитический разрыв связи С-О. Вопрос о природе расщепления связи является важной стороной при рассмотрении преимуществ предлагаемой фотосистемы. Наиболее удобной является фотодиссоциация молекул в синглетном возбужденном состоянии S_1 , поскольку именно в этом случае наиболее вероятен ионный механизм, который обычно сопровождается меньшим количеством побочных реакций, а значит, и побочных продуктов, чем радикальный. Для уточнения механизма фотодиссоциации конъюгатов **27** и **29** были проведены (TD-)DFT-расчеты для биоконъюгата **27в** и **29а** в основном (S_0 ; MeCN) и возбужденном состояниях (S_1 , S_2 и T_1 - T_5 ; MeCN). Анализ результатов квантово-механических

расчетов и полученных экспериментальных данных позволил представить примерную схему предполагаемых превращений при фотооблучении полученных конъюгатов на примере соединения **29a** (Схема 2.29).

В ходе сканирования поверхности потенциальной энергии (ППЭ) молекулы биоконъюгата **27в** и **29a** при увеличении длины связи C-O от 1,44 Å до критических значений 1,58 и 1,95 Å, соответственно, была установлена геометрия промежуточной структуры **A'**. График на рисунке 7 в Приложении 1 показывает, что при этом для **27в** и **29a**: (1) триплетные состояния T_2 - T_4 и синглетное состояние S_1 сближаются по энергии при увеличении расстояния между атомами C и O; (2) наблюдается множество пересечений между энергетическими кривыми, что делает вероятным переход в триплетное состояние.

Схема 2.29



Таким образом, на начальном этапе фотодиссоциации возможно развитие как гетеролитического, так и гомолитического пути, и образование ионной пары **A** или радикалов **B** (через интеркомбинационную конверсию с переходом в триплетное возбужденное состояние) в клетке растворителя. Дальнейшее развитие гомолитического пути при расщеплении связи C-O, приводящее к образованию свободной пары радикальных частиц и их последующему высвобождению из клетки растворителя, требует гораздо больше энергии по сравнению с идентичным процессом для ионной пары **A** (3,795 эВ против 2,072 эВ). Стабилизация ионных частиц более эффективна в ячейке полярного растворителя, тогда как

радикалы, удерживаемые в клетке растворителя, быстро рекомбинируют. Этот факт свидетельствует о предпочтительности гетеролитического расщепления связи С-О.

Геометрия структуры **A**, в которой два образовавшихся фрагмента имеют частичное разделение зарядов и удерживаются благодаря электростатическому взаимодействию, была рассчитана и визуализирована для конъюгатов **27в** и **29а** (Рис. 2.48).

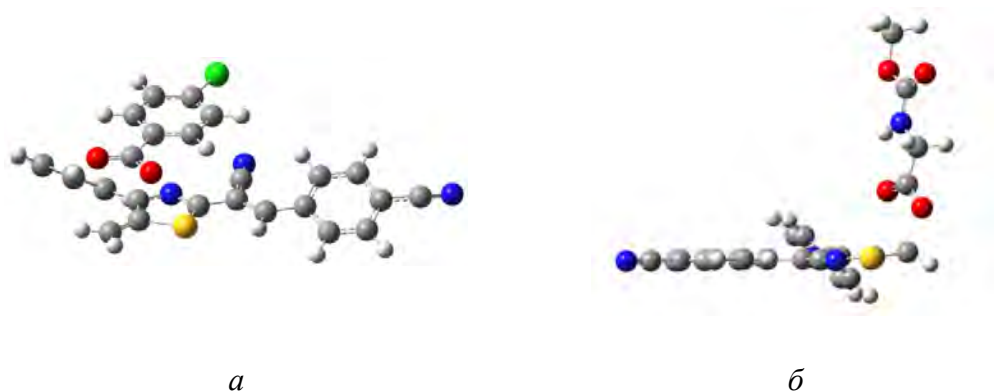


Рис. 2.48. Структура комплекса **A** после разрыва связи С-О при фотодиссоциации конъюгатов (а) **27в** и (б) **29а**.

Следует отметить, что геометрия комплекса **A** для конъюгатов **27в** и **29а** заметно отличается (Рис. 2.48). Если для биоконъюгата **29а** отрицательно заряженный фрагмент *N*-Вос-глицина расположен ортогонально плоскости гетероциклического карбокатиона, и стабильность комплекса обеспечивается с помощью электростатического взаимодействия, то в комплексе **A** конъюгата **27в** анионный фрагмент и карбокатион расположены параллельно, так как в этом случае формирование π - π -взаимодействия между ароматическим и тиазольным циклами дополнительно стабилизирует комплекс. Таким образом, становится очевидной причина различия параметров фотодиссоциации для биоконъюгатов **27** и **29** (см. Табл. 2.31 и 2.32).

Переход в основное состояние при геометрической релаксации сопровождается высвобождением довольно большого количества энергии, как для заряженных, так и для радикальных частиц (Схема 2.29). Анализ структур комплексов **A** и **B** при УФ-разрыве связи С-О для конъюгата **29а** в различных растворителях (MeCN, CHCl₃, ДМСО, MeOH и H₂O) ясно показывает, что природа растворителя оказывает существенное влияние на процесс фоторасщепления. Это влияние проявляется в величине растяжения связи в структуре **A'** (в H₂O) или в разном расстоянии между двумя заряженными частицами в структуре **A** (в MeOH, CHCl₃, MeCN) (Приложение 1, Рис. 8). Влияние этих растворителей на разрыв связи С-О изменяется в ряду: MeOH (2,358 Å) > CHCl₃ (2,316 Å) > MeCN (2,198 Å) > H₂O (1,658 Å).

Наиболее сильное влияние среди исследуемых растворителей оказывает метанол, что согласуется с полученными экспериментальными данными (Раздел 2.3.3).

Анализ рассчитанных термодинамических параметров заключительных стадий, связанных с взаимодействием карбоксилатного аниона и карбокатиона с растворителем и образованием кислоты и спирта демонстрирует преимущество ионного механизма. Даже в случае образования радикалов получение в результате фотодиссоциации конъюгата молекулы кислоты наиболее вероятно через стадию переноса электрона и образование аниона.

Возможность появления радикальных частиц в возбужденных триплетных состояниях была проверена путем изучения кинетики фотолиза конъюгатов **27a**, **29a,и,л** с использованием 0,5 и 1,0 эквив. сорбата калия в качестве специального тушителя триплетных состояний (Табл. 2.34; Приложение 4, Рис. 3).

Таблица 2.34

Данные кинетики растворов конъюгатов **27a**, **29a,и,л** в смеси ДМСО-буфер (pH = 7,5) (1:1, об/об) ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М) с добавлением сорбата калия при облучении ($\lambda_{\text{обл}} = 365$ нм) с интенсивностью $I=50\%$.

№, п/п	Соединение	Сорбат калия, эквив.	k , мин ⁻¹ ^a	$\tau_{1/2}$, мин
1	27a	0,0	$0,064 \pm 0,004^b$	10,6
2		0,5	0,050	13,7
3		1,0	0,053	13,2
4	29a	0,0	$0,149 \pm 0,003$	4,6
5		0,5	$0,152 \pm 0,003$	4,5
6		1,0	$0,149 \pm 0,005$	4,6
7	29и	0,0	$0,023 \pm 0,001$	31,1
8		1,0	$0,025 \pm 0,001$	27,4
9	29л	0,0	$0,160 \pm 0,002$	4,3
10		1,0	$0,154 \pm 0,004$	4,5

[а] Указанные значения представляют собой среднеквадратичную ошибку, полученную в результате трех измерений; [б] интенсивность облучения $I = 20\%$.

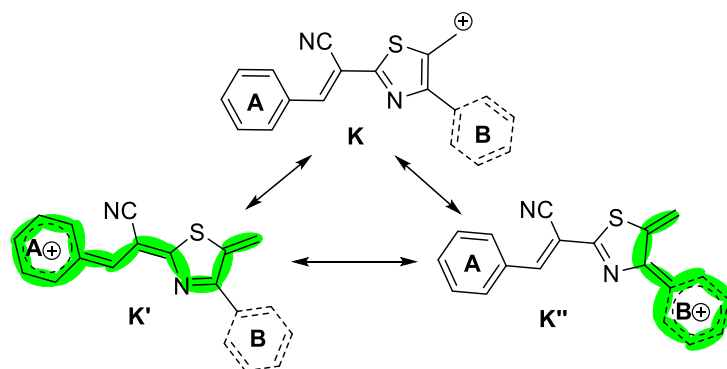
Поскольку в присутствии сорбата калия константа фотодиссоциации практически не меняется даже для биоконъюгата **29и**, содержащего атом брома в молекуле, то можно предположить, что несмотря на близкие энергии возбужденных состояний (S_1 , S_2 и T_1-T_5), определённые при квантово-химических расчетах, интеркомбинационная конверсия и переход в триплетное возбужденное состояние не оказывают заметного влияния на исследуемый процесс.

Важным аргументом в пользу гетеролитического механизма фотодиссоциации конъюгатов является высокая степень полярности возбужденного состояния, о чем

свидетельствует большой сдвиг Стокса (Табл. 2.25), а также абсолютная величина рассчитанных значений дипольных моментов (Табл. 2.27).

Следует отметить, что молекулярный скаффолд арилидентиазолов обладает удобной структурой для стабилизации образующегося при фотодиссоциации карбокатиона **К**, благодаря сопряжению между концевыми циклическими фрагментами и карбокатионным центром (Схема 2.30).

Схема 2.30



Хотя увеличение стабильности не только способствует образованию заряженной частицы, но и снижает ее реакционную способность и замедляет ее участие в дальнейших превращениях, варьирование структуры циклов А и В позволяет изменять скорость фотодиссоциации биоконъюгатов и программировать ее величину в интересах той области, где планируется ее использование.

Таким образом, экспериментальные и расчетные результаты подтверждают, что гетеролитический механизм является наиболее предпочтительным для фотодиссоциации исследованных биоконъюгатов.

2.3.7. Изучение токсичности биоконъюгатов с помощью МТТ-теста

Для использования полученных конъюгатов в биологических системах необходимо, чтобы они были инертными до фотолиза, так же, как и возможные в результате фотодиссоциации продукты (АТЗ-ОН **25a**), кроме биомолекулы.

Проверку биосовместимости биоконъюгатов **27д-ж** и АТЗ-ОН **25a** проводили с помощью МТТ-теста *in vitro* используя клеточные линии *Vero* (эпителий почек африканской зеленой обезьяны) (Приложение 5). Полученные результаты показали, что образующийся при фотодиссоциации вместе с кислотой АТЗ-ОН **25a** является нетоксичным во всех использованных концентрациях, в то время как конъюгат **27д** является нетоксичным в концентрациях 10^{-5} и 10^{-6} М. Биоконъюгат **27е** следует использовать в биологических исследованиях в концентрации 10^{-6} М (Рис. 2.49а)

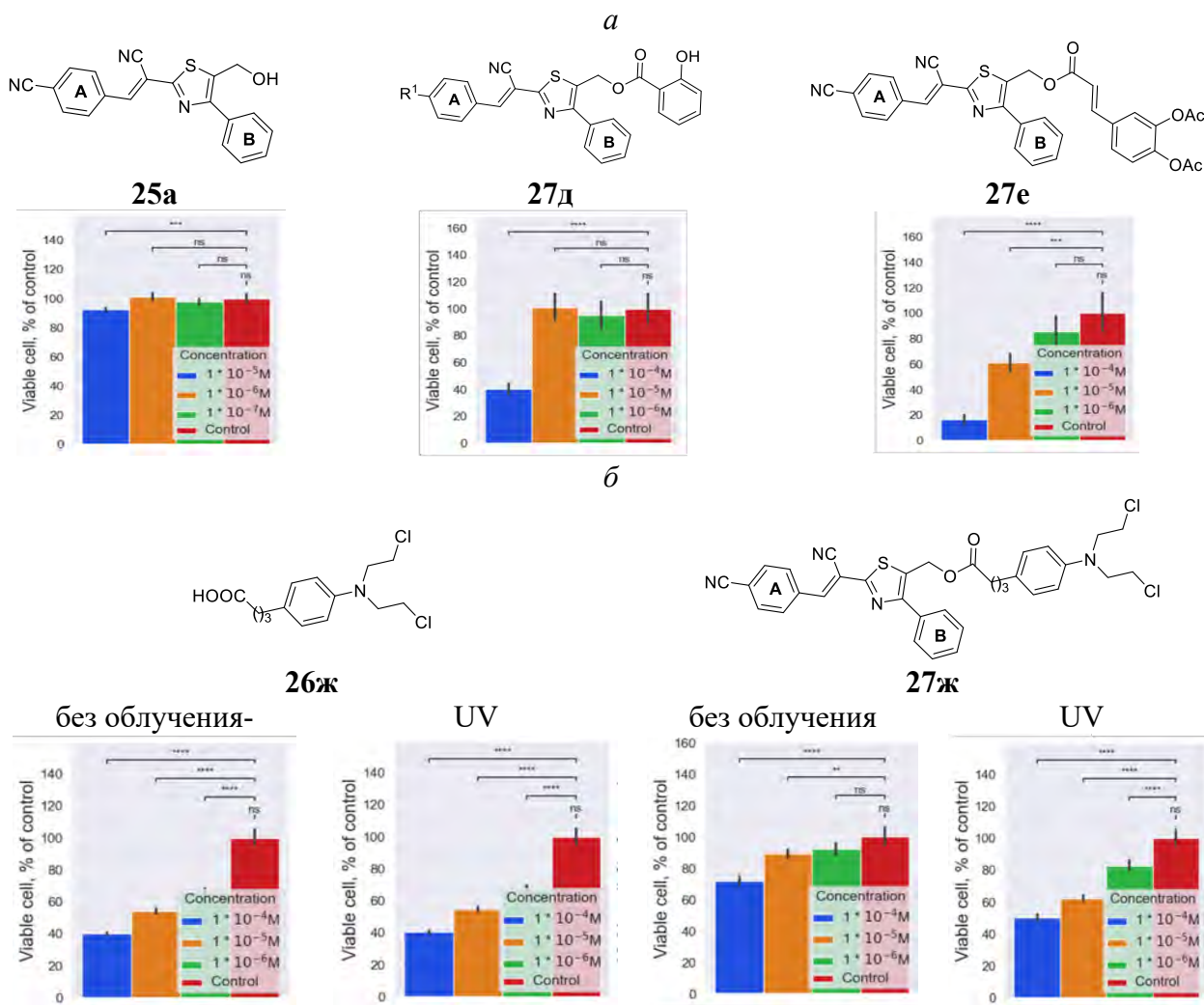


Рис. 2.49. Результаты МТТ-теста (процент выживаемости клеток) (а) для АТЗ-ОН **25a** и конъюгатов **27д,е**; (б) для хлорамбуцила **26ж** и биоконъюгата **27ж** в обычных условиях и после УФ-облучения ($C = 10^{-4}$, 10^{-5} и 10^{-6} М).

Исследование цитотоксичности хлорамбуцила **26ж** и его производного **27ж** было проведено в обычных условиях и при облучении светом (Рис. 2.49б). Продолжительность облучения подбиралась таким образом, чтобы действие света не вызывало гибели клеток. В эксперименте с хлорамбуцилом облучение светом не повлияло на биологический эффект цитостатика, и в обоих случаях была получена примерно одинаковая токсичность для всех концентраций. В противоположность этому, биоконъюгат **27ж**, малотоксичный в большой концентрации (10^{-4} М) и практически нетоксичный в меньших концентрациях (10^{-5} и 10^{-6} М), после облучения показал заметный токсический эффект. Процент выживших клеток после облучения уменьшился при $C = 10^{-4}$ М от 78% до 50%; при $C = 10^{-5}$ М от 90% до 60%; при $C = 10^{-6}$ М от 95% до 81%.

2.3.8 Изучение поведения флуоресцентных биоконъюгатов в живых клетках с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии

Визуализация живых клеток и субклеточных структур с помощью флуорофоров является прямым неинвазивным методом наблюдения за биологическими процессами, происходящими в живых организмах. Проникновение флуоресцентных биоконъюгатов в клетки и их избирательное распределение внутри живой клетки контролировалось с помощью конфокального микроскопа (Приложение 5).

Для экспериментов использовали культуру эпителиальных клеток зеленой обезьяны (*Vero*). Раствор образцов исследуемых биоконъюгатов **27а, г-ж** и **29а,в,г,е** в ДМСО ($C = 10^{-3}$ М) добавляли к 10 мкл/мл питательной среды. Во всех случаях эмиссия при облучении лазером была достаточно интенсивной для получения контрастного конфокального изображения. При облучении клеток лазером $\lambda_{\text{воз}} = 405$ нм наблюдалась равномерная зеленая флуоресценция цитоплазмы клетки, в то время как облучение $\lambda_{\text{воз}} = 488$ нм привело к появлению эмиссии предположительно в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), лизосомах, митохондриях или жировых каплях (Рис. 2.50а,с-ф). Клетки окрашивали одновременно тестируемым флуорофором **27а** и стандартными красителями для разных органелл (митохондрий, лизосом и липидных капель) (Рис.2.51). Однозначная колокализация тестируемого вещества и стандартного красителя была продемонстрирована для липидных капель (Рис. 2.51d).

Следует отметить, что при исследовании флуорофора **27а** при возбуждении лазером $\lambda_{\text{воз}} = 488$ нм отдельные клетки демонстрировали более яркую желтую флуоресценцию. На рисунке 2.50b представлено увеличенное изображение одной из таких клеток. Можно предположить, что соединение **27а** проявляет яркую флуоресценцию в клетках, находящихся в определенной фазе клеточного цикла. Этот неожиданный эффект представляет собой ценное свойство флуорофора.

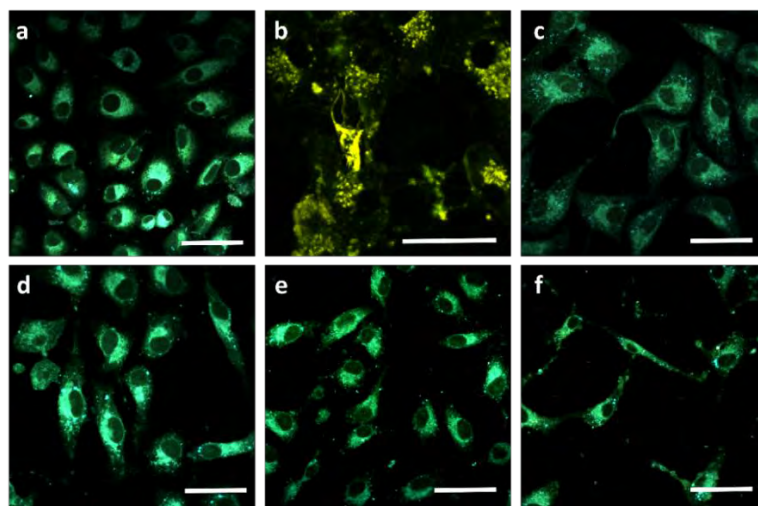


Рис. 2.50. Изображения клеток *Vero*, инкубированных с биоконъюгатами (а, б) **27а**, (с) **27г**, (д) **27д**, (е) **27е** и (ф) **27ж** ($1,0 \mu\text{M}$) в фосфатно-солевом буфере pH = 7,4 в течение 0,5 ч при $37 \text{ }^\circ\text{C}$ при возбуждении лазером $\lambda_{\text{воз}} = 405 \text{ нм}$ и (б) **27а** при возбуждении лазером $\lambda_{\text{воз}} = 488 \text{ нм}$. Масштабная линейка: 20 мкм.

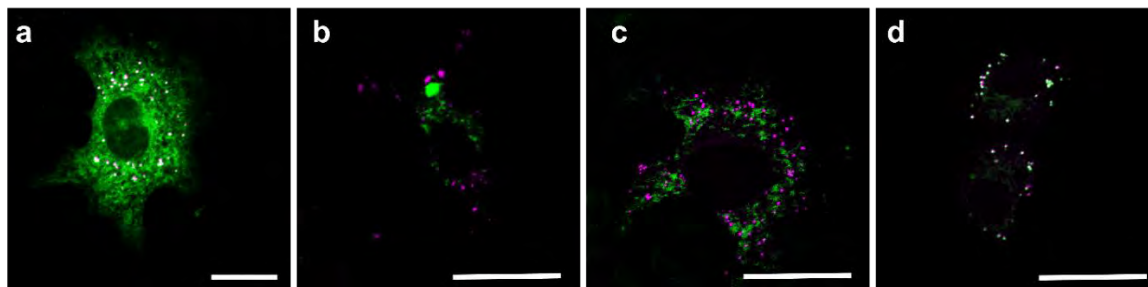


Рис. 2.51. Изображения клеток культуры *Vero*, инкубированные с биоконъюгатом **27а** и стандартными красителями для визуализации (а) эндоплазматического ретикулума, (б) лизосом, (с) митохондрий и (д) жировых капель при возбуждении лазером $\lambda_{\text{воз}} = 488 \text{ нм}$. Зеленая флуоресценция соответствует стандартному красителю, а пурпурная – биоконъюгату **27а**. Масштабная линейка – 10 мкм.

Биоконъюгаты **29а, в, г, е**, также хорошо проникали внутрь клеток *Vero* и инициировали яркое зеленое излучение в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) (Рис. 2.52А-Д). Биоконъюгат **29а** дополнительно демонстрировал флуоресценцию в ядрышках (Рис. 2.52А), **29в** в липидных каплях (Рис. 2.52В), **29г** в митохондриях (Рис. 2.52С) при облучении лазером $\lambda_{\text{воз}} = 405 \text{ нм}$.

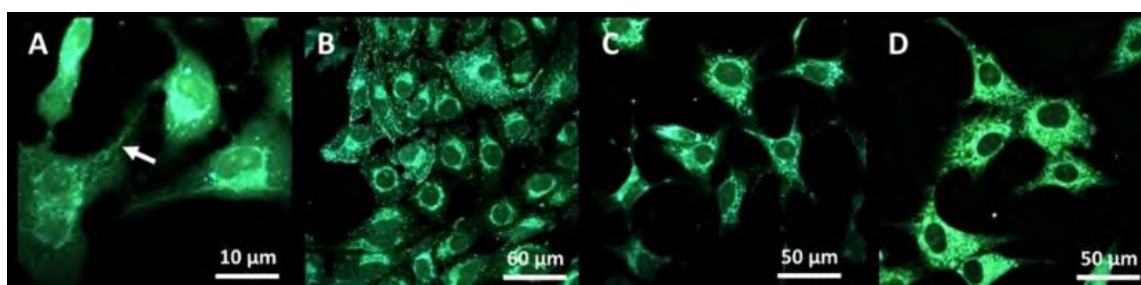


Рис. 2.52. Конфокальные флуоресцентные изображения клеток *Vero*, инкубированных с биоконъюгатами (А) **29а** (белая стрелка указывает на митохондрии), (В) **29в**, (С) **29г**, (D) **29е** ($1,0 \mu\text{M}$) в фосфатно-солевом буфере в течение 0,5 ч при $37 \text{ }^\circ\text{C}$ и $\lambda_{\text{воз}} = 405 \text{ нм}$.

Избирательное накопление конъюгата **29г** в митохондриях (Рис. 2.53С) было подтверждено в эксперименте с красителем MitoTracker Red (Рис. 2.53). Коэффициент Мандерса составил $96,2 \pm 0,4$ при наложении митохондриального красителя на исследуемое вещество и $73,7 \pm 6,4$ при наложении исследуемого вещества на митохондриальный краситель.

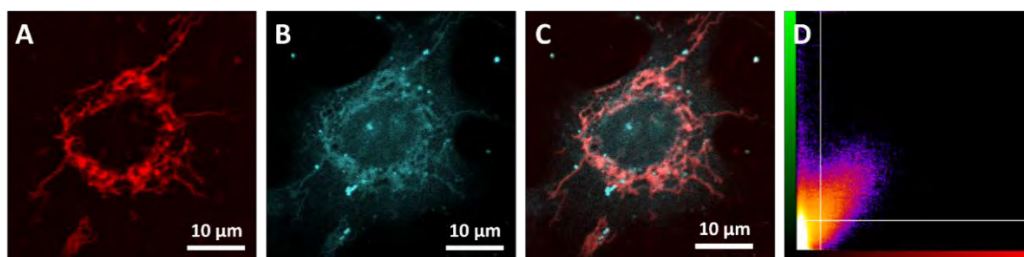


Рис. 2.53. Изображения клеток *Vero*, инкубированных с (A) MitoTracker Red, (B) биоконъюгатом **29g** в фосфатно-солевом буфере в течение 0,5 ч при 37 °С $\lambda_{\text{воз}} = 405$ нм, (C) наложение изображений друг на друга, (D) диаграмма рассеяния колокализации.

Такое избирательное распределение в клеточных компартментах – важное свойство новых флуорофоров, которое может открыть путь к адресной доставке в субклеточные органеллы. Кроме того, исследуемые флуорофоры проявили мультитаргетные свойства и могут выявить физический контакт между липидными дроплетями, ЭР и митохондриями и помочь в изучении механизма взаимодействия между этими органеллами. Следует отметить, что в ходе эксперимента не наблюдалось существенных изменений в морфологии живых клеток. Это означает, что биоконъюгаты практически нетоксичны в клеточных экспериментах.

Таким образом, мы синтезировали и всесторонне изучили свойства нового фоточувствительного гетероциклического скаффолда для временной защиты химически или биологически активных, а также природных веществ, содержащих карбоксильную группу. Сравнивая свойства фотоконтейнеров, полученных на основе арилидентиазольного скаффолда, можно отметить, что для них характерна приемлемая для использования в живых средах длина волны поглощения по сравнению, например, с *o*-нитробензильными производными (280–320 нм) [156], производными пирена (354–356 нм) [165] и карбазола (337 нм) [187], а также высокий выход кислоты при фотодиссоциации, хорошая темновая устойчивость. Хотя квантовый выход фотодиссоциации ниже наиболее эффективных фотоконтейнеров, какими считаются *o*-нитробензилы ($Q_u = 0,06–0,26$ [203, 204]), но сравнимы с BODIPY ($Q_u = 1,8 \times 10^{-4}$ [205]; $4,0 \times 10^{-4}–9,9 \times 10^{-4}$ [206]; $1,0 \times 10^{-4}–6 \times 10^{-6}$ [190]) и выше, чем квантовый выход при использовании гептаметинцианиновых флуорофоров ($1,3–5,4 \times 10^{-5}$ [207]). Флуорофор и полученные биоконъюгаты нетоксичны в концентрации 1.0–10.0 μM , также как и продукты их фототрансформации, в отличие от *o*-нитробезилов, которые при облучении генерируют токсичные нитрозопроизводные, которые к тому же обладают большей поглощающей способностью, чем исходный флуорофор. Исследование фотохимического механизма реакции показало, что гетеролиз и элиминирование карбоновых кислот происходят в синглетном возбужденном состоянии без образования дополнительных

промежуточных продуктов. Принимая во внимание технологичность синтетических процедур, высокий выход получения флуорофоров и биоконъюгатов, возможность проведения химических модификаций для улучшения фотофизических, физико-химических и биологических свойств, можно сделать вывод о перспективности использования предложенного гетероциклического скаффолда как надежной платформы для получения новых более эффективных фоточувствительных флуорофоров для временной защиты активных, агрессивных или токсичных молекул.

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Контроль за ходом реакции и индивидуальностью полученных веществ осуществляли с помощью ТСХ на пластинках Sorbfil UV-254. Растворители и коммерчески доступные реагенты были использованы в том виде, в котором были получены, если не указано иное. ИК-спектры измерены на ИК-Фурье спектрометре Bruker Alpha (НПВО, ZnSe). Спектры ЯМР получены на спектрометре Bruker Avance II (400,00 МГц для ^1H , 101,00 МГц для ^{13}C) и Bruker Avance NEO (600,00 МГц для ^1H , 151,00 МГц для ^{13}C), внутренний стандарт тетраметилсилан. Спектры ЯМР ^{13}C были зарегистрированы в режиме ВВ с полной развязкой от протонов и в режиме АРТ (для соединений **4а,б**). Масс-спектры зарегистрированы на спектрометре Shimadzu GCMS-QP 2010 «Ultra» с прямым вводом образца в ионный источник, энергия ионизирующих электронов 70 эВ. Интенсивность молекулярного иона приведена относительно максимального пика. Масс-спектры высокого разрешения были зарегистрированы на спектрометре Agilent 1290 Infinity II с системой высокоэффективной жидкостной хроматографии, снабженной детектором с УФ-светодиодной матрицей и тандемным квадрупольно времяпролетным точным масс-детектором.

Элементный анализ осуществлен на приборе C,H,N,S/O Perkin-Elmer Analyzer 2400 серия II. Температуры плавления были определены на приборе Stuart SMP3. Рентгеноструктурное исследование соединений было выполнено на дифрактометре “Xcalibur 3 CCD” при 295 К (графитовый монохроматор, MoK α). Данные зарегистрированы в Кембриджском банке структурных данных CCDC 2015841, 2015842, 2015843, 2266843. Разделение и очистку веществ проводили с помощью жидкостной колоночной хроматографии на силикагеле КСК 40–100 мкм ГОСТ 3956-76.

УФ-спектры зарегистрированы на УФ-спектрометре Shimadzu UV-1800. Спектры флуоресценции зарегистрированы на спектрофлуориметре Hitachi F-7000. Значения относительного квантового выхода получены, с использованием в качестве стандартов: хинин сульфата (QY=54%, раствор в 1М H $_2$ SO $_4$) [208]. Абсолютный квантовый выход образцов и время жизни флуоресценции измерены на спектрофлуориметре Horiba FlouoroMax 4 с использованием интегрирующей сферы Quanta-ф.

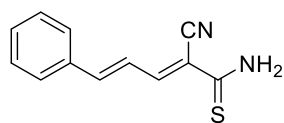
Микроскопические исследования проводились на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM-710, Carl Zeiss, имеющем многоканальный детектор QUASAR (34 канала). Для исследований использовались культуры клеток Vero. Клетки разбавляли до концентрации 10 3 клеток на мл и переносили во флаконы со стеклянным дном (Jet Biofil., Китай). Раствор красителя в ДМСО (в концентрации 10 $^{-3}$ ммоль/л) добавляли из расчета 10 мкл на 1 мл питательной среды. После окрашивания препараты дважды промывали

фосфатным буфером и питательной средой DMEM, в которой впоследствии проводили микроскопические исследования.

3.1 Синтез 2-цианопента-2,4-диентиамидов

Раствор 10.0 ммоль альдегида **9**, 10.0 ммоль циантиоацетамида **10**, 0.07 мл (0.5 ммоль) триэтиламина в 5 мл этанола перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Конец реакции определяли по ТСХ. Осадок отфильтровывали и промывали небольшим количеством этанола.

5-Фенил-2-цианопента-2,4-диентиамид (4а). Оранжевый порошок (2.033 г, выход 95%).

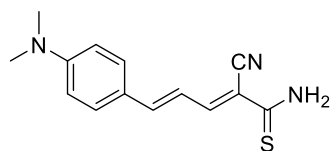


Т.пл. 166-167 °С. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 3342, 3266, 2221. Спектр ЯМР ^1H

(400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 9.96 (уш. с, 1H, CSNH_2), 9.45 (уш. с, 1H, CSNH_2), 7.97 (д, 1H, $J = 11.2$, CH), 7.72-7.70 (м, 2H), 7.51-7.46 (м, 4H), 7.17 (дд, 1H, $J = 11.2$, $J = 15.4$, CH). Спектр ЯМР ^{13}C АРТ (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): (+) 191.6, (-) 148.3, (-) 148.1, (+) 135.5, (-) 131.2, (-) 129.7, (-) 128.7, (-) 123.9, (+) 115.6, (+) 113.9. Масс-спектр, m/z (I, %): 214 (M^+ , 100). Вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{S}$, %: С 67.26, Н 4.70, N 13.07. Найдено, %: С 67.1, Н 4.8, N 13.0.

5-(4-Метоксифенил)-2-цианопента-2,4-диентиамид (4б). Оранжевый порошок (1.830 г, выход 75%). Т.пл. 193-195 °С. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 3388, 3320, 3222, 2214, 1644. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 9.86 (уш. с, 1H, CSNH_2), 9.35 (уш. с, 1H, CSNH_2), 7.97 (д, 1H, $J = 11.3$, CH), 7.68 (д, 2H, $J = 8.8$, CH_{Ar}), 7.44 (д, 1H, $J = 15.2$, CH), 7.03 (м, 3H, CH, 2CH_{Ar}), 3.83 (с, 3H, CH_3O). Спектр ЯМР ^{13}C АРТ (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): (+) 191.2, (+) 161.5, (-) 148.8, (-) 147.9, (-) 130.3, (+) 127.7, (-) 121.1, (+) 115.4, (-) 114.7, (+) 111.7, (-) 55.4. Масс-спектр, m/z (I, %): 244 (M^+ , 100). Вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$, %: С 63.91, Н 4.95, N 11.47. Найдено, %: С 64.1, Н 4.8, N 11.5.

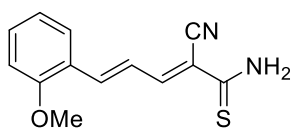
5-(4-(Диметиламино)фенил)-2-цианопента-2,4-диентиамид (4в). Темно-красный порошок (2.107 г, выход 82%). Т.пл. 230-232 °С. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 3344, 3273, 3154, 2217, 1634. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 9.67 (уш. с, 1H, CSNH_2), 9.13 (уш. с, 1H, CSNH_2), 7.97 (д, 1H, $J = 11.5$, CH), 7.51 и 6.72 ($\text{AA}'\text{XX}'$, 4H, $J = 8.9$, CH_{Ar}), 7.34 (д, 1H, $J = 14.9$, CH), 6.88 (дд, 1H, $J = 14.9$, $J = 11.6$, CH), 3.00 (с, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 191.4, 152.2, 150.1, 149.7, 130.5, 122.4, 117.7, 116.0, 111.9, 108.5. Масс-спектр, m/z (I, %): 257 (M^+ , 100). Вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{S}$, %: С 65.34, Н 5.88, N 16.33. Найдено, %: С 65.4, Н 5.98, N 16.2.



Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 9.67 (уш. с, 1H, CSNH_2), 9.13 (уш. с, 1H, CSNH_2), 7.97 (д, 1H, $J = 11.5$, CH), 7.51 и 6.72 ($\text{AA}'\text{XX}'$, 4H, $J = 8.9$, CH_{Ar}), 7.34 (д, 1H, $J = 14.9$, CH), 6.88 (дд, 1H, $J = 14.9$, $J = 11.6$, CH), 3.00 (с, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 191.4, 152.2, 150.1, 149.7, 130.5, 122.4, 117.7, 116.0, 111.9, 108.5. Масс-спектр, m/z (I, %): 257 (M^+ , 100). Вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{S}$, %: С 65.34, Н 5.88, N 16.33. Найдено, %: С 65.4, Н 5.98, N 16.2.

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 191.4, 152.2, 150.1, 149.7, 130.5, 122.4, 117.7, 116.0, 111.9, 108.5. Масс-спектр, m/z (I, %): 257 (M^+ , 100). Вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{S}$, %: С 65.34, Н 5.88, N 16.33. Найдено, %: С 65.4, Н 5.98, N 16.2.

5-(2-Метоксифенил)-2-цианопента-2,4-диентиоамид (4г). Оранжевый порошок (0.586 г,



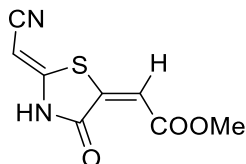
выход 24%). Т.пл. 133-135 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3413, 3273, 3167, 2200, 1629. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 9.87

(уш. с, 1H, CSNH_2), 9.34 (уш. с, 1H, CSNH_2), 7.97 (д, 1H, $J = 11.3$, CH), 7.66 (д, 1H, $J = 7.1$, CH_{Ar}), 7.60 (д, 1H, $J = 15.4$, CH), 7.42 (т, 1H, $J = 7.3$, CH_{Ar}), 7.25 (дд, 1H, $J = 15.4$, $J = 11.4$, CH), 7.09 (д, 1H, $J = 8.3$, CH_{Ar}), 7.01 (т, 1H, $J = 7.5$, CH_{Ar}), 3.87 (с, 3H, CH_3O). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 191.2, 158.0, 148.4, 142.9, 132.4, 128.9, 124.3, 123.4, 121.0, 115.3, 112.8, 111.9, 55.7. Масс-спектр, m/z (I, %): 244 (M^+ , 100). Вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$, %: С 63.91, Н 4.95, N 11.47. Найдено, %: С 64.0, Н 4.8, N 11.6.

3.2. Синтез 2-(5-метилден-4-оксотиазолидин-2-илиден)ацетонитрилов и 3,4-дигидро-4-оксо-2H-1,3-тиазина

Общая методика. Раствор 10.0 ммоль циантиоацетамида **10**, 10.0 ммоль ацетилендикарбоновой кислоты **5в**, ее эфиров **5а,б** или метилпропиолата **5д** в 10 мл уксусной кислоты перемешивали в течение 2–3 часов при 60 °С (для метилпропиолата **5д** при температуре кипения). Конец реакции определяли по ТСХ. Полученный продукт выделяли разбавлением реакционной массы водой, фильтрованием суспензии и перекристаллизацией из этанола.

Метил 2-(4-оксо-2-(цианометилден)тиазолидин-5-илиден)ацетат (13а). Бежевый порошок



(1.428 г, выход 68%). Т.пл. 223-225 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3155, 2965, 2820,

2224, 1730. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 13.5-12.2

(уш. с, 1H, NH), 6.72* и 6.66 (с, 1H, CH); 5.44 и 5.39* (с, 1H, CH); 3.81* и

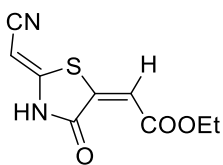
3.78 (с, 3H, CH_3O). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц):

166.1* и 166.0, 165.7* и 165.2, 154.8 и 153.5*, 142.6* и 141.8, 116.6 и 115.4*, 114.5 и 113.6*, 72.2

и 70.2*, 52.7 и 52.5*. Соотношение изомеров 1:5.5. Масс-спектр, m/z (I, %): 210 (M^+ , 83).

Вычислено для $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, %: С 45.71; Н 2.88; N 13.33. Найдено, %: С 45.69, Н 2.80; N 13.30.

Этил 2-(4-оксо-2-(цианометилден)тиазолидин-5-илиден)ацетат (13б). Бежевый порошок.



(1.882 г, выход 84%). Т.пл. 201-203 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3156, 2981, 2931,

2828, 2208, 1729, 1683. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц):

13.2-12.6 (уш. с, 1H, NH), 6.70* и 6.64 (с, 1H, CH), 5.44 и 5.39* (с, 1H, CH),

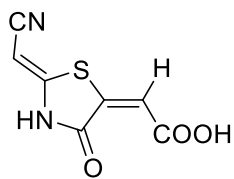
4.27 (к, 2H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3), 1.28 (т, 3H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3). Спектр ЯМР

^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.7* и 165.5, 165.6* и 165.2, 154.9 и 153.6*, 142.5* и

141.6, 116.6 и 115.4*, 114.8 и 114.0*, 72.1 и 70.1*, 61.6 и 61.4*, 13.9. Соотношение изомеров

1:4. Масс-спектр, m/z (I, %): 224 (M^+ , 98). Вычислено для $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, %: С 48.21, Н 3.60, N

12.49. Найдено, %: С 48.30, Н 3.50, N 12.48.

2-(4-Оксо-2-(цианометилен)тиазолидин-5-илиден)уксусная кислота (13в). Бежевый

порошок (1.392 г, выход 71%). Т.пл. 276-278 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3244,

2225, 1726, 1676. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 13.9-

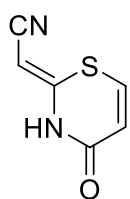
12.5 (уш. с, 2H, NH и OH), 6.65* и 6.60 (с, 1H, CH), 5.37 и 5.34* (с, 1H,

CH). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 167.4* и 167.3,

166.4* и 165.9, 156.0 и 154.6*, 142.4* и 141.6, 117.3 и 116.0*, 116.6 и 115.7*, 72.2 и 70.2*.

Соотношение изомеров 1:5. Масс-спектр, m/z (I, %): 196 (M^+ , 92). Вычислено для $\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$,

%, С 42.86, Н 2.06, N 14.28. Найдено, %: С 42.72, Н 2.04, N 14.18.

2-(3,4-Дигидро-4-оксо-2H-1,3-тиазин-2-илиден)ацетонитрил (11). Коричневый порошок

(0.866 г, выход 57%). Т.пл. 187-189 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3516, 2198, 1685. Спектр

ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 11.63 (с, 1H, NH), 7.69 и 6.22 (АХ, 2H,

$J = 10.4$, CH), 4.89 (с, 1H, CH). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц):

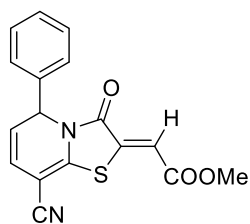
159.8, 154.2, 136.7, 117.1, 116.8, 68.7. Масс-спектр, m/z (I, %): 152 (M^+ , 65).

Вычислено для $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{OS}$, %: С 47.36, Н 2.65, N 18.41. Найдено, %: С 47.41, Н 2.67, N 18.20.

3.3. Синтез 2,3-дигидро-5H-тиазоло [3,2-а]пиридинов

Метод А. Раствор 1.0 ммоль пента-2,4-диентиамида **4** и 1.0 ммоль производного ацетилендикарбоновой кислоты **5** в 3 мл уксусной кислоты перемешивали в течение 1–48 часов при 60 °С. Конец реакции определяли по ТСХ. Полученный продукт выделяли фильтрованием суспензии и перекристаллизацией из этанола или с использованием жидкостной колоночной хроматографии (элюент – хлористый метилен).

Метод Б. Раствор 1.0 ммоль 2-(5-метилена-4-оксотиазолидин-2-илиден)ацетонитрила **13а-в**, 1.0 ммоль альдегида **9** и 2.0 ммоль AcONa в 3 мл уксусной кислоты перемешивали в течение 14-18 часов при кипячении. Конец реакции определяли по ТСХ. Полученный продукт выделяли разбавлением реакционной массы водой с дальнейшим фильтрованием суспензии и перекристаллизацией из этанола или использованием жидкостной колоночной хроматографии (элюент – хлористый метилен).

Метил-2-(3-оксо-5-фенил-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат (12а).

Метод А. Оранжевый порошок (0.253 г, выход 78%). Т.пл. 178-180 °С.

ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3071, 2993, 2947, 2894, 2845, 2213, 1705, 1685. Спектр

ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.35 (м, 5H, CH_{Ar}), 6.78 (с, 1H,

CH), 6.23 (дд, 1H, $J = 9.8$, $J = 1.5$, CH), 6.02 (дд, 1H, $J = 4.5$, $J = 1.4$, CH),

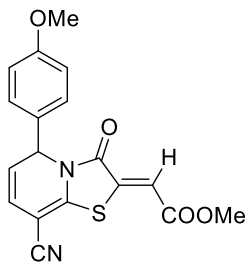
5.90 (дд, 1H, $J = 9.8$, $J = 4.6$, CH), 3.81 (с, 3H, CH_3O). Спектр ЯМР ^{13}C (101

МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 166.2, 163.1, 147.4, 139.1, 138.4, 128.9, 128.4, 126.7, 123.3, 116.2,

116.1, 115.3, 84.1, 58.1, 52.8. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $C_{17}H_{12}N_2O_3S$ 325.0641, найдено 325.0643.

Метил-2-(5-(4-метоксифенил)-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-

илиден)ацетат (12б). Метод А. Оранжевый порошок (0.234 г, выход 66%). Т.пл. 169-171 °С.

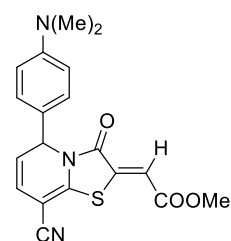


ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3070, 3043, 3014, 2960, 2839, 2218, 1713, 1683. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $DMSO-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.28 и 6.92 (AA'XX', 4H, $J = 8.5$, CH_{Ar}), 6.76 (с, 1H, CH), 6.24 (д, 1H, $J = 9.8$, CH), 5.97 (д, 1H, $J = 4.0$, CH), 5.86 (дд, 1H, $J = 9.8$, $J = 4.6$, CH), 3.80 (с, 3H, CH_3O), 3.74 (с, 3H, CH_3O). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $DMSO-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.8, 162.8,

159.3, 146.7, 138.1, 130.7, 128.2, 122.9, 116.1, 115.7, 115.1, 114.1, 84.0, 57.3, 54.9, 52.4. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $C_{18}H_{14}N_2O_4S$ 355.0747, найдено 355.0744.

Метил-2-(5-(4-диметиламинофенил)-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-

илиден)ацетат (12в). Метод А. Оранжевый порошок (0.184 г, выход 50%). Т.пл. 210-212 °С.

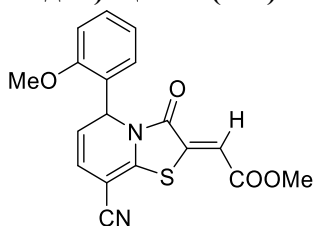


ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3066, 2954, 2888, 2803, 2217, 1707. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $DMSO-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.14 и 6.67 (AA'XX', 4H, $J = 7.6$, CH_{Ar}), 6.75 (с, 1H, CH), 6.23 (д, 1H, $J = 9.6$, CH), 5.88 (д, 1H, $J = 4.1$, CH), 5.84 (дд, 1H, $J = 9.6$, $J = 4.0$, CH), 3.80 (с, 3H, CH_3O), 2.88 (с, 6H, $N(CH_3)_2$). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $DMSO-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.7, 162.8, 150.3, 146.5, 138.2, 127.8,

125.6, 123.1, 115.9, 115.7, 114.9, 112.0, 84.0, 57.5, 52.4, 39.6. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $C_{19}H_{17}N_3O_3S$ 368.1063, найдено 368.1069.

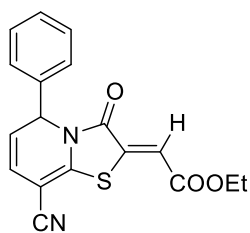
Метил-2-(5-(2-метоксифенил)-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-

илиден)ацетат (12г). Метод А. Оранжевый порошок (0.134 г, выход 38%). Т.пл. 182-184 °С.



ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3064, 2995, 2947, 2837, 2207, 1710, 1689. Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $DMSO-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.30 (т, 1H, $J = 7.8$, CH_{Ar}), 7.10 (дд, 1H, $J = 7.5$, $J = 1.0$, CH_{Ar}), 7.06 (д, 1H, $J = 8.2$, CH_{Ar}), 6.94 (т, 1H, $J = 7.4$, CH_{Ar}), 6.75 (с, 1H, CH), 6.17 (дд, 1H, $J = 4.2$, $J = 0.9$, CH),

6.14 (дд, 1H, $J = 9.9$, $J = 1.3$, CH), 5.79 (дд, 1H, $J = 9.8$, $J = 4.5$, CH), 3.81 (с, 6H, CH_3O). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $DMSO-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 166.7, 163.3, 156.4, 148.3, 138.9, 130.1, 127.4, 127.2, 122.4, 121.5, 116.8, 116.6, 115.5, 112.2, 84.5, 56.2, 55.1, 53.3. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $C_{18}H_{14}N_2O_4S$ 355.0747, найдено 355.0753.

Этил-2-(3-оксо-5-фенил-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат (12д).

Метод А. Оранжевый порошок (0.152 г, выход 45%). Т.пл. 191-193 °С.

ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3066, 2983, 2962, 2887, 2213, 1707, 1683. Спектр ЯМР

^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.35 (м, 5H, CH_{Ar}), 6.75 (с, 1H,

CH), 6.23 (д, 1H, $J = 9.8$, CH), 6.03 (д, 1H, $J = 4.3$, CH), 5.90 (дд, 1H, $J =$

9.8, $J = 4.5$, CH), 4.27 (к, 2H, $J = 7.0$, OCH_2CH_3), 1.26 (т, 3H, $J = 7.1$,

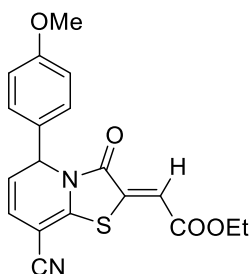
OCH_2CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.5, 163.1, 147.4, 139.1, 138.2,

128.9, 128.4, 126.7, 123.2, 116.4, 115.8, 115.7, 84.2, 61.7, 58.1, 13.9. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$

Вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ 339.0798, найдено 339.0802.

Этил-2-(5-(4-метоксифенил)-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат (12е).

Метод А. Оранжевый порошок (0.287 г, выход 78%). Т.пл. 152-154 °С.



ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3063, 2992, 2960, 2904, 2838, 2211, 1705, 1683. Спектр

ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.27 и 6.92 (AA'XX', 4H, $J =$

8.6, CH_{Ar}), 6.23 (д, 1H, $J = 9.8$, CH), 6.73 (с, 1H, CH), 5.96 (д, 1H, $J = 4.4$,

CH), 5.86 (дд, 1H, $J = 9.8$, $J = 4.6$, CH), 4.26 (к, 2H, $J = 7.0$, OCH_2CH_3), 3.73

(с, 3H, CH_3O), 1.26 (т, 3H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц,

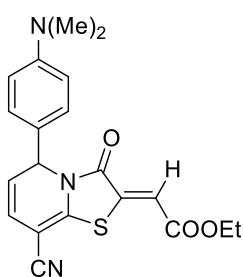
$\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.6, 163.1, 159.3, 147.2, 138.4, 130.9, 128.5, 123.2, 116.2, 116.1, 115.5,

114.2, 84.0, 61.7, 57.5, 55.1, 13.9. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$

369.0904, найдено 369.0905.

Этил-2-(5-(4-диметиламинофенил)-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат (12ж).

Метод А. Оранжевый порошок (0.114 г, выход 30%). Т.пл. 181-183 °С.



ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3183, 3151, 3081, 3067, 3054, 3037, 2984, 2955, 2904,

2864, 2803, 2215, 1706, 1687. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д.,

J , Гц): 7.14 и 6.67 (AA'XX', 4H, $J = 8.7$, CH_{Ar}), 6.72 (с, 1H, CH), 6.23 (д, 1H,

$J = 9.7$, CH), 5.88 (д, 1H, $J = 5.0$, CH), 5.84 (дд, 1H, $J = 9.6$, $J = 4.7$, CH), 4.26

(к, 2H, $J = 7.0$, OCH_2CH_3), 2.87 (с, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.26 (т, 3H, $J = 7.1$,

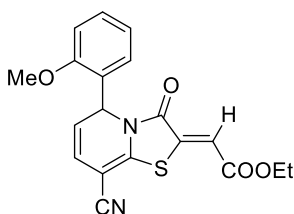
OCH_2CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.5,

163.1, 150.6, 146.8, 138.3, 128.0, 125.9, 123.4, 116.2, 115.9, 115.6, 112.3, 99.5, 84.3, 61.7, 57.7,

13.9. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ 382.1220, найдено 382.1232.

Этил-2-(5-(2-метоксифенил)-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат (12з).

Метод А. Оранжевый порошок (0.177 г, выход 48%). Т.пл. 188-190 °С.



ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3066, 2996, 2970, 2938, 2838, 2204, 1709, 1688.

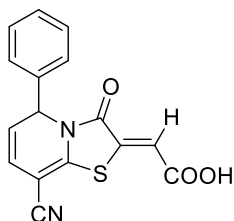
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.30 (т, 1H, $J = 7.9$,

CH_{Ar}), 7.10 (дд, 1H, $J = 7.6$, $J = 1.4$, CH_{Ar}), 7.06 (д, 1H, $J = 8.2$, CH_{Ar}),

6.94 (т, 1H, $J = 7.4$, CH_{Ar}), 6.73 (с, 1H, CH), 6.17 (дд, 1H, $J = 4.3$, $J = 1.4$,

CH), 6.13 (дд, 1H, $J = 9.8, J = 1.5$, CH), 5.79 (дд, 1H, $J = 9.8, J = 4.5$, CH), 4.28 (к, 2H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3), 3.82 (с, 3H, CH_3O), 1.27 (т, 3H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.3, 162.6, 155.8, 147.5, 137.9, 129.3, 126.7, 121.6, 120.7, 116.2, 115.7, 115.2, 111.6, 83.8, 61.4, 55.6, 54.4. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ 369.0904, найдено 369.0911.

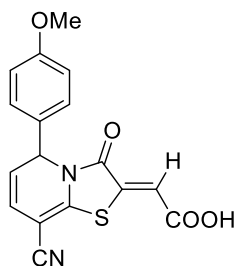
2-(3-Оксо-5-фенил-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)уксусная кислота (12и). Метод А. Оранжевый порошок (0.183г, выход 59%). Т.пл. 219-221 °С. ИК-спектр, ν , см^{-1} :



1 : 3071, 3004, 2966, 2213, 1713, 1671. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.34 (м, 5H, CH_{Ar}), 6.71 (с, 1H, CH), 6.21 (дд, 1H, $J = 9.8, J = 1.2$, CH), 6.02 (д, 1H, $J = 3.6$, CH), 5.88 (дд, 1H, $J = 9.8, J = 4.6$, CH). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 166.8, 163.3, 148.1, 139.2, 138.0, 128.9, 128.4, 126.7, 123.0, 116.6, 116.2, 116.1, 83.6, 58.0. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ 311.0485, найдено 311.0484.

2-(5-(4-Метоксифенил)-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-

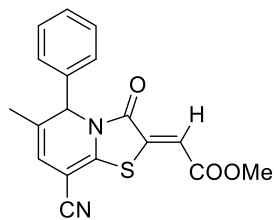
илиден)уксусная кислота (12к). Метод А. Оранжевый порошок (0.231 г, выход 68%). Т.пл.



204-206 °С. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 3049, 3006, 2974, 2883, 2853, 2833, 2216, 1709, 1670. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 13.61 (уш. с, 1H, OH), 7.27 и 6.92 (AA'XX', 4H, $J = 8.5$, CH_{Ar}), 6.69 (с, 1H, CH), 6.21 (д, 1H, $J = 9.8$, CH), 5.95 (д, 1H, $J = 4.1$, CH), 5.84 (дд, 1H, $J = 9.8, J = 4.6$, CH), 3.73 (с, 3H, CH_3O). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 166.9, 163.3, 159.3, 147.8, 137.9, 131.0, 128.5, 122.9, 116.8, 116.3, 116.2,

114.2, 83.6, 57.4, 55.1. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ 341.0591, найдено 341.0592.

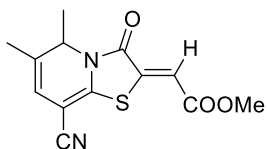
Метил-2-(6-метил-3-оксо-5-фенил-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-



илиден)ацетат (12л). Метод Б. Красный порошок (0.199 г, выход 59%).

Т.пл. 205-207 °С. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 3062, 3027, 2987, 2950, 2938, 2905, 2882, 2876, 2210, 1712, 1696. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.37 (м, 5H, CH_{Ar}), 6.74 (с, 1H, CH), 6.09 (с, 1H, CH), 5.83 (с, 1H, CH), 3.79 (с, 3H, CH_3O), 1.65 (с, 3H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц,

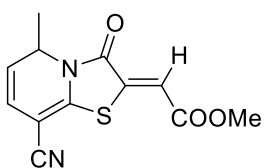
$\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 166.2, 162.9, 144.6, 138.7, 138.3, 131.9, 128.9, 128.7, 127.4, 116.2, 114.8, 113.1, 84.5, 61.5, 52.7, 19.2. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ 339.0798, найдено 339.0802.

Метил-2-(5,6-диметил-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат

(12m). Метод Б. Красный порошок (0.061 г, выход 22%). Т.пл. 194-196

°С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3056, 3006, 2987, 2951, 2918, 2200, 1704. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 6.82 (с, 1H, CH), 5.93 (с, 1H, CH), 4.91 (к, 1H, $J = 6.3$, CH), 3.82 (с, 3H, CH_3O), 1.87 (с, 3H, CH_3), 1.32 (д, 3H, $J = 6.4$, CH_3).

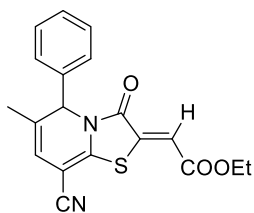
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 166.3, 163.2, 144.6, 139.5, 133.2, 116.1, 114.2, 113.0, 84.8, 54.0, 52.7, 19.1, 17.6. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ 277.0641, найдено 277.0642.

Метил-2-(5-метил-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат (12н).

Метод Б. Оранжевый порошок (0.039 г, выход 15%). Т.пл. 182-184°С.

ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3049, 2928, 2851, 2206, 1711. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 6.83 (с, 1H, CH), 6.12 (дд, 1H, $J = 9.9$, $J = 1.3$, CH), 5.84 (дд, 1H, $J = 9.9$, $J = 4.5$, CH), 5.03 (м, 1H, CH), 3.82 (с, 3H, CH_3O), 1.32 (д, 3H, $J = 6.5$, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 166.7, 163.9, 148.1, 139.7, 124.9, 117.2, 116.6, 115.1, 84.5, 53.3, 51.6, 20.2. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ 263.0485, найдено 263.0487.

Этил-2-(6-метил-3-оксо-5-фенил-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат (12о).

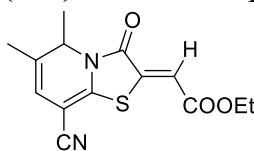
Метод Б. Оранжевый порошок (0.120 г, выход 34%). Т.пл. 189-191 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3079, 2983, 2208, 1703, 1686.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.37 (м, 5H, CH_{Ar}), 6.69 (с, 1H, CH), 6.07 (с, 1H, CH), 5.82 (с, 1H, CH), 4.25 (к, 2H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3), 1.66 (с, 3H, CH_3), 1.25 (т, 3H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.6, 162.9, 144.6, 138.6, 138.2, 131.8, 128.8, 128.7, 127.4, 116.0, 115.2, 113.2, 84.6, 61.7, 61.5, 19.2, 13.9. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 353.0954$, найдено 353.0962.

Этил-2-(5,6-диметил-3-оксо-8-циано-5H-тиазоло[3,2-а]пиридин-2(3H)-илиден)ацетат

(12п). Метод Б. Оранжевый порошок (0.075 г, выход 26%). Т.пл. 141-143 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} :



1 : 3076, 2985, 2957, 2922, 2852, 2206, 1701, 1690. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 6.77 (с, 1H, CH), 5.92 (с, 1H, CH), 4.90 (к, 1H, $J = 6.2$, CH), 4.28 (к, 2H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3), 1.87 (с, 3H, CH_3), 1.32 (д, 3H, $J = 6.5$, CH_3), 1.28 (т, 3H, $J = 7.1$, OCH_2CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 168.8, 163.2, 144.6, 139.4, 133.2, 116.1, 114.4, 113.1, 84.8, 61.7, 54.0, 19.1, 17.6, 14.0. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ 291.0798, найдено 291.0803.

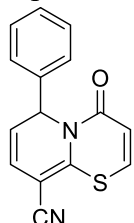
3.4. Синтез 4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазинов

Метод А. Раствор 1.0 ммоль пента-2,4-диентоамида **4а** и 1.0 ммоль метилпропиолата **5** в 3 мл уксусной кислоты перемешивали в течение 30 часов при 60 °С. Конец реакции определяли по ТСХ. Полученный продукт выделяли фильтрованием суспензии и перекристаллизацией из этанола или с использованием жидкостной колоночной хроматографии (элюент - гексан:этилацетат=3:2).

Метод Б. Раствор 1.0 ммоль тиазинона **14**, 1.0 ммоль альдегида **9** и 0,164 г (2.0 ммоль) AcONa в 3 мл уксусной кислоты перемешивали в течение 8–20 часов при кипячении. Конец реакции определяли по ТСХ. Полученный продукт выделяли разбавлением реакционной массы водой с дальнейшим фильтрованием суспензии и перекристаллизацией из этанола или с помощью жидкостной колоночной хроматографии (элюент - гексан:этилацетат=3:2).

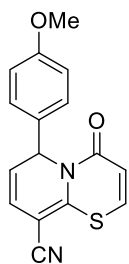
4-Оксо-6-фенил-4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазин-9-карбонитрил (**15а**). Метод А.

Коричневый порошок (0.162 г, выход 62%). Т.пл. 165-166 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3056, 2926, 2200, 1675. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-*d*₆, δ , м.д., *J*, Гц): 7.75 и 6.39 (АХ, 2H, *J* = 10.4, 2CH), 7.35 (м, 5H, CH_{Ar}), 6.52 (д, 1H, *J* = 6.0, CH), 6.19 (д, 1H, *J* = 9.6, CH), 5.30 (дд, 1H, *J* = 9.6, *J* = 5.9, CH). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ , м.д., *J*, Гц): 159.2, 146.1, 140.1, 135.8, 128.9, 128.3, 126.2, 121.1, 118.4, 118.1, 116.7, 53.0. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₁₅H₁₀N₂OS 267.0587, найдено 267.0590.



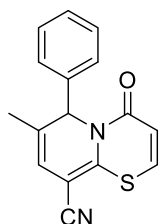
6-(4-Метоксифенил)-4-оксо-4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазин-9-карбонитрил (**15б**). Метод Б.

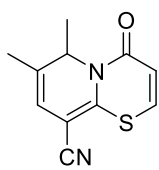
Желтый порошок (0.033 г, выход 11%). Т.пл. 173-175 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3066, 3008, 2963, 2944, 2931, 2907, 2891, 2871, 2856, 2804, 2199, 1668. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-*d*₆, δ , м.д., *J*, Гц): 7.72 и 6.38 (АХ, 2H, *J* = 10.4, 2CH), 7.28 и 6.94 (АА`ХХ`, 4H, *J* = 8.7, CH_{Ar}), 6.47 (д, 1H, *J* = 5.9, CH), 6.22 (д, 1H, *J* = 9.6, CH), 5.77 (дд, 1H, *J* = 9.6, *J* = 6.0, CH), 3.74 (с, 3H, CH₃O). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ , м.д., *J*, Гц): 159.3, 159.2, 145.7, 135.6, 131.9, 128.1, 121.1, 118.3, 118.1, 116.8, 114.2, 86.8, 55.1, 52.3. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₁₆H₁₂N₂O₂S 297.0692, найдено 297.0698.



7-Метил-4-оксо-6-фенил-4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазин-9-карбонитрил (**15в**). Метод Б.

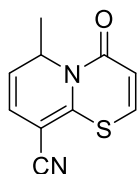
Желтый порошок (0.129 г, выход 46%). Т.пл. 174-176 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3086, 3055, 3028, 3007, 2983, 2911, 2194, 1667. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-*d*₆, δ , м.д., *J*, Гц): 7.39 (м, 5H, CH_{Ar}), 7.68 и 6.33 (АХ, 2H, *J* = 10.3, CH), 6.27 (с, 1H, CH), 6.04 (с, 1H, CH), 1.71 (с, 3H, CH₃). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ , м.д., *J*, Гц): 159.2, 142.7, 138.8, 135.7, 130.3, 128.9, 128.8, 127.1, 117.9, 116.8, 114.4, 87.4, 57.2, 19.8. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₁₆H₁₂N₂OS 281.0743, найдено 281.0742.



6,7-Диметил-4-оксо-4H,6H-пиридо[2,1-b][1,3]тиазин-9-карбонитрил (15г). Метод Б.

Желтый порошок (0.072 г, выход 33%). Т.пл. 161-163 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3061, 2970, 2959, 2940, 2927, 2914, 2889, 2872, 2197, 1694. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.70 и 6.36 (АХ, 2H, $J = 10.4$, СН), 5.79 (д, 1H, $J = 1.3$, СН), 5.26 (к, 1H, $J = 6.5$, СН), 1.81 (с, 3H, CH_3), 1.14 (д, 3H, $J = 6.5$, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 158.9, 142.2, 135.4, 131.8, 118.2, 116.9, 113.7, 87.4, 50.1, 19.4, 16.9. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$ 219.0587, найдено 219.0584.

6-Метил-4-оксо-4H,6H-пиридо[2,1-b][1,3]тиазин-9-карбонитрил (15д). Метод Б.

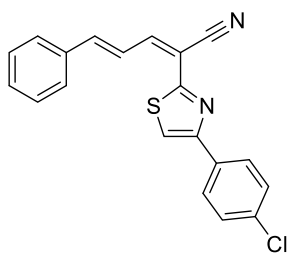
Оранжевый порошок (0.031 г, выход 15%). Т.пл. 111-113 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3062, 2923, 2861, 2197, 1666. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 7.73 и 6.39 (АХ, 2H, $J = 10.4$, СН), 6.02 (д, 1H, $J = 9.6$, СН), 5.63 (дд, 1H, $J = 9.6$, $J = 5.8$, СН), 5.44 (м, 1H, СН), 1.13 (д, 3H, $J = 6.5$, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц,

$\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 159.4, 146.2, 135.9, 122.7, 118.8, 118.7, 117.5, 86.8, 47.2, 19.9. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}$ 205.0430, найдено 205.0434.

3.5. Синтез 2-(4-фенилбута-1-циано-1,3-диен-1-ил)тиазолов

Раствор 1.0 ммоль пента-2,4-диентиамида **4а** и 1.0 ммоль бромкетона **16а,б** в 2 мл ДМФА перемешивали в течение 1 часа при 60 °С. Конец реакции определяли по ТСХ. Реакционную массу после охлаждения разбавляли 2 мл этанола. Полученный продукт выделяли фильтрованием образовавшейся суспензии.

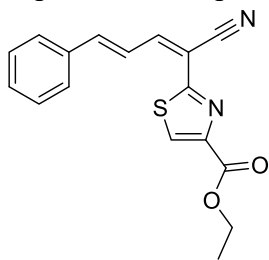
2-(4-(4-Хлорфенил)тиазол-2-ил)-5-фенилпента-2,4-диеннитрил (17а). Зеленый порошок (0.268 г, выход 77%). Т.пл. = 148-150 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц):



8.31(с, 1H, СН), 8.18 (д, 1H, $J = 11.2$, СН), 8.05 (м, 2H, CH_{Ar}), 7.72 (м, 2H, CH_{Ar}), 7.57 (м, 3H, CH_{Ar} , СН), 7.45 (м, 3H, CH_{Ar}), 7.31 (дд, 1H, $J = 11.3$, $J = 15.3$, СН). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц):

162.3, 154.7, 146.5, 146.1, 135.7, 133.6, 132.7, 130.9, 129.6, 129.4, 128.5, 128.4, 124.0, 116.9, 115.7, 106.4, 95.1. Масс-спектр, m/z (I, %): 348 (M^+ , 27). Вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{S}$, %: С 68.86; Н 3.76; Cl 10.16; N 8.03; S 9.19. Найдено, %: С 68.5, Н 4.0; N 8.3; S 9.3.

Этил 2-(4-фенилбута-1-циано-1,3-диен-1-ил)тиазол-4-карбоксилат (176). Желто-коричневый порошок (0.118 г, выход 38%). Т.пл. = 139-141 °С. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц,



DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 8.60 (с, 1H, CH), 8.15 (д, 1H, *J* = 11.3, CH), 7.69 (м, 3H, CH_{Ar}), 7.59 (д, 1H, *J* = 15.2, CH), 7.46 (м, 3H, CH_{Ar}), 7.29 (дд, 1H, *J* = 11.3, *J* = 15.3, CH), 4.32 (к, 2H, *J* = 7.1, CH₂), 1.34 (т, 3H, *J* = 7.1, CH₃).

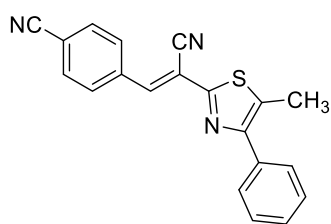
Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 163.0, 161.7, 147.9, 146.8, 135.6, 131.0, 130.2, 129.6, 128.7, 125.8, 123.9, 115.4, 106.1, 61.5,

14.6. Масс-спектр, *m/z* (I, %): 310 (M⁺, 33). Вычислено для C₁₇H₁₄N₂O₂S, %: С 65.79; Н 4.55; N 9.03; О 10.31; S 10.33. Найдено, %: С 65.4; Н 4.2; N 8.7; S 10.0.

3.6. Синтез 2-(5-метилтиазол-2-ил)акрилонитрилов

Раствор 10.0 ммоль (2.130 г) тиоамида **19**, полученного по известной методике [32], и 10.0 ммоль бромкетона **20** в 5 мл ДМФА перемешивали в течение 18–40 часов при 60 °С до окончания реакции (контроль ТСХ). Охлажденную реакционную массу разбавляли 5 мл этанола. Полученный продукт был выделен фильтрованием суспензии с промывкой этанолом.

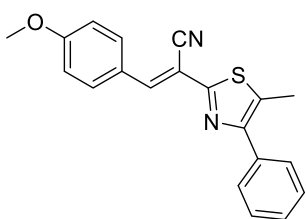
4-(2-(5-Метил-4-фенилтиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (2a). Желтый порошок



(2.250 г, выход 69%). Т.пл. = 174-176 °С. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 8.28 (с, 1H, CH), 8.14 и 8.03 (AA'XX', 4H, *J* = 8.4 Гц, CH_{Ar}), 7.73 (м, 2H, CH_{Ar}), 7.51 (т, 2H, *J* = 7.6 Гц, CH_{Ar}), 7.43 (т, 1H, *J* = 7.4 Гц, CH_{Ar}), 2.63 (с, 3H, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 157.2, 151.8, 142.1, 136.9, 133.7, 132.8,

131.8, 130.1, 128.5, 128.3, 128.1, 118.3, 115.7, 113.1, 107.9, 12.6. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 2226. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₂₀H₁₃N₃SH 328.0903, найдено 328.0909.

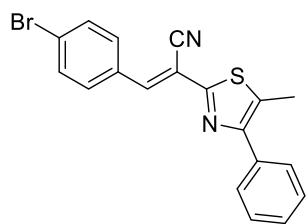
3-(4-Метоксифенил)-2-(5-метил-4-фенилтиазол-2-ил)акрилонитрил (26). Желтый



порошок (0.209 г, выход 65%). Т.пл. = 89-91 °С. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д., *J*, Гц): 8.09 (с, 1H, CH), 7.96 и 6.99 (AA'XX', 4H, *J* = 8.8 Гц, CH_{Ar}), 7.70 (д, 2H, *J* = 7.2 Гц, CH_{Ar}), 7.47 (т, 2H, *J* = 7.4 Гц, CH_{Ar}), 7.38 (т, 1H, *J* = 7.4 Гц, CH_{Ar}), 3.88 (с, 3H, OCH₃), 2.61 (с, 3H, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ, м.д., *J*, Гц): 162.3, 158.7,

152.5, 143.0, 134.5, 132.1, 129.7, 128.7, 128.5, 128.0, 125.6, 117.5, 114.6, 101.9, 55.5, 12.9. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 3054, 3005, 2970, 2932, 2842, 2214. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₂₀H₁₆N₂OSH 333.1056, найдено 333.1069.

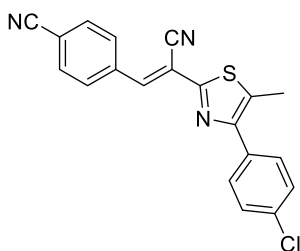
3-(4-Бромфенил)-2-(5-метил-4-фенилтиазол-2-ил)акрилонитрил (2в). Ярко-желтый порошок (0.239 г, выход 63%). Т.пл. = 145-147 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J ,



Гц): 8.10 (с, 1H, CH), 7.82 и 7.61 (AA'XX', 4H, $J = 8.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.69 (д, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.47 (т, 2H, $J = 7.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.39 (т, 1H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 2.63 (с, 3H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 157.7, 153.0, 141.6, 134.3, 132.4, 131.7, 131.2, 130.8, 128.6, 128.5, 128.1, 126.0, 116.7, 105.4, 12.9. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3076, 3061,

2224. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{SH}$ 381.0056, найдено 381.0061.

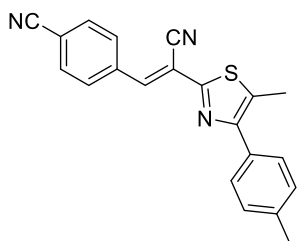
4-(2-(4-(4-Хлорфенил)-5-метилтиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (2г). Желтый



порошок (0.234 г, выход 65%). Т.пл. = 175-177 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.14 (с, 1H, CH), 8.03 и 7.77 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.64 и 7.45 (AA'XX', 4H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 2.64 (с, 3H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 157.1, 152.1, 140.3, 136.7, 134.3, 132.8, 132.5, 132.1, 130.0, 129.9, 128.8, 118.1, 116.0, 114.3, 108.0, 13.0. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 2910, 2227. МСВР (ИЭР+),

m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{SH}$ 362.0513, найдено 362.0520.

4-(2-(5-Метил-4-(*n*-толил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (2д). Желтый порошок

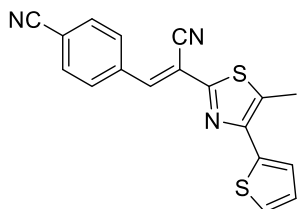


(0.211 г, выход 62%). Т.пл. = 181-183 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.16 (с, 1H, CH), 8.02 и 7.76 (AA'XX', 4H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.58 и 7.29 (AA'XX', 4H, $J = 8.0$ Гц, CH_{Ar}), 2.63 (с, 3H, CH_3), 2.42 (с, 3H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 156.7, 153.5, 139.9, 138.2, 136.9, 132.7, 131.3, 131.2, 130.0, 129.3, 128.5,

118.1, 116.2, 114.2, 108.1, 21.3, 13.0. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3028, 2948, 2912, 2222. МСВР (ИЭР+),

m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{SH}$ 342.1059, найдено 342.1073.

4-(2-(5-Метил-4-(тиофен-2-ил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (2е). Оранжевый



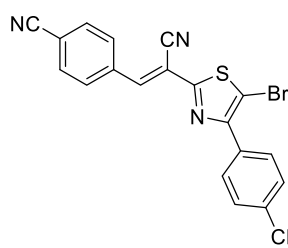
порошок (0.189 г, выход 57%). Т.пл. = 171-173 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.17 (с, 1H, CH), 8.04 и 7.77 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.44 (дд, 1H, $J = 3.6$ Гц, $J = 1.0$ Гц, CH_{thio}), 7.39 (дд, 1H, $J = 5.1$ Гц, $J = 1.0$ Гц, CH_{thio}), 7.14 (дд, 1H, $J = 5.1$ Гц, $J = 3.7$ Гц,

CH_{thio}), 2.70 (с, 3H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 156.7, 147.5, 140.4, 137.2, 136.8, 132.7, 130.2, 130.1, 127.7, 126.2, 126.1, 118.1, 116.1, 114.3, 107.7, 13.1. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 2226. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S}_2\text{H}$ 334.0467, найдено 334.0474.

3.7. Синтез 4-арил-2-арилиден-5-бромтиазола

К раствору 1.0 ммоль (0.347 г) тиазола **21** в 5 мл ДМФА добавили 1.1 ммоль (0,196 г) *N*-бромсукцинимид. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов (контроль ТСХ). Затем к реакционной смеси добавляли 0.5 М раствор Na₂S₂O₃ и экстрагировали с помощью CH₂Cl₂ (3 x 25 мл). Органический слой сушили безводным Na₂SO₄. Затем растворитель отогнали под вакуумом, конечный продукт выделяли перекристаллизацией из этанола.

4-(2-(5-Бром-4-(4-хлорфенил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (22). Желтый



порошок (0.349 г, выход 82%). Т.пл. = 218-220°C. Спектр ЯМР ¹H (400

МГц, CDCl₃, δ, м.д., *J*, Гц): 8.15 (с, 1H, CH), 8.05 и 7.93 (AA'XX', 4H, *J*

= 8.4 Гц, CH_{Ar}), 7.79 и 7.44 (AA'XX', 4H, *J* = 8.5 Гц, CH_{Ar}). Спектр ЯМР

¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ, м.д., *J*, Гц): 160.7, 153.2, 141.6, 136.2, 135.2,

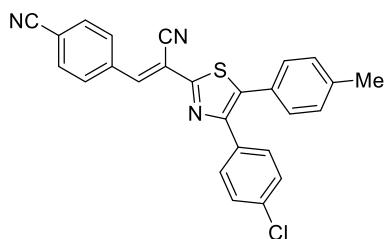
132.9, 131.0, 130.3, 130.0, 128.8, 117.9, 115.5, 114.9, 107.4, 106.7. ИК-

спектр, ν, см⁻¹: 3128, 3085, 3049, 3030, 2230. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₁₉H₉BrClN₃S 427.9440, найдено 427.9443.

3.8. Синтез 2-арилиден-4,5-диарилтиазолов

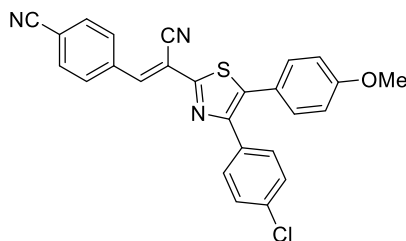
Метод А: К суспензии 0.36 ммоль (0.150 г) 4-арил-2-арилиден-5-бромтиазола **22** в 5,5 мл смеси 1,2-диметоксиэтан:вода=10:1 добавили 0.72 ммоль (0.100 г) карбоната калия, 0.39 ммоль арилбороновой кислоты **23** и 0.018 ммоль (0.01 г) дихлорида бис(трифенилфосфин)палладия(II). Смесь перемешивали в микроволновом реакторе (AntonPaar Monowave 300) при 120 °С. Реакцию контролировали методом ТСХ. Затем реакционную массу разбавляли насыщенным раствором бикарбоната натрия. Водную фазу экстрагировали дихлорметаном (3×10 мл), органическую фазу дополнительно промывали водой, сушили безводным Na₂SO₄. Растворитель отогнали под вакуумом. Полученный продукт был выделен с помощью жидкостной колоночной хроматографии (элюент – петролейный эфир:этилацетат:дихлорметан=4:2:1).

Метод Б: Раствор 1.0 ммоль (0.213 г) тиоамида **19а** и 1.0 ммоль бромкетона **20д** в 3 мл ДМФА перемешивали в течение 3 часов при 60 °С до окончания реакции (контроль ТСХ). Полученный продукт был выделен фильтрованием суспензии и перекристаллизацией из этанола.

4-(2-(5-(*n*-Толил)-4-(4-хлорфенил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (3а). Метод Б.

Желтый порошок (0.157 г, выход 80%). Т.пл. = 150-151°C.

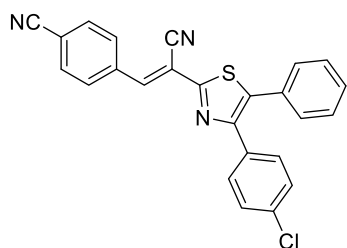
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.20 (с, 1H, CH), 8.05 и 7.78 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.51 и 7.30 (AA'XX', 4H, $J = 8.6$ Гц, CH_{Ar}), 7.24 и 7.18 (AA'XX', 4H, $J = 8.0$ Гц, CH_{Ar}), 2.39 (с, 3H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 158.6, 150.4, 140.6, 139.4, 136.7, 134.4, 132.8, 132.6, 130.4, 130.1, 129.9, 129.4, 128.7, 127.6, 118.1, 116.0, 114.4, 108.0, 21.3. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3097, 3064, 3046, 2954, 2857, 2227. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{S}$ 438.0826, найдено 438.0823.

4-(2-(5-(4-Метоксифенил)-4-(4-хлорфенил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (3б).

Метод А. Оранжевый порошок (0.095 г, выход 60%). Т.пл. = 178–180 °С. Спектр ЯМР ^1H (400

МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.37 (с, 1H, CH), 8.16 и 8.04 (AA'XX', 4H, $J = 7.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.51 и 7.44 (AA'XX', 4H, $J = 7.2$ Гц, CH_{Ar}), 7.33 и 7.01 (AA'XX', 4H, $J = 7.4$ Гц, CH_{Ar}), 3.79 (с, 3H, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 160.4, 159.4, 149.2, 143.5, 137.3, 136.2, 133.5, 133.4, 133.1,

131.2, 130.8, 130.7, 129.1, 122.4, 118.8, 116.0, 115.2, 113.8, 108.2, 55.8. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3062, 3053, 3023, 2940, 2857, 2226. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{OS}$ 455.0806, найдено 455.0811.

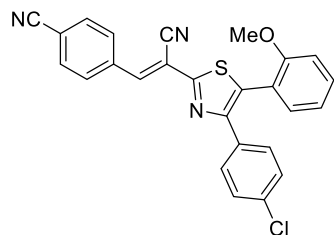
4-(2-(5-(Фенил)-4-(4-хлорфенил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (3в). Метод А.

Оранжевый порошок (0.092 г, выход 62%). Т.пл. = 180-181°C. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 ,

δ , м.д., J , Гц): 8.22 (с, 1H, CH), 8.06 и 7.78 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.50 и 7.30 (AA'XX', 4H, $J = 8.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.38 (м, 5H, CH_{Ar}).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 158.9, 150.7, 140.8, 136.6, 136.5, 134.5, 132.8, 132.4, 130.6, 130.4, 130.2, 129.5, 129.2, 129.1, 128.7, 118.0, 115.9, 114.5, 107.9. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3096,

3076, 3051, 2973, 2848, 2224. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{S}$ 424.0670, найдено 424.0676.

4-(2-(5-(2-Метоксифенил)-4-(4-хлорфенил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (3г).

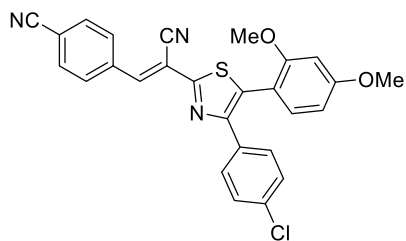
Метод А. Оранжевый порошок (0.082 г, выход 51%). Т.пл. = 181-182°C. Спектр ЯМР ^1H (400

МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.39 (с, 1H, CH), 8.17 и 8.05 (AA'XX', 4H, $J = 8.2$ Гц, CH_{Ar}), 7.47 (м, 3H, CH_{Ar}), 7.40 (д, 2H, $J = 8.6$ Гц, CH_{Ar}), 7.26 (д, 1H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.18 (д, 1H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.00 (т, 1H, $J = 7.6$ Гц, CH_{Ar}), 3.69 (с, 3H, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 160.5, 157.1, 151.0, 143.7, 137.4, 133.5, 133.4,

132.0, 131.9, 131.8, 130.7, 130.1, 128.9, 121.5, 119.0, 118.8, 116.1, 113.7, 112.7, 108.4, 56.1. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3077, 3062, 3002, 2976, 2810, 2228. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{OS}$ 454.0775, найдено 454.0782.

4-(2-(5-(2,4-Диметоксифенил)-4-(4-хлорфенил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил

(3д). Метод А. Оранжевый порошок (0.078 г, выход 46%). Т.пл. = 171-172°C. Спектр ЯМР ^1H

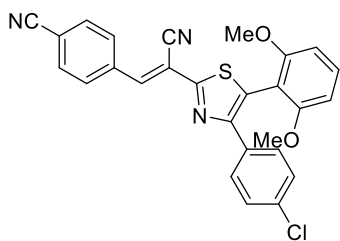


(400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.36 (с, 1H, CH), 8.17 и 8.04 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.49 и 7.41 (AA'XX', 4H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.16 (д, 1H, $J = 8.5$ Гц, CH_{Ar}), 6.71 (д, 1H, $J = 2.1$ Гц, CH_{Ar}), 6.59 (дд, 1H, $J = 8.5$ Гц, $J = 1.8$ Гц, CH_{Ar}), 3.82 (с, 3H, OCH_3), 3.69 (с, 3H, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 162.4, 160.1, 158.3, 150.6, 143.4, 137.4, 133.7, 133.4, 133.2, 132.7, 132.2, 130.7,

130.1, 128.9, 118.8, 116.1, 113.7, 111.1, 108.5, 106.5, 99.6, 56.2, 55.9. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3059, 3005, 2957, 2881, 2833, 2228. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ 484.0881, найдено 484.0890.

4-(2-(5-(2,6-Диметоксифенил)-4-(4-хлорфенил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил

(3е). Метод А. Желтый порошок (0.024 г, выход 14%). Т.пл. = 231-232°C. Спектр ЯМР ^1H (400

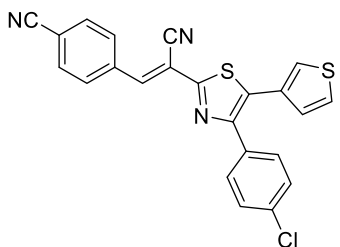


МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.23 (с, 1H, CH), 8.07 и 7.79 (AA'XX', 4H, $J = 8.1$ Гц, CH_{Ar}), 7.51 (д, 2H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.39 (т, 1H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.26 (м, 2H, CH_{Ar}), 6.62 (д, 2H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 3.65 (с, 6H, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 159.9, 158.4, 153.1, 140.1, 137.0, 133.9, 133.8, 132.8, 131.4, 130.1,

128.9, 128.3, 128.0, 118.1, 116.1, 114.2, 108.5, 108.0, 104.2, 55.8. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 2952, 2916, 2869, 2848, 2227. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ 484.0881, найдено 484.0886.

4-(2-(5-(Тиюфен-3-ил)-4-(4-хлорфенил)тиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонитрил (3ж).

Метод А. Оранжевый порошок (0.098 г, выход 65%). Т.пл. = 140-141°C. Спектр ЯМР ^1H (400



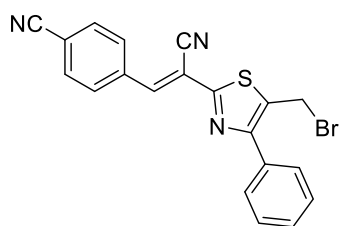
МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.39 (с, 1H, CH), 8.17 и 8.05 (AA'XX', 4H, $J = 8.1$ Гц, CH_{Ar}), 7.75 (с, 1H, CH_{thio}), 7.69 (м, 1H, CH_{thio}), 7.56 и 7.49 (AA'XX', 4H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.02 (д, 1H, $J = 4.8$ Гц, CH_{thio}). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 159.4, 149.9, 143.7, 137.3, 133.8, 133.4, 133.1, 131.0, 130.8, 130.7, 130.2, 129.1, 128.7, 128.1, 127.0, 118.8, 116.0, 113.8, 108.2. ИК-спектр, ν , cm^{-1} :

3090, 3077, 2958, 2859. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{23}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{S}_2$ 430,0234, найдено 430,0237.

3.9. Синтез 5-бромметилтиазолов и 5-гидроксиметилтиазола

Смесь 5.0 ммоль тиазола **2**, 5.5 ммоль (0.979 г) *N*-бромсукцинимида и 0.5 ммоль (0.161 г) бензоилпероксида в 20 мл CCl_4 перемешивали при кипячении в течение 8-10 часов до окончания реакции (контроль ТСХ). После охлаждения до комнатной температуры суспензию растворяли в CH_2Cl_2 , промывали водой (3 x 25 мл) и сушили безводным Na_2SO_4 . Затем растворитель отогнали под вакуумом, конечный продукт выделяли перекристаллизацией из этанола.

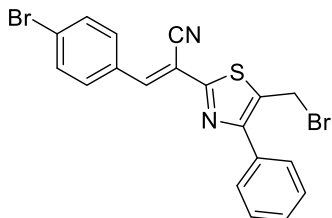
4-(2-(5-(Бромметил)-4-фенилтиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонтрил (24a). Темно-желтый



порошок (1.827 г, выход 90%). Т.пл. = 165-167 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.41 (с, 1H, CH), 8.17 и 8.04 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.79 (д, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.57 (т, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.51 (т, 1H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 5.15 (с, 2H, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 161.2,

154.3, 144.4, 137.2, 133.4, 133.3, 133.2, 130.8, 129.5, 129.4, 128.8, 118.8, 115.9, 113.9, 108.3, 26.3. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 2223. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{Br N}_3\text{SH}$ 406.0008, найдено 406.0006.

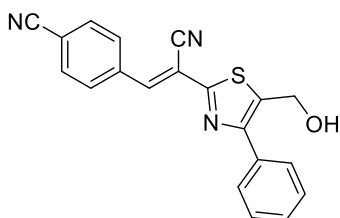
2-(5-(Бромметил)-4-фенилтиазол-2-ил)-3-(4-бромфенил)акрилонитрил (24в). Желтый порошок (0.405 г, выход 88%). Т.пл. = 130-132 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J ,



Гц): 8.19 (с, 1H, CH), 7.84 и 7.64 (AA'XX', 4H, $J = 8.6$ Гц, CH_{Ar}), 7.77 (д, 2H, $J = 7.0$ Гц, CH_{Ar}), 7.53 (т, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.48 (м, 1H, CH_{Ar}), 4.81 (с, 2H, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 161.2, 155.2, 143.2, 133.2, 132.6, 131.9, 131.4, 131.3, 129.1,

128.9, 128.6, 126.7, 116.3, 105.1, 24.4. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3093, 3060, 3022, 2851, 2221. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{N}_2\text{SH}$ 458.9161, найдено 458.9159.

4-(2-(5-(Гидроксиметил)-4-фенилтиазол-2-ил)-2-циановинил)бензонтрил (25a). Раствор 1.0 ммоль (0.406 г) бромметилтиазола **24a** в смеси 7 мл ТГФ и 7 мл воды перемешивали в



течение 6 часов при 70 °С до окончания реакции (контроль ТСХ). После охлаждения до комнатной температуры ТГФ отгоняли под вакуумом. Продукт экстрагировали с CH_2Cl_2 (3 x 15 мл). Органический слой промывали насыщенном раствором NaCl , сушили безводным Na_2SO_4 , растворитель отогнали под вакуумом.

Полученный продукт был выделен с помощью жидкостной колоночной хроматографии (система - хлороформ). Желтый порошок (0.230 г, выход 67%). Т.пл. = 163-165 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.37 (с, 1H, CH), 8.17 и 8.05 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц,

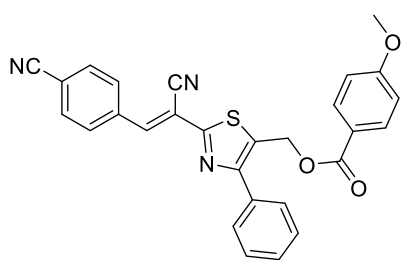
CH_{Ar}), 7.72 (д, 2H, $J = 7.1$ Гц, CH_{Ar}), 7.52 (т, 2H, $J = 7.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.44 (т, 1H, $J = 7.4$ Гц, CH_{Ar}), 6.12 (т, 1H, $J = 5.4$ Гц, OH), 4.86 (д, 2H, $J = 5.5$ Гц, CH₂). Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., J , Гц): 159.3, 150.7, 143.1, 140.5, 137.4, 134.1, 133.4, 130.7, 129.1, 128.9, 128.7, 118.8, 116.2, 113.6, 108.7, 56.9. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 3408, 2225. МСВР (ИЭР+), m/z : [M+H]⁺ Вычислено для C₂₀H₁₃N₃OSH 344.0852, найдено 344.0858.

3.10. Синтез биоконъюгатов на основе арилакрилонитрилтиазолов и модельных соединений, лекарственных препаратов, аминокислот и коротких пептидов.

Метод А. К раствору 1.0 ммоль бромметилтиазола **24** в ДМФА добавили 1.0 ммоль (0.084 г) NaHCO₃ и перемешивали в течение 10 минут при комнатной температуре. К реакционной смеси добавляли 1.0 ммоль соответствующей карбоновой кислоты **26** и перемешивали при комнатной температуре до окончания реакции (контроль ТСХ). Образовавшуюся суспензию разбавляли этанолом, фильтровали и промывали водой и этанолом.

Метод Б. К раствору 1.0 ммоль (0.406 г) бромметилтиазола **24** в ДМФА добавили 1.0 ммоль (0.084 г) NaHCO₃ и перемешивали в течение 10 минут при комнатной температуре. К реакционной смеси добавляли 1.0 ммоль соответствующей карбоновой кислоты **26,28** и перемешивали при комнатной температуре до окончания реакции (контроль ТСХ). В реакционную массу добавляли воду и экстрагировали с CH₂Cl₂ (3 x 15 мл). Органический слой промывали водой, насыщенным раствором NaCl, сушили безводным Na₂SO₄, растворитель отогнали под вакуумом. Полученный продукт был выделен с помощью жидкостной колоночной хроматографии (элюент – петролейный эфир:этилацетат=4:3).

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-метоксибензоат (**27a**).

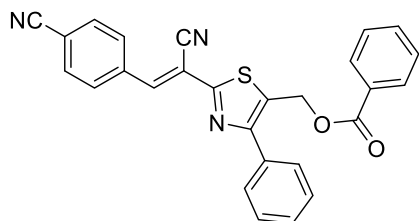


Метод А. Желтый порошок (0.353 г, выход 74%). Т.пл. = 193-195 °С. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., J , Гц): 8.42 (с, 1H, CH), 8.17 и 8.04 (AA'XX', 4H, $J = 8.2$ Гц, CH_{Ar}), 7.96 и 7.07 (AA'XX', 4H, $J = 8.7$ Гц, CH_{Ar}), 7.77 (д, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.58 (т, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.51 (т, 1H, $J = 7.2$ Гц,

CH_{Ar}), 5.63 (с, 2H, CH₂), 3.84 (с, 3H, OCH₃). Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., J , Гц): 164.9, 163.6, 160.8, 154.2, 143.7, 136.8, 133.0, 132.9, 131.5, 130.3, 128.9, 128.8, 128.6, 120.9, 118.3, 115.6, 114.2, 113.3, 107.9, 58.4, 55.6. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 2228, 1714. МСВР (ИЭР+), m/z : [M+H]⁺ Вычислено для C₂₈H₁₉N₃O₃SH 478.1220, найдено 478.1225.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метилбензоат (27б). Метод А.

Желтый порошок (0.259 г, выход 58%). Т.пл. = 89-91 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$,

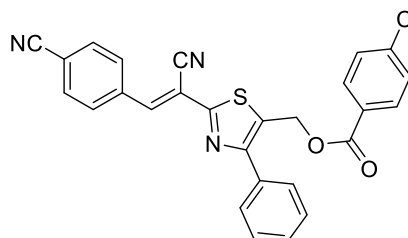


δ , м.д., J , Гц): 8.42 (с, 1H, CH), 8.17 (д, 2H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 8.02 (м, 4H, CH_{Ar}), 7.78 (д, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.70 (т, 1H, $J = 7.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.55 (м, 5H, CH_{Ar}), 5.67 (с, 2H, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.8, 161.4,

154.9, 144.3, 137.3, 134.3, 133.5, 133.4, 130.8, 130.5, 129.8, 129.5, 129.4, 129.3(2C), 129.1, 118.8, 116.0, 113.8, 108.4, 59.2. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 2923, 2227, 1711. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2\text{SH}$ 448.1114, найдено 448.1121.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-хлорбензоат (27в).

Метод А. Желтый порошок (0.217 г, выход 45%). Т.пл. = 145-147 °С. Спектр ЯМР ^1H (600 МГц,

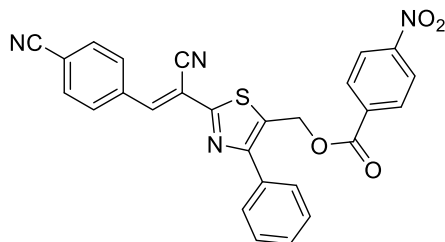


$\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.44 (с, 1H, CH), 8.18 и 8.05 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 8.01 и 7.63 (AA'XX', 4H, $J = 8.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.77 (д, 2H, $J = 7.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.58 (т, 2H, $J = 7.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.52 (т, 1H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 5.68 (с, 2H, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 165.0, 161.5,

155.1, 144.3, 139.3, 137.2, 133.5, 133.4, 131.7, 130.8, 130.2, 129.6, 129.5, 129.3, 129.1, 128.2, 118.8, 116.1, 113.9, 108.3, 59.5. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 2224, 1705. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{SH}$ 482.0725, найдено 482.0735.

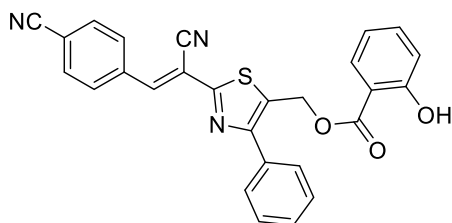
(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-нитробензоат (27г).

Метод А. Желтый порошок (0.261 г, выход 53%). Т.пл. =



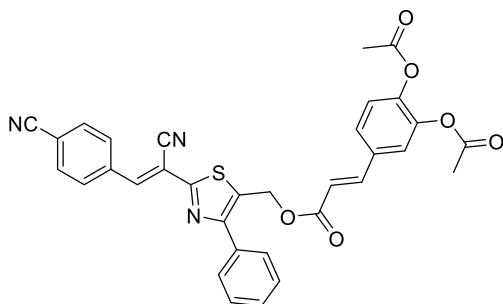
182-184 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.44 (с, 1H, CH), 8.36 и 8.23 (AA'XX', 4H, $J = 8.1$ Гц, CH_{Ar}), 8.18 и 8.05 (AA'XX', 4H, $J = 8.1$ Гц, CH_{Ar}), 7.78 (д, 2H, $J = 7.7$ Гц, CH_{Ar}), 7.58 (т, 2H, $J = 7.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.52 (м, 1H,

CH_{Ar}), 5.72 (с, 2H, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, δ , м.д., J , Гц): 163.9, 161.1, 154.8, 150.5, 143.9, 136.7, 134.3, 132.9, 130.9, 130.3, 129.3, 129.0, 128.8, 128.6, 124.0, 118.3, 115.6, 113.4, 107.8, 59.4. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 2230, 1732, 1521, 1345. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_4\text{SH}$ 493.0965, найдено 493.0968.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-2-гидроксibenзоат**(27д). Метод А.** Желтый порошок (0.292 г, выход 63%). Т.пл. = 143-145 °С. Спектр ЯМР ¹H

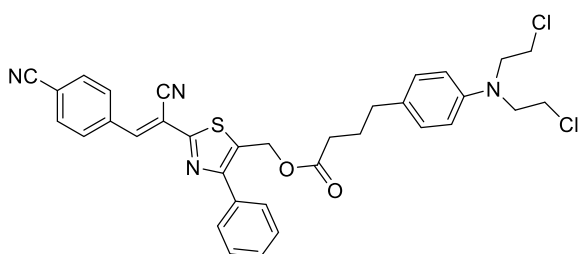
(600 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 10.34 (с, 1H, OH), 8.43 (с, 1H, CH), 8.17 и 8.04 (AA'XX', 4H, *J* = 8.4 Гц, CH_{Ar}), 7.79 (м, 3H, CH_{Ar}), 7.57 (т, 2H, *J* = 7.5 Гц, CH_{Ar}), 7.52 (м, 2H, CH_{Ar}), 7.00 (д, 1H, *J* = 8.3 Гц, CH_{Ar}), 6.95 (т, 1H, *J* = 7.5 Гц,

CH_{Ar}), 5.68 (с, 2H, CH₂). Спектр ЯМР ¹³C (151 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 168.2, 161.2, 160.3, 155.1, 144.3, 137.2, 136.3, 133.4(2C), 130.8(2C), 130.1, 129.5, 129.3, 129.1, 120.0, 118.8, 118.0, 116.1, 113.8, 113.6, 108.4, 59.3. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 2227, 1667. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₂₇H₁₇N₃O₃SH 464.1063, найдено 464.1069.

4-(3-((4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метокси)-3-оксопроп-1-**ен-1-ил)-1,2-фенилендиацетат (27е). Метод А.** Желтый порошок (0.306 г, выход 52%). Т.пл.

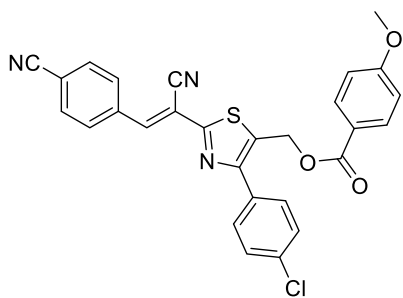
= 160-162 °С. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 8.43 (с, 1H, CH), 8.18 и 8.05 (AA'XX', 4H, *J* = 8.4 Гц, CH_{Ar}), 7.73 (м, 5H, CH_{Ar}), 7.58 (м, 2H, CH_{Ar}, CH), 7.51 (м, 1H, CH_{Ar}), 7.34 (д, 1H, *J* = 8.4 Гц CH_{Ar}), 6.76 (д, 1H, *J* = 16.0 Гц, CH), 5.54 (с, 2H, CH₂), 2.29 (м, 6H, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д.,

J, Гц): 168.6, 168.5, 166.2, 161.4, 155.0, 144.6, 144.2, 142.8, 137.3, 133.5, 133.4, 133.1, 130.8, 130.5, 129.5, 129.3, 129.1, 127.7, 124.6, 123.9, 118.8, 118.7, 116.1, 113.8, 108.4, 58.6, 20.8, 20.7. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 2226, 1756, 1705, 1630. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₃₃H₂₃N₃O₆SH 590.1380, найдено 590.1391.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-(4-(бис(2-**хлорэтил)амино)фенил)бутаноат (27ж). Метод Б.** Желто-коричневое масло (0.408 г, выход

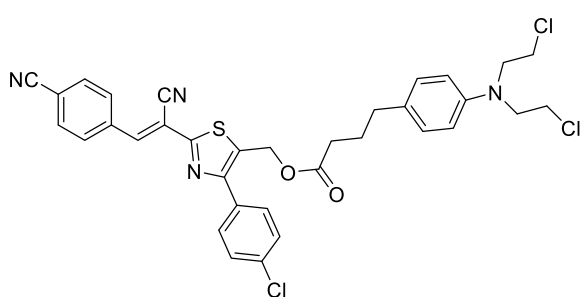
65%). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 8.24 (с, 1H, CH), 8.04 и 7.78 (AA'XX', 4H, *J* = 8.3 Гц, CH_{Ar}), 7.70 (д, 2H, *J* = 6.8 Гц, CH_{Ar}), 7.49 (м, 3H, CH_{Ar}), 7.07 и 6.65 (AA'XX', 4H, *J* = 8.4 Гц, CH_{Ar}), 5.36 (с, 2H, CH₂), 3.65 (м, 8H, CH₂),

2.58 (т, 2H, *J* = 7.5 Гц, CH₂), 2.42 (т, 2H, *J* = 7.4 Гц, CH₂), 1.96 (квин, 2H, *J* = 7.4 Гц, CH₂). Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, DMSO-*d*₆, δ, м.д., *J*, Гц): 173.1, 160.6, 156.2, 144.3, 141.4, 136.6, 133.2, 132.8, 130.2, 130.0, 129.7, 129.2, 128.8, 118.0, 115.9, 114.6, 112.5, 108.0, 58.1, 53.7, 40.4, 33.9, 33.4, 26.6. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 3095, 3063, 2925, 2856, 2227, 1736. МСВР (ИЭР+), *m/z*: [M+H]⁺ Вычислено для C₃₄H₃₀Cl₂N₄O₂SH 629.1539, найдено 629.1540.

(4-(4-Хлорфенил)-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-**метоксибензоат (27з). Метод А.** Ярко-желтый порошок (0.265 г, выход 52%). Т.пл. = 224–226

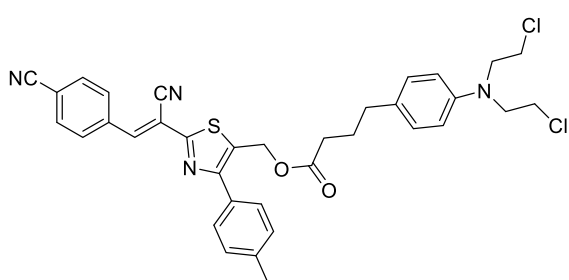
°С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.22 (с, 1H, CH), 8.04 (м, 4H, CH_{Ar}), 7.78 (д, 2H, $J = 8.2$ Гц, CH_{Ar}), 7.72 и 7.50 (AA'XX', 4H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 6.96 (д, 2H, $J = 8.8$ Гц, CH_{Ar}), 5.55 (с, 2H, CH_2), 3.88 (с, 3H, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 165.8, 164.0, 160.9, 154.9, 141.6, 136.5, 135.3, 132.8, 131.9, 131.7, 130.6, 130.2, 130.1,

129.1, 121.4, 118.0, 115.8, 114.7, 113.9, 108.0, 58.3, 55.5. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3083, 3023, 2276, 2967, 2941, 2227, 1782, 1678. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{28}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{SH}$ 512.0830, найдено 512.0835.

(4-(4-Хлорфенил)-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-(4-(бис(2-хлорэтил)амино)фенил)бутаноат (27и). Метод Б. Коричневое масло (0.377 г, выход 57%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.21 (с, 1H, CH), 8.04 и 7.78 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.66 (д, 2H, $J = 8.7$ Гц, CH_{Ar}), 7.48 (д, 2H, $J = 8.6$ Гц, CH_{Ar}), 7.05 (д, 2H, $J = 8.5$ Гц, CH_{Ar}), 6.62 (д, 2H, $J = 8.7$ Гц, CH_{Ar}), 5.32 (с, 2H, CH_2), 3.69 (м, 4H, CH_2), 3.61 (м, 4H, CH_2), 2.57 (т, 2H, $J = 7.6$

Гц, CH_2), 2.41 (т, 2H, $J = 7.4$ Гц, CH_2), 1.95 (м, 2H, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 173.1, 160.9, 155.0, 144.5, 141.7, 136.4, 135.3, 132.8, 131.6, 130.3, 130.2, 130.1, 129.7, 129.1, 118.0, 115.8, 114.7, 112.2, 107.9, 57.9, 53.6, 40.5, 33.9, 33.3, 26.6. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3095, 3073, 3007, 2956, 2925, 2228, 1736, 1656. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{SH}$ 663.1150, найдено 663.1146.

(4-(*n*-Толил)2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-(4-(бис(2-хлорэтил)амино)фенил)бутаноат (27к). Метод Б. Коричневое масло (0.366 г, выход 57%).

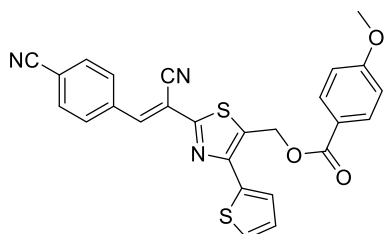
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.24 (с, 1H, CH), 8.04 и 7.78 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.59 и 7.31 (AA'XX', 4H, $J = 7.9$ Гц, CH_{Ar}), 7.06 и 6.62 (AA'XX', 4H, $J = 8.7$ Гц, CH_{Ar}), 5.34 (с, 2H, CH_2), 3.69 (м, 4H, CH_2), 3.61 (м, 4H, CH_2), 2.58 (т, 2H, $J = 7.5$ Гц, CH_2), 2.41 (м, 5H, CH_2 ,

CH_3), 1.95 (м, 2H, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 173.2, 160.5, 156.4, 144.4, 141.3, 139.2, 136.6, 132.8, 130.4, 130.2, 129.7, 129.5, 129.4, 128.7, 118.0, 115.9, 114.6, 112.2,

108.0, 58.2, 53.6, 40.5, 33.9, 33.4, 26.6, 21.4. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3093, 3070, 3030, 2924, 2227, 1736, 1660. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2\text{H}$ 643.1696, найдено 643.1701.

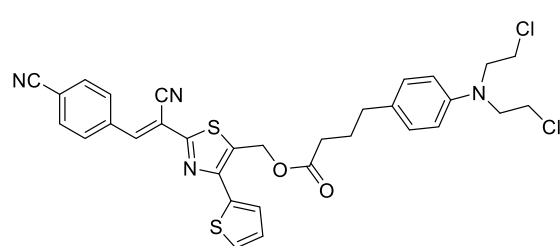
(4-(Тиофен-2-ил)-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-

метоксибензоат (27л). Метод А. Темно-желтый порошок (0.290 г, выход 60%). Т.пл. = 205-207 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.24 (с, 1H, CH), 8.05 (м, 4H, CH_{Ar}), 7.78 (д, 2H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.54 (д, 1H, $J = 3.5$ Гц, CH_{thio}), 7.47 (д, 1H, $J = 4.7$ Гц, CH_{thio}), 7.18 (дд, 1H, $J = 5.0$ Гц, $J = 3.7$ Гц, CH_{thio}), 6.95 (д, 2H, $J = 8.9$ Гц, CH_{Ar}), 5.66 (с, 2H, CH_2), 3.87 (с, 3H, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 ,



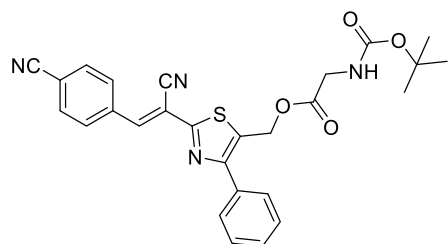
δ , м.д., J , Гц): 165.8, 163.9, 160.3, 149.5, 141.7, 136.5, 136.1, 132.8, 132.0, 130.3, 128.6, 128.0, 127.5, 127.2, 121.5, 118.0, 115.8, 114.7, 113.9, 107.7, 58.2, 55.5. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3099, 3082, 3070, 3025, 2969, 2228, 1716, 1675. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2\text{H}$ 484.0784, найдено 484.0790.

(4-(Тиофен-2-ил)-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-(4-(бис(2-хлорэтил)амино)фенил)бутаноат (27м). Метод Б. Коричневое масло (0.342 г, выход 54%).



Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.24 (с, 1H, CH), 8.05 и 7.78 (AA'XX', 4H, $J = 8.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.46 (д, 2H, $J = 4.4$ Гц, CH_{thio}), 7.16 (т, 1H, $J = 4.4$ Гц, CH_{thio}), 7.04 и 6.61 (AA'XX', 4H, $J = 8.7$ Гц, CH_{Ar}), 5.43 (с, 2H, CH_2), 3.69 (м, 4H, CH_2), 3.61 (м, 4H, CH_2), 2.57 (т, 2H, $J = 7.5$ Гц, CH_2), 2.41 (т, 2H, $J = 7.5$ Гц, CH_2), 1.95 (квин, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 173.1, 160.3, 149.6, 144.4, 141.7, 136.5, 136.0, 132.8, 130.3, 130.1, 129.7, 128.3, 128.0, 127.5, 127.2, 118.0, 115.8, 114.7, 112.2, 107.5, 57.9, 53.6, 40.5, 33.8, 33.3, 26.5. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3101, 2958, 2925, 2226, 1737. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2\text{H}$ 635.1103, найдено 635.1134.

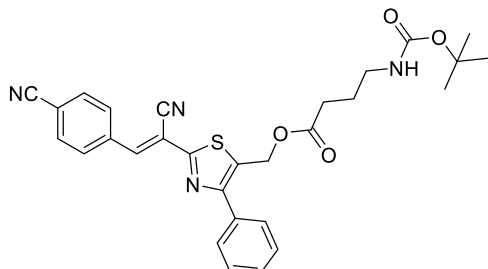
(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил(трет-бутоксикарбонил)глицинат (29а). Метод Б. Желтый порошок (0.250 г, выход 50%). Т.пл. =



101-103 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.25 (с, 1H, CH), 8.05 (д, 2H, $J = 8.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.78 (д, 2H, $J = 8.1$ Гц, CH_{Ar}), 7.68 (д, 2H, $J = 7.0$ Гц, CH_{Ar}), 7.49 (м, 3H, CH_{Ar}), 5.43 (с, 2H, CH_2), 5.01 (уш. с, 1H, NH), 4.01 (д, 2H, $J = 5.6$ Гц, CH_2), 1.46 (с, 9H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 170.2, 161.0, 156.8, 155.7, 141.6, 136.5, 133.0, 132.8, 130.2, 129.3, 129.0,

128.9, 128.8, 118.0, 115.8, 114.7, 107.9, 80.3, 58.9, 42.4, 28.3. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3393, 3021, 2276, 1754, 1667. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4\text{SH}$ 501.1591, найдено 501.1596.

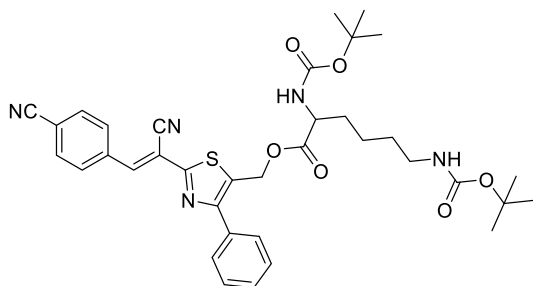
(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутаноат (29б). Метод Б. Желтый порошок (0.286 г, выход 54%).



Т.пл. = 113-115 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 8.42 (с, 1H, CH), 8.17 и 8.05 (AA'XX', 4H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.71 (д, 2H, $J = 7.1$ Гц, CH_{Ar}), 7.55 (т, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.50 (м, 1H, CH_{Ar}), 6.83 (м, 1H, NH), 5.38 (с, 2H, CH_2), 2.94 (м, 2H, CH_2), 2.39 (т, 2H, $J = 7.4$

Гц, CH_2), 1.65 (кв, 2H, $J = 7.0$ Гц, CH_2), 1.35 (с, 9H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д., J , Гц): 172.4, 160.8, 155.6, 154.4, 143.7, 136.7, 132.9 (2С), 130.3, 130.1, 128.9, 128.8, 128.6, 118.3, 115.6, 113.3, 107.9, 77.5, 57.8, 30.6, 28.2, 24.7. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3317, 2971, 2227, 1732, 1686. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4\text{SH}$ 529.1904, найдено 529.1901.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил- N_2,N_6 -бис(трет-

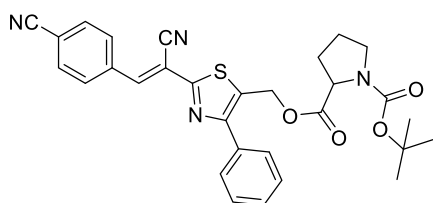


бутоксикарбонил)лизинат (29в). Метод Б. Темно-желтое масло (0.329 г, выход 49%). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.25 (с, 1H, CH), 8.05 (д, 2H, $J = 7.7$ Гц, CH_{Ar}), 7.78 (д, 2H, $J = 8.1$ Гц, CH_{Ar}), 7.69 (д, 2H, $J = 7.7$ Гц, CH_{Ar}), 7.50 (м, 3H, CH_{Ar}), 5.46 и 5.37 (AB, 2H, $J = 13.3$ Гц, CH_2), 5.10 (уш. с, 1H, NH), 4.54 (уш. с, 1H, NH), 4.33 (уш. с, 1H, CH), 3.08 (м, 2H, CH_2), 1.82 (м, 1H, CH_2), 1.64 (м, 2H, CH_2), 1.46 (м, 21H, CH_3 , CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 172.6, 160.9, 156.6, 156.1, 155.5, 141.7, 136.5, 133.1, 132.8, 130.3, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8, 118.0, 115.8, 114.7, 108.0, 80.2, 58.9, 53.4, 39.9, 29.7, 28.4, 28.3, 22.5, 22.1. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3369, 3064, 2976, 2930, 2863, 2229, 1745, 1707. МСВР (ИЭР+), m/z : $[M+H]^+$ Вычислено для $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_6\text{SH}$ 672.2837, найдено 672.2850.

1-(трет-Бутил)-2-((4-фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-

ил)метил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (29г). Метод Б. Желтое масло (0.378 г, выход



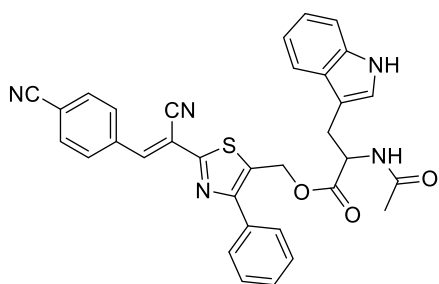
70%). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.24 (с, 1H, CH), 8.05 и 7.78 (AA'XX', 4H, $J = 7.7$ Гц, CH_{Ar}), 7.70 (д, 2H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.49 (м, 3H, CH_{Ar}), 5.52 и 5.35 (AB, 1H, $J = 13.2$ Гц, CH_2), 5.44 и 5.39 (AB, 1H, $J = 13.1$ Гц, CH_2),

4.36 (м, 1H, CH), 3.50 (м, 2H, CH_2), 2.26 (м, 1H, CH_2), 1.94 (м, 3H, CH_2), 1.46 (с, 4.17H, CH_3),

1.34 (с, 4.83H, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C (151 МГц, CDCl₃, δ, м.д., J, Гц): 173.0, 172.7, 160.9, 160.7, 156.8, 156.4, 154.4, 153.6, 141.6, 141.4, 136.6, 136.5, 133.1, 133.0, 132.8, 130.3, 130.2, 129.7, 129.3, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8, 118.0 (2C), 115.9, 115.8, 114.7, 114.6, 108.0, 107.9, 80.1, 59.0, 58.8, 58.7, 58.5, 46.6, 46.4, 30.9, 29.9, 29.7, 28.4, 28.3, 24.5, 23.7. ИК-спектр (KBr), ν, см⁻¹: 2975, 2930, 2879, 2228, 1749, 1694. МСВР (ИЭР+), m/z: [M+H]⁺ Вычислено для C₃₀H₂₈N₄O₄SH 541.1904, найдено 541.1921.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метилацетилтриптофанат

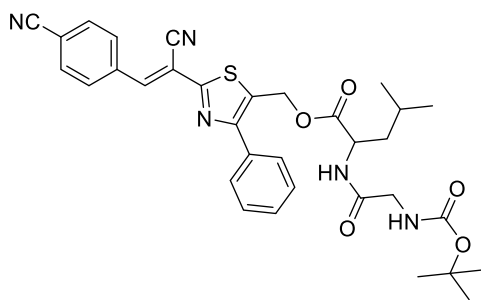
(29д). Метод Б. Желтый порошок (0.343 г, выход 60%). Т.пл. = 104-106 °С. Спектр ЯМР ¹H



(400 МГц, CDCl₃, δ, м.д., J, Гц): 8.20 (с, 1H, CH), 8.10 (с, 1H, CH), 8.04 (д, 2H, J = 7.0 Гц, CH_{Ar}), 7.78 (д, 2H, J = 6.8 Гц, CH_{Ar}), 7.58 (м, 2H, CH_{Ar}), 7.52 (д, 1H, J = 8.0 Гц, CH_{Ar}), 7.46 (м, 3H, CH_{Ar}), 7.31 (д, 1H, J = 7.9 Гц, CH_{Ar}), 7.15 (т, 1H, J = 7.0 Гц, CH_{Ar}), 7.06 (т, 1H, J = 7.2 Гц, CH_{Ar}), 6.91 (с, 1H, NH), 6.03 (д, 1H, J = 7.3 Гц, NH), 5.35 и 5.24 (AB, 2H, J = 13.5 Гц,

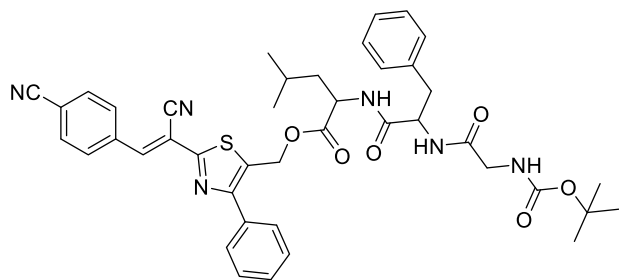
CH₂), 5.02 (м, 1H, CH), 3.31 (м, 2H, CH₂), 2.00 (с, 3H, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ, м.д., J, Гц): 171.9, 169.8, 160.9, 156.7, 141.6, 136.5, 136.2, 133.0, 132.8, 130.2, 129.2, 128.9 (2C), 128.8, 127.5, 122.7, 122.4, 119.9, 118.4, 118.0, 115.9, 114.7, 111.4, 109.7, 107.9, 58.9, 53.1, 27.9, 23.2. ИК-спектр (KBr), ν, см⁻¹: 3406, 3058, 2925, 2852, 2228, 1742, 1656. МСВР (ИЭР+), m/z: [M+H]⁺ Вычислено для C₃₃H₂₅N₅O₃SH 572.1751, найдено 572.1766.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил(трет-бутоксикарбонил)глициллейцинат (29е). Метод Б. Желтое масло (0.246 г, выход 40%).



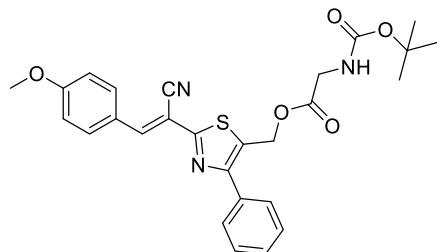
Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃, δ, м.д., J, Гц): 8.26 (с, 1H, CH), 8.05 и 7.78 (AA'XX', 4H, J = 8.3 Гц, CH_{Ar}), 7.69 (д, 2H, J = 7.3 Гц, CH_{Ar}), 7.52 (т, 2H, J = 7.4 Гц, CH_{Ar}), 7.47 (т, 1H, J = 7.3 Гц, CH_{Ar}), 6.50 (уш. с, 1H, NH), 5.43 и 5.37 (AB, 2H, J = 13.3 Гц, CH₂), 5.10 (уш. с, 1H, NH), 4.69 (м, 1H, CH), 3.83 (м, 2H, CH₂), 1.63 (м, 3H, CH₂, CH), 1.46

(с, 9H), 0.94 (д, 6H, J = 5.8 Гц, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C (151 МГц, CDCl₃, δ, м.д., J, Гц): 172.5, 169.5, 160.9, 156.8, 156.1, 141.7, 136.5, 133.0, 132.8, 130.3, 129.3, 128.9, 128.8, 118.0, 115.9, 114.7, 107.9, 80.6, 59.0, 50.7, 44.5, 41.2, 29.7, 28.3, 24.9, 22.8, 21.8. ИК-спектр (KBr), ν, см⁻¹: 3357, 3063, 2959, 2927, 2870, 2853, 2229, 1744, 1710, 1679. МСВР (ИЭР+), m/z: [M+H]⁺ Вычислено для C₃₃H₃₅N₅O₅SH 614.2432, найдено 614.2432.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил(трет-**бутоксикарбонил)глицилфенилаланиллейцинат (29ж).** Метод Б. Желтое масло (0.312 г,

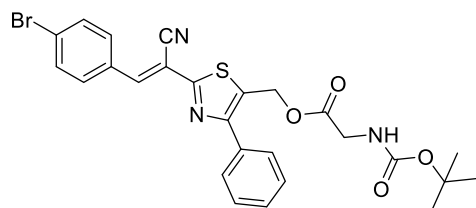
выход 41%). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.26 (с, 1H, CH), 8.05 и 7.78 (AA'XX', 4H, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.69 (д, 2H, $J = 7.2$ Гц, CH_{Ar}), 7.52 (т, 2H, $J = 7.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.47 (т, 1H, $J = 7.3$ Гц, CH_{Ar}), 7.27 (м, 2H, CH_{Ar}), 7.21 (м, 3H, CH_{Ar}), 6.54 (д, 1H, $J = 7.6$ Гц, NH), 6.39

(уш. с, 1H, NH), 5.40 и 5.36 (AB, 2H, $J = 13.3$ Гц, CH_2), 5.00 (уш. с, 1H, NH), 4.71 (м, 1H, CH), 4.57 (м, 1H, CH), 3.74 (м, 2H, CH_2), 3.19 (м, 1H, CH_2), 3.04 (дд, 1H, $J = 14.0$ Гц, $J = 6.9$ Гц, CH_2), 1.60 (м, 1H, CH), 1.51 (м, 2H, CH_2), 1.41 (с, 9H, CH_3), 0.89 (д, 6H, $J = 6.2$ Гц, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 171.9, 170.5, 169.3, 160.9, 156.6, 156.2, 136.5, 136.1, 133.1, 132.8, 130.2, 129.3, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8, 128.7, 128.0, 127.2, 118.0, 115.9, 114.6, 108.0, 80.7, 59.0, 54.0, 51.0, 44.6, 40.9, 37.5, 28.2, 24.7, 22.7, 21.8. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3307, 3064, 2959, 2927, 2870, 2229, 1749, 1656. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{42}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_6\text{SH}$ 761.3116, найдено 761.3104.

(4-Фенил-2-(1-циано-2-(4-метоксифенил)винил)тиазол-5-ил)метил(трет-**бутоксикарбонил)глицинат (29з).** Метод Б. Оранжевое масло (0.247 г, выход 49%). Спектр

ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.16 (с, 1H, CH), 7.98 и 7.00 (AA'XX', 4H, $J = 8.8$ Гц, CH_{Ar}), 7.69 (д, 2H, $J = 7.1$ Гц, CH_{Ar}), 7.48 (м, 3H, CH_{Ar}), 5.40 (с, 2H, CH_2), 5.01 (уш. с, 1H, NH), 4.00 (д, 2H, $J = 5.6$ Гц, CH_2), 3.89 (с, 3H, OCH_3), 1.46 (с, 9H, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.,

J , Гц): 170.2, 163.0, 162.7, 156.3, 155.7, 144.5, 133.4, 132.5, 129.0, 128.9, 128.8, 126.8, 125.3, 117.2, 114.7, 101.5, 80.3, 59.0, 55.6, 42.5, 28.3. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3386, 3059, 2974, 2928, 2850, 2216, 1752, 1714. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5\text{SH}$ 506.1744, найдено 506.1761.

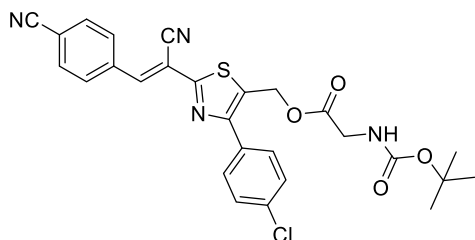
(2-(2-(4-Бромфенил)-1-циановинил)-4-фенилтиазол-5-ил)метил(трет-**бутоксикарбонил)глицинат (29и).** Метод Б. Желтое масло (0.199 г, выход 36%). Спектр ЯМР

^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.20 (с, 1H, CH), 7.86 и 7.66 (AA'XX', 4H, $J = 8.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.71 (д, 2H, $J = 6.8$ Гц, CH_{Ar}), 7.51 (м, 3H, CH_{Ar}), 5.44 (с, 2H, CH_2), 5.04 (уш. с, 1H, NH), 4.03 (д, 2H, $J = 5.3$ Гц, CH_2), 1.48 (с, 9H, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 170.2, 161.8, 156.6, 155.7, 143.2, 133.2, 132.6, 131.4, 131.3, 129.1, 128.9, 128.8, 128.0, 126.6, 116.3, 105.2, 80.3, 58.9, 42.4, 28.3. ИК-спектр

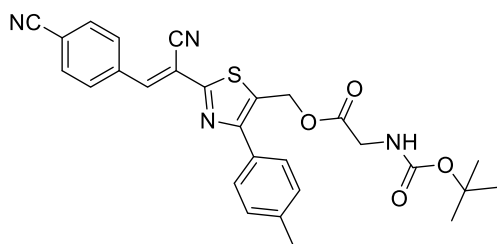
(KBr), ν , cm^{-1} : 3418, 3060, 2976, 2926, 2197, 1753, 1714. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{BrN}_3\text{O}_4\text{SH}$ 554.0744, найдено 554.0753.

(4-(4-Хлорфенил)-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил(трет-бутоксикарбонил)глицинат (29к). Метод Б. Ярко-желтый порошок (0.336 г, выход 63%).



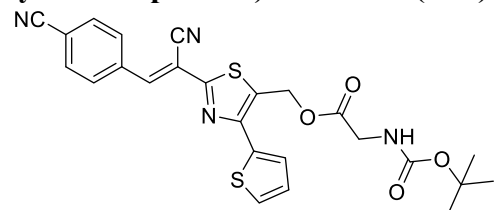
Т.пл. = 136–138 °С. Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.22 (с, 1Н, СН), 8.05 и 7.79 (АА'ХХ', 4Н, $J = 7.5$ Гц, CH_{Ar}), 7.64 и 7.49 (АА'ХХ', 4Н, $J = 7.4$ Гц, CH_{Ar}), 5.39 (с, 2Н, CH_2), 5.01 (уш. с., 1Н, NH), 4.00 (д, 2Н, $J = 4.8$ Гц, CH_2), 1.46 (с, 9Н, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 170.2, 161.2, 155.7, 155.6, 141.9, 136.4, 135.5, 132.8, 131.5, 130.3, 130.1, 129.2, 118.0, 115.7, 114.8, 107.8, 80.4, 58.6, 42.4, 28.3. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3323, 3058, 3004, 2980, 2228, 1767, 1752, 1701, 1684. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{OSH}$ 535.1201, найдено 535.1195.

(4-(*n*-Толил)-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил(трет-



бутоксикарбонил)глицинат (29л). Метод Б. Ярко-желтый порошок (0.190 г, выход 37%). Т.пл. = 133–135 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.24 (с, 1Н, СН), 8.04 и 7.78 (АА'ХХ', 4Н, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.57 и 7.31 (АА'ХХ', 4Н, $J = 8.0$ Гц, CH_{Ar}), 5.42 (с, 2Н, CH_2), 5.00 (уш. с., 1Н, NH), 4.00 (д, 2Н, $J = 5.5$ Гц, CH_2), 2.43 (с, 3Н, CH_3), 1.46 (с, 9Н, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 170.2, 160.8, 157.0, 155.7, 141.5, 139.4, 136.5, 132.8, 130.3, 130.2, 129.6, 128.7, 128.4, 118.0, 115.9, 114.6, 107.9, 80.3, 59.0, 42.4, 28.3, 21.4. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3321, 3097, 3058, 3006, 2979, 2226, 1766, 1752, 1684. МСВР (ИЭР+), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ Вычислено для $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{SH}$ 515.1748, найдено 515.1751.

(4-(Тиофен-2-ил)-2-(1-циано-2-(4-цианофенил)винил)тиазол-5-ил)метил(трет-



бутоксикарбонил)глицинат (29м). Метод Б. Ярко-желтый порошок (0.202 г, выход 40%). Т.пл. = 109–111 °С. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 8.25 (с, 1Н, СН), 8.06 и 7.79 (АА'ХХ', 4Н, $J = 8.4$ Гц, CH_{Ar}), 7.46 (м, 2Н, CH_{thio}), 7.16 (дд, 1Н, $J = 5.0$ Гц, $J = 3.8$ Гц, CH_{thio}), 5.51 (с, 2Н, CH_2), 4.99 (уш. с., 1Н, NH), 4.00 (д, 2Н, $J = 5.3$ Гц, CH_2), 1.46 (с, 9Н, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (151 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 170.2, 160.6, 155.7, 150.2, 141.9, 136.4, 135.7, 132.8, 130.3, 128.0, 127.7, 127.4, 127.2, 118.0, 115.8, 114.7, 107.5, 80.4, 58.6, 42.4, 28.3. ИК-спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 3350, 3094, 3064, 2979, 2941, 2230,

1761, 1713, 1676. МСВР (ИЭР+), m/z: [M+H]⁺ Вычислено для C₂₅H₂₂N₄O₄S₂H 507.1155, найдено 507.1158.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы были синтезированы новые флуорофоры на основе тиазолидинонов и тиазолов, изучены их фотофизические свойства в различных средах, оценены перспективы их использования для визуализации биологических объектов и получения новых флуоресцентных биоконъюгатов для временной маскировки биологически активных соединений и природных молекул как ключевого момента в развитии технологии адресной доставки лекарств и диагностических средств.

1. Впервые изучено взаимодействие пента-2,4-диентиамидов с производными ацетиленовых кислот. Показано, что образующиеся в ходе реакции тиазолидиноны и тиазины подвергаются 1,6-электроциклизации с образованием редко встречающихся гетероциклических систем: 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридинов и 4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазин-9-карбонитрилов.

2. Предложен альтернативный путь получения 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридинов и 4*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазин-9-карбонитрилов, позволивший расширить область распространения реакции. На основе квантово-химических расчетов и данных рентгеноструктурного анализа предложен моноротаторный механизм 1,6-электроциклизации.

3. Показано, что 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридины являются одним из редких примеров производных тиазолидинонов, обладающих флуоресценцией в растворах и в кристаллическом состоянии. В ходе биологических исследований обнаружено, что 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридины способны проникать через клеточную мембрану и давать контрастную желтую флуоресценцию, накапливаясь в лизосомах.

4. Проведен дизайн и осуществлен синтез новых арилидентиазолов, содержащих набор фрагментов и заместителей, обеспечивающих такое распределение электронной плотности в структуре, которое приводит к значительному увеличению интенсивности флуоресценции. В ходе биологических исследований арилидентиазолы показали яркую, контрастную синюю, зеленую и желтую флуоресценцию в лизосомах и ЭР.

5. Разработан метод синтеза биоконъюгатов флуорофоров и различных модельных соединений, лекарственных препаратов, аминокислот и пептидов, содержащих карбоксильную группу. Определены и оценены их фотофизические свойства с точки зрения возможного применения.

6. Изучена фотодиссоциация полученных флуоресцентных биоконъюгатов с помощью хромато-масс-спектрометрических исследований и квантово-химических расчетов и идентифицированы продукты фоторасщепления конъюгатов. Определены кинетические и фотофизические параметры фотодиссоциации и предложен механизм фототрансформации. Установлено, что гетеролитический разрыв связи С-О является более предпочтительным.

7. В результате биологических исследований обнаружено, что синтезированные гибриды легко проникают в живые клетки и избирательно накапливаются в клеточных органеллах в зависимости от структуры флуорофора и биомолекулы и, таким образом, могут быть использованы для адресной доставки в субклеточные органеллы.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Разработанный подход к синтезу новых флуорофоров и биоконъюгатов позволит в дальнейшем осуществить дизайн более эффективных биосовместимых флуорофоров с целью их использования для биовизуализации, а также в качестве фотозащитных групп для различных биологически активных молекул.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДМФА	Диметилформаид
NBS	<i>N</i> -бромсукцинимид
ТЭА	Триэтиламин
TMSiCl	Триметилсилил хлорид
TEMPO	(2,2,6,6-Тетраметилпиперидин-1-ил)оксил
ДМЭ	Диметоксиэтан
XantPhos	9,9-Диметил-4,5- бис(дифенилфосфино)ксантен
Pd ₂ (dba) ₃	Трис(добензилиденацетон)дипалладий(0)
ДМСО	Диметилсульфоксид
ДМАД	Диметиловый эфир ацетилендикарбоновой кислоты
MW	Микроволновое излучение
ESIPT	Эффект внутримолекулярного переноса протона в возбужденном состоянии
QY, Φ _F	Квантовый выход флуоресценции
ТГФ	Тетрагидрофуран
SS	Сдвиг Стокса
NMM	<i>N</i> -метилморфолин
ТСХ	Тонкослойная хроматография
ДТП	2,3-дигидро-5 <i>H</i> -тиазоло[3,2- <i>a</i>] пиридин
ПТЗ	4 <i>H</i> ,6 <i>H</i> -пиридо[2,1- <i>b</i>][1,3]тиазин-9- карбонитрил
RDG	Приведенный градиент электронной плотности
ICT	Внутримолекулярный перенос заряда
ВЗМО	Высшая занятая молекулярная орбиталь
НСМО	Низшая свободная молекулярная орбиталь
МЭП	Карта молекулярного электростатического потенциала
PPG	Фотоактивируемая защитная группа
Q _u	Квантовый выход фотореакции
АТЗ	Арилидентиазолы

ВРО	Дибензоилпероксид
ДАТЗ	2-Арилиден-4,5-диарилтиазолы
КССВ	Константа спин-спинового взаимодействия
ЭГ	Этиленгликоль
ЭПР	Эндоплазматический ретикулум

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 4.06 - Thiazoles / A. Chotera-Ouda, A. Wróblewska, P. Tokarz, C. V. Stevens. – Text : electronic // *Comprehensive Heterocyclic Chemistry IV* / eds. D. S. Black [et al.]. – Oxford : Elsevier, 2022. – P. 530-623. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128186558001293> (date accessed: 08.10.2024).
2. You, S.-L. Total Synthesis of Dendroamide A: Oxazole and Thiazole Construction Using an Oxodiphosphonium Salt / S.-L. You, J. W. Kelly // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2003. – Vol. 68. – № 24. – P. 9506-9509.
3. A Total Synthesis of Epothilones Using Solid-Supported Reagents and Scavengers / R. I. Storer, T. Takemoto, P. S. Jackson, S. V. Ley // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2003. – Vol. 42. – № 22. – P. 2521-2525.
4. Synthesis and Antifungal Activity of Some 2-Aryl-3-substituted 4-Thiazolidinones. Synthese und antimykotische Aktivität einiger 2-Aryl-3-substituierter 4-Thiazolidinone / N. Cesur, Z. Cesur, N. Ergenc [et al.] // *Archiv der Pharmazie*. – 1994. – Vol. 327. – № 4. – P. 271-272.
5. Geies, A. A. Synthesis and antimicrobial activities of some new pyrrolylthieno[2,3-b]-quinoline derivatives / A. A. Geies, E. A. Bakhite, H. S. el-Kashef // *Die Pharmazie*. – 1998. – Vol. 53. – № 10. – P. 686-690.
6. Discovery of 2-Arylthiazolidine-4-carboxylic Acid Amides as a New Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer / V. Gududuru, E. Hurh, J. T. Dalton, D. D. Miller // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2005. – Vol. 48. – № 7. – P. 2584-2588.
7. Kachhadia, V. V. Heterocyclic systems containing S/N regioselective nucleophilic competition: Facile synthesis, antitubercular and antimicrobial activity of thiohydantoins and iminothiazolidinones containing the benzo / V. V. Kachhadia, M. R. Patel, H. S. Joshi // *Journal of the Serbian Chemical Society*. – 2005. – Vol. 70. – № 2. – P. 153-161.
8. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery / A. Ayati, S. Emami, A. Asadipour [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 97. – P. 699-718.
9. A Review on Recent Advances in Nitrogen-Containing Molecules and Their Biological Applications / N. Kerru, L. Gummidi, S. Maddila [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – № 8. – P. 1909.

10. Maria. Aromaticities of Five Membered Heterocycles through Dimethyldihydropyrenes Probe by Magnetic and Geometric Criteria / Maria, K. Ayub // *Journal of Chemistry*. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1-11.
11. Thiazoles, Their Benzofused Systems, and Thiazolidinone Derivatives: Versatile and Promising Tools to Combat Antibiotic Resistance / S. Cascioferro, B. Parrino, D. Carbone [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2020. – Vol. 63. – № 15. – P. 7923-7956.
12. Eicher, T. The Chemistry of Heterocycles: Structures, Reactions, Synthesis, and Applications / T. Eicher, S. Hauptmann, A. Speicher Google-Books-ID: bNpP5h7B5JcC. – John Wiley & Sons, 2013. – 659 p.
13. Quantum chemical studies on protonation of some substituted thiazole derivatives / T. Güray, E. Açikkalp, C. Öğretir, S. Yarlıgan // *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. – 2007. – Vol. 26. – № 1. – P. 154-165.
14. Fan, Z. THIAZOLE CORES AS ORGANIC FLUOROPHORE UNITS: SYNTHESIS AND FLUORESCENCE / Z. Fan // *Targets in Heterocyclic Systems*. – 2020. – Vol. 23. – P. 116.
15. Thiazole-based chemosensor II: synthesis and fluorescence sensing of fluoride ions based on inhibition of ESIPT / A. Helal, N. T. T. Thao, S. W. Lee, H.-S. Kim // *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. – 2010. – Vol. 66. – № 1. – P. 87-94.
16. Helal, A. Thiazole sulfonamide based ratiometric fluorescent chemosensor with a large spectral shift for zinc sensing / A. Helal, S. H. Kim, H.-S. Kim // *Tetrahedron*. – 2010. – Vol. 66. – № 52. – P. 9925-9932.
17. New regioisomeric naphthol-substituted thiazole based ratiometric fluorescence sensor for Zn²⁺ with a remarkable red shift in emission spectra / A. Helal, M. H. O. Rashid, C.-H. Choi, H.-S. Kim // *Tetrahedron*. – 2012. – Vol. 68. – № 2. – P. 647-653.
18. Cummings, C. G. Expedient route to functionalized and water soluble 5-6-5 imidazole-phenyl-thiazole based α -helix mimetics / C. G. Cummings, A. D. Hamilton // *Tetrahedron*. – 2013. – Vol. 69. – № 5. – P. 1663-1668.
19. A family of extended heterocyclic oligomers with thienylene/thiazolylene vinylene cores and triphenylamino/carbazolyl terminals / B. Xi, N. Wang, B.-B. Ma [et al.] // *Tetrahedron*. – 2015. – Vol. 71. – № 23. – P. 3966-3975.
20. Fluorescence spectroscopic studies on substituted porphyrins in homogeneous solvents and cationic micellar medium / S. Phukan, B. Mishra, K. P. Chandra Shekar [et al.] // *Journal of Luminescence*. – 2013. – Vol. 134. – P. 232-239.
21. Facile Synthesis, Characterization, and Fluorescence Studies of Novel Porphyrin Appended Thiazoles / B. Mishra, K. P. C. Shekar, A. Kumar [et al.] // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 2013. – Vol. 50. – № 1. – P. 125-128.

22. Fluorescent Sensing of both Fe(III) and pH Based on 4-Phenyl-2-(2-Pyridyl)Thiazole and Construction of OR Logic Function / M.-Y. Yang, X.-L. Zhao, M.-H. Zheng [et al.] // *Journal of Fluorescence*. – 2016. – Vol. 26. – № 5. – P. 1653-1657.
23. Studies on non-steroidal inhibitors of aromatase enzyme; 4-(aryl/heteroaryl)-2-(pyrimidin-2-yl)thiazole derivatives / Z. Sahin, M. Ertas, B. Berk [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2018. – Vol. 26. – № 8. – P. 1986-1995.
24. Ratiometrically Fluorescent Sensing of Zn(II) Based on Dual-Emission of 2-Pyridylthiazole Derivatives / M.-H. Zheng, X. Hu, M.-Y. Yang, J.-Y. Jin // *Journal of Fluorescence*. – 2015. – Vol. 25. – № 6. – P. 1831-1834.
25. Pyridine-substituted thiazolylphenol derivatives: Synthesis, modeling studies, aromatase inhibition, and antiproliferative activity evaluation / M. Ertas, Z. Sahin, B. Berk [et al.] // *Archiv der Pharmazie*. – 2018. – Vol. 351. – № 3-4. – P. 1700272.
26. Synthesis and reactions of thioamides of 5-amino-2-aryl-2H-1,2,3-triazole-4-carboxylic acid / N. P. Belskaya, S. G. Sapozhnikova, V. A. Bakulev [et al.] // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 2009. – Vol. 45. – № 7. – P. 844-852.
27. Demina, M. A. Synthesis of 1-azolylyctizines / M. A. Demina, N. P. Belskaia, V. A. Bakulev // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 2007. – Vol. 43. – № 5. – P. 671-672.
28. Paramonov, I. V. Reaction of (Arylhyaazono)cyanothioacetamides with Halo Ketones / I. V. Paramonov, N. P. Belskaia, V. A. Bakulev // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 2003. – Vol. 39. – № 10. – P. 1385-1395.
29. Belskaya, N. P. Synthesis and properties of hydrazones bearing amide, thioamide and amidine functions / N. P. Belskaya, W. Dehaen, V. A. Bakulev // *Arkivoc*. – 2010. – Vol. 2010. – № 1. – P. 275-332.
30. Synthesis of Thiazoles Bearing Aryl Enamine/Aza-enamine Side Chains: Effect of the π -Conjugated Spacer Structure and Hydrogen Bonding on Photophysical Properties / K. I. Lugovik, A. V. Popova, A. K. Eltyshev [et al.] // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2017. – Vol. 2017. – № 28. – P. 4175-4187.
31. Highlights on the Road towards Highly Emitting Solid-State Luminophores: Two Classes of Thiazole-Based Organoboron Fluorophores with the AIEE/AIE Effect / K. I. Lugovik, A. K. Eltyshev, P. O. Suntsova [et al.] // *Chemistry – An Asian Journal*. – 2018. – Vol. 13. – № 3. – P. 311-324.
32. Design and synthesis of disubstituted and trisubstituted thiazoles as multifunctional fluorophores with large Stokes shifts / P. O. Suntsova, A. K. Eltyshev, T. A. Pospelova [et al.] // *Dyes and Pigments*. – 2019. – Vol. 166. – P. 60-71.

33. Belskaya, N. P. Hydrazones as substrates for cycloaddition reactions / N. P. Belskaya, A. I. Eliseeva, V. A. Bakulev // *Russian Chemical Reviews*. – 2015. – Vol. 84. – № 12. – P. 1226.
34. Reactions of 5-mercaptoazoles and pyridine-2-thiones with acetylenic esters. Selectivity of the formation of novel fused thiazin-4-ones and thiazolidin-4-ones / V. A. Bakulev, V. S. Berseneva, N. P. Belskaia [et al.] // *Organic & Biomolecular Chemistry*. – 2003. – Vol. 1. – № 1. – P. 134-139.
35. 3-Aryl-2-(thiazol-2-yl)acrylonitriles assembled with aryl/hetaryl rings: Design of the optical properties and application prospects / A. K. Eltyshev, T. H. Dzhumaniyazov, P. O. Suntsova [et al.] // *Dyes and Pigments*. – 2021. – Vol. 184. – P. 108836.
36. Shinde, M. H. One pot synthesis of substituted imidazopyridines and thiazoles from styrenes in water assisted by NBS / M. H. Shinde, U. A. Kshirsagar // *Green Chemistry*. – 2016. – Vol. 18. – № 6. – P. 1455-1458.
37. Synthesis and Characterization of New 4-Hydroxy-1,3-thiazoles / E. Täuscher, D. Weiß, R. Beckert, H. Görls // *Synthesis*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1603-1608.
38. Bis(4-hydroxythiazoles): Novel Functional and Switchable Fluorophores / E. Täuscher, L. Calderón-Ortiz, D. Weiß [et al.] // *Synthesis*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 2334-2339.
39. Pushing to the low limits: tetraazaanthracenes with very low-lying LUMO levels and near-infrared absorption / D. M. Gampe, S. Schramm, F. Nöller [et al.] // *Chemical Communications*. – 2017. – Vol. 53. – № 73. – P. 10220-10223.
40. Solution-and solid-state emitters with large Stokes shifts combining pyrene and 4-hydroxythiazole fluorophores / A. Wrona-Piotrowicz, D. Plažuk, J. Zakrzewski [et al.] // *Dyes and Pigments*. – 2015. – Vol. 121. – P. 290-298.
41. Witalewska, M. N-ethoxycarbonylpyrene- and perylene thioamides as building blocks in the synthesis of efficient color-tunable 4-hydroxythiazole-based fluorophores / M. Witalewska, A. Wrona-Piotrowicz, J. Zakrzewski // *Dyes and Pigments*. – 2019. – Vol. 160. – P. 923-929.
42. Dual-signaling fluorescent chemosensor based on bisthiazole derivatives / A. Helal, S. H. Lee, S. H. Kim, H.-S. Kim // *Tetrahedron Letters*. – 2010. – Vol. 51. – № 27. – P. 3531-3535.
43. Synthesis, characterization and spectral properties of new, highly fluorescent, 4-hydroxythiazoles / R. Kammel, D. Tarabová, O. Machalický [et al.] // *Dyes and Pigments*. – 2016. – Vol. 128. – P. 101-110.
44. 'On-water' synthesis of novel trisubstituted 1,3-thiazoles via microwave-assisted catalyst-free domino reactions / S. Karamthulla, S. Pal, M. Nasim Khan, L. H. Choudhury // *RSC Advances*. – 2014. – Vol. 4. – № 71. – P. 37889-37899.

45. Gundala, T. R. Citric Acid-catalyzed Synthesis of 2,4-Disubstituted Thiazoles from Ketones via C–Br, C–S, and C–N Bond Formations in One Pot: A Green Approach / T. R. Gundala, K. Godugu, C. G. R. Nallagonda // *Journal of the Chinese Chemical Society*. – 2017. – Vol. 64. – № 12. – P. 1408-1416.
46. 2-Amino-4-aryl thiazole: a promising scaffold identified as a potent 5-LOX inhibitor / S. Sinha, T. V. Sravanthi, S. Yuvaraj [et al.] // *RSC Advances*. – 2016. – Vol. 6. – № 23. – P. 19271-19279.
47. B. Thale, P. A ‘turn on’ fluorescent and chromogenic chemosensor for fluoride anion: experimental and DFT studies / P. B. Thale, P. N. Borase, G. S. Shankarling // *Inorganic Chemistry Frontiers*. – 2016. – Vol. 3. – № 7. – P. 977-984.
48. A pyrene thiazole conjugate as a ratiometric chemosensor with high selectivity and sensitivity for tin (Sn⁴⁺) and its application in imaging live cells / A. K. Mahapatra, S. Mondal, K. Maiti [et al.] // *RSC Advances*. – 2014. – Vol. 4. – № 100. – P. 56605-56614.
49. Tayade, R. P. Benzimidazole-thiazole based NLOphoric styryl dyes with solid state emission – Synthesis, photophysical, hyperpolarizability and TD-DFT studies / R. P. Tayade, N. Sekar // *Dyes and Pigments*. – 2016. – Vol. 128. – P. 111-123.
50. Tayade, R. P. Synthesis of Novel Thiazole Based Carbaldehyde as Potential Sensor for Fluoride Anion and their Spectroscopic Properties / R. P. Tayade, N. Sekar // *Journal of Fluorescence*. – 2017. – Vol. 27. – № 3. – P. 1117-1128.
51. Tayade, R. P. Novel Thiazole Based Styryl Dyes with Benzimidazole Unit - Synthesis, Photophysical and TD-DFT Studies / R. P. Tayade, N. Sekar // *Journal of Fluorescence*. – 2017. – Vol. 27. – № 1. – P. 167-180.
52. Radhakrishnan, R. Fluorophores based on a minimal thienylthiazole core: towards multifunctional materials with solid state red emissions, solvatochromism and AIE behaviour / R. Radhakrishnan, K. G. Sreejalekshmi // *RSC Advances*. – 2016. – Vol. 6. – № 39. – P. 32705-32709.
53. Radhakrishnan, R. Expanding the donor–acceptor toolbox with a minimal 5-(thiophen-2-yl)-1,3-thiazole core: transition metal-free synthesis and molecular design for HOMO–LUMO energy modulations / R. Radhakrishnan, K. G. Sreejalekshmi // *New Journal of Chemistry*. – 2016. – Vol. 40. – № 4. – P. 3036-3039.
54. Radhakrishnan, R. Computational Design, Synthesis, and Structure Property Evaluation of 1,3-Thiazole-Based Color-Tunable Multi-heterocyclic Small Organic Fluorophores as Multifunctional Molecular Materials / R. Radhakrishnan, K. G. Sreejalekshmi // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2018. – Vol. 83. – № 7. – P. 3453-3466.

55. 5-N-Arylaminothiazoles as Highly Twisted Fluorescent Monocyclic Heterocycles: Synthesis and Characterization / K. Yamaguchi, T. Murai, S. Hasegawa [et al.] // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2015. – Vol. 80. – № 21. – P. 10742-10756.
56. Microwave-Assisted One-Pot Telescoped Synthesis of 2-Amino-1,3-thiazoles, Selenazoles, Imidazo[1,2-a]pyridines, and Other Heterocycles from Alcohols / P. Macías-Benítez, A. Sierra-Padilla, F. M. Guerra, F. J. Moreno-Dorado // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2024. – Vol. 89. – № 7. – P. 4628-4646.
57. Soeta, T. [4+1] Cycloaddition of N-acylimine derivatives with isocyanides: efficient synthesis of 5-aminooxazoles and 5-aminothiazoles / T. Soeta, K. Tamura, Y. Ukaji // *Tetrahedron*. – 2014. – Vol. 70. – № 18. – P. 3005-3010.
58. Prager, R. H. The chemistry of 5-oxodihydroisoxazoles. Part 19. 1 The synthesis and photolysis of N-thioacylisoxazol-5(2H)-ones / R. H. Prager, M. R. Taylor, C. M. Williams // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. – 1997. – Vol. 0. – № 17. – P. 2673-2678.
59. An Efficient Synthetic Access to Substituted Thiazolyl-pyrazolyl-chromene-2-ones from Dehydroacetic Acid and Coumarin Derivatives by a Multicomponent Approach / S. Ben Mohamed, Y. Rachedi, M. Hamdi [et al.] // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2016. – Vol. 2016. – № 15. – P. 2628-2636.
60. Synthesis, spectroscopic, thermal and electrochemical studies on thiazolyl azo based disperse dyes bearing coumarin / M. Özkütük, E. İpek, B. Aydinler [et al.] // *Journal of Molecular Structure*. – 2016. – Vol. 1108. – P. 521-532.
61. Coumarin-thiazole and -oxadiazole derivatives: Synthesis, bioactivity and docking studies for aldose/aldehyde reductase inhibitors / A. Ibrar, Y. Tehseen, I. Khan [et al.] // *Bioorganic Chemistry*. – 2016. – Vol. 68. – P. 177-186.
62. From Liquid to Solid-State Fluorescence: Tricyclic Lactones Based on 4-Hydroxy-1,3-thiazoles / L. K. C. Ortiz, H. Würfel, E. Täuscher [et al.] // *Synthesis*. – 2013. – Vol. 46. – P. 126-134.
63. Thiazolothiazole based donor- π -acceptor fluorophore: Protonation/deprotonation triggered molecular switch, sensing and bio-imaging applications / V. Kumar, S. Sony, N. Kaur [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2022. – Vol. 1206. – P. 339776.
64. Chemistry and Biology of Diazonamide A: Second Total Synthesis and Biological Investigations / K. C. Nicolaou, J. Hao, M. V. Reddy [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2004. – Vol. 126. – № 40. – P. 12897-12906.

65. Multicomponent Synthesis of Fluorescent Thiazole–Indole Hybrids and Thiazole-Based Novel Polymers / P. Bhaumick, R. Kumar, S. S. Acharya [et al.] // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2022. – Vol. 87. – № 17. – P. 11399-11413.
66. Chemical approaches for mimicking logic functions within fluorescent MPT dyes / C. Xu, W. Sun, C. Zhang [et al.] // *Science in China Series B: Chemistry*. – 2009. – Vol. 52. – № 6. – P. 700-714.
67. Thiazole-based metallophosphors of iridium with balanced carrier injection/transporting features and their two-colour WOLEDs fabricated by both vacuum deposition and solution processing-vacuum deposition hybrid strategy / X. Yang, Y. Zhao, X. Zhang [et al.] // *Journal of Materials Chemistry*. – 2012. – Vol. 22. – № 15. – P. 7136-7148.
68. Li, X. Photochromism and Optical Recording of a Novel Diarylethene Bearing Phenanthrene Unit / X. Li, C. B. Fan, G. Liu // *Advanced Materials Research*. – 2013. – Vol. 763. – P. 79-83.
69. Programmed synthesis of arylthiazoles through sequential C–H couplings / S. Tani, T. N. Uehara, J. Yamaguchi, K. Itami // *Chemical Science*. – 2014. – Vol. 5. – № 1. – P. 123-135.
70. Synthesis and Photophysical Properties of 5-N-Arylamino-4-methylthiazoles Obtained from Direct C–H Arylations and Buchwald–Hartwig Aminations of 4-Methylthiazole / T. Murai, K. Yamaguchi, T. Hayano [et al.] // *Organometallics*. – 2017. – Vol. 36. – № 14. – P. 2552-2558.
71. Dual Photochemical Bond Cleavage for a Diarylethene-Based Phototrigger Containing both Methanolic and Acetic Sources / O. Galangau, S. Delbaere, N. Ratel-Ramond [et al.] // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2016. – Vol. 81. – № 22. – P. 11282-11290.
72. Application of an A–A'–A-Containing Acceptor Polymer in Sequentially Deposited All-Polymer Solar Cells / Y. Fang, H. Jin, A. Raynor [et al.] // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2018. – Vol. 10. – № 28. – P. 24046-24054.
73. Asymmetrical/Symmetrical D– π -A/D– π -D Thiazole-Containing Aromatic Heterocyclic Fluorescent Compounds Having the Same Triphenylamino Chromophores / T. Tao, B.-B. Ma, Y.-X. Peng [et al.] // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2013. – Vol. 78. – № 17. – P. 8669-8679.
74. Liao, G. M. Synthesis and Properties of 1-(2,4-Dimethyl-5-thiazolyl)-2-(2-methyl-5-(2-methyl)-3-thienyl)perfluorocyclopentene / G. M. Liao, C. H. Zheng, S. Z. Pu // *Advanced Materials Research*. – 2014. – Vol. 952. – P. 71-74.
75. Thiazole-based scaffolding for high performance solar cells / I. Bulut, P. Chávez, A. Mirloup [et al.] // *Journal of Materials Chemistry C*. – 2016. – Vol. 4. – № 19. – P. 4296-4303.

76. Perfluoroalkyl-Functionalized Thiazole–Thiophene Oligomers as N-Channel Semiconductors in Organic Field-Effect and Light-Emitting Transistors / H. Usta, W. C. Sheets, M. Denti [et al.] // *Chemistry of Materials*. – 2014. – Vol. 26. – № 22. – P. 6542-6556.
77. A new face of phenalenyl-based radicals in the transition metal-free C–H arylation of heteroarenes at room temperature: trapping the radical initiator via C–C σ -bond formation / J. Ahmed, S. P. G. Vijaykumar [et al.] // *Chemical Science*. – 2017. – Vol. 8. – № 11. – P. 7798-7806.
78. Novel luminescence dyes and ligands based on 4-hydroxythiazole / K. Stippich, D. Weiss, A. Guether [et al.] // *Journal of Sulfur Chemistry*. – 2009. – Vol. 30. – № 2. – P. 109-118.
79. π -Extension of a 4-ethoxy-1,3-thiazole via aryl alkyne cross coupling: synthesis and exploration of the electronic structure / S. H. Habenicht, S. Schramm, M. Zhu [et al.] // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2015. – Vol. 14. – № 11. – P. 2097-2107.
80. Hydroxythiazole-Based Fluorescent Probes for Fluoride Ion Detection / L. K. Calderón-Ortiz, E. Täuscher, E. Leite Bastos [et al.] // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2012. – Vol. 2012. – № 13. – P. 2535-2541.
81. Highly fluorescent single crystals of a 4-ethoxy-1,3-thiazole / S. H. Habenicht, S. Kupfer, J. Nowotny [et al.] // *Dyes and Pigments*. – 2018. – Vol. 149. – P. 644-651.
82. Tuning the polarity and surface activity of hydroxythiazoles – extending the applicability of highly fluorescent self-assembling chromophores to supra-molecular photonic structures / S. H. Habenicht, S. Schramm, S. Fischer [et al.] // *Journal of Materials Chemistry C*. – 2016. – Vol. 4. – № 5. – P. 958-971.
83. And yet they glow: thiazole based push–pull fluorophores containing nitro groups and the influence of regioisomerism / S. H. Habenicht, M. Siegmann, S. Kupfer [et al.] // *Methods and Applications in Fluorescence*. – 2015. – Vol. 3. – № 2. – P. 025005.
84. The Combination of 4-Hydroxythiazoles with Azaheterocycles: Efficient Bidentate Ligands for Novel Ruthenium Complexes / R. Menzel, E. Täuscher, D. Weiß [et al.] // *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. – 2010. – Vol. 636. – № 7. – P. 1380-1385.
85. A small azide-modified thiazole-based reporter molecule for fluorescence and mass spectrometric detection / S. Wolfram, H. Würfel, S. H. Habenicht [et al.] // *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. – 2014. – Vol. 10. – № 1. – P. 2470-2479.
86. 3-(4-hydroxyphenyl)-2-(thiazol-2-yl)acrylonitriles: Synthesis, chemical and photophysical properties / E. B. Pshigonova, P. O. Suntsova, A. A. Gagarin [et al.] // *AIP Conference Proceedings*. – 2022. – Vol. 2390. – № 1. – P. 020062.

87. Jäger, J. Synthesis, Properties, and Solar Cell Performance of Poly(4-(p-alkoxystyryl)thiazole)s / J. Jäger, S. Schraff, F. Pammer // *Macromolecular Chemistry and Physics*. – 2018. – Vol. 219. – № 6. – P. 1700496.
88. Coumarin-thiazole and -oxadiazole derivatives: Synthesis, bioactivity and docking studies for aldose/aldehyde reductase inhibitors / A. Ibrar, Y. Tehseen, I. Khan [et al.] // *Bioorganic Chemistry*. – 2016. – Vol. 68. – P. 177-186.
89. Shreykar, M. R. Resonance induced proton transfer leading to NIR emission in coumarin thiazole hybrid dyes: Synthesis and DFT insights / M. R. Shreykar, N. Sekar // *Tetrahedron Letters*. – 2016. – Vol. 57. – № 37. – P. 4174-4177.
90. Sekar, N. Fluorescent Styryl Dyes from 4-Chloro-2-(Diphenylamino)-1, 3-Thiazole-5-Carbaldehyde—Synthesis, Optical Properties and TDDFT Computations / N. Sekar, P. G. Umape, S. R. Patil // *Journal of Fluorescence*. – 2015. – Vol. 25. – № 6. – P. 1787-1800.
91. Mahesh, K. Synthesis and Optoelectronic Properties of Thiophene Donor and Thiazole Acceptor Based Blue Fluorescent Conjugated Oligomers / K. Mahesh, S. Karpagam // *Journal of Fluorescence*. – 2016. – Vol. 26. – № 4. – P. 1457-1466.
92. Rajeshirke, M. Nonlinear Optical Chromophores with Aggregation Induced Emission Enhancement Based on 2-N,N-Dibutylamino-4-Phenyl Thiazole with FMR Characteristics / M. Rajeshirke, D. Shah, N. Sekar // *Journal of Fluorescence*. – 2019. – Vol. 29. – № 1. – P. 61-73.
93. A highly selective and sensitive chemosensor derived coumarin–thiazole for colorimetric and fluorimetric detection of CN⁻ ion in DMSO and aqueous solution: synthesis, sensing ability, Pd(II)/Pt(II) complexes and theoretical studies / Ö. Şahin, Ü. Ö. Özdemir, N. Seferoğlu [et al.] // *Tetrahedron*. – 2016. – Vol. 72. – № 39. – P. 5843-5852.
94. Synthesis, spectroscopic, thermal and electrochemical studies on thiazolyl azo based disperse dyes bearing coumarin / M. Özkütük, E. İpek, B. Aydiner [et al.] // *Journal of Molecular Structure*. – 2016. – Vol. 1108. – P. 521-532.
95. 4-Thiazolidinones: The advances continue... / A. C. Tripathi, S. J. Gupta, G. N. Fatima [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2014. – Vol. 72. – P. 52-77.
96. Progress in the chemistry of 4- thiazolidinones / W. S. Hamama, M. A. Ismail, S. Shaaban, H. H. Zoorob // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 2008. – Vol. 45. – № 4. – P. 939-956.
97. Gupta, R. Recent Advances in Chemistry of Condensed 4-Thiazolidinones / R. Gupta // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 2016. – Vol. 53. – № 6. – P. 1687-1696.
98. Synthesis of new 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agents / A. Rao, J. Balzarini, A. Carbone [et al.] // *Il Farmaco*. – 2004. – Vol. 59. – № 1. – P. 33-39.

99. Discovery of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as potent anti-HIV-1 agents / M. L. Barreca, A. Chimirri, L. De Luca [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2001. – Vol. 11. – № 13. – P. 1793-1796.
100. Synthesis and evaluation of antitubercular activity of imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole derivatives / G. Kolavi, V. Hegde, I. ahmed Khazi, P. Gadad // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 14. – № 9. – P. 3069-3080.
101. Pawełczyk, A. Microwave assisted synthesis of fragrant jasmone heterocyclic analogues / A. Pawełczyk, L. Zaprutko // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 41. – № 5. – P. 586-591.
102. Raslan, M. A. Heterocyclic synthesis containing bridgehead nitrogen atom: Synthesis of 3-[(2 H)-2-oxobenzo[b]pyran-3-yl]- s -triazolo[3,4- b]-1,3,4-thiadiazine and thiazole derivatives / M. A. Raslan, M. A. Khalil // *Heteroatom Chemistry*. – 2003. – Vol. 14. – № 2. – P. 114-120.
103. Synthesis and structure–activity relationships of 2-(substituted phenyl)-3-[3-(N,N-dimethylamino)propyl]-1,3-thiazolidin-4-ones acting as H1-histamine antagonists / M. V. Diurno, O. Mazzoni, G. Correale [et al.] // *Il Farmaco*. – 1999. – Vol. 54. – № 9. – P. 579-583.
104. Synthesis and anticonvulsant activity of some potential thiazolidinonyl 2-oxo/thiobarbituric acids / A. Agarwal, S. Lata, K. K. Saxena [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 41. – № 10. – P. 1223-1229.
105. Bifunctional Derivative of p,p'-Dichlorochalcone. Part II. Synthesis of a Novel Compound 2-[2-Carboxymethylthio-2-(4-chlorophenyl)ethyl]-2-(4-chlorophenyl)-4-thiazolidinone / S. Mukhtar, M. V. P. Rahman, W. H. Ansari [et al.] // *Molecules*. – 1999. – Vol. 4. – № 7. – P. 232-237.
106. Synthesis of novel thiazolidin-4-ones by reaction of malonothioamide derivatives with dimethyl acetylenedicarboxylate / V. S. Berseneva, A. V. Tkachev, Y. Y. Morzherin [et al.] // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. – 1998. – Vol. 0. – № 14. – P. 2133-2136.
107. Blanchet, J. Reeve's synthesis of 2-imino-4-thiazolidinone from alkyl (aryl) trichloromethylcarbinol revisited, a three-component process from aldehyde, chloroform and thiourea / J. Blanchet, J. Zhu // *Tetrahedron Letters*. – 2004. – Vol. 45. – № 23. – P. 4449-4452.
108. Regioselective synthesis of 3-(heteroaryl)-iminothiazolidin-4-ones / D. R. St. Laurent, Q. Gao, D. Wu, M. H. Serrano-Wu // *Tetrahedron Letters*. – 2004. – Vol. 45. – № 9. – P. 1907-1910.

109. One-pot synthesis of polyfunctionally substituted 2,3-dihydrothiazoles and thiazolidinones / R. M. Mohareb, S. M. Sherif, F. A. M. Abdel-Aal, N. I. A. Sayed // *Liebigs Annalen der Chemie*. – 1990. – Vol. 1990. – № 11. – P. 1143-1146.
110. Condensation of 5,7-dimethyl-4a,7a-diphenyl-3-thioxoperhydroimidazo[4,5-e]-1,2,4-triazin-6-one with halogenoacetic acids / S. V. Vasilevskii, P. A. Belyakov, G. A. Gazieva [et al.] // *Mendeleev Communications*. – 2010. – Vol. 20. – № 1. – P. 47-49.
111. Thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-one substituted with ibuprofen: Novel non-steroidal anti-inflammatory agents with favorable gastrointestinal tolerance / A. Uzgören-Baran, B. C. Tel, D. Sarıgöl [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2012. – Vol. 57. – P. 398-406.
112. Studies on Thiazolopyridines. Part 1: Antimicrobial Activity of Some Novel Fluorinated Thiazolo[3,2-a]Pyridines and Thiazolo[2',3':1,6]Pyrido[2,3-d]Pyrimidines / A. A. El-Maghraby, G. A. M. E.-H. Ali, A. H. A. Ahmed, M. S. A. El-Gaby // *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*. – 2002. – Vol. 177. – № 2. – P. 293-302.
113. Green chemoselective synthesis of thiazolo[3,2-a]pyridine derivatives and evaluation of their antioxidant and cytotoxic activities / F. Shi, C. Li, M. Xia [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2009. – Vol. 19. – № 19. – P. 5565-5568.
114. Dual behavior of monothiocarbohydrazones in the cyclization with diethyl acetylene dicarboxylate (DEAD): synthesis of substituted 1,3-thiazolidin-4-ones / H. I. Tashtoush, F. Abusahyon, M. Shkoor, M. Al-Talib // *Journal of Sulfur Chemistry*. – 2011. – Vol. 32. – № 5. – P. 405-412.
115. Classical heterocycles with surprising properties: the 4-hydroxy-1,3-thiazoles / E. Täuscher, D. Weiß, R. Beckert [et al.] // *Tetrahedron Letters*. – 2011. – Vol. 52. – № 18. – P. 2292-2294.
116. Structure-fluorescence relationships in 2-aryl-5-(2'-aminophenyl)-4-hydroxy-1,3-thiazoles / R. Kammel, D. Tarabová, J. Váňa [et al.] // *Journal of Molecular Structure*. – 2019. – Vol. 1175. – P. 804-810.
117. Geng, W. W. Synthesis New Photochromic Diarylethenes 1-(2,5-dimethyl thiazole)-2-[4-(2-cyanophenyl)-3-thienyl]} Perfluorocyclopentene / W. W. Geng, S. Q. Cui, S. Z. Pu // *Advanced Materials Research*. – 2013. – Vol. 763. – P. 57-60.
118. Small Molecules as Long-Wavelength Fluorophores: Push-Pull Substituted 4-Alkoxy-1,3-thiazoles / S. H. Habenicht, P. Rohland, J. Reichel [et al.] // *Synthesis*. – 2017. – Vol. 50. – P. 303-313.

119. Valeur, B. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications* / B. Valeur, M. N. Berberan-Santos Google-Books-ID: TcNu1BYLUyEC. – John Wiley & Sons, 2013. – 595 p.
120. A thiazole-based colorimetric and photoluminescent chemosensors for As³⁺ ions detection: Density functional theory, test strips, real samples, and bioimaging applications / K. Dhanasekaran, R. Tamizhselvi, S. Mohandoss [et al.] // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2024. – Vol. 316. – P. 124325.
121. A new fluorescent probe with large Stokes shift for selective and sensitive detection of arginine / X. Wang, J. Yu, Y. Shi [et al.] // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. – 2025. – Vol. 458. – P. 115942.
122. War, J. A. Synthesis and DNA-binding study of imidazole linked thiazolidinone derivatives / J. A. War, S. K. Srivastava, S. D. Srivastava // *Luminescence*. – 2017. – Vol. 32. – № 1. – P. 104-113.
123. A p -Hydroxyphenacyl–Benzothiazole–Chlorambucil Conjugate as a Real-Time-Monitoring Drug-Delivery System Assisted by Excited-State Intramolecular Proton Transfer / S. Barman, S. K. Mukhopadhyay, S. Biswas [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2016. – Vol. 55. – № 13. – P. 4194-4198.
124. Milne, G. W. A. *Ashgate Handbook of Antineoplastic Agents* / G. W. A. Milne. – London : Routledge, 2017. – 190 p.
125. Thiazole: A Review on Chemistry, Synthesis and Therapeutic Importance of its Derivatives / M. T. Chhabria, S. Patel, P. Modi, P. S. Brahmkshatriya // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. – 2016. – Vol. 16. – № 26. – P. 2841-2862.
126. Duc, D. X. Recent Development in the Synthesis of Thiazoles / D. X. Duc, N. T. Chung // *Current Organic Synthesis*. – 2022. – Vol. 19. – № 6. – P. 702-730.
127. 2,4-Disubstituted thiazoles as multitargeted bioactive molecules / P. Arora, R. Narang, S. K. Nayak [et al.] // *Medicinal Chemistry Research*. – 2016. – Vol. 25. – № 9. – P. 1717-1743.
128. Synthesis and evaluation of bis-thiazole derivatives as new anticancer agents / G. Turan-Zitouni, M. D. Altintop, A. Özdemir [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2016. – Vol. 107. – P. 288-294.
129. 1-[(2-Arylthiazol-4-yl)methyl]azoles as a New Class of Anticonvulsants: Design, Synthesis, In vivo Screening, and In silico Drug-like Properties / N. Ahangar, A. Ayati, E. Alipour [et al.] // *Chemical Biology & Drug Design*. – 2011. – Vol. 78. – № 5. – P. 844-852.
130. Synthetic strategies and medicinal perspectives of 4-thiazolidinones: Recent developments and structure–activity relationship studies / P. A. Chawla, S. K. Wahan, M. Negi [et al.]. – Vol. 60. – № 8. – P. 1248-1286.

131. Design, synthesis and biological screening of new 4-thiazolidinone derivatives with promising COX-2 selectivity, anti-inflammatory activity and gastric safety profile / K. R. A. Abdellatif, M. A. Abdelgawad, H. A. H. Elshemy, S. S. R. Alsayed // *Bioorganic Chemistry*. – 2016. – Vol. 64. – P. 1-12.
132. Palekar, V. S. Synthesis and antibacterial activity of some novel bis-1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazoles and bis-4-thiazolidinone derivatives from terephthalic dihydrazide / V. S. Palekar, A. J. Damle, S. R. Shukla // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2009. – Vol. 44. – № 12. – P. 5112-5116.
133. Synthesis, stereochemistry and biological activity of some novel long alkyl chain substituted thiazolidin-4-ones and thiazan-4-one from 10-undecenoic acid hydrazide / V. P. M. Rahman, S. Mukhtar, W. H. Ansari, G. Lemiere // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2005. – Vol. 40. – № 2. – P. 173-184.
134. Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-thiazolidinones containing indolin-2-one moiety as potential antitumor agent / S. Wang, Y. Zhao, G. Zhang [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2011. – Vol. 46. – № 8. – P. 3509-3518.
135. Reaction of 3-aryl-2-cyanothioacrylamides with dimethyl acetylenedicarboxylate, methyl propiolate, and N-phenylmaleimide / T. G. Deryabina, M. A. Demina, N. P. Belskaya, V. A. Bakulev // *Russian Chemical Bulletin*. – 2005. – Vol. 54. – № 12. – P. 2880-2889.
136. Influence of solvent and substituents on the reaction of N-alkylthioacetamides with dimethyl acetylenedicarboxylate: synthesis of functionalized thiophenes containing an exocyclic double bond / K. L. Obydenov, E. L. Klimareva, M. F. Kosterina [et al.] // *Tetrahedron Letters*. – 2013. – Vol. 54. – № 36. – P. 4876-4879.
137. Generation and cycloadditions of 2-(N-Acylamino)-1-thia-1,3-dienes. Part II. Rationalization of reactivity using an FMO approach. / I. T. Barnish, C. W. G. Fishwick, D. R. Hill, C. Szanta // *Tetrahedron*. – 1989. – Vol. 45. – № 24. – P. 7879-7898.
138. Bell, A. S. Generation and cycloadditions of 2-(N-acylamino)-1-thia-1,3-dienes part III: Control of diastereoselectivity using homochiral auxiliaries / A. S. Bell, C. W. G. Fishwick, J. E. Reed // *Tetrahedron*. – 1998. – Vol. 54. – № 13. – P. 3219-3234.
139. Bloxham, J. Reaction of 3-aryl-2-cyanothioacrylamides with electron-deficient alkynes: synthesis of 4-aryl-4 H -thiopyrans / J. Bloxham, C. P. Dell // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. – 1994. – Vol. 0. – № 8. – P. 989-993.
140. Ho, Y. W. Studies on the synthesis of some styryl-3-cyano-2(1 H)-pyridinethiones and polyfunctionally substituted 3-aminothieno[2,3- b]-pyridine derivatives / Y. W. Ho, I. J. Wang // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 1995. – Vol. 32. – № 3. – P. 819-825.

141. Two Approaches for the Synthesis of Fused Dihydropyridines via a 1,6-Electrocyclic Reaction: Fluorescent Properties and Prospects for Application / A. A. Gagarin, P. O. Suntsova, A. S. Minin [et al.] // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2020. – Vol. 85. – № 21. – P. 13837-13852.
142. Revealing Noncovalent Interactions / E. R. Johnson, S. Keinan, P. Mori-Sánchez [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2010. – Vol. 132. – № 18. – P. 6498-6506.
143. Interpretation of the reduced density gradient / R. A. Boto, J. Contreras-García, J. Tierny, J.-P. Piquemal // *Molecular Physics*. – 2016. – Vol. 114. – № 7-8. – P. 1406-1414.
144. Ozawa, T. *Advances in Fluorescence and Bioluminescence Imaging* / T. Ozawa, H. Yoshimura, S. B. Kim // *Analytical Chemistry*. – 2013. – Vol. 85. – № 2. – P. 590-609.
145. Carter, K. P. *Fluorescent Sensors for Measuring Metal Ions in Living Systems* / K. P. Carter, A. M. Young, A. E. Palmer // *Chemical Reviews*. – 2014. – Vol. 114. – № 8. – P. 4564-4601.
146. Photocaging of Carboxylic Function Bearing Biomolecules by New Thiazole Derived Fluorophore / A. A. Gagarin, A. S. Minin, V. A. Shevyrin [et al.] // *Chemistry – A European Journal*. – 2023. – Vol. 29. – № 59. – P. e202302079.
147. Photocaging of amino acids and short peptides by arylidenethiazoles: mechanism, photochemical characteristics and biological behaviour / A. A. Gagarin, A. S. Minin, V. A. Shevyrin [et al.] // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2024. – Vol. 12. – № 44. – P. 11402-11413.
148. Lead optimization of cathepsin K inhibitors for the treatment of Osteoarthritis / A. T. Ginnetti, D. V. Paone, K. K. Nanda [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2022. – Vol. 74. – P. 128927.
149. Structure-kinetics relationships of Capadenoson derivatives as adenosine A1 receptor agonists / J. Louvel, D. Guo, M. Soethoudt [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 101. – P. 681-691.
150. Coplanar Bithiazole-Centered Heterocyclic Aromatic Fluorescent Compounds Having Different Donor/Acceptor Terminal Groups / T. Tao, Y.-X. Peng, W. Huang, X.-Z. You // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2013. – Vol. 78. – № 6. – P. 2472-2481.
151. Thiazolides as Novel Antiviral Agents. 2. Inhibition of Hepatitis C Virus Replication / A. V. Stachulski, C. Pidathala, E. C. Row [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2011. – Vol. 54. – № 24. – P. 8670-8680.
152. Design, synthesis, and pharmacological evaluation of 4-azoyl-benzamide derivatives as novel GPR52 agonists / K. Tokumaru, Y. Ito, I. Nomura [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2017. – Vol. 25. – № 12. – P. 3098-3115.

153. Optimization of Diarylthiazole B-Raf Inhibitors: Identification of a Compound Endowed with High Oral Antitumor Activity, Mitigated hERG Inhibition, and Low Paradoxical Effect / M. Pulici, G. Traquandi, C. Marchionni [et al.] // *ChemMedChem*. – 2015. – Vol. 10. – № 2. – P. 276-295.
154. A Systematic Study of Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reactions on Thiazoleboronic Esters in the 4- and 5-Position / M. Schnürch, J. Hämmerle, M. D. Mihovilovic, P. Stanetty // *Synthesis*. – 2009. – Vol. 2010. – P. 837-843.
155. Lide, D. R. *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 85th Edition* / D. R. Lide Google-Books-ID: WD1l8hA006AC. – CRC Press, 2004. – 2900 p.
156. Visible-to-NIR-Light Activated Release: From Small Molecules to Nanomaterials / R. Weinstain, T. Slanina, D. Kand, P. Klán // *Chemical Reviews*. – 2020. – Vol. 120. – № 24. – P. 13135-13272.
157. BODIPY-based photocages: rational design and their biomedical application / H. Li, J. Wang, L. Jiao, E. Hao // *Chemical Communications*. – 2024. – Vol. 60. – № 45. – P. 5770-5789.
158. Squaric Acid-Coumarin-Chlorambucil: Photoresponsive Single-Component Fluorescent Organic Nanoconjugates for Self-Monitored Therapeutics / A. Chaudhuri, Y. Venkatesh, J. Das [et al.] // *ACS Applied Nano Materials*. – 2018. – Vol. 1. – № 11. – P. 6312-6319.
159. Single-Component Fluorescent Organic Nanoparticles with Four-Armed Phototriggers for Chemo-Photodynamic Therapy and Cellular Imaging / C. Parthiban, P. M., L. Vinod Kumar Reddy [et al.] // *ACS Applied Nano Materials*. – 2019. – Vol. 2. – № 6. – P. 3728-3734.
160. Photocleavage of Peptides and Oligodeoxynucleotides Carrying 2-Nitrobenzyl Groups / R. Ramos, B. Manning, A. Aviñó [et al.] // *Helvetica Chimica Acta*. – 2009. – Vol. 92. – № 4. – P. 613-622.
161. o -Nitrobenzyl Photolabile Protecting Groups with Red-Shifted Absorption: Syntheses and Uncaging Cross-Sections for One- and Two-Photon Excitation / I. Aujard, C. Benbrahim, M. Gouget [et al.] // *Chemistry – A European Journal*. – 2006. – Vol. 12. – № 26. – P. 6865-6879.
162. Computational Design, Synthesis, and Photochemistry of Cy7-PPG, an Efficient NIR-Activated Photolabile Protecting Group for Therapeutic Applications / G. Alachouzos, A. M. Schulte, A. Mondal [et al.] // *Angewandte Chemie*. – 2022. – Vol. 134. – № 27. – P. e202201308.
163. Deactivation Behavior and Excited-State Properties of (Coumarin-4-yl)methyl Derivatives. 2. Photocleavage of Selected (Coumarin-4-yl)methyl-Caged Adenosine Cyclic 3',5'-

- Monophosphates with Fluorescence Enhancement / T. Eckardt, V. Hagen, B. Schade [et al.] // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2002. – Vol. 67. – № 3. – P. 703-710.
164. A Protecting Group for Carboxylic Acids That Can Be Photolyzed by Visible Light / V. R. Shembekar, Y. Chen, B. K. Carpenter, G. P. Hess // *Biochemistry*. – 2005. – Vol. 44. – № 19. – P. 7107-7114.
165. 1-Acetylpyrene with dual functions as an environment-sensitive fluorophore and fluorescent photoremovable protecting group / A. Jana, S. Atta, S. K. Sarkar, N. D. P. Singh // *Tetrahedron*. – 2010. – Vol. 66. – № 52. – P. 9798-9807.
166. Ekinçi, D. Salicylic acid derivatives: synthesis, features and usage as therapeutic tools / D. Ekinçi, M. Şentürk, Ö. İ. Küfrevioğlu // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. – 2011. – Vol. 21. – № 12. – P. 1831-1841.
167. A Novel Prodrug of Salicylic Acid, Salicylic Acid-Glutamic Acid Conjugate Utilizing Hydrolysis in Rabbit Intestinal Microorganisms / J. Nakamura, K. Asai, K. Nishida, H. Sasaki // *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. – 1992. – Vol. 40. – № 8. – P. 2164-2168.
168. Physicochemical and pharmacokinetic parameters of seven lipophilic chlorambucil esters designed for brain penetration / N. H. Greig, S. Genka, E. M. Daly [et al.] // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 1990. – Vol. 25. – № 5. – P. 311-319.
169. Development of lipophilic anticancer agents for the treatment of brain tumors by the esterification of water-soluble chlorambucil / S. Genka, J. Deutsch, U. H. Shetty [et al.] // *Clinical & Experimental Metastasis*. – 1993. – Vol. 11. – № 2. – P. 131-140.
170. SAR study of tyrosine–chlorambucil hybrid regioisomers; synthesis and biological evaluation against breast cancer cell lines / C. Descôteaux, K. Brasseur, V. Leblanc [et al.] // *Amino Acids*. – 2012. – Vol. 43. – № 2. – P. 923-935.
171. Discovery and Development of Caffeic Acid Analogs as Versatile Therapeutic Agents / Y. Mou, S. Wen, H.-K. Sha [et al.] // *Pharmaceuticals*. – 2024. – Vol. 17. – № 10. – P. 1403.
172. Mitochondria-targeted aggregation induced emission theranostics: crucial importance of in situ activation / W. Sup Shin, M.-G. Lee, P. Verwilt [et al.] // *Chemical Science*. – 2016. – Vol. 7. – № 9. – P. 6050-6059.
173. MMP-Responsive ‘Smart’ Drug Delivery and Tumor Targeting / Q. Yao, L. Kou, Y. Tu, L. Zhu // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2018. – Vol. 39. – № 8. – P. 766-781.
174. Development and evaluation of β -galactosidase-sensitive antibody-drug conjugates : Current advances in cancer research: Therapeutics, Targets, and Chemical Biology / S. Kolodych, C. Michel, S. Delacroix [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2017. – Vol. 142. – P. 376-382.

175. Enzyme responsive drug delivery systems in cancer treatment / M. Shahriari, M. Zahiri, K. Abnous [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2019. – Vol. 308. – P. 172-189.
176. Hamley, I. W. Small Bioactive Peptides for Biomaterials Design and Therapeutics / I. W. Hamley // *Chemical Reviews*. – 2017. – Vol. 117. – № 24. – P. 14015-14041.
177. Fernandes, M. J. G. Photorelease of amino acid neurotransmitters from pyrenylmethyl ester conjugates / M. J. G. Fernandes, M. S. T. Gonçalves, S. P. G. Costa // *Tetrahedron*. – 2007. – Vol. 63. – № 41. – P. 10133-10139.
178. Lippincott-Schwartz, J. Fluorescent Proteins for Photoactivation Experiments / J. Lippincott-Schwartz, G. H. Patterson. – Text : electronic // *Methods in Cell Biology : Fluorescent Proteins*. – Academic Press, 2008. – Vol. 85. – P. 45-61. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091679X08850030> (date accessed: 27.12.2024).
179. Photorelease of GABA with visible light using an inorganic caging group / E. Rial Verde, L. Zayat, R. Etchenique, R. Yuste. – Text : electronic // *Frontiers in Neural Circuits*. – 2008. – Vol. 2. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/neural-circuits/articles/10.3389/neuro.04.002.2008/full> (date accessed: 27.12.2024).
180. Constructing Photoactivatable Protein with Genetically Encoded Photocaged Glutamic Acid / X. Yang, L. Zhao, Y. Wang [et al.] // *Angewandte Chemie*. – 2023. – Vol. 135. – № 40. – P. e202308472.
181. Post-translational lysine ac(et)ylation in health, ageing and disease / A.-T. Blasl, S. Schulze, C. Qin [et al.] // *Biological Chemistry*. – 2022. – Vol. 403. – № 2. – P. 151-194.
182. Anti-Atherogenic Effects of a Mixture of Ascorbic Acid, Lysine, Proline, Arginine, Cysteine, and Green Tea Phenolics in Human Aortic Smooth Muscle Cells / V. Ivanov, M. W. Roomi, T. Kalinovsky [et al.] // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2007. – Vol. 49. – № 3. – P. 140.
183. Tryptophan Metabolism as a Pharmacological Target / M. Modoux, N. Rolhion, S. Mani, H. Sokol // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2021. – Vol. 42. – № 1. – P. 60-73.
184. Pincock, J. A. Photochemistry of Arylmethyl Esters in Nucleophilic Solvents: Radical Pair and Ion Pair Intermediates / J. A. Pincock // *Accounts of Chemical Research*. – 1997. – Vol. 30. – № 1. – P. 43-49.
185. Zimmerman, H. E. Meta-Ortho Effect in Organic Photochemistry: Mechanistic and Exploratory Organic Photochemistry / H. E. Zimmerman // *The Journal of Physical Chemistry A*. – 1998. – Vol. 102. – № 28. – P. 5616-5621.

186. Design and synthesis of novel triazole derivatives containing γ -lactam as potential antifungal agents / Y.-Y. Xu, A.-R. Qian, X.-F. Cao [et al.] // *Chinese Chemical Letters*. – 2016. – Vol. 27. – № 5. – P. 703-706.
187. Bis-Acetyl Carbazole: A Photoremovable Protecting Group for Sequential Release of Two Different Functional Groups and Its Application in Therapeutic Release / Y. Venkatesh, S. Nandi, M. Shee [et al.] // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2017. – Vol. 2017. – № 41. – P. 6121-6130.
188. Proline Isomerization: From the Chemistry and Biology to Therapeutic Opportunities / D. Gurung, J. A. Danielson, A. Tasnim [et al.] // *Biology*. – 2023. – Vol. 12. – № 7. – P. 1008.
189. A Near-Infrared Light-Activated Photocage Based on a Ruthenium Complex for Cancer Phototherapy / G. He, M. He, R. Wang [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2023. – Vol. 62. – № 24. – P. e202218768.
190. Red-Shifted Water-Soluble BODIPY Photocages for Visualisation and Controllable Cellular Delivery of Signaling Lipids / A. Poryvai, M. Galkin, V. Shvadchak, T. Slanina // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2022. – Vol. 61. – № 34. – P. e202205855.
191. Visible-light activatable coumarin-based phototriggers for fluorescence imaging with ultra-high photolysis efficiency / R. Zhou, L. Yang, Z. Chen [et al.] // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2023. – Vol. 25. – № 16. – P. 11176-11184.
192. Li, H. Switchable Fluorophores for Single-Molecule Localization Microscopy / H. Li, J. C. Vaughan // *Chemical Reviews*. – 2018. – Vol. 118. – № 18. – P. 9412-9454.
193. Gupta, A. Photoactivatable o-Hydroxycinnamic Platforms for Bioimaging and Therapeutic Release / A. Gupta, A. Gautam, P. K. Sasmal // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2022. – Vol. 65. – № 7. – P. 5274-5287.
194. Dual-wavelength efficient two-photon photorelease of glycine by π -extended dipolar coumarins / M. Klausen, V. Dubois, G. Clermont [et al.] // *Chemical Science*. – 2019. – Vol. 10. – № 15. – P. 4209-4219.
195. Photocaging of Single and Dual (Similar or Different) Carboxylic and Amino Acids by Acetyl Carbazole and its Application as Dual Drug Delivery in Cancer Therapy / Y. Venkatesh, Y. Rajesh, S. Karthik [et al.] // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2016. – Vol. 81. – № 22. – P. 11168-11175.
196. Jana, A. Perylen-3-ylmethyl: fluorescent photoremovable protecting group (FPRPG) for carboxylic acids and alcohols / A. Jana, M. Iqbal, N. D. P. Singh // *Tetrahedron*. – 2012. – Vol. 68. – № 4. – P. 1128-1136.

197. Ellis-Davies, G. C. R. Caged compounds: photorelease technology for control of cellular chemistry and physiology / G. C. R. Ellis-Davies // *Nature Methods*. – 2007. – Vol. 4. – № 8. – P. 619-628.
198. Braslavsky, S. E. Glossary of terms used in photochemistry, 3rd edition (IUPAC Recommendations 2006) / S. E. Braslavsky // *Pure and Applied Chemistry*. – 2007. – Vol. 79. – № 3. – P. 293-465.
199. (PDF) UNIT-III: Photochemical Reactions. – URL: https://www.researchgate.net/publication/325079882_UNIT-III_Photochemical_Reactions (date accessed: 14.01.2025). – Text : electronic.
200. A versatile method for the determination of photochemical quantum yields via online UV-Vis spectroscopy / E. Stadler, A. Eibel, D. Fast [et al.] // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2018. – Vol. 17. – № 5. – P. 660-669.
201. A new sensitive chemical actinometer - II. Potassium ferrioxalate as a standard chemical actinometer // *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*. – 1956. – Vol. 235. – № 1203. – P. 518-536.
202. Use Ferrioxalate Actinometer Protocol HepatoChem. – URL: <https://hepatochem.com/standard-ferrioxalate-actinometer-protocol/> (date accessed: 14.01.2025). – Text : electronic.
203. Tandem Systems for Two-Photon Uncaging of Bioactive Molecules / M. Klausen, V. Dubois, J. Verlhac, M. Blanchard-Desce // *ChemPlusChem*. – 2019. – Vol. 84. – № 6. – P. 589-598.
204. Chromo-Orthogonal Deprotection of Carboxylic Acids by Aminonaphthalene and Aminoaniline Photocages / V. Lovrinčević, D. Vuk, I. Škorić, N. Basarić // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2022. – Vol. 87. – № 5. – P. 2489-2500.
205. meso-Methylhydroxy BODIPY: a scaffold for photo-labile protecting groups / N. Rubinstein, P. Liu, E. W. Miller, R. Weinstain // *Chemical Communications*. – 2015. – Vol. 51. – № 29. – P. 6369-6372.
206. BODIPY-Derived Photoremovable Protecting Groups Unmasked with Green Light / P. P. Goswami, A. Syed, C. L. Beck [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2015. – Vol. 137. – № 11. – P. 3783-3786.
207. Photouncaging of Carboxylic Acids from Cyanine Dyes with Near-Infrared Light** / H. Janeková, M. Russo, U. Ziegler, P. Štacko // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2022. – Vol. 61. – № 33. – P. e202204391.
208. Melhuish, W. H. QUANTUM EFFICIENCIES OF FLUORESCENCE OF ORGANIC SUBSTANCES: EFFECT OF SOLVENT AND CONCENTRATION OF THE

- FLUORESCENT SOLUTE¹ / W. H. Melhuish // *The Journal of Physical Chemistry*. – 1961. – Vol. 65. – № 2. – P. 229-235.
209. N,O-bidentate ligands-based salicylic spiroborates: A bright frontier of bioimaging / K. I. Lugovik, T. O. Fomin, A. S. Minin [et al.] // *Dyes and Pigments*. – 2022. – Vol. 200. – P. 110165.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ

Расчеты выполнены доктором Э. Бенасси (Университет Модены и Реджо-Эмилии, Италия) с помощью программного пакета *GAUSSIAN G09.D01*. Расчет RDG и его производных производился с использованием самодельного кода.

Оптимизация геометрии молекул исследуемых соединений в основном и возбужденном состоянии была полностью оптимизирована на уровне теории функционала плотности (DFT) как в вакууме, так и в разных растворителях. Был выбран гибридный (а именно B3LYP и M06-2X) метод, в сочетании с базисными наборами 6-311++G**. Эффекты растворителя были учтены с помощью модели поляризуемого континуума (IEF-PCM). Были использованы стандартные значения диэлектрических постоянных и показателей преломления. Частоты колебаний и термодинамические параметры были вычислены в гармоническом приближении при $T = 298.15$ К и $p = 1$ атм, мнимых частот не обнаружено.

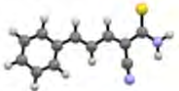
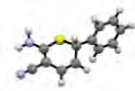
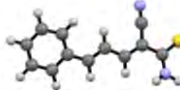

Спектры поглощения ультрафиолетового излучения были рассчитаны на основе теории функционала плотности (TD-DFT) для переходов $S_0 \rightarrow S_n$ ($n =$ от 1 до 20). Также была вычислена энергия первых двадцати триплетных состояний. Это исследование было выполнено с использованием скорректированного функционала wB97X-D в сочетании с базисным набором 6-311++G**.

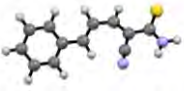
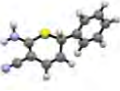
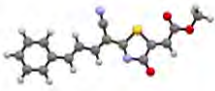

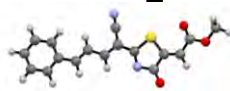

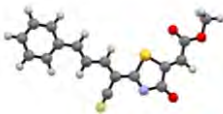
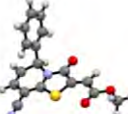
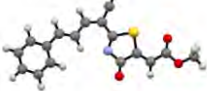
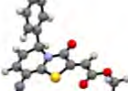
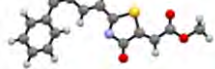

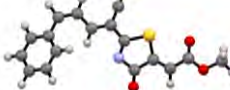
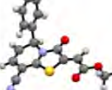
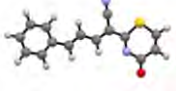

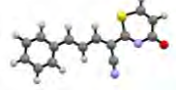

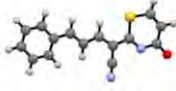

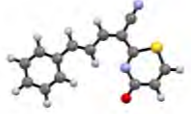
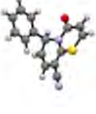
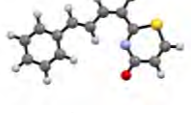
Зарядовое распределение, электронная плотность и электростатический потенциал для основного S_0 , возбужденного состояния S_1 и после геометрической релаксации были рассчитаны с использованием методов Малликена и CHelpG.

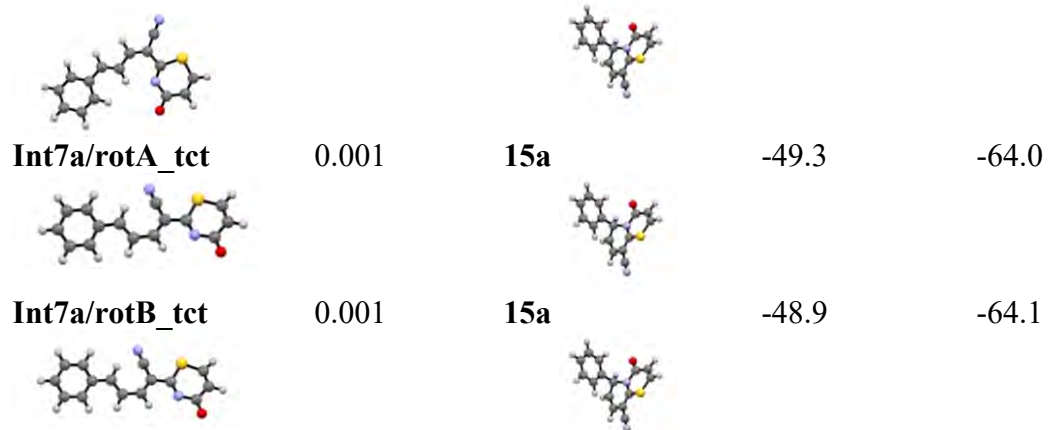
Наличие и характер возможных внутримолекулярных взаимодействий в основном и возбужденном состоянии определяли на основании индекса нековалентных взаимодействий с использованием второй производной уменьшения градиента электронной плотности (RDG) вдоль второй основной оси изменения.

Таблица 1

Термодинамические характеристики реакции 1,6-электроциклизации, рассчитанные для наиболее стабильных изомеров

Исходный реагент	f	Продукт	ΔG кДж/моль	ΔH кДж/моль
4a-rotA_ttt 	0.891	11a 	8.5	-2.3
4a-rotB_ttt 	0.006	11a 	-5.4	-14.5

4a-rotA_tct 	0.001	11a 	-11.7	-21.9
Int 1a-rotA_ttt 	0.521	12a-rotA 	-50.8	-64.7
Int 1a-rotA_tct 	0.318	12a-rotA 	-52.1	-64.6
Int 1a-rotB-ttt 	0.147	12a-rotA 	-54.3	-68.0
Int 1a-rotB_ctt 	0.011	12a-rotA 	-61.3	-73.1
Int 1a-rotA_tcc 	0.001	12a-rotA 	-67.9	-79.3
Int 1a-rotA_ttc 	0.001	12a-rotA 	-67.2	-79.4
Int 7a-rot B_ttt 	0.710	15a 	-30.7	-44.3
Int 7a-rot A_ttt 	0.119	15a 	-35.7	-52.1
Int 7a-rotA_ctt 	0.109	15a 	-35.9	-52.1
Int7a/rotB_ttc 	0.045	15a 	-38.4	-54.9
Int7a/rotA_ttc 	0.014	15a	-41.6	-54.9



(*f* – распределение Больцмана)

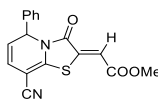
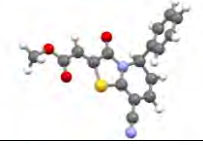
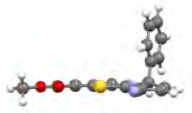
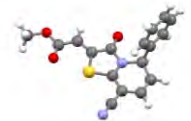
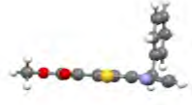
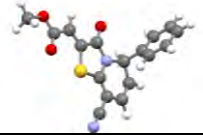

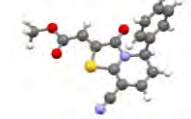
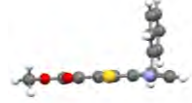
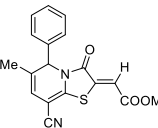
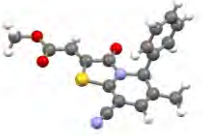
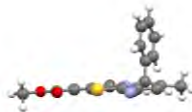
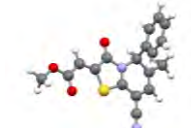
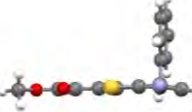
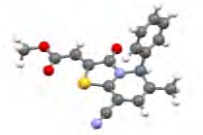
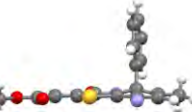
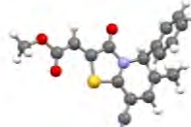
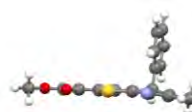
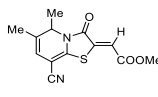
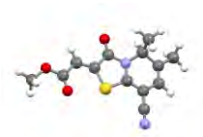
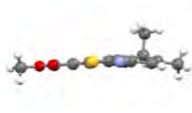
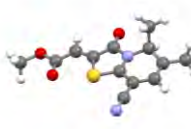
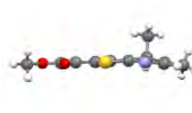
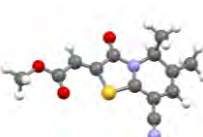
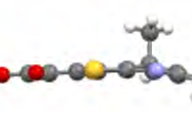
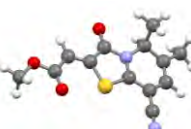
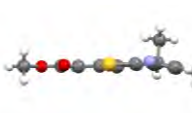
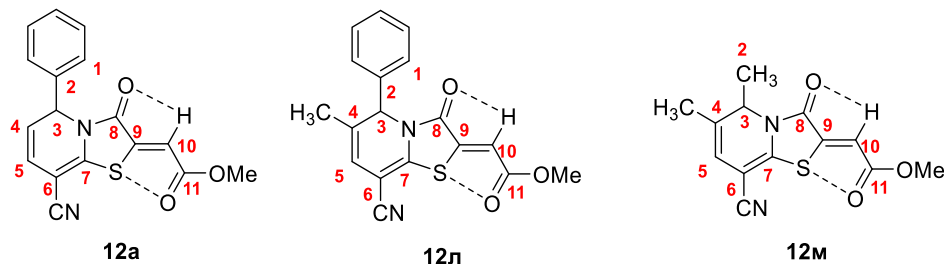
Соед-ние	Растворитель	S_0		S_1	
12a 	ДМСО				
	MeCN				
12л 	ДМСО				
	MeCN				
12м 	ДМСО				
	MeCN				

Рис. 1. Оптимизированная геометрия молекул ДТП **12a,л,м** в основном (S_0) и возбужденном (S_1) состояниях в ДМСО и MeCN. Уровень теории: DFT /IEF-PCM(UFF). Цвета атомов: белый (H), серый (C), сиреневый (N), желтый (S), красный (O).

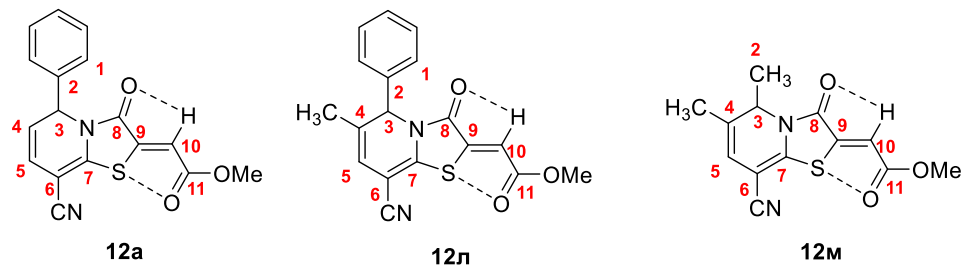
Длины связей (в Å) для основного состояния (S_0) в оптимизированных структурах ДТП **12а,л,м** в ДМСО и MeCN



№, п/п	Раст-ль	Соед-ние	C2-C3	C3-C4	C4=C5	C6-CN	C5-C6	C6=C7	C7-N	N-C8	C8-C9	C7-S	S-C9	C9=C10	C10-C11	C8=O	C11=O
1	ДМСО	12а	1.523	1.509	1.337	1.423	1.466	1.357	1.374	1.379	1.379	1.764	1.753	1.339	1.474	1.213	1.218
2	MeCN	12а	1.523	1.509	1.337	1.423	1.466	1.357	1.374	1.379	1.379	1.764	1.753	1.339	1.474	1.213	1.218
3	ДМСО	12л	1.524	1.518	1.341	1.423	1.465	1.357	1.375	1.379	1.500	1.764	1.753	1.339	1.473	1.213	1.218
4	MeCN	12л	1.524	1.518	1.341	1.424	1.465	1.357	1.375	1.378	1.500	1.764	1.753	1.339	1.473	1.213	1.218
5	ДМСО	12м	1.531	1.515	1.341	1.424	1.466	1.358	1.374	1.376	1.502	1.765	1.753	1.339	1.473	1.214	1.218
6	MeCN	12м	1.532	1.515	1.341	1.424	1.466	1.358	1.374	1.376	1.501	1.765	1.753	1.339	1.473	1.215	1.218

Таблица 3

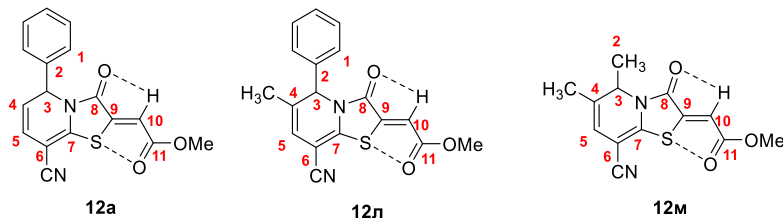
Длины связей (в Å) для возбужденного состояния (S_1) в оптимизированных структурах ДТП **12а,л,м** в ДМСО и MeCN



№, п/п	Раст-ль	Соед-ние	C2-C3	C3-C4	C4=C5	C6-CN	C5-C6	C6=C7	C7-N	N-C8	C8-C9	C7-S	S-C9	C9=C10	C10-C11	C8=O	C11=O
1	ДМСО	12а	1.533	1.490	1.368	1.413	1.413	1.428	1.341	1.417	1.447	1.720	1.753	1.375	1.442	1.231	1.232
2	MeCN	12а	1.533	1.490	1.369	1.413	1.413	1.429	1.341	1.418	1.447	1.720	1.753	1.375	1.442	1.231	1.232
3	ДМСО	12л	1.533	1.502	1.375	1.414	1.411	1.425	1.339	1.418	1.445	1.721	1.755	1.376	1.440	1.233	1.233
4	MeCN	12л	1.533	1.502	1.375	1.414	1.411	1.425	1.339	1.418	1.445	1.721	1.755	1.376	1.440	1.232	1.233
5	ДМСО	12м	1.546	1.498	1.375	1.413	1.412	1.424	1.338	1.376	1.502	1.765	1.753	1.339	1.473	1.233	1.233
6	MeCN	12м	1.546	1.498	1.375	1.413	1.412	1.424	1.338	1.376	1.501	1.765	1.753	1.339	1.473	1.233	1.233

Таблица 4

Длины связей нековалентных взаимодействий (в Å) для основного (S_0) и возбужденного (S_1) состояний в оптимизированных структурах ДТП **12а,л,м** в ДМСО и MeCN



№, п/п	Раст-ль	Соед-ние	C8O-HC10 (Å)	S-OC11 (Å)	C7SOC11 (°)	C8O-HC10 (Å)	S-OC11 (Å)	C7SOC11 (°)
			S_0			S_1		
1	ДМСО	12а	2.626	2.796	163.2	2.738	2.775	165.4
2	MeCN	12а	2.626	2.796	163.2	2.739	2.774	165.4
3	ДМСО	12л	2.619	2.799	163.2	2.741	2.776	165.4
4	MeCN	12л	2.621	2.800	163.2	2.741	2.775	165.4
5	ДМСО	12м	2.618	2.800	163.0	2.733	2.789	165.1
6	MeCN	12м	2.616	2.799	163.0	2.733	2.788	165.1

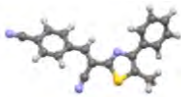

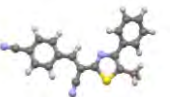

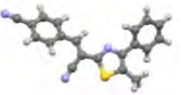

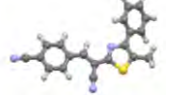

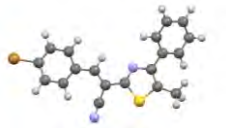

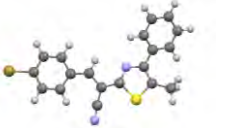

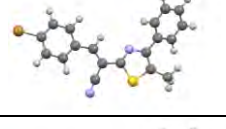

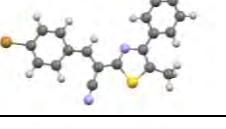

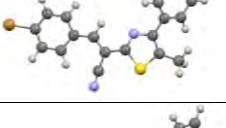

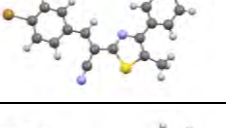

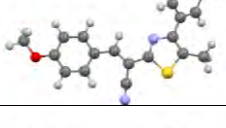

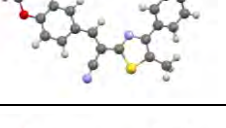

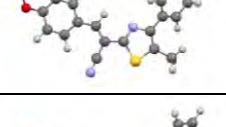

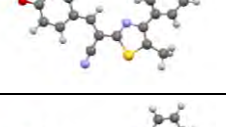
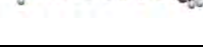
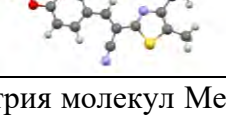
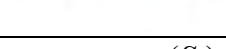
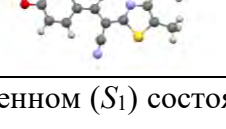
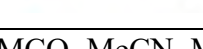
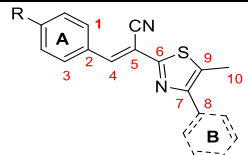
№ п/п	Соед-ние	Раст-ль	S_0		S_{1r}	
1	2а	DMCO				
2		CHCl ₃				
3	2б	DMCO				
4		MeCN				
5		MeOH				
6	2в	DMCO				
7		MeCN				
8		MeOH				

Рис. 2. Оптимизированная геометрия молекул Me-ATЗ **2а-в** в основном (S_0) и возбужденном (S_1) состояниях в ДМСО, MeCN, MeOH, CHCl₃. Уровень теории: DFT /IEF-PCM(UFF). Цвета атомов: белый (H), серый (C), сиреневый (N), желтый (S), красный (O) и коричневый (Br).

Длины связей (в Å) и торсионные углы (°) для основного состояния (S_0) в оптимизированных структурах Ме-АТЗ **2a-в,е** в ДМСО, МеСN и МеОН



№, п/п	Соед-ние	Раст-ль	C2-C4	C4-C5	C5-C6	C7-C8	C7-C9	C9-C10	θ_A	θ_B	θ_C	N \cdots HC(4)	N \cdots HC _{Ar}
1	2a	ДМСО	1.464	1.352	1.473	1.479	1.377	1.498	28.88	34.98	3.03	2.497	2.649
2	2б	ДМСО	1.444	1.369	1.469	1.477	1.382	1.498	0.07	35.49	0.54	2.457	2.643
3		МеСN	1.444	1.369	1.469	1.477	1.382	1.498	0.07	35.49	0.54	2.457	2.643
4		МеОН	1.444	1.369	1.469	1.477	1.382	1.498	0.07	35.49	0.54	2.457	2.643
5	2в	ДМСО	1.451	1.365	1.470	1.477	1.384	1.498	0.85	35.52	0.59	2.413	2.483
6		МеСN	1.451	1.365	1.470	1.477	1.384	1.498	0.85	37.82	0.59	2.412	2.482
7		МеОН	1.451	1.365	1.470	1.477	1.384	1.498	0.85	35.52	0.59	2.412	2.481
8	2е	ДМСО	1.453	1.364	1.468	1.457	1.388	1.496	1.58	4.04	2.450		8

Таблица 6

Длины связей (в Å) и торсионные углы (°) для возбужденного состояния (S_1) в оптимизированных структурах Ме-АТЗ **2a-в** в ДМСО, МеСN и МеОН

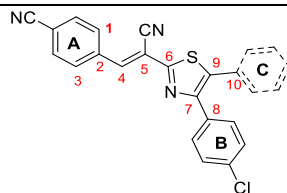
№, п/п	Соед-ние	Раст-ль	C2-C4	C4-C5	C5-C6	C7-C8	C7-C9	C9-C10	θ_A	θ_B	θ_C	N \cdots HC(4)	N \cdots HC _{Ar}
1	2a	ДМСО	1.399	1.436	1.407	1.474	1.412	1.490	0.64	36.20	0.09	2.383	2.638
2	2б	ДМСО	1.407	1.439	1.420	1.465	1.413	1.492	1.11	27.70	0.02	2.417	2.642
3		МеСN	1.407	1.439	1.420	1.465	1.413	1.492	1.11	27.70	0.02	2.416	2.541
4		МеОН	1.407	1.439	1.420	1.465	1.413	1.492	1.10	27.65	0.03	2.416	2.541
5	2в	ДМСО	1.408	1.430	1.428	1.457	1.418	1.491	0.20	22.43	0.30	2.413	2.483

6		MeCN	1.409	1.430	1.428	1.457	1.418	1.491	0.21	22.35	0.27	2.412	2.482
7		MeOH	1.409	1.430	1.428	1.457	1.418	1.491	0.22	22.33	0.26	2.412	2.481
8	2e	DMCO	1.416	1.408	1.454	1.421	1.404	1.492	0.02	0.00	2.428		8

Таблица 7

Длины связей (в Å) и торсионные углы (°) для основного (S_0) и возбужденного (S_1) состояний в оптимизированных структурах АТЗ

Зг,ж в ДМСО



№, п/п	Соединение	C2-C4	C4-C5	C5-C6	C7-C8	C7-C9	C9-C10	θ_A	θ_B	θ_C	N \cdots HC(4)	N \cdots HC _{Ar}
S_0												
1	Зг	1.451	1.360	1.467	1.473	1.384	1.468	2.06	37.77	53.24	2.450	2.672
2	Зж	1.452	1.359	1.464	1.474	1.383	1.460	2.06	37.80	43.85	2.657	2.676
S_1												
3	Зг	1.413	1.406	1.444	1.459	1.409	1.437	0.60	33.93	41.11	2.412	2.603
4	Зж	1.414	1.405	1.440	1.453	1.414	1.433	1.13	31.30	30.19	2.535	2.572

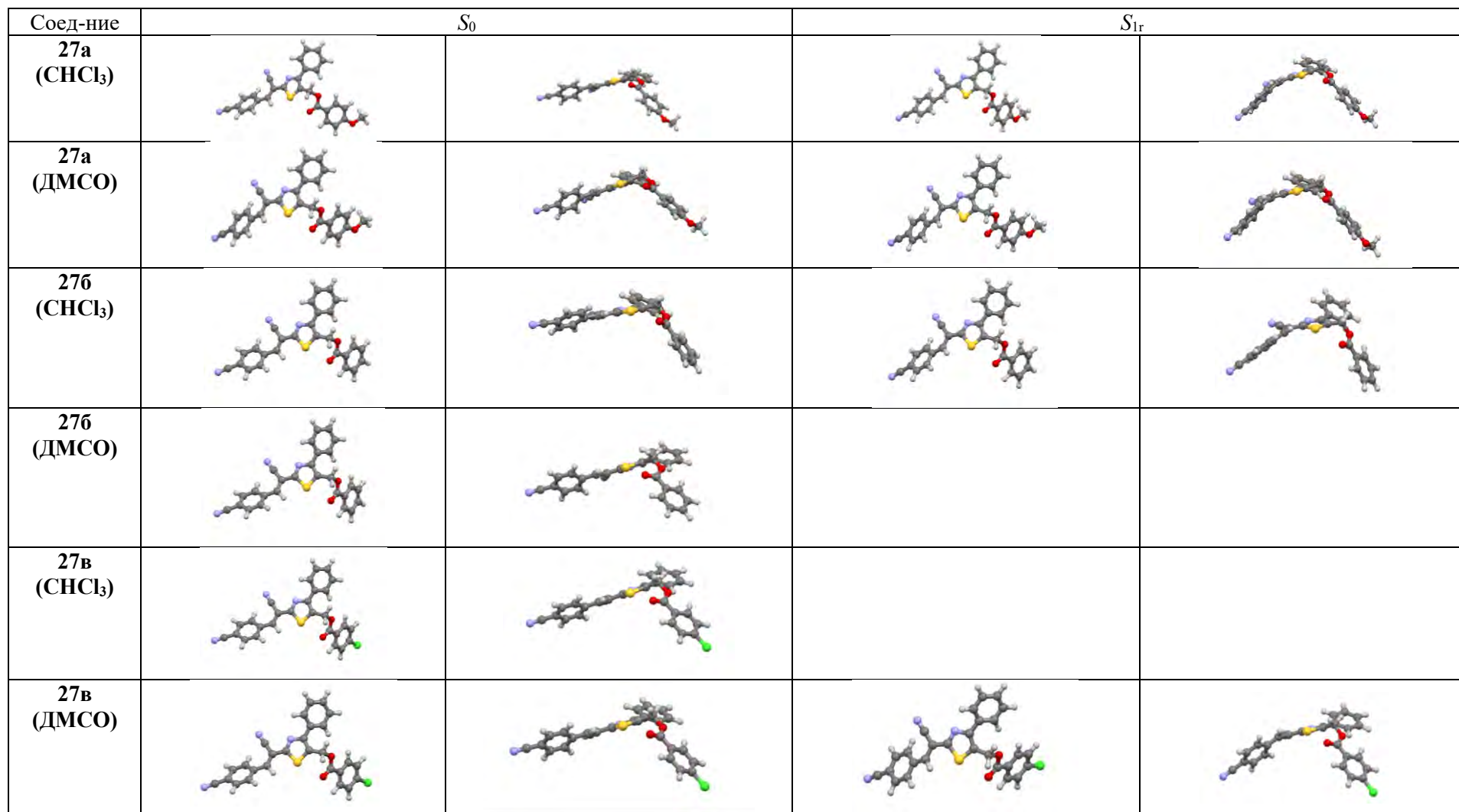
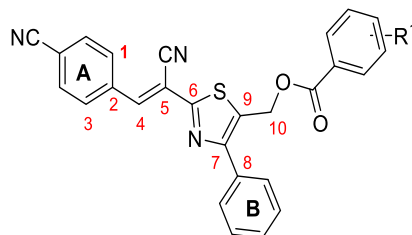


Рис. 3. Оптимизированная геометрия молекул **27a-в** в основном (S_0) и возбужденном (S_1) состояниях в CHCl₃ и ДМСО. Уровень теории: DFT /IEF-PCM(UFF). Цвета атомов: белый (H), серый (C), сиреневый (N), желтый (S), красный (O) и зеленый (Cl).

Длины связей (в Å) и торсионные углы (°) для основного состояния (S_0) в оптимизированных структурах АТЗ **2а** и **27а-в**, **27л** в

ДМСО



№, п/п	Соед-ние	C2-C4	C4-C5	C5-C6	C7-C8	C7-C9	C9-C10	C10-O	θ_A	θ_B	θ_C
5	2а	1.464	1.352	1.473	1.479	1.377	1.498		28.88	34.98	
6	27а	1.465	1.351	1.472	1.478	1.376	1.497	1.439	28.88	36.58	91.47
7	27б	1.465	1.351	1.472	1.478	1.376	1.496	1.441	28.47	36.26	92.45
8	27в	1.465	1.351	1.472	1.478	1.376	1.496	1.442	29.01	36.64	92.91
	2е	1.453	1.364	1.468	1.457	1.388	1.496		1.58	4.04	
9	27л	1.453	1.364	1.469	1.456	1.384	1.492	1.440	0.12	22.50	25.55

Таблица 9

Длины связей (в Å) и торсионные углы (°) для возбужденного состояния (S_1) в оптимизированных структурах АТЗ **2а** и **27а-в**, **27л** в

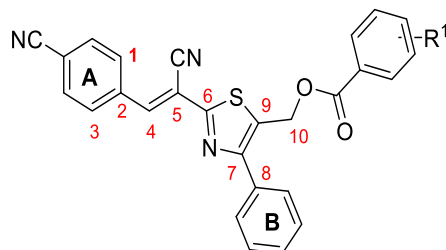
ДМСО

№, п/п	Соед-ние	C2-C4	C4-C5	C5-C6	C7-C8	C7-C9	C9-C10	C10-O	θ_A	θ_B	θ_C
5	2а	1.399	1.436	1.407	1.474	1.412			1.49	36.20	
6	27а	1.399	1.443	1.402	1.476	1.409	1.496	1.439	8.65	37.03	65.64
7	27б	1.399	1.443	1.402	1.476	1.409	1.496	1.439	8.65	37.03	66.47

8	27в	1.399	1.444	1.402	1.476	1.409	1.496	1.442	8.62	37.23	65.26
	2е	1.416	1.408	1.454	1.421	1.404	1.492		0.02	0.00	
9	27л	1.415	1.410	1.451	1.421	1.402	1.491	1.431	0.02	0.01	0.01

Таблица 10

Длины внутримолекулярных взаимодействий (в Å) для основного (S_0) и возбужденного (S_1) состояний в оптимизированных структурах АТЗ **2а** и **27а-в**, **27л** в ДМСО



№, п/п	Соед-ние	S_0				S_1			
		S-O	N-H	S-H	C=O-H	S-O	N-H	S-H	C=O-H
5	2а	3.067				2.466	2.377	2.384	
6	27а	3.087	2.657	2.728	2.537	2.442	2.357	2.382	
7	27б	3.078	2.653	2.728	2.522	2.503	2.408	2.385	
8	27в		2.656	2.725	2.525			2.386	
9	27л	2.892	2.449		2.587	2.808	2.432		2.612

$$a - R_{vdW}(\text{N-H}) = 2.60 \text{ \AA}$$

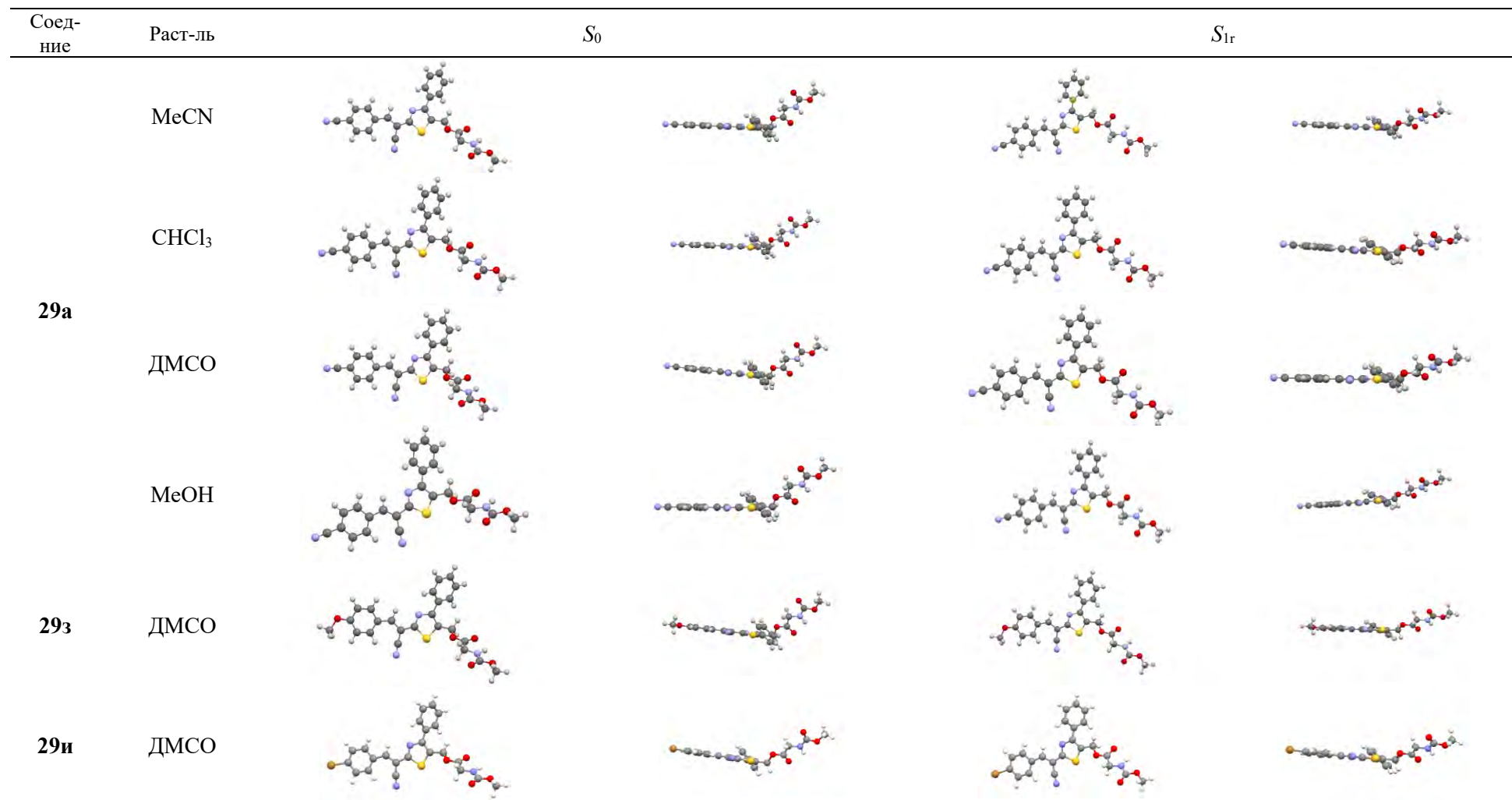


Рис. 4. Оптимизированная геометрия молекул **29a,з,и** в основном (S_0) и возбужденном (S_1) состояниях в CHCl₃, ДМСО, MeCN и MeOH. Уровень теории: DFT /IEF-PCM(UFF). Цвета атомов: белый (H), серый (C), сиреневый (N), желтый (S), красный (O) и коричневый (Br).

Таблица 11

Длины связей (в Å) и торсионные углы (°) для основного состояния (S_0) в оптимизированных структурах **29а,з,и,м** в ДМСО.

№, п/п	Соед- ние	C2-C4	C4-C5	C5-C6	C7-C8	C7-C9	C9-C10	C10-O11	θ_A	θ_B	S...O11	N...HC4	N...HC _{Ar}
1	29а	1.453	1.364	1.470	1.477	1.383	1.489	1.458	0.17	42.07	3.080	2.455	2.722
6	29з	1.443	1.370	1.468	1.477	1.381	1.487	1.462	0.77	43.36	3.150	2.450	2.793
7	29и	1.450	1.365	1.470	1.477	1.382	1.488	1.458	0.30	42.48	3.101	2.457	2.722
	29м	1.453	1.364	1.469	1.456	1.387	1.484	1.465	2.95	25.90	3.579	2.441	

Таблица 12

Длины связей (в Å) и торсионные углы (°) для возбужденного состояния (S_1) в оптимизированных структурах **29а,з,и,м** в ДМСО

№, п/п	Соед- ние	C2-C4	C4-C5	C5-C6	C7-C8	C7-C9	C9-C10	C10-O11	θ_A	θ_B	S...O11	N...HC(4)	N...HC _{Ar}
1	29а	1.398	1.426	1.410	1.467	1.408	1.488	1.435	0.74	34.48	2.856	2.577	2.380
6	29з	1.398	1.426	1.410	1.467	1.408	1.488	1.435	0.74	34.48	2.856	2.577	2.380
7	29и	1.398	1.431	1.408	1.471	1.400	1.488	1.439	1.67	36.23	2.910	2.393	2.635
	29м	1.415	1.412	1.447	1.423	1.402	1.490	1.457	0.13	6.48	3.646	2.437	

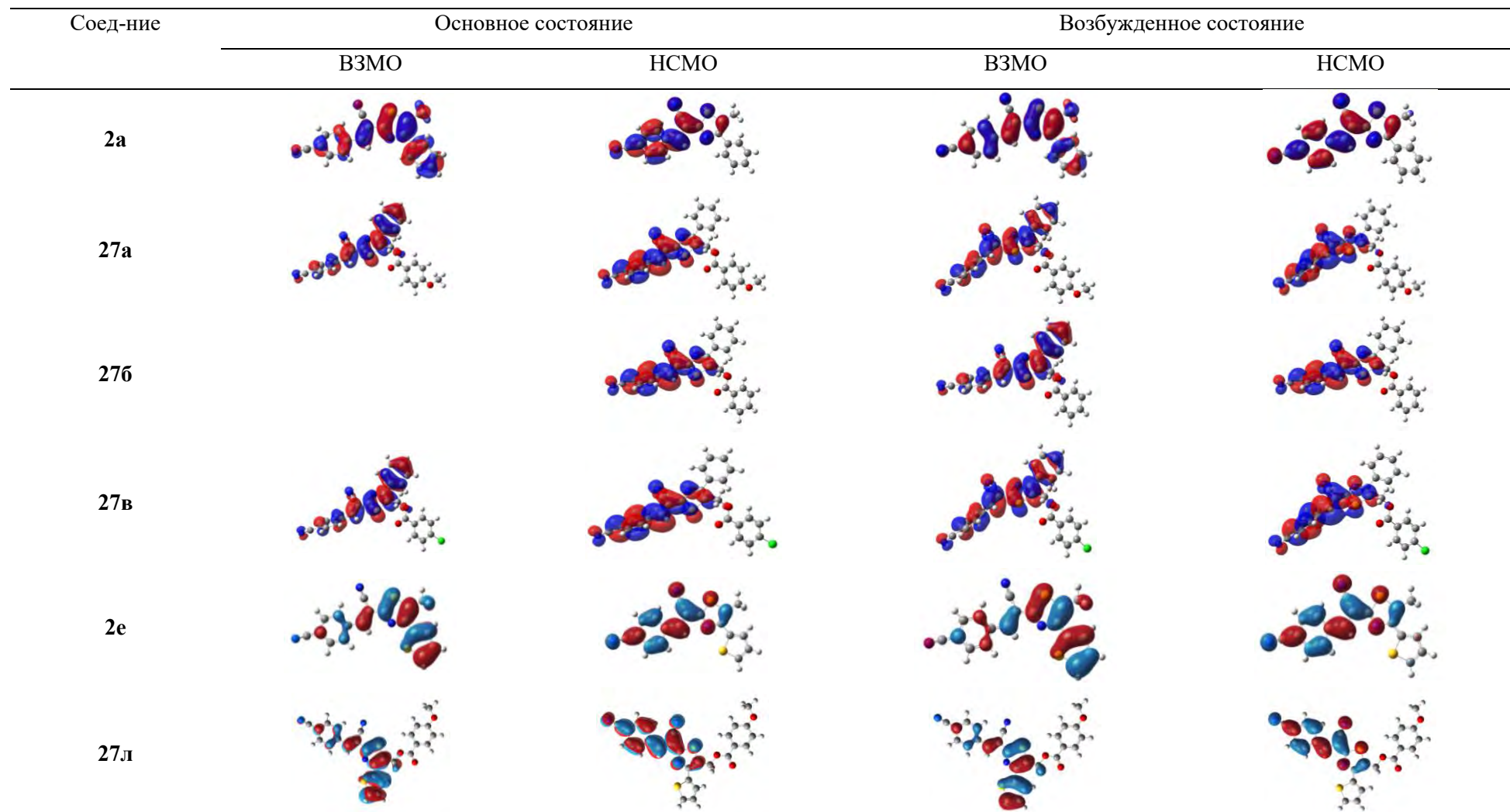


Рис. 5. Граничные молекулярные орбитали, ВЗМО и НСМО, в основном и возбужденном состояниях для Me-AT3 **2a,e** и **27a-в,л** с учетом влияния растворителя (DMCO): (TD-)DFT ω -B97X-D/6-311++G**//IEF-PCM(UFF).

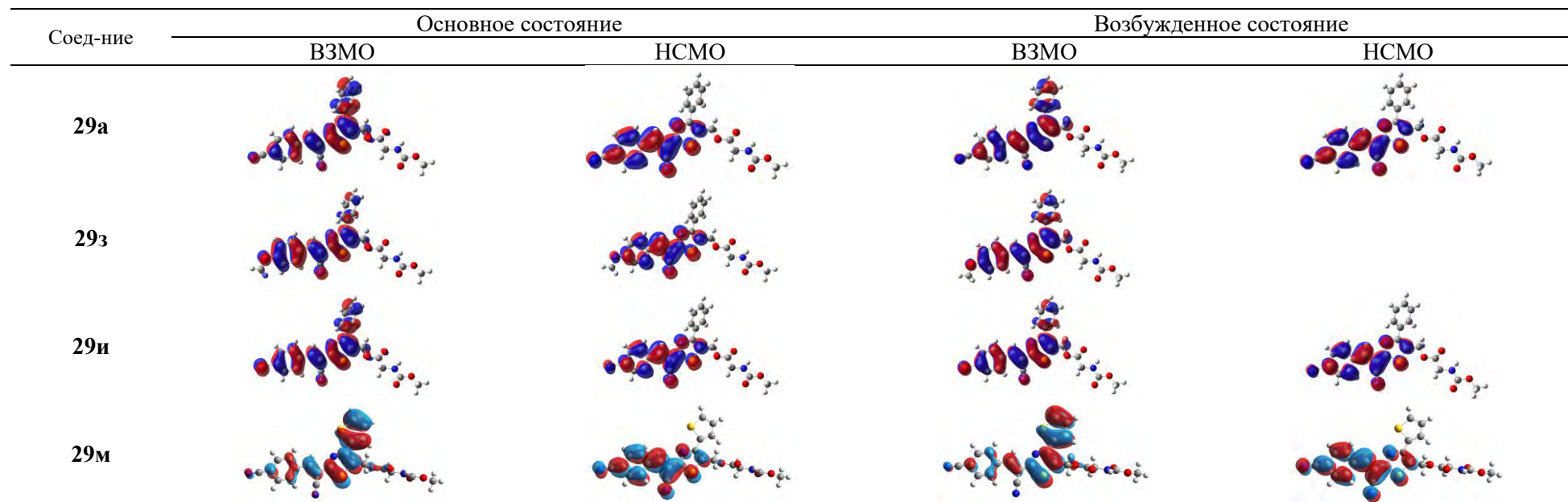


Рис. 6. Граничные молекулярные орбитали, ВЗМО и НСМО, в основном и возбужденном состояниях для **29а,з,и,м** с учетом влияния растворителя (ДМСО): (TD-)DFT ω -B97X-D/6-311++G**//IEF-PCM(UFF).

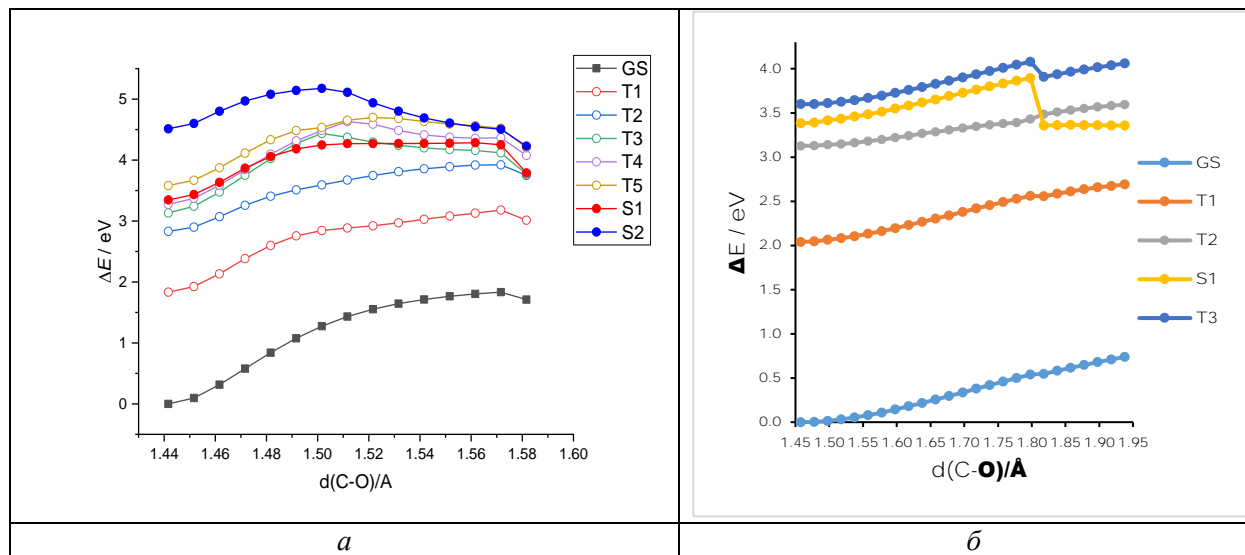


Рис. 7. Сканирование поверхности потенциальной энергии основного состояния S_0 , а также возбужденных состояний S_1 , S_2 и T_1 - T_5 , рассчитанных с помощью метода TD (DFT) для (а) **27в** и (б) **29а**.

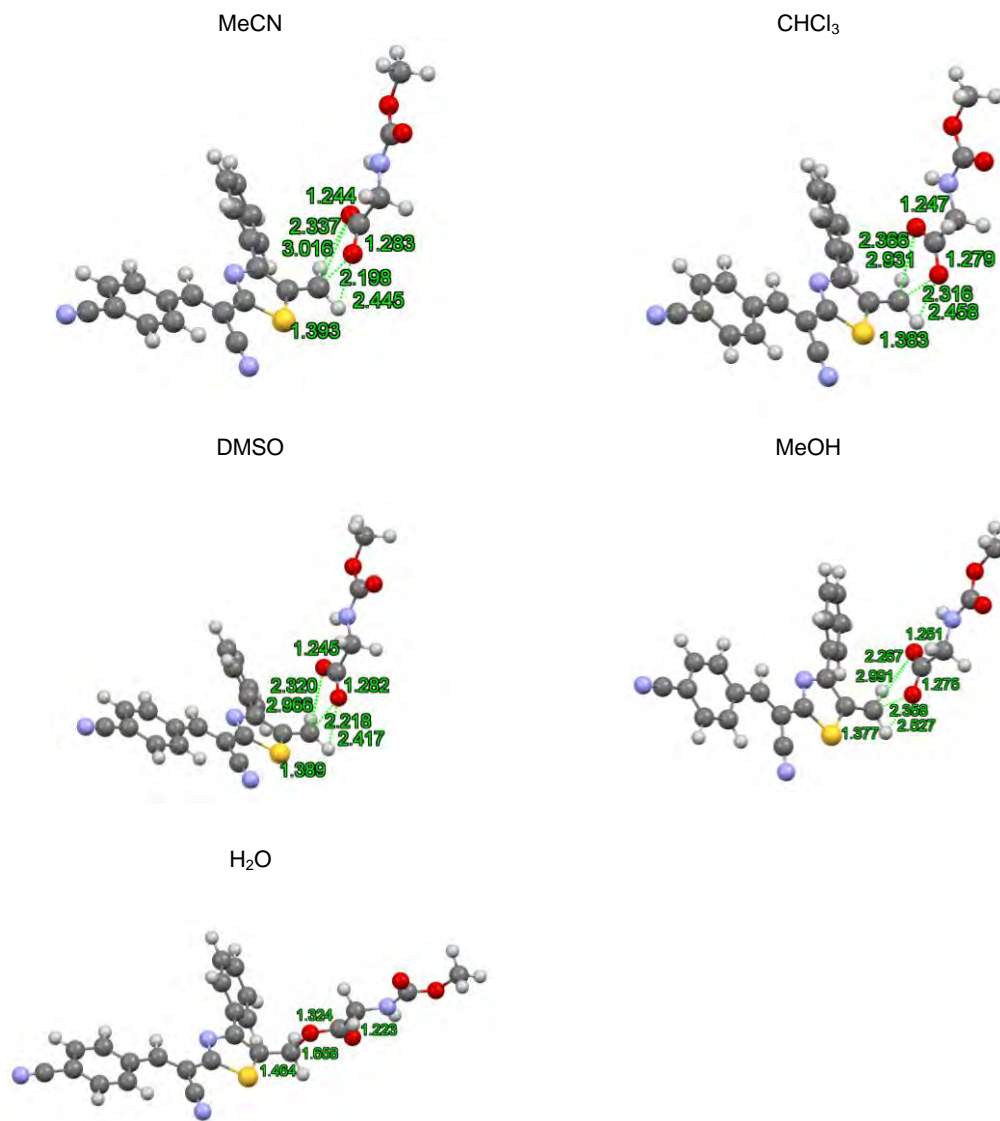


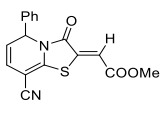
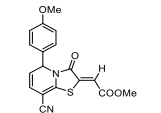
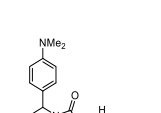
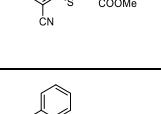
Рис. 8. Структура комплекса А при разрыве связи С-О при УФ-облучении соединения **29a** в MeCN, CHCl₃, ДМСО, MeOH и H₂O. Уровень теории: DFT /IEF-PCM(UFF). Цвета атомов: белый (H), серый (C), сиреневый (N), желтый (S), красный (O).

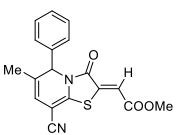
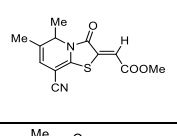
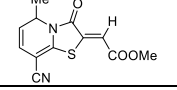
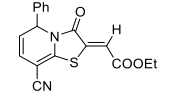
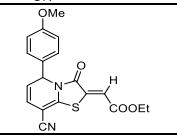
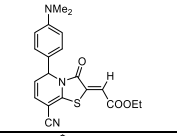
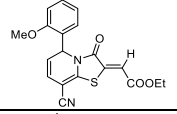
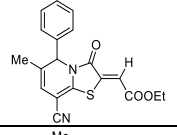
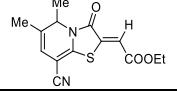
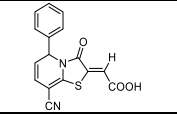
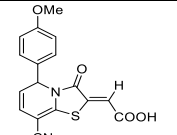
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Киото, Япония). Флуоресценцию растворов образцов измеряли с помощью спектрофотометра Hitachi F-7000 (Токио, Япония). Спектры поглощения и испускания регистрировались в смесях толуола, диоксана, ТГФ, этиленгликоля, EtOH, *n*-BuOAc, EtOAc, ДМФА, CH₂Cl₂, CHCl₃, MeCN, ДМСО, MeCN-H₂O (9:1, об/об), MeCN-H₂O (7:3, об/об), ДМСО-H₂O (1:1, об/об), ДМСО-H₂O (1:9, об/об), ДМСО-буф (1:1, об/об), ДМСО-буф (1:9, об/об) в кварцевых кюветах размером 10,00 мм. Длина волны возбуждения соответствовала максимумам поглощения. Атмосферный кислород, содержащийся в растворах, не удалялся. Концентрация соединений в растворе составляла $2,5 \times 10^{-5}$; $5,0 \times 10^{-5}$ М и $2,5 \times 10^{-6}$; $5,0 \times 10^{-6}$ М для измерений поглощения и флуоресценции соответственно. Относительные квантовые выходы флуоресценции (QY) определяли с использованием сульфата хинина ($5,0 \times 10^{-6}$ М) в 0,1 М H₂SO₄ в качестве стандарта (QY = 0,546). Абсолютный квантовый выход веществ в растворах и в твердом состоянии регистрировали на спектрофлуориметре Horiba FluoroMax 4 (Киото, Япония) с интегрирующей сферой Quanta-φ с использованием программного обеспечения FluorEssence 3.5.

Таблица 1

Фотофизические характеристики ДТП **12а-п** в различных растворителях. ^a

№, п/п	Соединение	Структура	Растворитель	$\lambda_{\text{полгл.}}^{[a]}$ нм	ϵ , M ⁻¹ см ⁻¹	$\lambda_{\text{исп.}}^{[б]}$ нм	QY, [в] %	SS, [г] нм/см ⁻¹
1	12а		ДМСО	324 424	5200, 10200	555	0,9	131/5567
2			ДМСО-H ₂ O	425	10700	559	0,6	134/5640
3			MeCN	420	11200	556	1,6	136/5824
4	12б		ДМСО	323 424	6900, 11100	555	0,9	131/5567
5			ДМСО-H ₂ O	424	11800	557	0,2	133/5632
6			MeCN	418	8700	558	0,9	140/6002
7	12в		ДМСО	301 420	13000, 10800	-	-	-
8			ДМСО+ТФК	421	9000	556	1,1	135/5767
9			ДМСО-H ₂ O	429	10500	-	-	-
10			MeCN	411	10100	-	-	-
11			MeCN+ТФК	414	8900	553	1,3	139/6071
12	12г		ДМСО	324 428	6800, 11500	553	1,0	125/5281
13			ДМСО-H ₂ O	429	11500	555	0,4	126/5292
14			MeCN	421	11900	557	1,0	136/5800

15	12л		ДМСО	325 432	4300, 7500	556	0,6	124/5163
14			ДМСО-Н ₂ О	434	7500	553	0,5	119/4958
16			MeCN	426	8800	553	1,3	127/5391
17	12м		ДМСО	322 434	5400, 8300	559	0,6	125/5152
18			ДМСО-Н ₂ О	437	8700	558	0,3	121/4962
19			MeCN	427	11400	555	0,9	128/5401
20	12н		ДМСО	425	10080	554	0,8	129/5479
21			ДМСО-Н ₂ О	426	10400	555	0,5	129/5456
22	12д		ДМСО	424	10000	555	1,0	131/5567
23			ДМСО-Н ₂ О	425	9200	559	0,6	134/5640
24	12е		ДМСО	425	9200	554	1,0	129/5479
25			ДМСО-Н ₂ О	428	9000	557	0,2	129/5411
26			12ж		ДМСО	419	14400	-
27	ДМСО-Н ₂ О	427			13100	-	-	-
28	12з		ДМСО	425	11600	552	1,1	127/5413
29			ДМСО-Н ₂ О	430	9700	555	0,4	125/5238
30	12о		ДМСО	433	12000	557	0,8	124/5141
31			ДМСО-Н ₂ О	437	10400	554	0,5	117/4833
32	12п		ДМСО	434	10800	559	0,6	125/5152
33			ДМСО-Н ₂ О	437	11300	557	0,4	120/4930
34	12и		ДМСО	405	12300	534	1,2	129/5965
35	12к		ДМСО	404	11200	536	0,8	132/6096
36			ДМСО-Н ₂ О	407	12400	553	0,7	146/6487

[а] $C = 2,5 \times 10^{-5}$ М; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М; [в] Относительный квантовый выход, определенный относительно стандарта (раствор хинин сульфата; $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄ с QY = 54,0 %); [г] Сдвиг Стокса.

Фотофизические характеристики соединений **27а-м** и АТЗ-ОН **25** в различных растворителях.^a

№, п/п	Соед- ние	Растворитель	$\lambda_{\text{полг}},^{[a]}$ нм	$\epsilon, \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{исп}},^{[б]}$ нм	QY, ^[в] %	SS, ^[г] нм/см ⁻¹
1	27а	CHCl ₃	262, 372	34600, 25300	477	9,2	105/5917
2		MeCN	261, 363	36300, 24700	496	7,6	133/7387
3		MeCN-H ₂ O (9:1)	262, 366	37800, 25200	500	8,3	134/7322
4		DMCO	267, 370	31600, 19200	508	4,1	138/7342
5		DMCO-H ₂ O (1:1)	270, 380	23300, 15900	516 ^a	4,0	136/6936
6		DMCO-H ₂ O (1:9)	262, 376	24100, 13100	500	7,1	124/6596
7		DMCO- буфер (1:1)	371	16700	518	2,6	147/7649
8		DMCO- буфер (1:9)	276, 387	21300, 15500	500 ^b	5,0	113/5840
9	27б	CHCl ₃	276, 371	17300, 21300	475	7,3	104/5902
10		MeCN	274, 362	18100, 19300	497	8,8	135/7504
11		MeCN-H ₂ O (9:1)	274, 366	17900, 19900	500	8,1	134/7322
12		DMCO	276, 369	17700, 17300	511	3,8	142/7531
13		DMCO-H ₂ O (1:1)	277, 372	13600, 14100	514 ^c	5,3	142/7426
14		DMCO-H ₂ O (1:9)	277, 373	13800, 12500	499	5,9	126/6770
15		DMCO- буфер (1:1)	277, 371	14400, 14300	517	2,8	146/7612
16		DMCO- буфер (1:9)	278, 382	13900, 13100	502 ^d	2,6	120/6258
17	27в	CHCl ₃	371	24100	472	6,4	101/5768
18		MeCN	274, 362	22200, 24500	498	7,2	136/7544
19		MeCN-H ₂ O (9:1)	274, 366	21700, 24000	499	7,4	133/7282
20		DMCO	275, 370	21000, 20700	509	3,7	139/7381
21		DMCO-H ₂ O (1:1)	379	16100	513	3,0	134/6892
22		DMCO- H ₂ O (1:9)	374	13500	500	7,1	126/6738
23		DMCO- буфер (1:1)	380	15000	518	3,5	138/7011
24		DMCO- буфер (1:9)	388	15300	506	5,3	118/6010
25	27г	CHCl ₃	266, 370	25000, 23000	471	4,2	101/5796
26		DMCO	270, 367	26500, 18700	507	3,0	140/7524
27		DMCO-H ₂ O (1:1)	274, 378	21500, 16200	512	2,3	134/6924
28		DMCO-H ₂ O (1:9)	269, 374	21700, 13500	500	1,9	126/6738
29		DMCO- буфер (1:1)	274, 378	20700, 15040	517	2,7	139/7113

30		ДМСО-буфер (1:9)	275, 384	19900, 14600	513	1,8	129/6548
31	27д	CHCl ₃	304, 370	21000, 24900	470	5,9	100/5750
32		ДМСО	284, 369	18200, 18300	507	4,9	138/7376
33		ДМСО-Н ₂ O (1:1)	303, 373	17300, 17100	512	3,4	139/7278
34		ДМСО-Н ₂ O (1:9)	301, 373	15900, 14200	505	7,2	132/7008
35		ДМСО-буфер (1:1)	290, 376	16320, 15700	516	3,5	140/7216
36		ДМСО-буфер (1:9)	307, 383	15760, 15100	509	2,9	133/6730
37	27е	CHCl ₃	286, 371	38600, 21800	471	10,0	100/5723
		ДМСО	286, 368	36900, 18500	508	4,1	140/7489
38		ДМСО-Н ₂ O (1:1)	288, 374	28460, 15700	512	3,5	138/7207
39		ДМСО-Н ₂ O (1:9)	282, 374	26900, 12200	501	6,8	127/6778
40		ДМСО-буфер (1:1)	284, 379	23700, 14500	518	3,8	139/7080
41		ДМСО-буфер (1:9)	286, 379	24900, 13060	505	3,8	126/6583
42	27ж	CHCl ₃	297, 371	6300, 8200	474	2,5	103/5857
43		MeCN	260, 362	12400, 7880	497	1,50	135/7504
44		MeCN-Н ₂ O (9:1)	260, 362	12100, 7580	501	1,2	139/7580
45		MeCN-Н ₂ O (7:3)	260, 362	12100, 7680	501	0,84	139/7664
46		ДМСО	266, 369	23300, 7780	508	0,88	139/7415
47		ДМСО-Н ₂ O (1:1)	260, 379	20380, 13040	518	0,4	139/7080
48		ДМСО-Н ₂ O (1:9)	259, 375	19540, 11660	-		
49		ДМСО-буфер (1:1)	260, 379	21300, 14060	519	2,5	140/7117
50		ДМСО-буфер (1:9)	264, 387	18300, 13620	508	0,4	121/6155
51		27з	CHCl ₃	268, 372	30000, 21600	477	6,9
52	MeCN		266, 361	28200, 17600	494	8,9	133/7458
53	MeCN-Н ₂ O (7:3, об/об)		266, 362	30600, 15300	503	5,8	141/7744
54	ДМСО		368	19600	509	4,6	141/7528
55	ДМСО- Н ₂ O (1:1, об/об)		274, 371	22800, 19500	513	3,2	142/7461
56	ДМСО- Н ₂ O (1:9, об/об)		262, 372	27600, 13500	515	4,0	143/7464
57	ДМСО-буфер (1:1, об/об)		280, 372	24900, 21400	519	<1,0	147/7614
58	27и	ДМСО	370	18600	-	-	-
59		ДМСО- Н ₂ O (1:1, об/об)	260, 377	29300, 15700	-	-	-
60		ДМСО- Н ₂ O (1:9, об/об)	259, 376	28900, 15600	-	-	-

61		ДМСО-буфер (1:1, об/об)	262, 382	16200, 16600	-	-	-
62	27к	ДМСО	375	19800	535	1,5	160/7975
63		ДМСО- H ₂ O (1:1, об/об)	261, 384	31700, 17300	548	<1,0	164/7793
64		ДМСО- H ₂ O (1:9, об/об)	259, 382	29900, 15300	-	-	-
65		ДМСО-буфер (1:1, об/об)	263, 395	25500, 17300	-	-	-
66	27л	CHCl ₃	259, 302, 389	26400, 24600, 12900	517	7,4	128/6365
67		MeCN	258, 297, 378	31300, 34600, 15900	552	4,9	174/8339
68		MeCN-H ₂ O (7:3, об/об)	260, 296, 378	32100, 34500, 15200	558	1,4	180/8534
69		ДМСО	300, 385	26900, 11600	561	1,3	176/8149
70		ДМСО- H ₂ O (1:1, об/об)	302, 391	24800, 11200	560	<1,0	169/7718
71		ДМСО- H ₂ O (1:9, об/об)	304, 399	17700, 8100	545	2,0	146/6714
72		ДМСО-буфер (1:1, об/об)	301, 392	23700, 11100	565	<1,0	173/7811
73	27м	ДМСО	301, 385	32700, 13100	-	-	-
74		ДМСО- H ₂ O (1:1, об/об)	259, 308, 399	28900, 29100, 13200	-	-	-
75		ДМСО- H ₂ O (1:9, об/об)	258, 306, 399	27700, 27000, 12100	-	-	-
76	25	CHCl ₃	291, 377	15600, 21000	485		108/5907
77		MeCN	276, 369	21400, 21700	505	26,0	136/7298
78		ДМСО	278, 379	18500, 17500	521	18,6	142/7191
79		MeCN-H ₂ O (9:1)	276, 369	21400, 21400	510	22,6	141/7492

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М для 27а-ж,л $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М для 27з,к; [в] Относительный квантовый выход, определенный относительно стандарта (раствор хинин сульфата; $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄ с QY = 54,0 %); [г] Сдвиг Стокса.

Фотофизические характеристики соединений **29а-м** в различных растворителях.^а

№, п/п	Соед-ние	Растворитель	$\lambda_{\text{полг}}$, ^[а] нм	ϵ , М ⁻¹ см ⁻¹	$\lambda_{\text{исп}}$, ^[б] нм	QY, ^[в] %	SS, ^[г] нм/см ⁻¹
1	29а	CHCl ₃	296, 370	13100, 18600	475	6,8	105/5974
2		MeOH	229, 280, 361	19100, 17500, 23300	494	10,4	133/7458
3		MeCN	231, 277, 363	17900, 17400, 19860	496	9,2	133/7387
4		MeCN-H ₂ O (9:1, об/об)	231, 275, 361	18800, 17500, 19100	501	9,5	140/7741
5		DMCO	278, 369	16000, 17600	509	3,8	140/7454
6		DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)	278, 363	15500, 17800	513	4,9	150/8055
7		DMCO-буфер (1:1, об/об)	277, 369	16100, 17600	518	2,9	149/7795
8	29б	CHCl ₃	292, 372	16200, 22200	473	9,6	101/5740
9		DMCO	278, 371	17700, 19400	509	4,3	138/7308
10		DMCO-буфер (1:1, об/об)	279, 369	16700, 18300	516	2,6	147/7720
11	29в	DMCO	277, 370	15900, 17400	507	3,6	137/7303
12		DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)	280, 368	15000, 16800	508	3,2	140/7489
13		DMCO-буфер (1:1, об/об)	280, 372	15300, 16400	517	2,5	145/7539
14	29г	DMCO	277, 367	16000, 17040	507	4,1	140/7524
15		DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)	277, 363	14600, 16300	508	2,4	145/7863
16		DMCO-буфер (1:1, об/об)	278, 371	16000, 16480	513	0,9	142/7461
17	29д	DMCO	282, 369	17700, 14700	506	0,5	137/7337
18		DMCO-буфер (1:1, об/об)	281, 370	19100, 15900	516	3,8	146/7647
19	29е	DMCO	278, 368	16000, 17600	510	4,2	142/7566
20		DMCO-буфер (1:1, об/об)	278, 370	15100, 16400	518	2,9	148/7722
21	29ж	DMCO	275, 369	12500, 12900	508	3,7	139/7415
22		DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)	276, 369	11600, 11500	508	2,6	139/7415
23		DMCO-буфер (1:1, об/об)	276, 371	12200, 11800	518	2,6	147/7649
24	29з	MeOH	238, 272, 373	16500, 6900, 26600	430	0,7	57/3554
25		MeCN	246, 280, 371	9400, 5.800, 25000	-	-	-
26		MeCN-H ₂ O (9:1, об/об)	246, 279, 372	10200, 6200, 25000	-	-	-
27		DMCO	378	21400	-	-	-
28		DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)	377	21000	-	-	-
29		DMCO-буфер (1:1, об/об)	277, 380	6900, 21400	-	-	-
30	29и	MeOH	273, 357	10500, 18500	434	0,7	77/4970

31		MeCN	273, 357	11600, 17000	405	0,4	48/3320
32		MeCN-H ₂ O (9:1, об/об)	271, 356	11900, 15400	406	0,3	50/3459
33		DMCO	273, 364	11500, 14300	469	0,6	105/6151
34		DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)	271, 358	10200, 11900	410	0,2	52/3542
35		DMCO-буфер (1:1, об/об)	277, 367	10200, 14400	486	0,3	119/6671
36	29к	CHCl ₃	281, 370	17300, 19500	471	5,3	101/5796
37		MeOH	235, 277, 361	22200, 21100, 21000	495	6,4	143/7499
38		MeCN	235, 276, 360	20600, 22500, 20500	499	6,5	139/7738
39		MeCN-H ₂ O (7:3, об/об)	236, 274, 361	22800, 23200, 19700	502	6,0	141/7781
40		DMCO	280, 368	20200, 17500	509	3,9	141/7528
41		DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)	279, 373	18900, 15900	513	3,5	140/7316
42		DMCO- H ₂ O (1:9, об/об)	280, 373	16200, 12600	519	5,1	146/7542
43		DMCO-буфер (1:1, об/об)	282, 373	19200, 16400	521	1,2	148/7616
44		29л	CHCl ₃	299, 374	15800, 17900	491	15,5
45	MeOH		235, 284, 367	17800, 17000, 18000	511	15,8	144/7678
46	MeCN		233, 283, 364	21300, 21600, 20600	512	18,6	148/7941
47	MeCN-H ₂ O (7:3, об/об)		236, 280, 363	22000, 21500, 19500	522	13,4	159/8391
48	DMCO		283, 373	18600, 17400	527	8,3	154/7834
49	DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)		284, 376	17300, 15600	533	4,4	157/7834
50	DMCO- H ₂ O (1:9, об/об)		281, 378	15100, 12300	515	4,5	137/7038
51	DMCO-буфер (1:1, об/об)		284, 377	17600, 16100	536	1,4	159/7868
52	29м	CHCl ₃	246, 303, 387	14200, 26600, 14300	518	7,1	131/6535
53		MeOH	243, 299, 373	14600, 30500, 16500	551	2,0	178/8661
54		MeCN	243, 298, 376	11700, 28400, 13300	552	4,8	176/8480
55		MeCN-H ₂ O (7:3, об/об)	244, 297, 377	12200, 29200, 13300	558	1,3	181/8604
56		DMCO	303, 385	39700, 17800	561	1,3	176/8149
57		DMCO- H ₂ O (1:1, об/об)	300, 386	37200, 17000	561	<1,0	175/8081
58		DMCO- H ₂ O (1:9, об/об)	306, 397	31700, 14800	542	2,1	145/6739
59		DMCO-буфер (1:1, об/об)	301. 387	38400, 17400	565	<1,0	178/8141

[а] $C = 5,0 \times 10^{-5}$ М; [б] $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М для **29а,м** $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М для **29и-л**; [в] Относительный квантовый выход, определенный относительно стандарта (раствор хинин сульфата; $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М в 0,1 М H₂SO₄ с QY = 54,0 %); [г] Сдвиг Стокса.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фотооблучение проводилось с помощью фотореактора Acceled, Penn Photon Devices, LLC 1055 Mensch Dam Road Pennsburg, PA 18073, США, оснащенного светодиодами с длиной волны 365 и 420 нм.

Методика фотолиза биоконъюгатов

Соединения (2 мг) растворяли в кварцевой пробирке в смеси MeCN-H₂O (7:3, об/об) (10 мл). Раствор ($c = 4,2 \times 10^{-4} \text{M}$) облучали в фотореакторе при длине волны 365 или 420 нм и интенсивности света 20 или 50%. Через равные промежутки времени отбирали аликвоты по 1 мл. Анализ отобранных аликвот проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1290 Infinity II, оснащенный УФ-диодно-матричным детектором и tandemным квадрупольным времяпролетным (Q-TOF) точным масс-детектором Agilent 6545 Q-TOF LC-MS (Agilent Technologies Inc., Санта-Клара, Калифорния, США). Хроматографическое разделение выполняли с использованием колонки Zorbax Eclipse Plus C18 2,1 мм × 50 мм × 1,8 мкм (959757-902, Agilent Technologies) с дополнительной защитной колонкой 5 мм (821725-901, Agilent Technologies). Температура термостата колонки составляла 35°C, а вводимый объем составлял 1 мкл. Подвижная фаза была приготовлена из растворителя А, содержащего 0,1% (об/об) муравьиной кислоты в воде, и растворителя В, содержащего 0,1% муравьиной кислоты (об/об) в ацетонитриле. Применяли градиентное элюирование с изменением концентрации растворителя В от 5% до 100% в течение 5 минут со скоростью потока 0,4 мл/мин. Прибор Q-TOF работал с электроспреем в качестве источника ионов в режиме положительных и отрицательных ионов в следующих условиях: температура сушильного газа 350 °C (азот, 10 л/мин); давление распылителя 40 фунтов на квадратный дюйм; напряжение капилляра 3500 В; и напряжение фрагментатора 90 В.

Ионы сканировались в диапазоне m/z 100–1700, а скорость сбора данных составляла 1,5 спектра/с. Элементный состав обнаруженных соединений подтверждался путем измерения точной массы с погрешностью не более 5 ppm и характера изотопного распределения. Определение выхода 4-метоксибензойной кислоты и *N*-Вос-глицина в ходе фотореакции проводили методом ВЭЖХ-МСВР на системе ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II, соединенной с точным масс-спектрометром Q-TOF Agilent 6545 Q-TOF LC-MS (Agilent Technologies, США) в условиях анализа, используемых для изучения хода реакции. Обнаружение кислоты в анализируемых растворах проводили на основе точных масс и времен удерживания пиков соответствующих стандартных образцов. Количественное

определение соединений проводили с использованием соответствующих им стандартных калибровочных кривых, построенных для ионов $[M + H]^+ = 153,0546$ (4-метоксибензойная кислота) и $[M + H]^+ = 76,0393$ (глицин) с диапазоном концентраций приблизительно 0,4 - 50,0 мкг/мл и 3-77 мкг/мл соответственно.

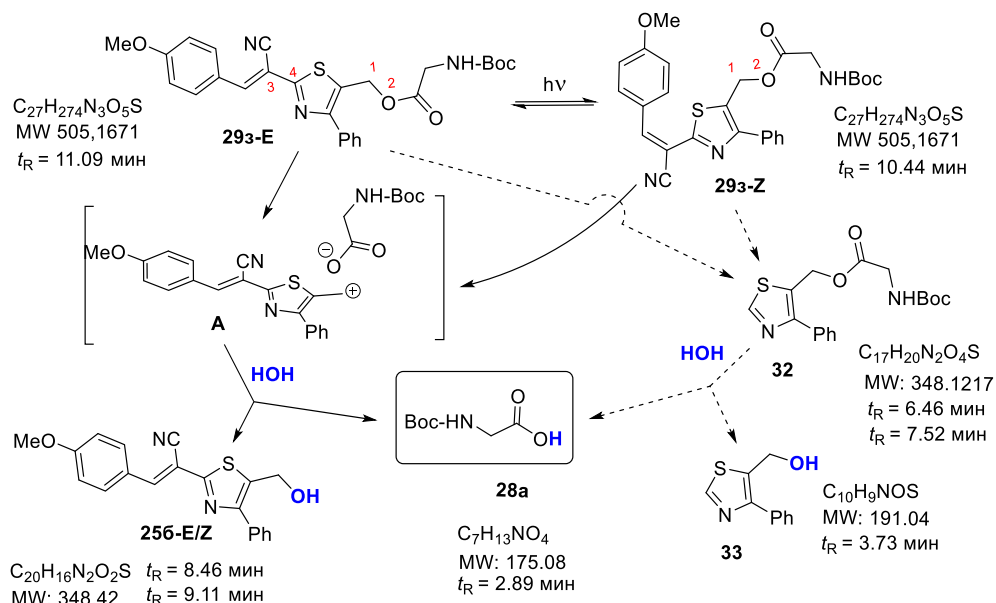


Рис. 1. Схема фотодиссоциации соединения **29z** в MeCN-H₂O (7:3, об/об), основанная на литературных и экспериментальных данных.

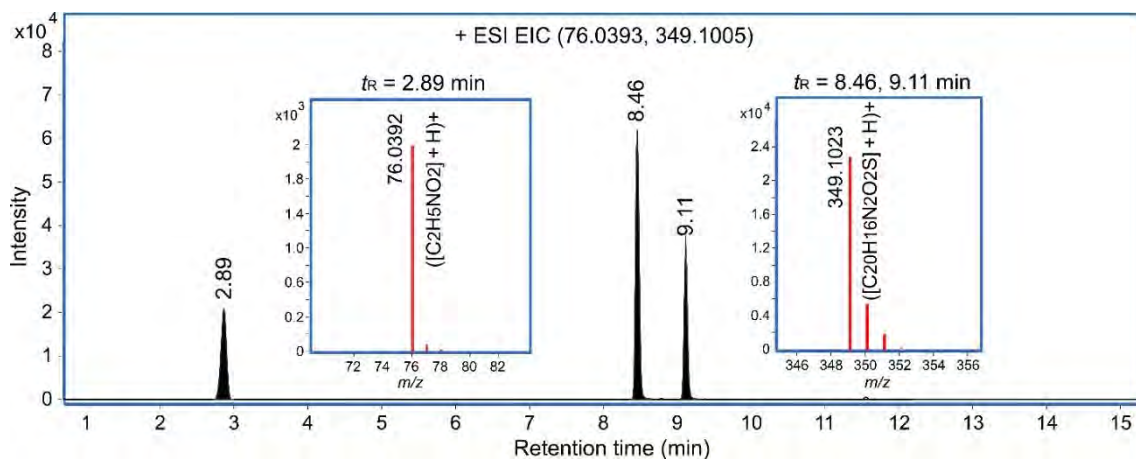


Рис. 2. Хроматограммы ионов при $t_R = 2,89$ мин и 8,46, 9,11 мин после 5 мин облучения (мощность 50%, $\lambda_{обл} = 365$ нм) раствора **29z** в MeCN-H₂O (7:3, об/об) и соответствующие масс-спектры.

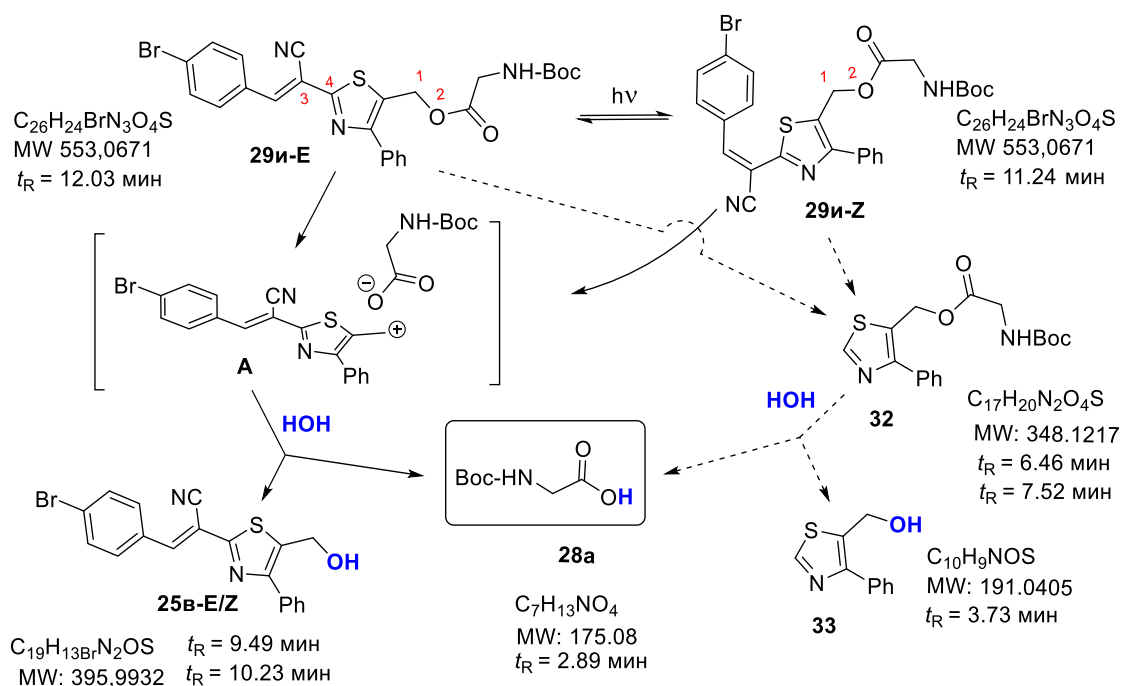


Рис. 3. Схема фотодиссоциации соединения **29и** в MeCN-H₂O (7:3, об/об), основанная на литературных и экспериментальных данных.

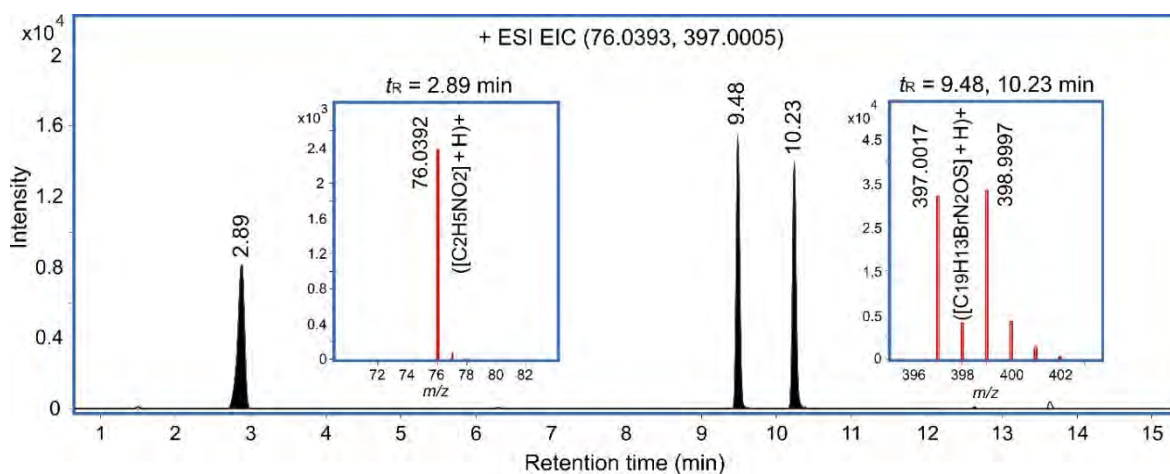
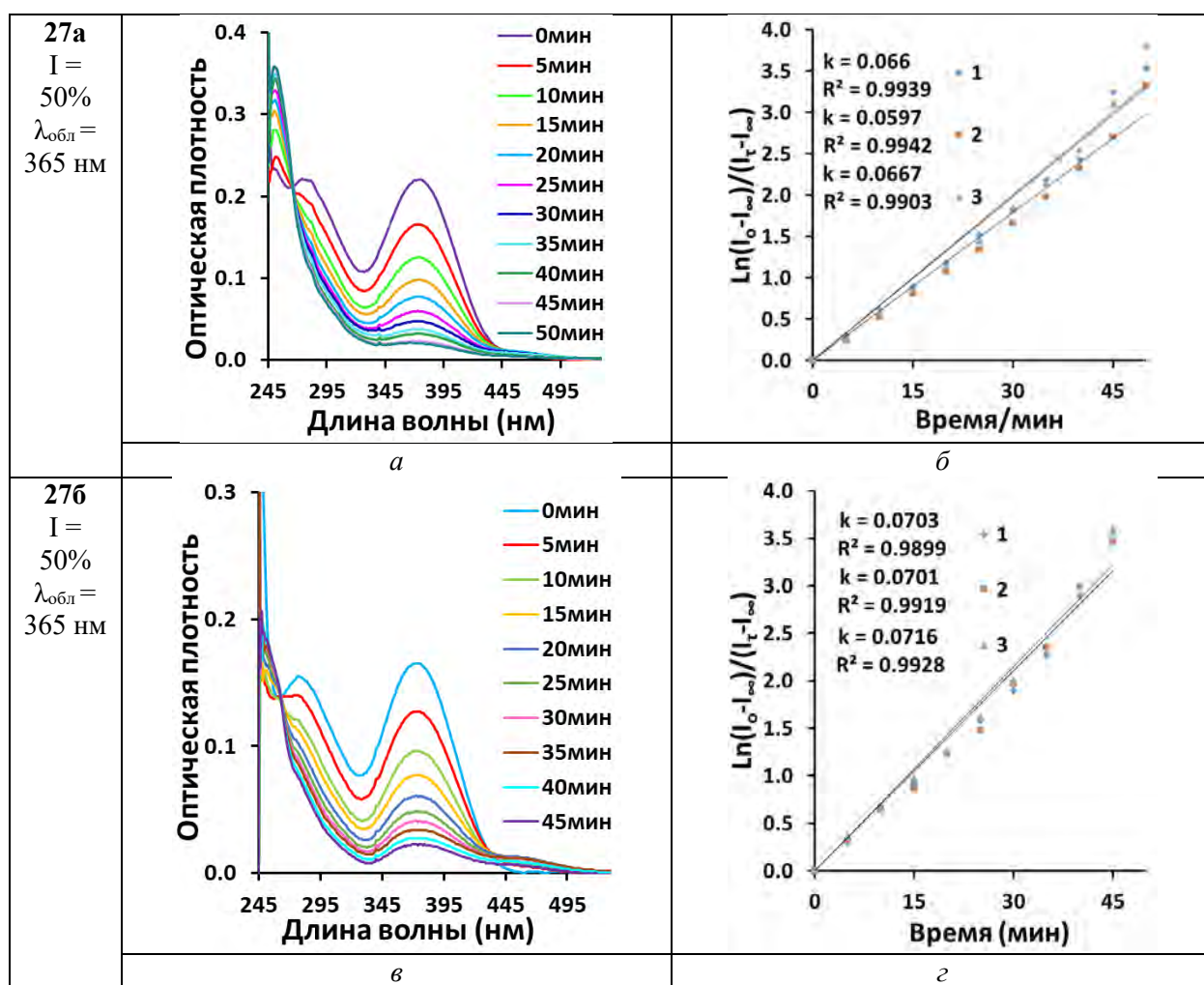


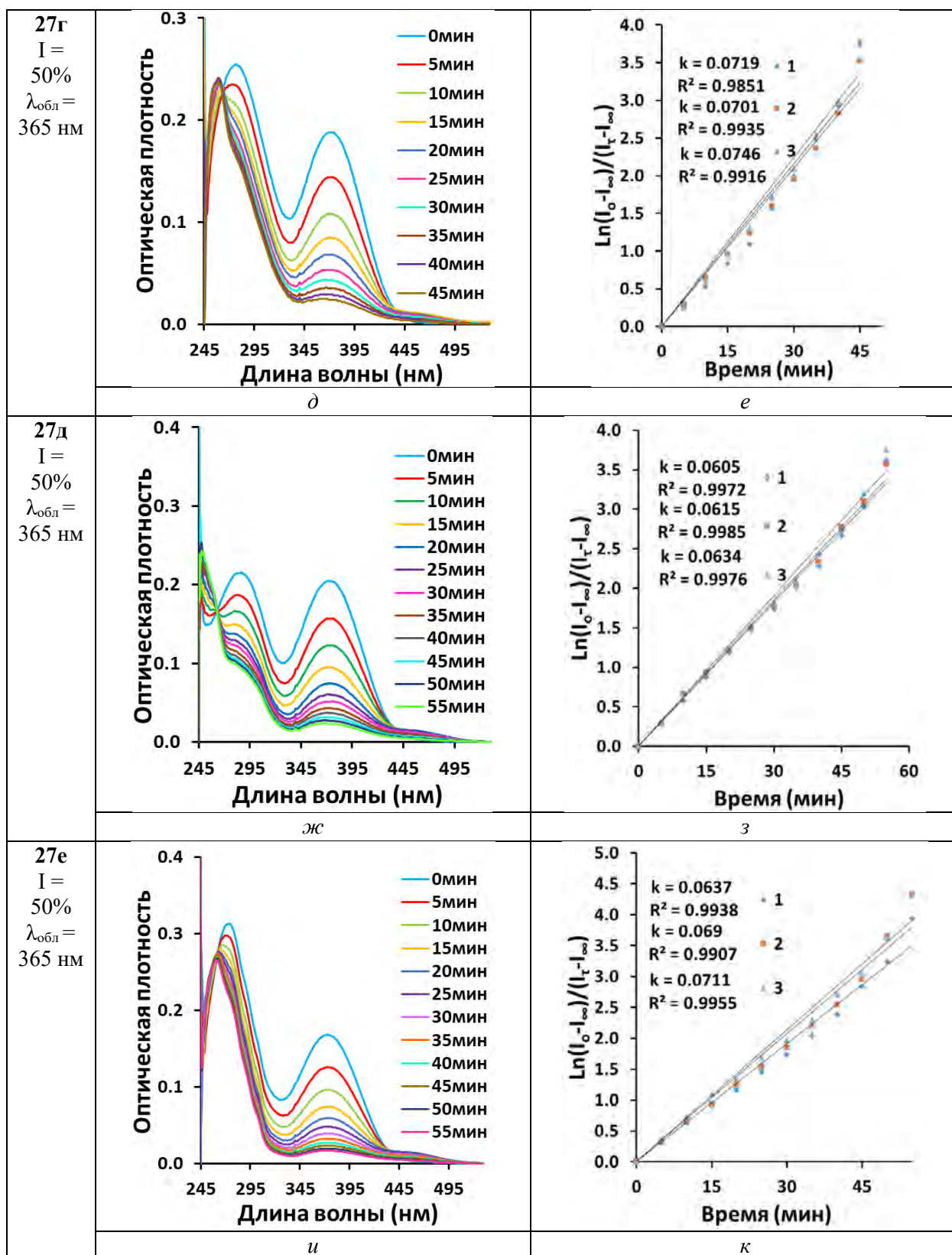
Рис. 4. Хроматограммы ионов при $t_R = 2,89$ мин и $9,48, 10,23$ мин после 5 мин облучения (мощность 50%, $\lambda_{обл} = 365$ нм) раствора **29и** в MeCN-H₂O (7:3, об/об) и соответствующие масс-спектры.

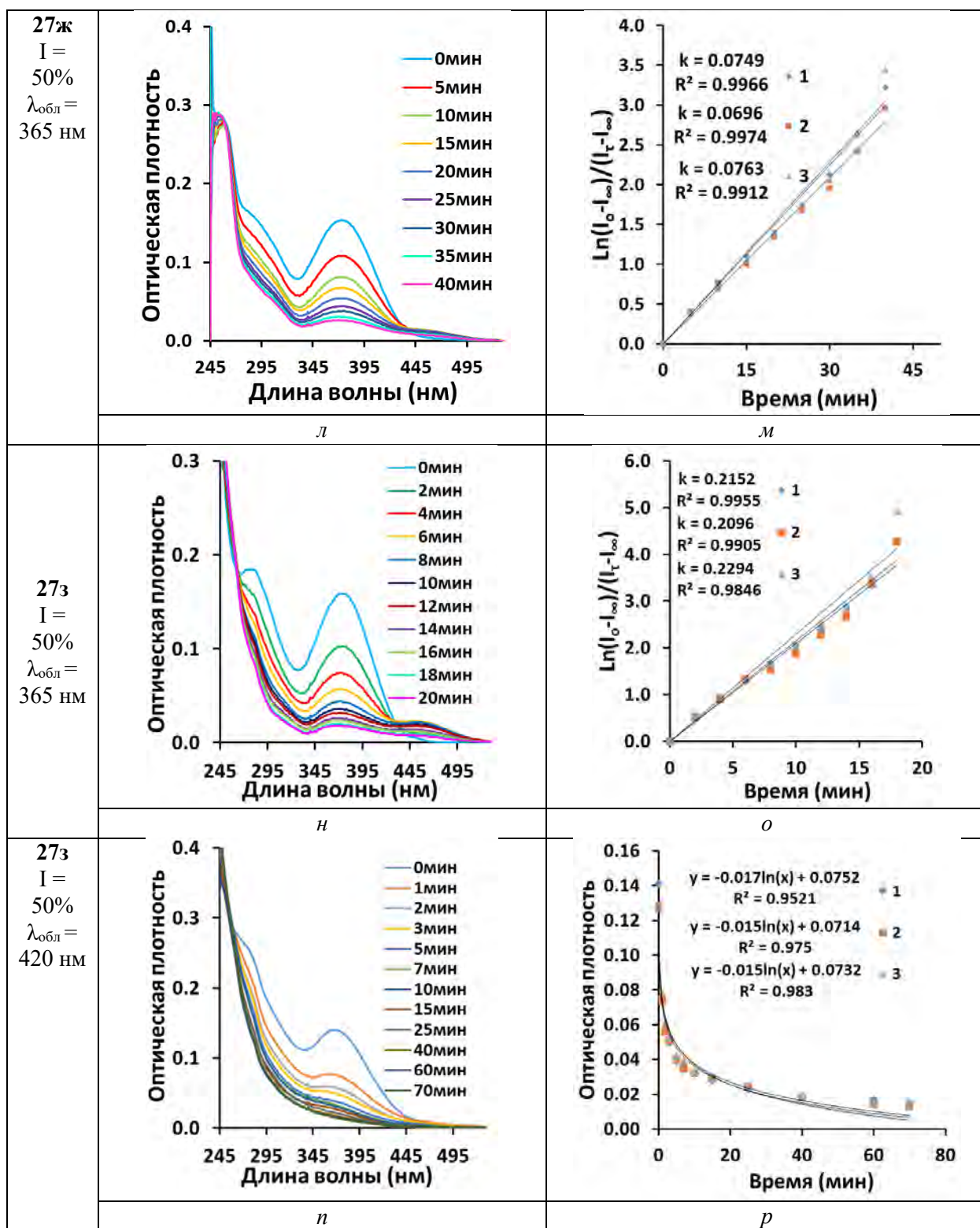
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. КИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

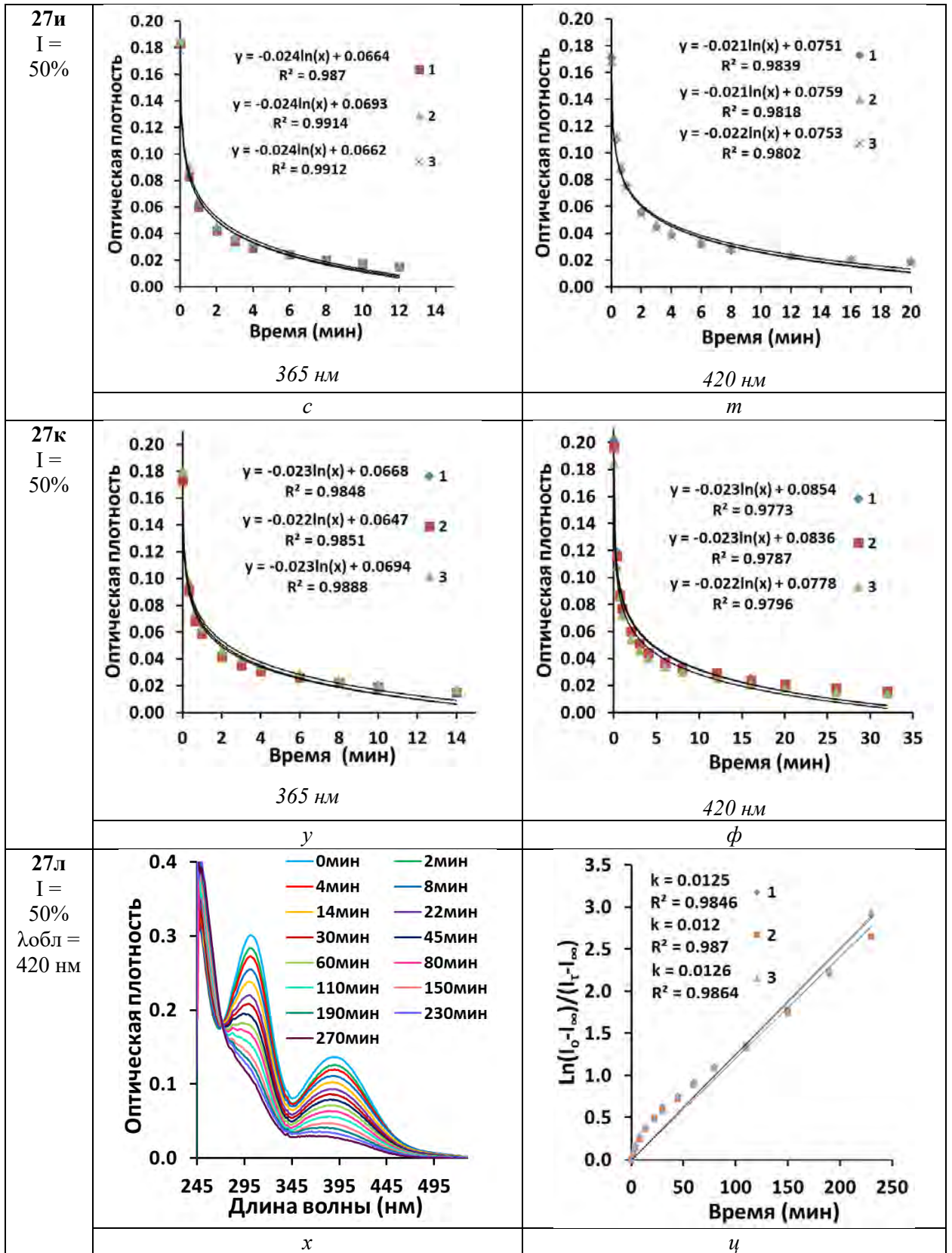
Кинетическое уравнение, описывающее изменение концентрации во времени, совпадает с уравнением реакции первого порядка, где в спектрах поглощения концентрация пропорциональна интенсивности поглощения гибридов. Константу скорости (k) определяли с помощью уравнения: $\ln(I_0 - I_\infty)/(I_t - I_\infty) = kt$; где I_0 — начальная интенсивность поглощения раствора, I_∞ — интенсивность этого раствора в конце превращения, а I_t — интенсивность раствора в момент времени t . Наблюдаемые константы скорости (k) и стандартное отклонение определяли из нескольких кинетических экспериментов для каждого образца. В случае отклонения кривой от уравнения первого порядка время полупревращения определялось по логарифмической линии тренда.

Фотооблучение проводилось с помощью фотореактора Acceled, Penn Photon Devices, LLC 1055 Mensch Dam Road Pennsburg, PA 18073, США, оснащенным светодиодами с длиной волны 365 и 420 нм.









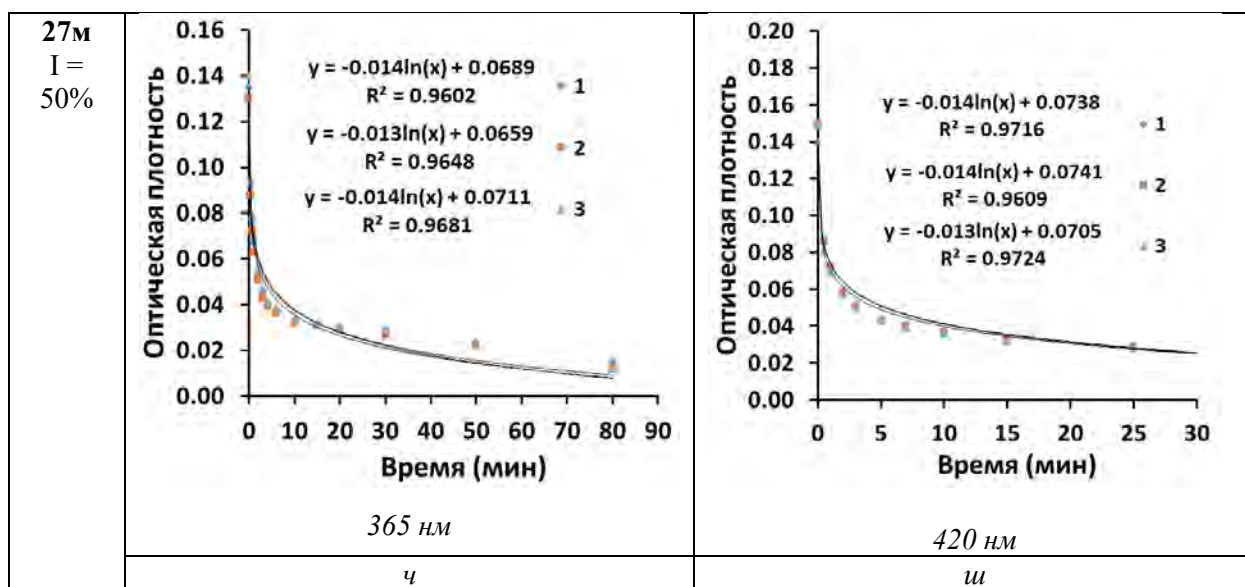
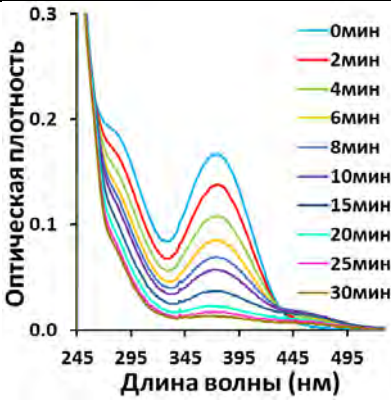
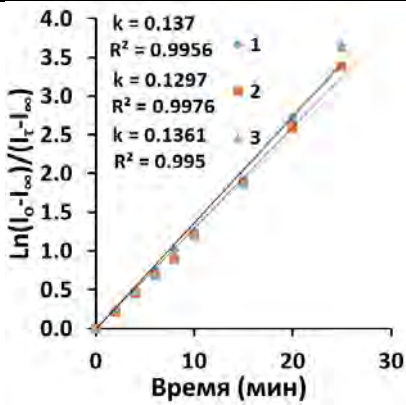
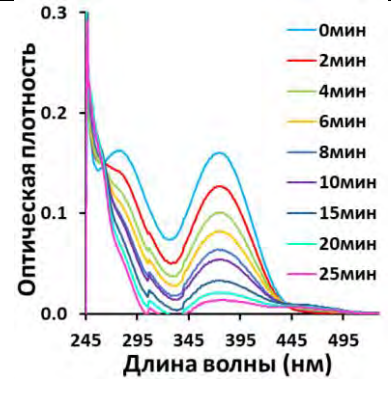
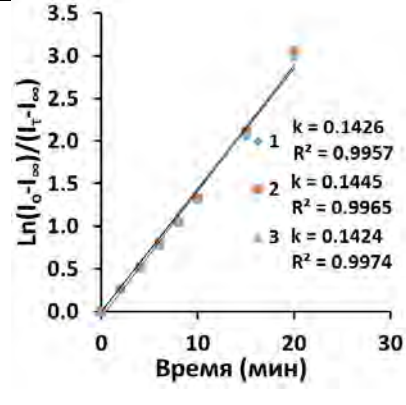
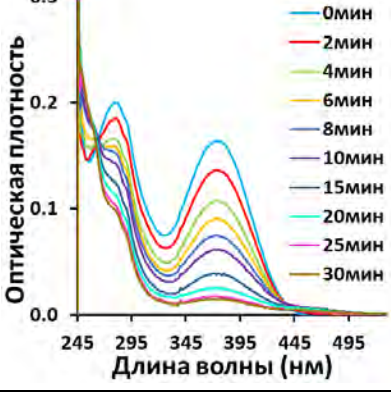
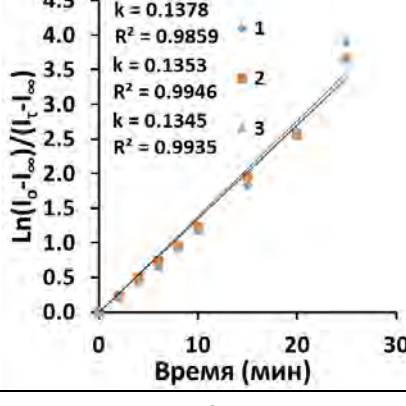
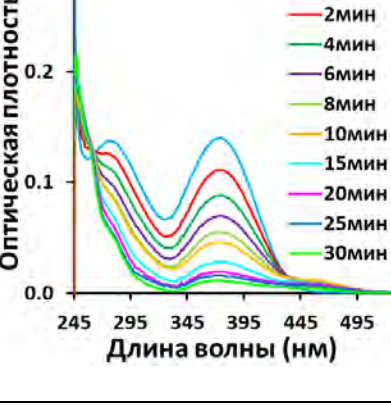
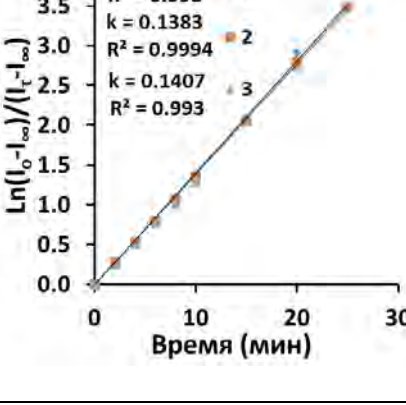
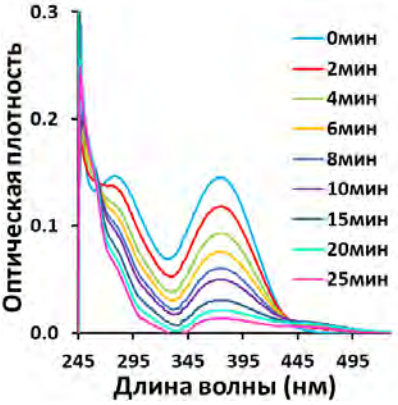
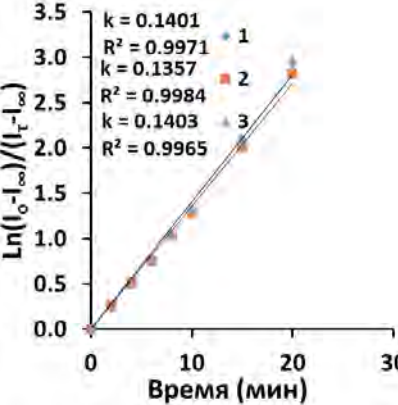
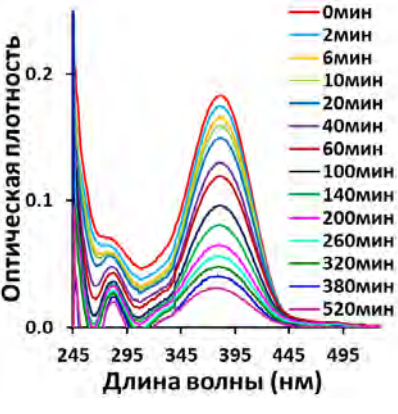
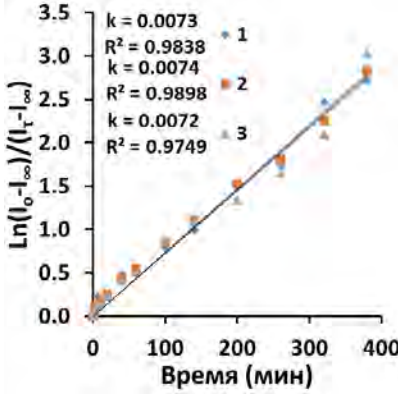
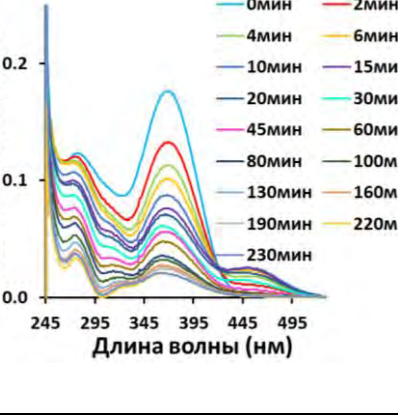
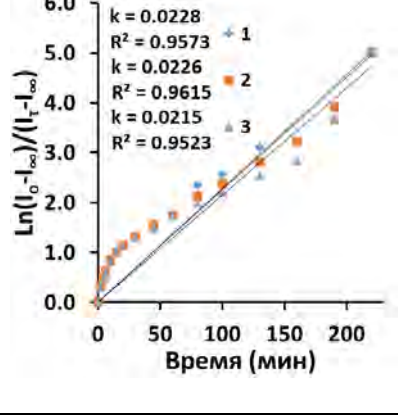
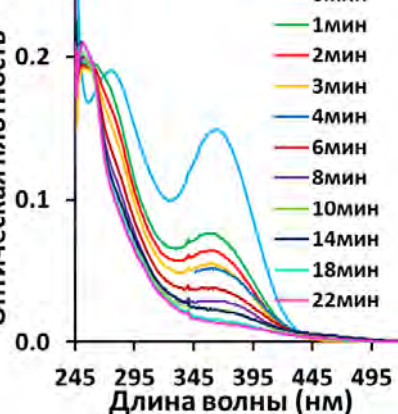
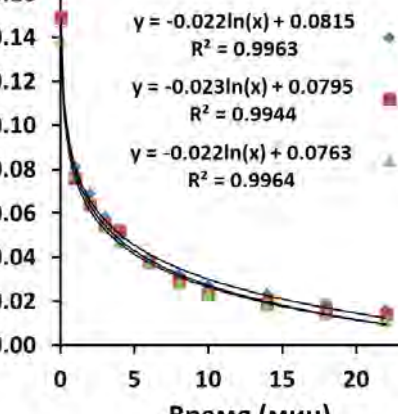


Рис. 1. (а, в, д, ж, и, л, н, п, л) Изменение спектров поглощения растворов **27а,б,г-з,л** ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М) в бинарной смеси растворителей ДМСО-буфер (рН 7,5). (б, г, е, з, к, м, о, ц) График зависимости $\ln[(I_0 - I_\infty)/(I_\tau - I_\infty)]$ от τ для **27а,б,г-з,л**. (р-ф, ч, ш) График зависимости оптической плотности от τ для **27з-к,м**.

<p>29а I = 50% $\lambda_{\text{обл}} = 365 \text{ нм}$</p>		
<p>29а I = 50% $\lambda_{\text{обл}} = 420 \text{ нм}$</p>		
<p>29а I = 20% $\lambda_{\text{обл}} = 365 \text{ нм}$</p>		
<p>29б I = 50% $\lambda_{\text{обл}} = 365 \text{ нм}$</p>		

<p>29в I = 50% $\lambda_{\text{обл}} = 365 \text{ нм}$</p>		 <p> $k = 0.137$ $R^2 = 0.9956$ 1 $k = 0.1297$ $R^2 = 0.9976$ 2 $k = 0.1361$ $R^2 = 0.995$ 3 </p>	
<i>и</i>		<i>к</i>	
<p>29г I = 50% $\lambda_{\text{обл}} = 365 \text{ нм}$</p>		 <p> $k = 0.1426$ $R^2 = 0.9957$ 1 $k = 0.1445$ $R^2 = 0.9965$ 2 $k = 0.1424$ $R^2 = 0.9974$ 3 </p>	
<i>л</i>		<i>м</i>	
<p>29д I = 50% $\lambda_{\text{обл}} = 365 \text{ нм}$</p>		 <p> $k = 0.1378$ $R^2 = 0.9859$ 1 $k = 0.1353$ $R^2 = 0.9946$ 2 $k = 0.1345$ $R^2 = 0.9935$ 3 </p>	
<i>н</i>		<i>о</i>	
<p>29е I = 50% $\lambda_{\text{обл}} = 365 \text{ нм}$</p>		 <p> $k = 0.1397$ $R^2 = 0.998$ 1 $k = 0.1383$ $R^2 = 0.9994$ 2 $k = 0.1407$ $R^2 = 0.993$ 3 </p>	
<i>п</i>		<i>р</i>	

<p>29ж I = 50% $\lambda_{обл} = 365$ нм</p>	 <p style="text-align: center;"><i>c</i></p>	 <p style="text-align: center;"><i>t</i></p>
<p>29з I = 50% $\lambda_{обл} = 365$ нм</p>	 <p style="text-align: center;"><i>y</i></p>	 <p style="text-align: center;"><i>phi</i></p>
<p>29и I = 50% $\lambda_{обл} = 365$ нм</p>	 <p style="text-align: center;"><i>x</i></p>	 <p style="text-align: center;"><i>psi</i></p>
<p>29к I = 50% $\lambda_{обл} = 365$ нм</p>	 <p style="text-align: center;"><i>ch</i></p>	 <p style="text-align: center;"><i>sh</i></p>

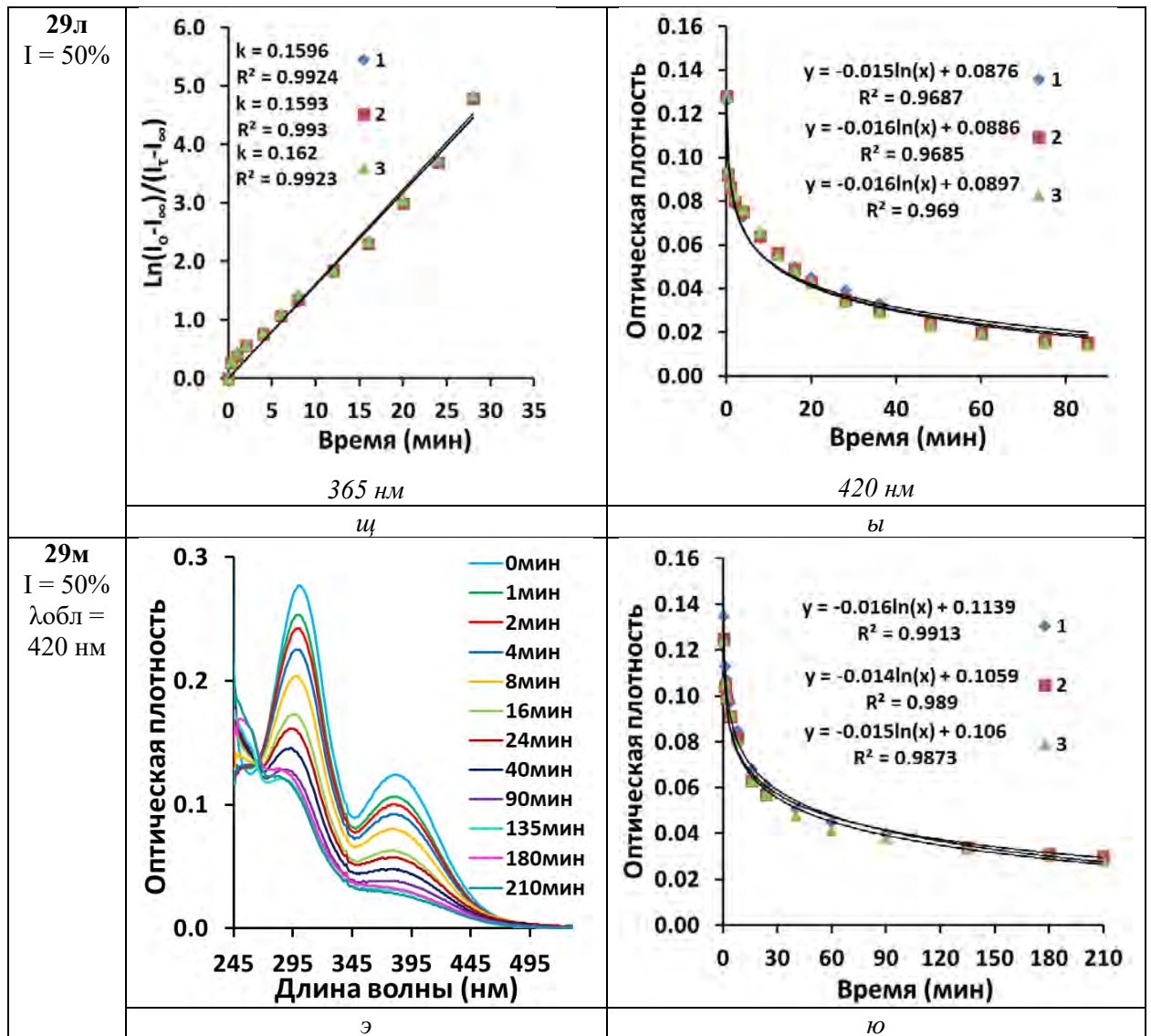
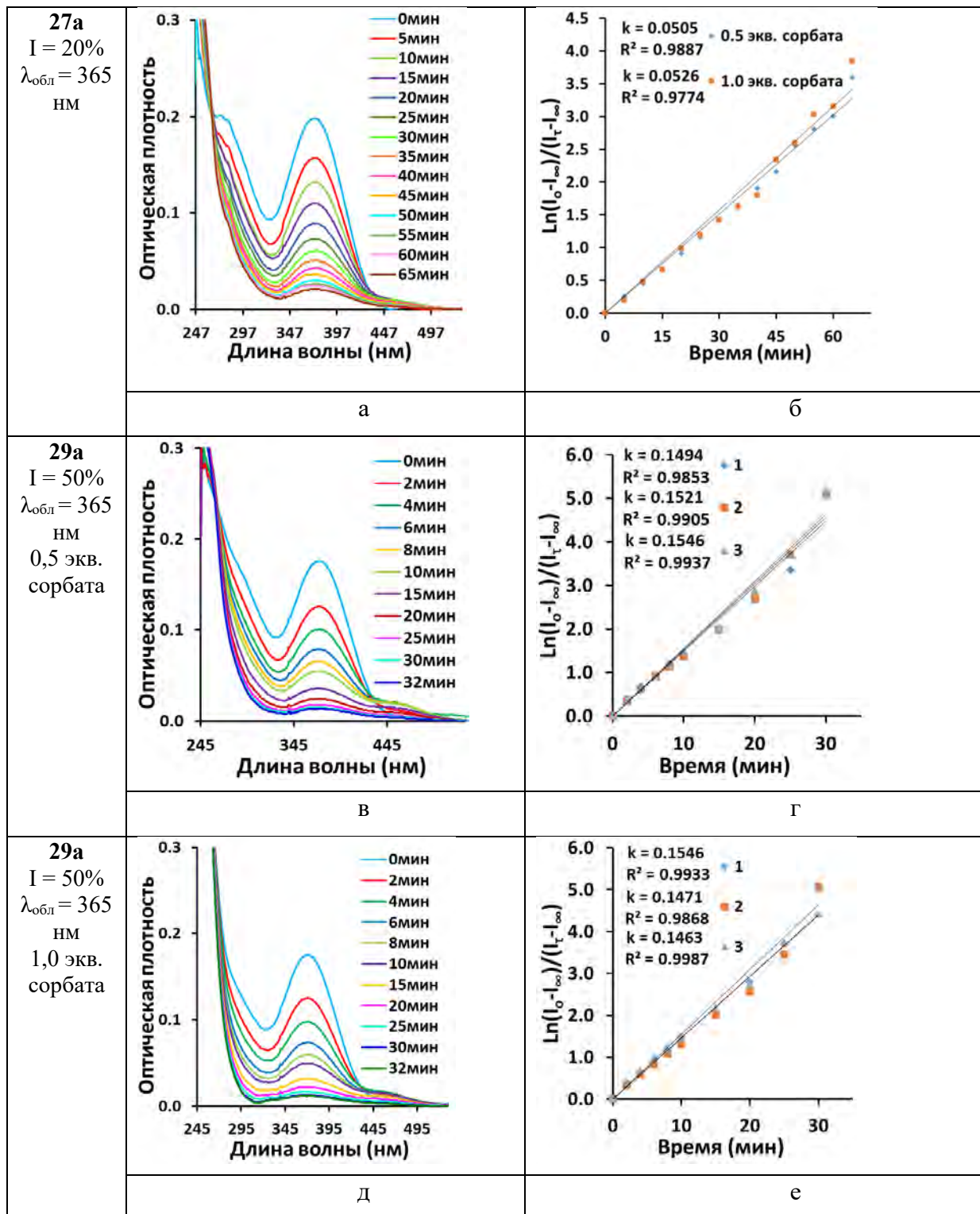


Рис. 2. (а, в, д, ж, и, л, н, п, с, у, х, ч, э) Изменение спектров поглощения раствора **29а-к,м** ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М) в бинарной смеси растворителей ДМСО-буфер (рН 7,5). (б, г, е, з, к, м, о, р, т, ф, ц, щ) График зависимости $\ln[(I_0 - I_\infty)/(I_t - I_\infty)]$ от τ для **29а-и,л**. (ш, ы, ю) График зависимости оптической плотности от τ для **29к-м**.

Эксперимент с сорбатом калия

В кюветы с концентрацией раствора $C = 1,0 \times 10^{-5}$ М добавляли 0,5 и 1,0 экв. раствора сорбата калия в фосфатном буфере. Спектры поглощения регистрировались через регулярные промежутки времени (интервал 5 минут) после облучения, начиная с 0 минут.



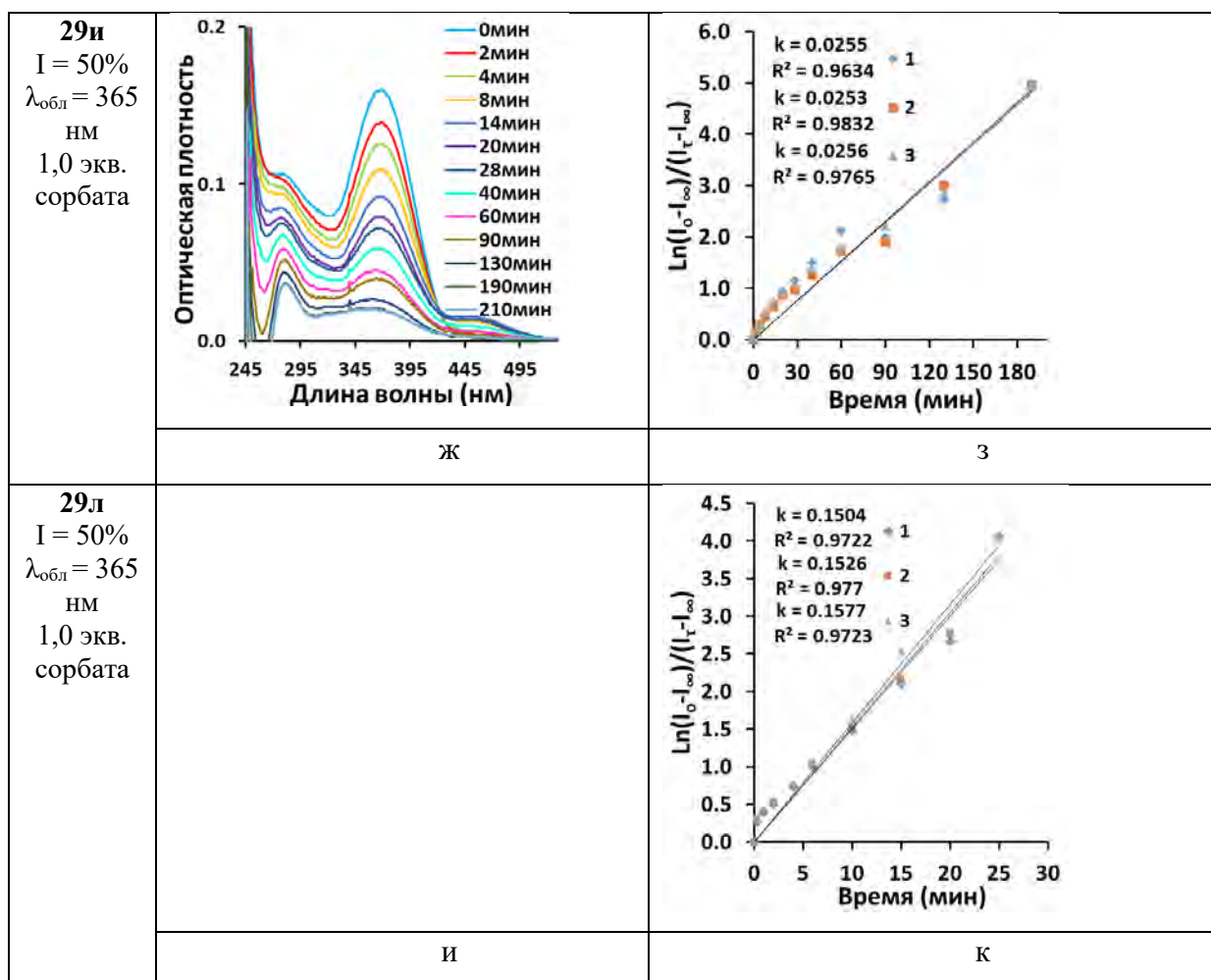


Рис. 3. (а,в,д,ж) Изменение спектров поглощения растворов **27а, 29а,и,л** ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М) в бинарной смеси растворителей ДМСО-буфер (рН 7,5). (б,г,е,з,к) График зависимости $\ln[(I_0 - I_\infty)/(I_t - I_\infty)]$ от τ для **27а, 29а,и,л**.

ПРИЛОЖЕНИЕ 5. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Культивирование клеток

Для биологических испытаний были использованы культуры клеток Vero (эпителиальные клетки зеленой мартышки), полученные из банка культур клеток Института цитологии РАН (Россия, Санкт-Петербург). Культуры клеток поддерживали в культуральных колбах (JetBiofil, Китай), в среде DMEM (HiMedia, Индия) с добавлением 3% фетальной телячьей сыворотки (Биолот, Россия) и раствора гентамицина-стрептамицина (Биолот, Россия).

Протокол окрашивания

Клетки были разбавлены до концентрации 10^3 клеток на мл, затем помещены во флаконы со стеклянным дном (Jet Biofil., Китай) с последующей конфокальной микроскопией. Раствор красителя в ДМСО (в концентрации 10^{-3} ммоль/л) добавляли из расчета 10 мкл на 1 мл питательной среды. После окрашивания препараты дважды промывали фосфатным буфером (Биолот, Россия) и DMEM, в которой впоследствии проводили микроскопические исследования.

Конфокальное и микроскопическое исследование

Микроскопическое исследование проводилось на оборудовании Центра коллективных исследований научного оборудования НИЦ ИИФ УрО РАН. После окрашивания и отмывки живые клетки исследовали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM-710, Carl Zeiss, имеющего многоканальный детектор QUASAR (34 канала). Использовались лазеры с длинами волн 405, 488 нм. Для получения информативного флуоресцентного изображения в специальном программном обеспечении ZEN использовался специальный лямбда-режим (λ -режим), позволяющий определить диапазон излучения с максимальным контрастом для данного препарата. Далее изображения были обработаны с помощью программного обеспечения Image.

Для минимизации светового воздействия на образец первоначальная регулировка фокуса проводилась при использовании лазера с длиной волны 633 нм, как наименее энергетически доступной. Спектры излучения веществ также извлекались из изображений, полученных в лямбда-режиме. Однако необходимо уточнить, что конфокальный микроскоп не является спектрофлуориметром, и спектры флуоресценции, полученные с его помощью, могут быть недостоверными. Обработка изображений проводилась с помощью программы FIJI, для обработки лямбда-изображений, полученных с помощью конфокального микроскопа, был написан скрипт на Python, позволяющий обрабатывать файлы формата .lsm. Скрипт доступен на Github (<https://github.com/arteys/PyLSM>). Для изучения явления

снижения яркости красителя под действием светового излучения (фотообесцвечивания) клетки окрашивались красителем по описанной выше методике. Экспозиция света проводилась с той же интенсивностью лазера, которая необходима для получения изображения с адекватным контрастом. Не меняя интенсивность лазера, последовательно регистрировали серию изображений в течение 30 секунд. Затем по изображениям определяли интегральную интенсивность флуоресценции и строили графики.

Оценка локализации веществ

Для уточнения локализации исследуемого вещества клетки дополнительно окрашивали флуоресцентными красителями, окрашивающими известные клеточные органеллы. Перед этим клетки, выращенные в специализированных конфокальных чашках, окрашивали исследуемым веществом. Для этого к клеткам добавляли раствор вещества в концентрации 10 мкМ в питательной среде, после чего инкубировали в течение получаса. Затем среду удаляли, клетки трижды промывали фосфатным буфером, а затем окрашивали клетки коммерческим красителем.

Для окрашивания митохондрий использовали MitoTracker Red CMXRos (Thermo Scientific, США). Для окрашивания готовили раствор красителя в концентрации 100 нМ в питательной среде DMEM и добавляли к клеткам, инкубацию проводили в течение 30 минут, затем клетки трижды промывали фосфатным буфером и изучали с помощью конфокального микроскопа. Длина волны возбуждения — 561 нм, эмиссия регистрировалась в диапазоне 600-650 нм.

Для окрашивания лизосом использовали краситель LumiTracker Lyso Red (Lumiprobe, Россия). Для окрашивания готовили раствор красителя в концентрации 50 нМ в питательной среде DMEM и добавляли к клеткам, инкубировали в течение 5 минут, затем клетки трижды промывали фосфатным буфером и исследовали с помощью конфокального микроскопа. Длина волны возбуждения — 561 нм, эмиссия регистрировалась в диапазоне 600-650 нм.

Для окрашивания липидных капель использовали краситель BDP 650/665 (Lumiprobe, Россия). Для этого клетки фиксировали в течение 5 минут 4% раствором PFA при комнатной температуре, затем трижды промывали фосфатным буфером. После этого к клеткам добавляли раствор красителя в фосфатном буфере в концентрации 10 мкМ, и инкубировали клетки с красителем в течение 20 минут при 37 градусах в темноте. После инкубации клетки промывали фосфатным буфером и исследовали с помощью конфокального микроскопа. Длина волны возбуждения — 633 нм, эмиссия регистрировалась в диапазоне 650-680 нм.

Для окрашивания эндоплазматического ретикулума использовали наш собственный краситель, описанный в статье [209]. Краситель добавляли к клеткам в виде раствора в фосфатном буфере в концентрации 10 мкМ, после чего клетки инкубировали в течение 5 минут. После инкубации клетки промывали фосфатным буфером и исследовали с помощью конфокального микроскопа. Длина волны возбуждения – 488 нм, эмиссия регистрировалась в диапазоне 520–580 нм.

МТТ-тест

МТТ-тест — доступный тест для скрининга цитотоксичности различных веществ в клеточных культурах. Данный метод основан на изучении активности митохондрий, связанной с жизнеспособностью клеток. В нормальных условиях митохондриальные ферменты клеток способны восстанавливать желтый тетразолиевый краситель 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолий бромид до нерастворимого формазана, имеющего фиолетовую окраску. Исследуемые вещества готовили в рабочих концентрациях из раствора в ДМСО путем растворения их в полной питательной среде до необходимой концентрации. Для исследования клетки высевали в 96-луночный планшет (JetBiofil, Китай) и выращивали до 70% монослоя, после чего среду отбирали и заменяли на приготовленную среду с добавлением исследуемого вещества. Инкубацию с исследуемым веществом проводили в течение 30 минут, 4 и 24 часов, после чего среду заменяли на полную питательную среду с добавлением МТТ (в концентрации 1 мг/мл) и инкубировали в течение 2 часов. Далее среду удаляли и в лунки планшета помещали по 100 мкл ДМСО. После полного растворения красителя оценивали интенсивность окрашивания с помощью планшетного фотометра при длине волны 570 нм.