

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого
Президента России Б.Н. Ельцина»

На правах рукописи



Гагарин Алексей Андреевич

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

1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Екатеринбург – 2025

Работа выполнена на кафедре технологии органического синтеза Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор,

БЕЛЬСКАЯ Наталия Павловна

Официальные оппоненты:

ВАЦАДЗЕ Сергей Зурабович,

доктор химических наук, профессор, профессор РАН, ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва, заведующий лабораторией супрамолекулярной химии;

ОЗЕРЯНСКИЙ Валерий Анатольевич, доктор химических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, профессор кафедры органической химии;

КОСТЮЧЕНКО Анастасия Сергеевна, кандидат химических наук, ФГАОУ ВО «Омский государственный технический университет», доцент кафедры химии и химической технологии

Защита состоится «19» мая 2025 года в 14-00 часов на заседании диссертационного совета УрФУ 1.4.06.09 по адресу: 620062, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, И-420 (зал Ученого совета).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»: <https://dissovet2.urfu.ru/mod/data/view.php?d=12&rid=7038>

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Поспелова Татьяна Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 C=C 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 РНФ № 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)бутadiensовый фрагмент во втором положении цикла и флуоресцентных 2-арилдентиазолов 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 арилдентиазолов 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-арилдентиазола. Установлено влияние комбинации структурных фрагментов во втором, четвертом и пятом положениях цикла на оптические свойства.

✓ Впервые получены биоконъюгаты 2-арилден-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 ретикулуме (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 арилдентиазолы с настраиваемыми фотофизическими свойствами и показаны перспективы их использования для биовизуализации. Разработан метод синтеза и получены биоконъюгаты на основе 2-арилден-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-арилиден-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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

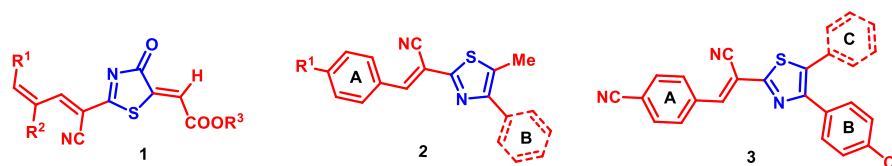
Глава 1. Синтез и свойства тиазолов и 4-тиазолидинонов

В этой главе приведен обзор литературы по методам синтеза и модификации, фотофизическим свойствам и биологической активности производных тиазола и 4-тиазолидинона. Доступность исходных реагентов и разнообразие синтетических подходов, хорошие фотофизические свойства и биологическая активность тиазолов и их производных делают их привлекательным объектом для получения новых флуорофоров и лекарственных веществ.

Глава 2. Обсуждение результатов

В качестве объектов исследования были выбраны тиазолидиноны **1** и тиазолы **2,3**, содержащие бутадиеновый и арилиденовый фрагменты соответственно, во втором положении цикла (Схема 1).

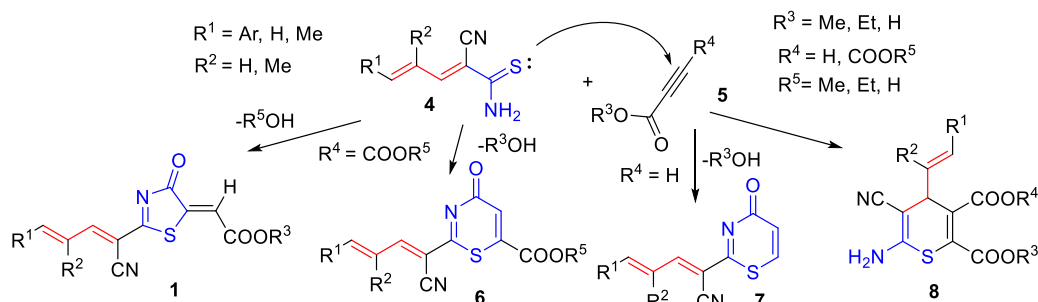
Схема 1



2.1. Синтез и свойства 2,3-дигидро-5H-тиазоло[3,2-a]пиридинов и пиридотиазин-9-карбонитрилов

Удобным методом конструирования тиазолидинонового цикла является реакция карботиоамидов с производными ацетиленкарбоновой кислоты.

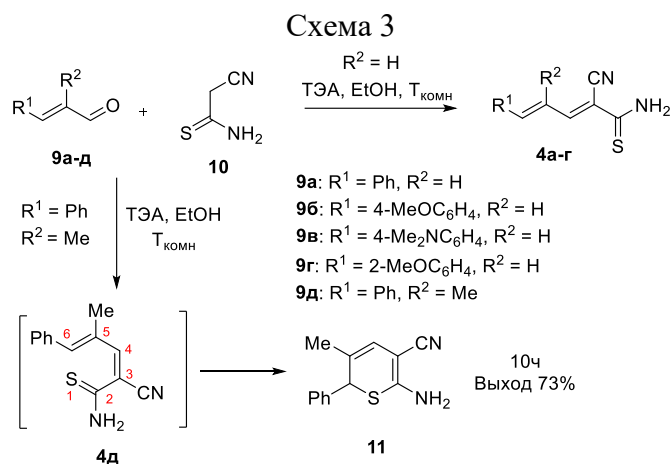
Схема 2



В ходе этой реакции возможно осуществление различных по механизму взаимодействий в зависимости от растворителя, условий реакции, наличия в структуре фрагментов и заместителей, различных по электронной природе и пространственным факторам (Схема 2). В ходе превращений можно ожидать образования тиазолидинонов **1**, тиазинов **6**, **7** и тиопиранов **8**.

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

Для синтеза исходного 5-фенил-2-цианопента-2,4-диентиаамида **4а** были проведены эксперименты по оптимизации условий предложенного в литературе метода¹, поскольку



воспроизведение методики оказалось малоэффективным (Таблица 1, строки 1–3). В результате исследования было показано, что решающим фактором является снижение температуры реакции до комнатной. Изменение температурных условий позволило получить уже описанные и новые 2-цианопента-2,4-диентиаамиды **4а-г** с хорошим выходом (Схема 3, Табл. 1, строки 6, 10–12).

Таблица 1

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

№, п/п	Соединение		Основание (экв.)	Температура (°С)	Время, (ч)	Выход, (%)		
	№	R ¹						
1 ^a	4а	Ph	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) ^б	22	24,0	30		
9			NMM (0.10)	22	5,0	65		
10			4б	4-MeOC ₆ H ₄	ТЭА (0.05)	22	1,0	75
11			4в	4-Me ₂ NC ₆ H ₄	ТЭА (0.05)	22	4,0	82
12			4г	2-MeOC ₆ H ₄	ТЭА (0.05)	22	6,0	24

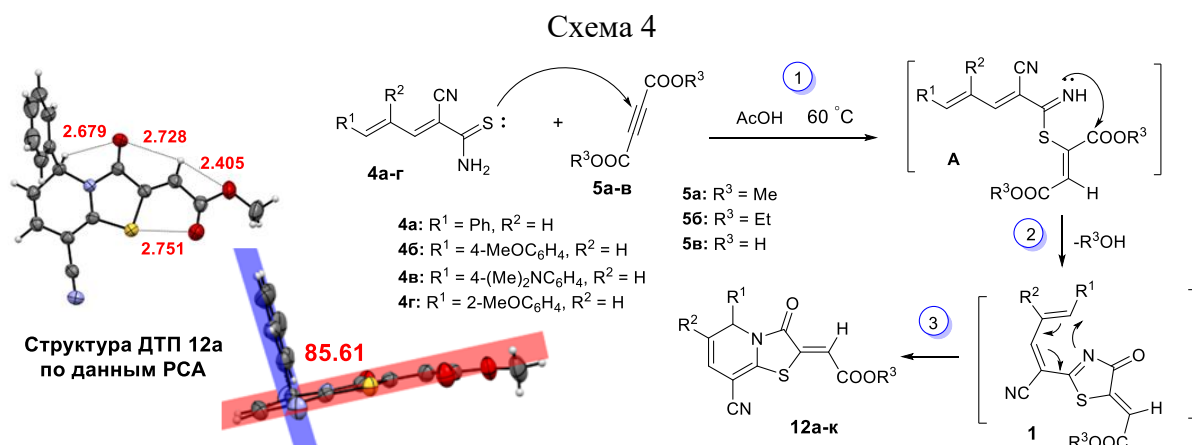
[а] Литературные данные; [б] в реакционной массе присутствует большое количество исходных реагентов; [в] NMM - N-метилморфолин.

Следует отметить, что конденсация α-метилкоричного альдегида **9д** с цианотиоацетамидом **10** не только при комнатной температуре, но даже при охлаждении приводит к получению 2Н-тиопирана **11д** в результате электроциклизации промежуточно образующегося тиоамида **4д**. Структура полученных соединений **4а-г** и **11д** доказана с помощью ЯМР ¹H и ¹³C спектроскопии, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.

¹ Ho Y. W., Wang I. J. //Journal of Heterocyclic Chemistry. – 1995. – V. 32. – №. 3. – P. 819–825.

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

Реакцию 5-фенил-2-цианопента-2,4-диентиамида **4а** с диметилловым эфиром ацетилендикарбоновой кислоты (ДМАД) **5а** проводили при 60 °С в уксусной кислоте (Схема 4, Табл. 2). При завершении реакции (ТСХ) выделение продукта проводили с помощью колоночной хроматографии после отгонки растворителя под вакуумом. Анализ данных ЯМР ¹H, ¹³C спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения показал, что структура синтезированного соединения соответствует структуре 2,3-дигидро-5H-тиазоло[3,2-*a*]пиридина (ДТП) **12а**.



Можно предположить, что образование ДТП **12а** произошло по многостадийному механизму, включающему (1) присоединение, (2) циклоконденсацию и образование 2-(бута-1,3-диен-1-ил)тиазолидинона **1**, (3) циклизация которого приводит к формированию конденсированной бициклической системы (Схема 4). Данные РСА², полученные для кристалла ДТП **12а**, выращенного из разбавленного раствора в ДМСО, подтвердили образование 2,3-дигидро-5H-тиазоло[3,2-*a*]пиридинового цикла в ходе исследуемой реакции.

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

Таблица 2

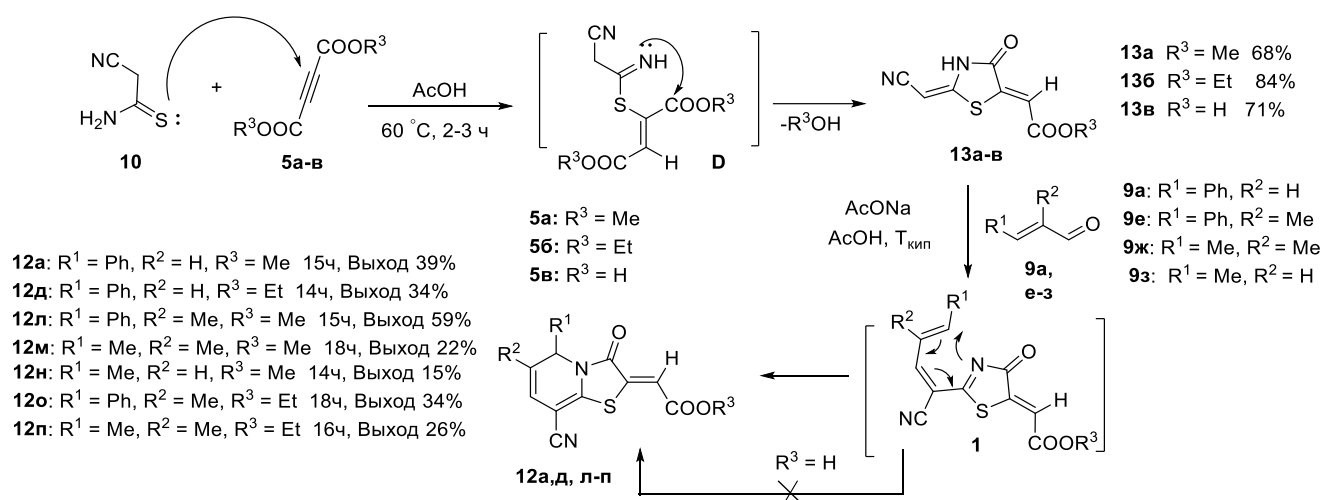
Выходы ДТП **12а-к** и время превращения в реакции тиаомидов **4а-г** с производными ацетилендикарбоновой кислоты **5а-в**.

№ 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

² Рентгеноструктурный анализ проведен к.х.н Слепухиным П.А., ИОС УрО РАН

Ключевым интермедиатом этого превращения является тиазолидинон **1** (Схема 4), который может быть предварительно получен альтернативным методом при конденсации соответствующих α,β -ненасыщенных альдегидов **9** с 4-оксотиазолидинами **13**. В этом случае можно избежать побочного превращения цианопента-2,4-диентиамидов в тиопираны, которое является существенным препятствием для вовлечения в превращение более широкого круга исходных соединений. Синтез тиазолидинона **13а** был ранее описан в литературе в хлороформе при комнатной температуре. Основываясь на ранее обнаруженном активизирующем влиянии уксусной кислоты на взаимодействие тиоамидов **4** с ДМАД **5а**, мы провели реакцию цианотиоацетамида **10** с ацетилендикарбоновой кислотой **5в** и ее эфирами **5а,б** при нагревании в АсОН (Схема 5).

Схема 5

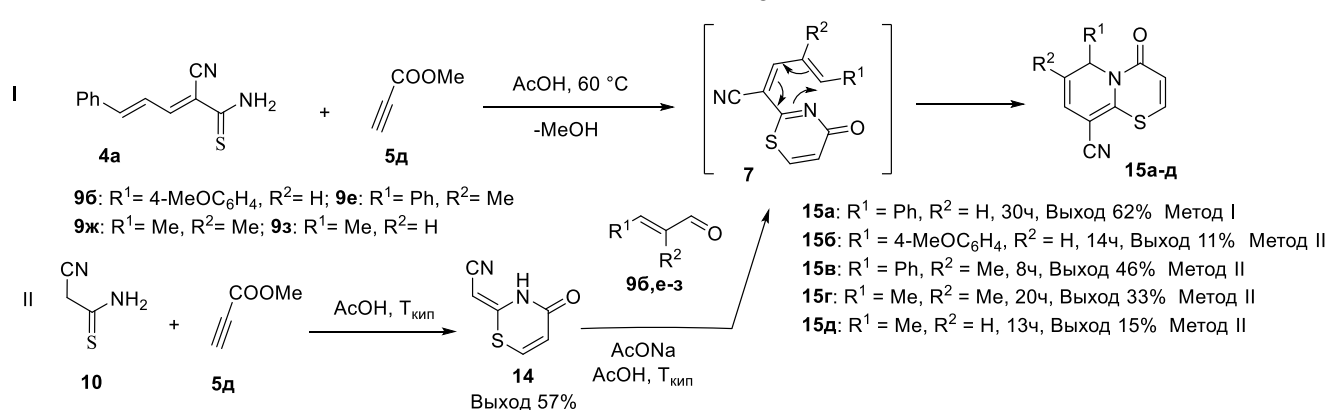


Конденсация тиазолидинонов **13а** и **13б** с коричным альдегидом при кипячении в уксусной кислоте привела к образованию ДТП **12а** и **12д** (Схема 5). Реакция тиазолидинонов **13а** и **13б** с метилкоричным, тиглиновым и кротоновым альдегидами **9е-з** привела к получению новых ДТП **12л-п**. Все полученные продукты были выделены с помощью жидкостной колоночной хроматографии, структуры подтверждены с помощью набора спектральных данных.

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

Взаимодействие 2-цианопента-2,4-диентиамидов **4** с метиловым эфиром пропиоловой кислоты в условиях, использованных нами ранее (Схема 4), привело к образованию 4Н,6Н-пиридо[2,1-*b*][1,3]тиазин-9-карбонитрила (ПТЗ) **15а** только для реакции тиоамида **4а** (Схема 6, метод I).

Схема 6

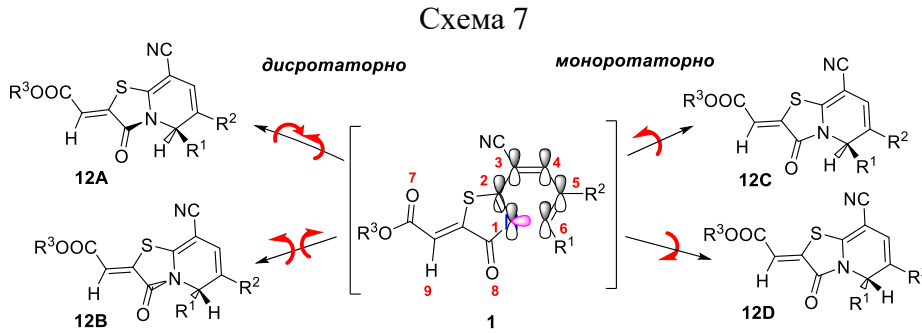


Осуществление альтернативного пути реакции (Схема 6, метод II) через стадию предварительного синтеза тиазинона **14** и далее его взаимодействия с альдегидами **9б, е-з** в

уксусной кислоте позволило синтезировать новые ПТЗ **156-д**. Небольшие выходы конечных продуктов **156,д** связаны с образованием продуктов деструкции исходных реагентов в используемых условиях.

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 4–6). Согласно принципу сохранения орбитальной симметрии, этот процесс должен протекать дисротаторно, и в зависимости от направления вращения орбиталей концевых атомов 1-азагексатриеновой системы возможно образование двух диастереомеров: **12А** и **12В** (Схема 7). В таком случае два цикла, образующие конденсированную гетероциклическую систему, должны быть расположены под углом. Это является следствием формирования новой связи в результате поворота π -орбиталей концевых атомов 1-азагексатриеновой системы на 90° . Однако, присутствие гетероатома в положении 1 гексатриеновой системы интермедиатов **1** и **7**, имеющего несвязывающую орбиталь с двумя электронами, расположенную в плоскости образуемого 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 **12С** и **12Д**, в которых тиазолопиридиновый



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** подтверждаются данными РСА и квантово-химическими расчетами³, полученными для соединения **12а**. 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 7).

2.1.5. Оптические свойства 2,3-дигидро-5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиридинов **12**

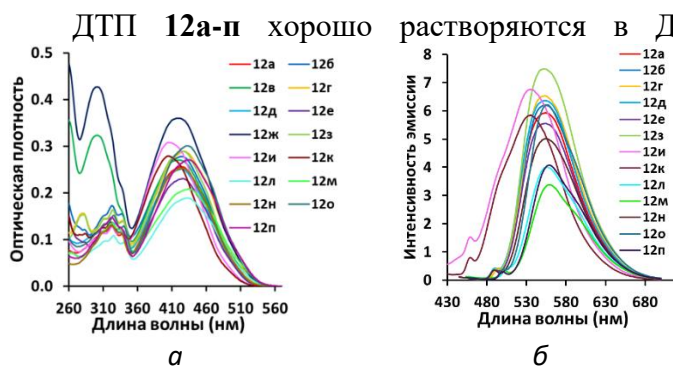


Рис. 1 (а) Спектры поглощения (ДМСО, $C = 2,5 \times 10^{-5}$ М) и (б) эмиссии (ДМСО, $C = 5,0 \times 10^{-6}$ М) ДТП **12а-п**.

³ Расчеты проведены Э. Бенасси, Университет Модены и Реджо-нель-Эмилии, Италия.

характерны большие значения сдвига Стокса (124–132 нм/5141–6096 см⁻¹). Соединение ДТП **12в** не обладает флуоресценцией в растворах ДМСО, ДМСО-Н₂О и MeCN. Однако, добавление к его раствору в ДМСО трифторуксусной кислоты вызывало появление эмиссии, по-видимому, из-за протонирования группы N(Me)₂. Положение длинноволнового максимума поглощения ДТП **12а** практически не изменяется ($\lambda_{\text{погл}} = 416\text{--}423$ нм) в растворителях разной полярности. Максимум эмиссии более чувствителен к полярности растворителя и смещается батохромно от 541 нм в растворе неполярного гексана до 559 нм в полярном ДМСО (Рис. 2б).

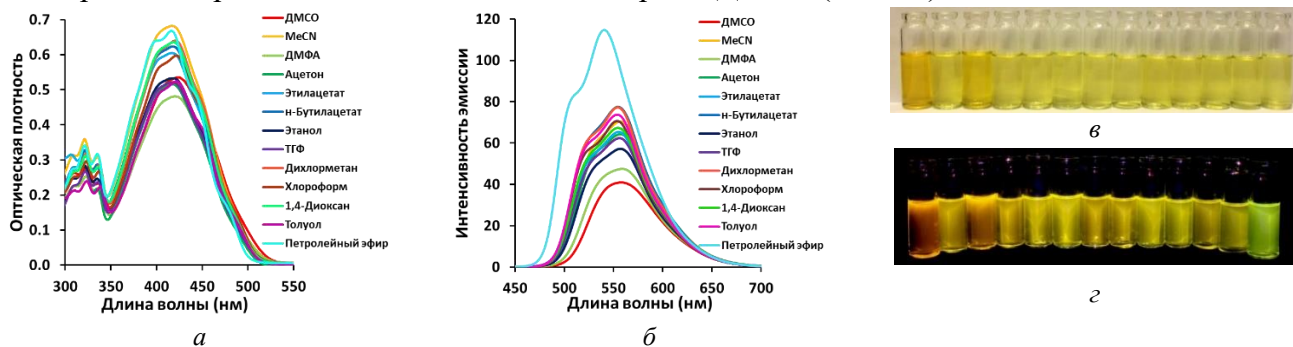


Рис. 2. Спектры (а) поглощения и (б) испускания ДТП **12а** в растворителях с различной полярностью ($c = 5 \times 10^{-5}$ М). Фотографии растворов ДТП **12а** в растворителях с различной полярностью при облучении видимым (в) и УФ-светом (г).

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.

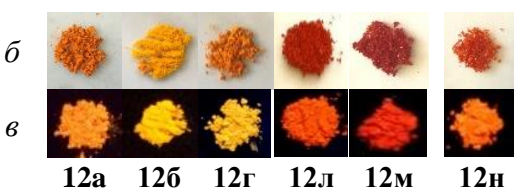
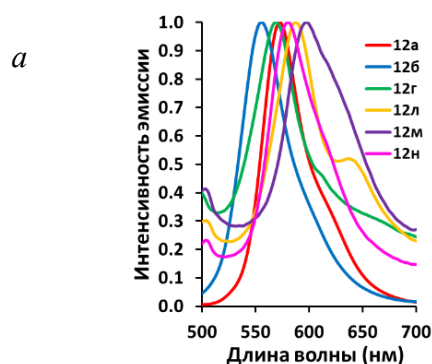


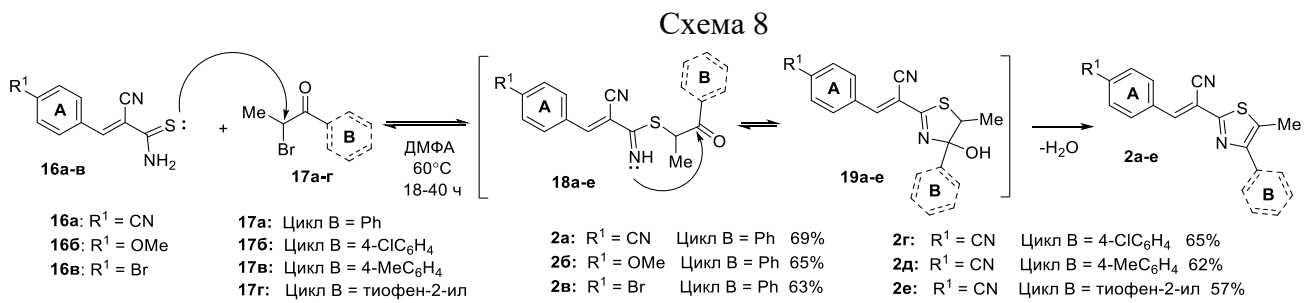
Рис. 3 Спектры (а) эмиссии ДТП **12а,б,г,л-н** в твердом состоянии и фотографии порошков при облучении видимым (б) и УФ-светом (в) 365 нм

увеличивается перенос энергии от возбужденной молекулы к невозбужденной, что снижает интенсивность флуоресценции.

2.2. Синтез и свойства производных 2-арилдигидроимидазола

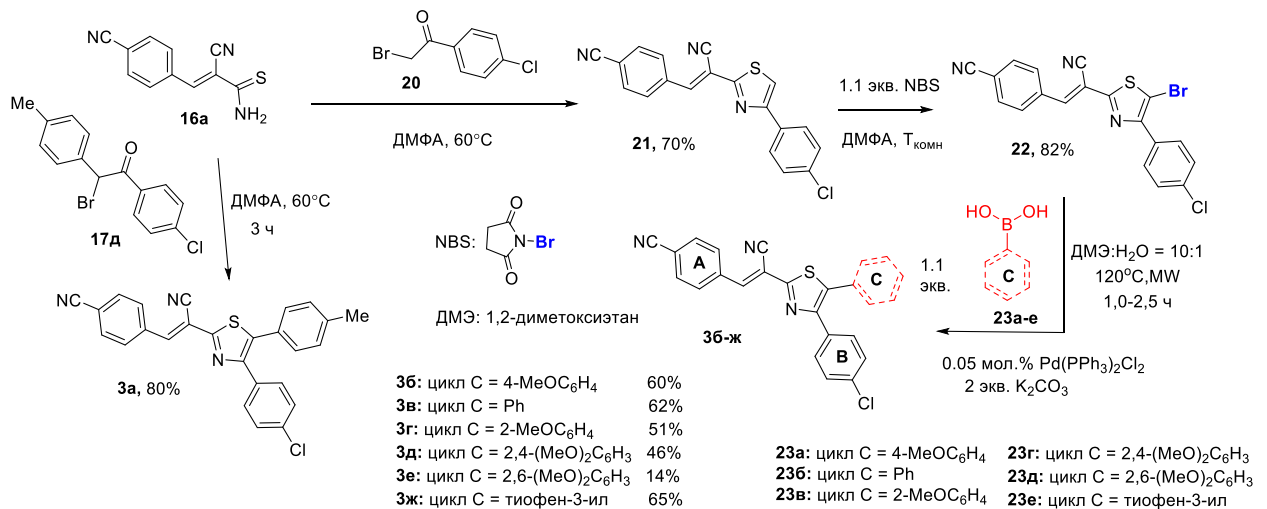
2.2.1. Синтез 4-арил-2-арилиден-5-метилтиазолов и 2-арилиден-4,5-диарилтиазолов

3-Арил-2-(4-арил-5-метилтиазол-2-ил)акрилонитрилы **2а-е** (Me-ATЗ) были получены при нагревании тиоамидов **16а-в** с 1-арил-2-бромпропан-1-онами **17а-г** в ДМФА (Схема 8).



Для получения 4,5-диарилтиазолов (ДАТЗ) **3а-ж** мы воспользовались двумя синтетическими подходами: (1) реакция Ганча арилдентиамида **16а** с 2-бромэтан-1-оном **17д**, которая позволила получить тиазол **3а** в одну стадию и с хорошим выходом (Схема 9), и (2) методика, основанная на модификации тиазола **21** с помощью реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияура (Схема 9) через предварительную активацию субстрата **21** введением атома брома в положение 5 гетероцикла. Кросс-сочетание 5-Br-АТЗ **22** с арилбороновыми кислотами **23а-е** проводили в микроволновом реакторе в присутствии палладиевого катализатора (Pd(PPh₃)₂Cl₂) (Схема 9). 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.

Схема 9



Структура полученных соединений подтверждена комплексом спектральных методов и масс-спектрометрии высокого разрешения.

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

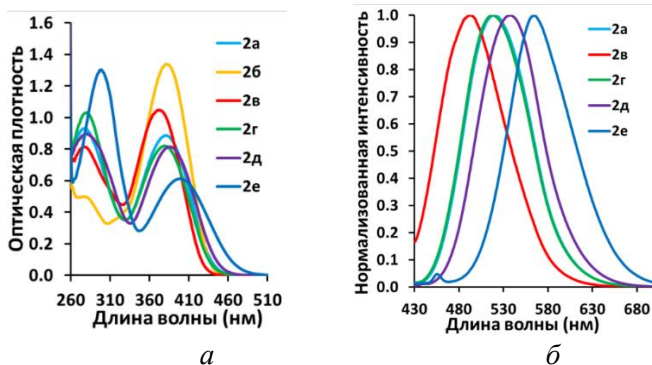


Рис. 4. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (б) испускания Ме-АТЗ **2а-е** ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М для Ме-АТЗ **2а,е**; $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М для Ме-АТЗ **2б-д**) в ДМСО.

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. Длинноволновые максимумы поглощения расположены в области 373–399 нм и характеризуются хорошими

значениями коэффициента молярной экстинкции ($12260\text{--}26800\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) (Рис. 4а). 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 батохромному сдвигу максимума поглощения до 20 нм (1323 cm^{-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. 4б). 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** ($QY = 22\text{--}25\%$).

Результаты исследования оптических свойств флуорофоров Ме-АТЗ **2а,г-е** в растворителях с различной полярностью показали, что их длинноволновые максимумы поглощения изменяются незначительно (Рис. 5а-г).

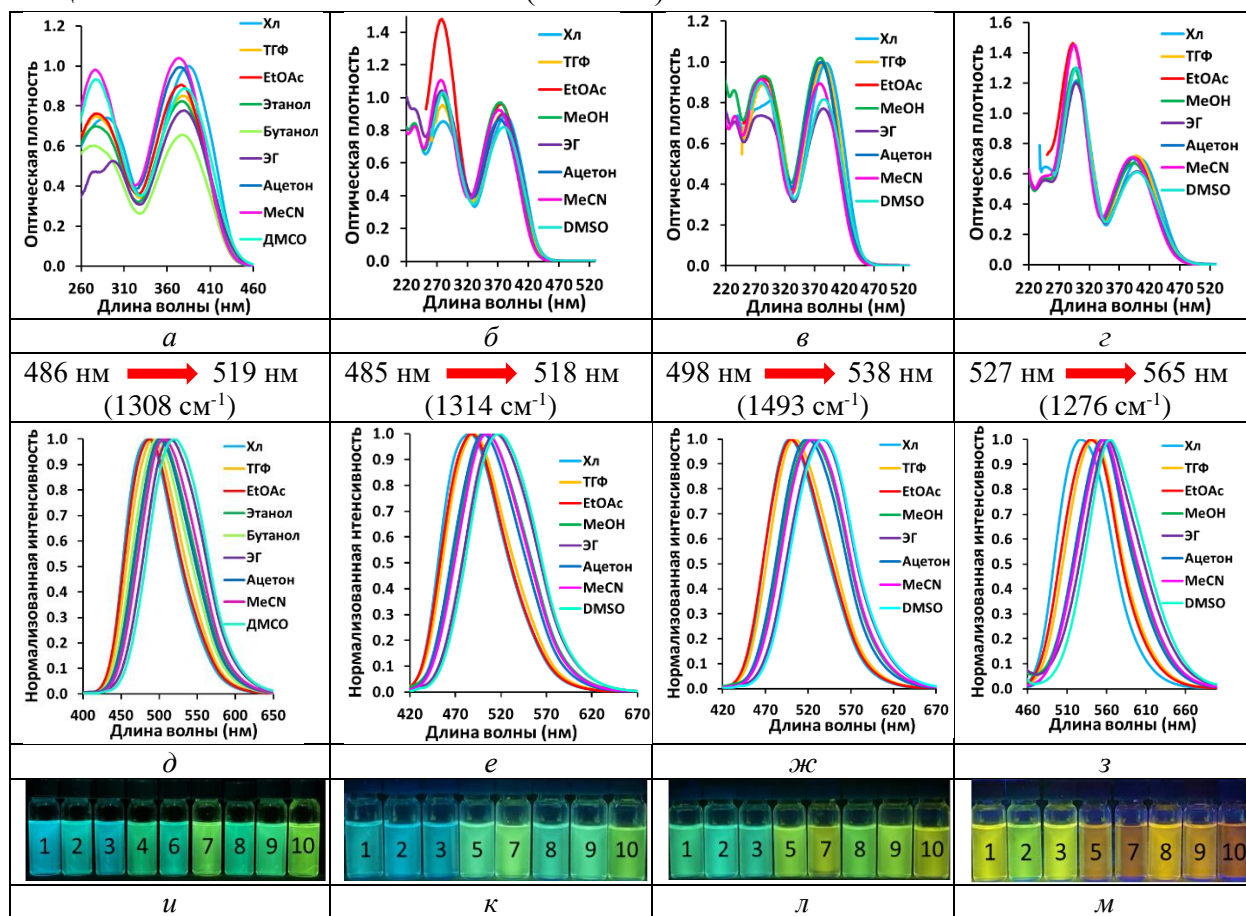


Рис. 5. Спектры (а,б,в,г) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (д,е,ж,з) испускания ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М для Ме-АТЗ **2а,е**; $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М для Ме-АТЗ **2г,д**) Ме-АТЗ **2а,г-е** в различных растворителях. (и,к,л,м) Фотографии растворов Ме-АТЗ **2а,г-е** в различных растворителях 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.

Спектры излучения Ме-АТЗ **2а,г-е** более чувствительны к природе растворителя: максимумы флуоресценции смещаются батохромно в полярных растворителях на 33–40 нм ($1276\text{--}1493\text{ cm}^{-1}$) (Рис. 5д-з), что свидетельствует о проявлении значительной положительной флуорохромии. Наибольшее значение квантового выхода флуоресценции наблюдается для Ме-АТЗ **2д** (Цикл В = 4-МеС₆Н₄) в хлороформе ($QY = 41\%$).

Для растворов Ме-АТЗ **2а,г-е** в ДМСО было определено время жизни флуоресценции. Полученные данные показывают, что соединения **2а,г-е** обладают достаточно большим значением времени жизни флуоресценции ($\langle\tau\rangle_f = 3,31 - 5,58$ нс), а наибольшее значение имеет Ме-АТЗ **2д**. Скорость безызлучательного процесса больше скорости излучательного процесса для всех исследованных соединений.

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

ДАТЗ **3а-ж** представляют собой кристаллические вещества желтого и оранжевого цвета, которые хорошо растворяются в ДМСО, CHCl_3 , CH_2Cl_2 , ацетоне, MeCN и ДМФА. В спектрах поглощения растворов ДАТЗ **3а-ж** в ДМСО длинноволновый максимум расположен в области 387–401 нм (Рис. 6). 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 – 902 см⁻¹) по сравнению с ДАТЗ **3б** (Цикл С = 4-МеОС₆Н₄). Такой эффект может быть связан со стерическими затруднениями, создаваемые заместителями в *о*-положении фенильного кольца С для ДАТЗ **3г,е**.

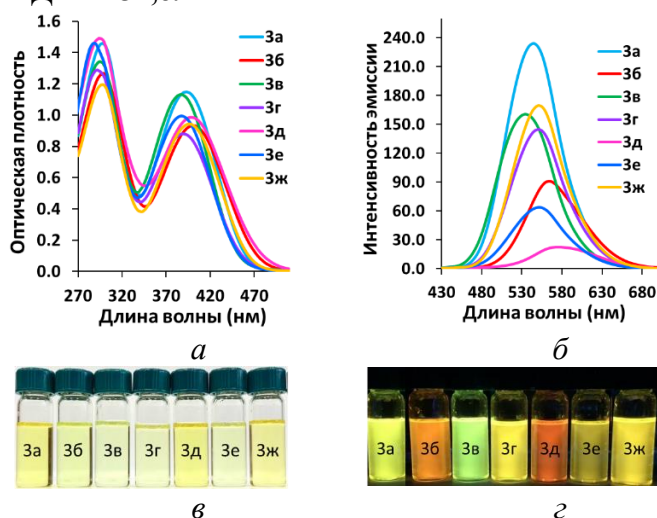


Рис. 6. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (б) испускания ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М) ДАТЗ **3а-ж** в ДМСО. Фотографии растворов ДАТЗ **3а-ж** в ДМСО (в) при видимом свете и (г) при УФ-облучении (365 нм).

Максимальное значение коэффициента молярной экстинкции ДАТЗ **3а-ж** достигает $22900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. В спектрах излучения ДАТЗ **3а-ж** максимумы наблюдаются в области 534–574 нм. Наибольший батохромный сдвиг регистрируется для соединения ДАТЗ **3д**, содержащего в *о*- и *п*-положениях ароматического цикла С сильные электронодонорные группы (МеО). Сдвиг Стокса ДАТЗ **3а-ж** имеет большие значения ($146-173 \text{ nm}/7047-7724 \text{ cm}^{-1}$) (Рис. 6). Значения квантового выхода флуоресценции изменяются в широком диапазоне от 15,9% до 57,8%. ДАТЗ **3а-ж** обладают достаточно большим значением

времени жизни флуоресценции ($\langle\tau\rangle_f = 1,56-4,55$ нс), наибольшее значение зарегистрировано для ДАТЗ **3ж**, содержащего тиофеновый фрагмент в пятом положении тиазола.

Изучение влияния природы растворителя на фотофизические характеристики тиазолов было проведено на примере ДАТЗ **3ж** (цикл С = тиофен-3-ил) (Рис. 7). 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}). Это может быть связано с высокой полярностью возбужденного состояния ДАТЗ **3ж**, что подтверждается результатами квантово-химических расчетов. При увеличении полярности растворителя значительно возрастает величина квантового выхода с 1,4% для гексана до 53,0% в ДМСО.

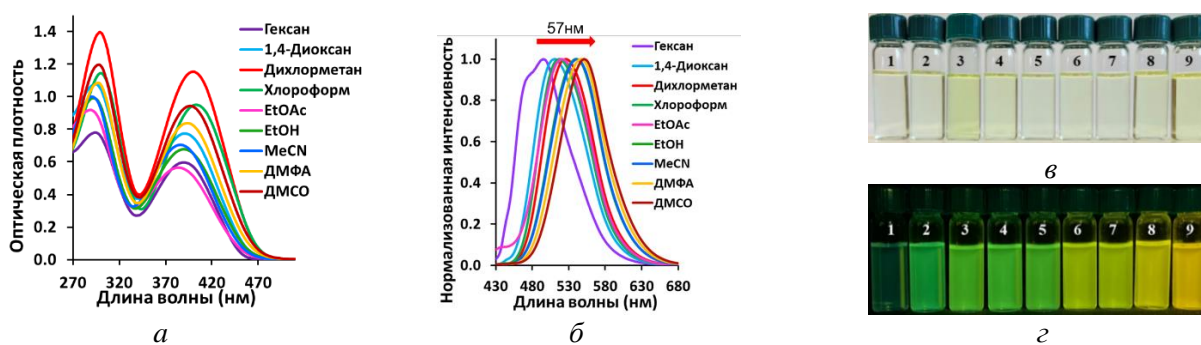


Рис. 7. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (б) испускания ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М) ДАТЗ **3а-ж** в различных растворителях. Фотографии растворов ДАТЗ **3а-ж** в различных растворителях при видимом свете (в) и УФ-облучении (г) (365 нм). Растворители: 1 – Гексан, 2 – 1,4-Диоксан,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

ДАТЗ **3а-ж** демонстрируют желтую и оранжевую эмиссию в твердом состоянии при облучении светом $\lambda = 365$ нм. Максимумы излучения тиазолов ДАТЗ **3а-ж** расположены в области 547–573 нм (Рис. 8). Для всех изученных соединений наблюдалось уменьшение

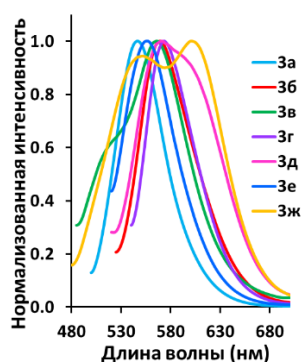


Рис. 8. Нормализованные спектры эмиссии ДАТЗ **3а-ж** в кристаллическом состоянии

квантового выхода в кристаллическом состоянии по сравнению с соответствующими растворами в ДМСО. Самый большой квантовый выход наблюдается для соединения ДАТЗ **3а** ($QY = 14,5\%$), для которого также получен наибольший квантовый выход в растворе ($QY = 57,8\%$). Анализ полученных оптических характеристик ДАТЗ **3а-ж** показал, что для увеличения интенсивности флуоресценции наиболее подходящей является следующая комбинация заместителей: в цикле А – электроноакцептор (CN); в цикле В – слабый электроноакцептор (Cl) и цикле С – сильный электронодонор (OMe) или электрононасыщенный тиофен. Положения максимумов поглощения и излучения при этом сохраняются в области 545–552 нм (желтая или оранжевая флуоресценция).

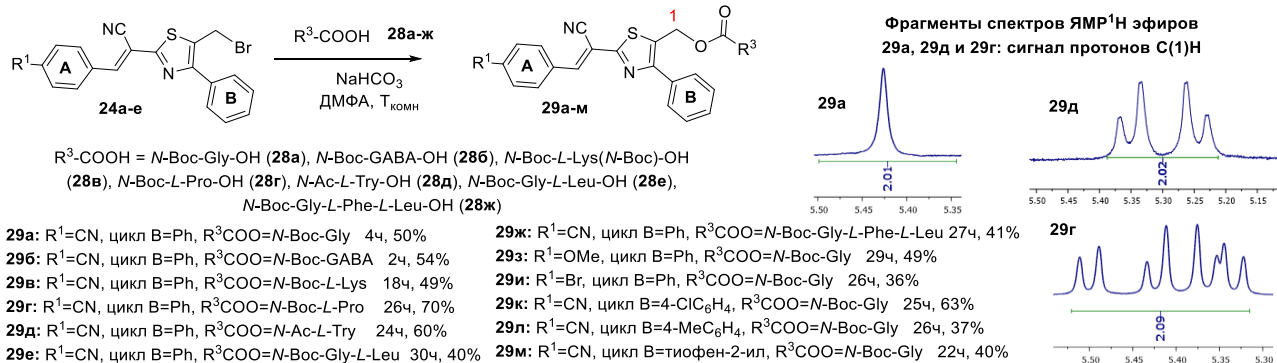
2.3. Синтез и свойства биоконъюгатов арилидентиазолов и биологически активных молекул

Флуорофоры **2а-е** обладают хорошим поглощением на границе между ультрафиолетовой и видимой областями и интенсивной контрастной флуоресценцией в биологических средах, более того, имеют в структуре CH_3 -группу, которую можно использовать для получения активного центра, способного взаимодействовать с $COOH$ -группой биологически активных соединений или биомолекул. Поэтому в продолжении работы были проведены исследования для определения возможности использования Me-AT3 **2а-е** в качестве фотозащитной группы.

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

AT3- CH_2Br **24а-е** были получены при кипячении Me-AT3 **2а-е** в CCl_4 с небольшим избытком *N*-бромсукцинимидом и в присутствии дибензоилпероксида (Схема 10). AT3- CH_2Br **24а,в** были выделены и охарактеризованы. AT3- CH_2Br **24б,г-е** использовались в последующих превращениях без очистки и идентификации. Гидролиз **24а** проводили при нагревании в смеси тетрагидрофуран-вода (1:1 об.) (Схема 10). После отгонки растворителя и экстракции дихлорметаном AT3- CH_2OH **25а** был выделен с помощью колоночной хроматографии (элюент – хлороформ).

Схема 11



Для соединений **29в-ж** наблюдается усложнение спектров ЯМР ¹Н. Протоны ОСН₂-группы эфиров **29в,д-ж** являются магнитно неэквивалентными, и в спектре ЯМР ¹Н регистрируются в виде АВ системы с КССВ ²J = 13.3 Гц (Схема 13). В спектре ЯМР ¹Н биоконъюгата **29г** сигнал ОСН₂-группы регистрируется в виде двух АВ систем с константой ²J = 13.1–13.2 Гц, что может быть связано с образованием диастереомеров, разделить которые не удастся, поскольку они легко взаимопревращаются в результате инверсии атома азота.

2.3.2. Фотофизические свойства биоконъюгатов

Длинноволновые максимумы поглощения эфиров **27а-м** и **29а-м** расположены на границе УФ- и видимой областей спектра при 367–389 нм и характеризуются достаточно высокими значениями коэффициента молярной экстинкции (до 25000 М⁻¹см⁻¹) (Рис. 9). Максимумы

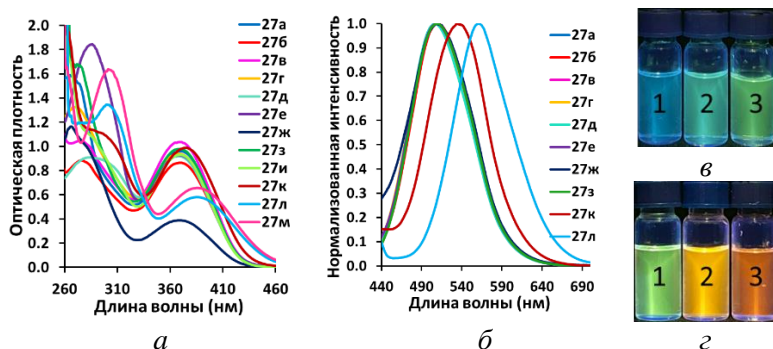


Рис. 9. Спектры (а) поглощения ($C = 5,0 \times 10^{-5}$ М) и (б) испускания конъюгатов **27а-м** ($C = 5,0 \times 10^{-6}$ М) **27а-ж,л**; $C = 2,5 \times 10^{-6}$ М **27з,к**) в ДМСО. Фотографии растворов конъюгатов (в) **27з** и (г) **27л** УФ-облучении (365 нм). Растворители: 1 – CHCl₃, 2 – MeCN, 3 – ДМСО.

и значительным сдвигом Стокса (100–176 нм/5723–8149 см⁻¹), за исключением конъюгатов **27и,м** и **29з**, флуоресценция которых практически отсутствует. Увеличение электронодонорных свойств фрагмента В приводит к смещению максимумов поглощения и испускания в длинноволновую область. Следует отметить уменьшение квантовых выходов биоконъюгатов в смеси ДМСО-вода и в смеси ДМСО-фосфатный буфер. Интенсивность излучения растворов конъюгатов **27а-м** и **29а-м** ниже, чем у исходных флуорофоров Me-ATЗ **2а-е**, но величина квантового выхода сохранилась на хорошо детектируемом уровне и, что очень важно, более высоком по сравнению с опубликованными примерами на основе, например, BODIPY, пирена и гексаметиленцианинов. Следует также отметить, что полученные флуорофоры имеют более предпочтительную для биологических сред длину волны поглощения по сравнению с другими предлагаемыми хромофорами и флуорофорорами: *o*-нитробензильными производными ($\lambda_{\text{погл}} = 280\text{--}320$ нм), производными пирена ($\lambda_{\text{погл}} = 354\text{--}356$ нм) и карбазола ($\lambda_{\text{погл}} = 337$ нм).

эмиссии растворов конъюгатов **27а-ж,з,к,л** и **29а-ж,и-м** в CHCl₃ и ДМСО регистрируются в диапазоне 469–565 нм в зависимости от используемого растворителя и заместителя в кольце В. В растворах в сильно полярном ДМСО происходит батохромный сдвиг максимумов испускания на 31–44 нм по сравнению с неполярным CHCl₃. Растворы демонстрируют контрастную флуоресценцию с квантовым выходом от 0,5 до 10,0%

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

Хромато-масс-спектрометрические исследования являются чрезвычайно удобным методом для идентификации продуктов реакции⁴. Для изучения механизма фотодиссоциации полученных в работе биоконъюгатов и определения параметров, определяющих эффективность фотолитического высвобождения биомолекул, в качестве модельных соединений были использованы эфир **27a**, содержащий фрагмент *m*-метоксибензойной кислоты, и эфир **29a**, в структуре которого содержится фрагмент *N*-Вос-глицина. Реакцию фоторазложения проводили в фотореакторе Penn PhD M2 в смеси ацетонитрил-вода (9:1, 7:3 об/об) при различной интенсивности облучения ($I = 20$ и 50%). Концентрация раствора составляла $4,2 \times 10^{-4}$ М, длина волны облучения – $\lambda_{обл} = 365$ нм. Опираясь на литературные данные и полученные результаты анализа раствора соединения **27a** в смеси ацетонитрил-вода (9:1, об/об) после облучения ($I = 50\%$, $\lambda_{ir} = 365$ нм), можно представить предполагаемый механизм фотодиссоциации эфира **27a** (Рис. 10а). Хромато-масс-спектрометрические исследования реакционной массы после облучения в фотореакторе показали, что фотодиссоциация проходит через первоначальное образование *Z*-изомера, что часто наблюдается для органических соединений, содержащих кратные связи (Рис. 10б), и димера **D**, расщепление связи С-О и далее образование комплекса **A**, взаимодействие которого с водой дает соответствующий спирт **25a** и кислоту **26a** (Рис 10в).

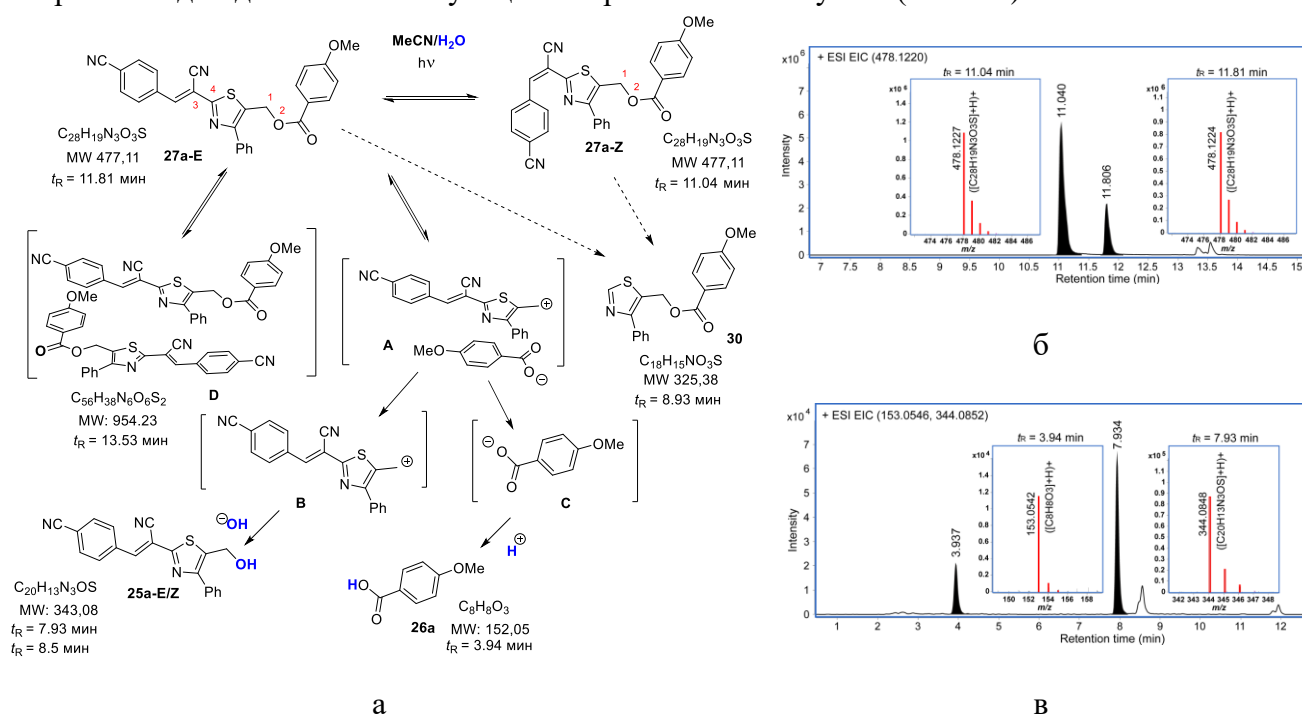


Рис. 10. (а) Схема фотодиссоциации эфира **27a**. Хроматограммы ионов при $t_R = 11,04$ мин и $11,81$ мин (б), $t_R = 3,94$ мин и $7,93$ мин (в) после 5 мин облучения ($I = 50\%$, $\lambda_{ir} = 365$ нм) раствора конъюгата **27a** в MeCN-H₂O (9:1, об/об) и соответствующие масс-спектры.

Эксперимент, в ходе которого раствор эфира **27a** облучали в этих же условиях в метаноле при длине волны $\lambda_{обл} = 365$ нм и интенсивности излучения 50% показал, что в этом случае вместо АТЗ-CH₂ОН **25a** образуется его метиловый эфир.

Количественный выход кислоты в ходе фотодиссоциации эфиров **27a** и **29a** был определен хромато-масс-спектрометрическим методом с помощью градуировочного графика кислот **26a** и

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

28а. После ~6,0 часов облучения выход кислот **26а** и **28а** составил 52 и 89% соответственно, что сопоставимо с представленными в литературе примерами.

2.3.4. Определение кинетических параметров и квантового выхода фотодиссоциации биоконъюгатов

Кинетические исследования фотодиссоциации биоконъюгатов проводили в бинарной смеси ДМСО-фосфатный буфер (рН = 7,5; 1:1, об/об) ($C = 1,0 \times 10^{-5}$ М). Изменение концентрации исходного эфира контролировали по спектрам поглощения смеси при облучении светом $\lambda_{ir} = 365$ нм и $\lambda = 420$ нм (интенсивность светодиода 20 и 50%, перемешивание 600 об/мин). Изучение кинетики фототрансформации биоконъюгатов проводилось по изменению оптической плотности длинноволнового максимума в спектре поглощения, логарифмическая зависимость которого соответствует уравнению первого порядка (Рис. 11а,б). Оценку скорости фотодиссоциации биоконъюгатов **27з-к,м** и **29к-м** проводили по времени полупревращения, которое определяли по кинетической кривой.

Анализ полученных данных показал, что (1) введение в цикл В заместителя (R = 4-Me, 4-Cl) или замена его на тиофеновый фрагмент приводит к значительному увеличению скорости реакции; (2) введение в цикл А электронодонорных заместителей приводит к заметному снижению констант скорости реакции; (3) ослабление интенсивности облучения с 50% до 20% приводит к значительному уменьшению константы скорости; (4) использование более

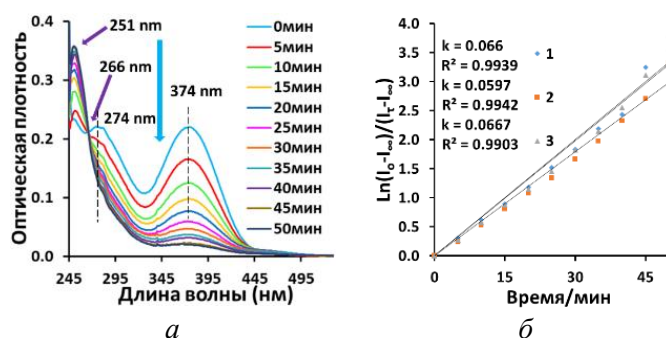


Рис. 11. (а) Изменение спектров поглощения раствора конъюгата **27а** при облучении ($\lambda_{обл} = 365$ нм). (б) График зависимости $\ln[(I_0 - I_\infty)/(I_t - I_\infty)]$ от τ для биоконъюгата **27а**.

длинноволнового излучения оказывает неоднозначное влияние на кинетику диссоциации: для **27з,м**, **29л** происходит увеличение скорости, в то время как для биоконъюгатов **27и,к** и **29а** скорость исследуемой реакции уменьшается. Значения величин времени полупревращения для биоконъюгатов **27** и **29** изменяются в широком диапазоне от 0,27 до 94,9 мин.

Одной из характеристик эффективности протекания фотохимической реакции является ее

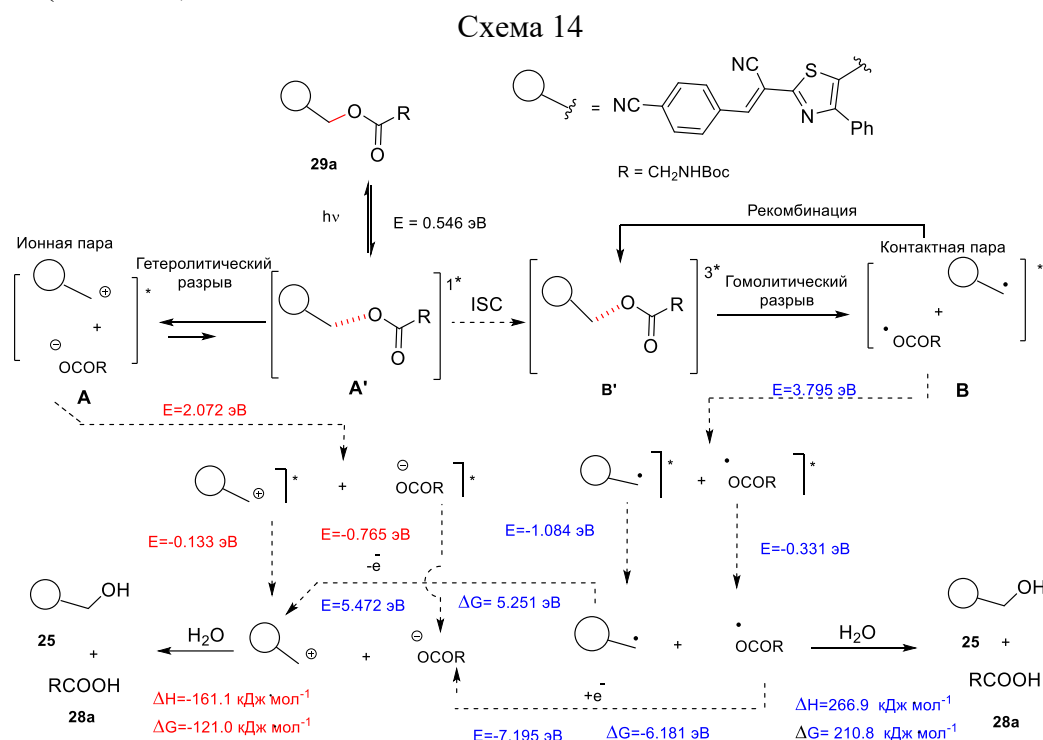
квантовый выход (Q_u). Квантовые выходы фотодиссоциации биоконъюгатов **27а,б,г-з,л** и **29а-и,л** были определены с помощью методики, основанной на использовании ферриоксалата калия в качестве актинометра. Квантовый выход фотодиссоциации биоконъюгатов **29а-и,л** ($Q_u = 0,1-2,6 \cdot 10^{-4}$) несколько ниже значений, определенных для биоконъюгатов **27а-з** ($Q_u = 3,2-5,0 \cdot 10^{-4}$). Сравнивая полученные величины с известными в литературе флуорофорами, можно отметить, что квантовый выход фотодиссоциации арилидентиазолов ниже, чем для *o*-нитробензилов ($Q_u = 0,06-0,26$), но сравнимы с BODIPY ($Q_u = 6,0 \cdot 10^{-6}-1,8 \cdot 10^{-4}$) и выше, чем квантовый выход при использовании гептаметинцианиновых флуорофоров ($1,3-5,4 \cdot 10^{-5}$).

2.3.5. Гидролиз конъюгатов 27 и 29 в смесях ДМСО-Н₂О, ДМСО-буфер, MeCN-Н₂О и MeOH

Для того, чтобы определить степень влияния гидролиза на фотодиссоциацию биоконъюгатов **27а,л,м** и **29а,к-м**, было проведено изучение их стабильности в смеси ДМСО-Н₂О (9:1, об/об), MeCN-Н₂О (9:1, об/об), ДМСО-фосфатный буфер (рН = 7,5) (1:1, об/об) и MeOH в темноте в течение 2–144 ч спектрофотометрическим методом. Сравнение результатов фотодиссоциации и гидролитического расщепления конъюгатов **27а-м** и **29а-м** показывает, что гидролиз практически не влияет на фотолитический разрыв связи С-О.

2.3.6. Изучение механизма фотодиссоциации биоконъюгатов

Фотодиссоциация может протекать через гомолитический или гетеролитический разрыв связи С-О. Вопрос о природе расщепления связи является важной стороной при рассмотрении преимуществ предлагаемой фотосистемы. Анализ результатов квантово-механических расчетов и полученных экспериментальных данных позволил представить примерную схему предполагаемых превращений при фотооблучении полученных конъюгатов на примере соединения **29a** (Схема 14).



На начальном этапе фотодиссоциации возможно развитие как гетеролитического, так и гомолитического пути. Дальнейшее развитие гомолитического пути при расщеплении связи С-О, приводящее к образованию свободной пары радикальных частиц **B** 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). Анализ рассчитанных термодинамических параметров заключительных стадий, связанных с взаимодействием карбоксилат-аниона и карбокатиона с растворителем и образованием кислоты и спирта, демонстрирует преимущество ионного механизма. Даже в случае образования радикалов получение 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.

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. Экспериментальные и расчетные результаты подтверждают, что гетеролитический механизм является наиболее предпочтительным для фотодиссоциации исследованных биоконъюгатов. В этом случае гетеролиз и элиминирование карбоновых кислот проходят в синглетном

возбужденном состоянии, и это приводит к снижению образования дополнительных промежуточных продуктов.

2.1.6. Биологические исследования

Поведение ДТП **12**, Ме-АТЗ **2**, ДАТЗ **3** и биоконъюгатов **27,29** в биологических средах было исследовано при помощи конфокального лазерного сканирующего микроскопа (КЛСМ)⁵.

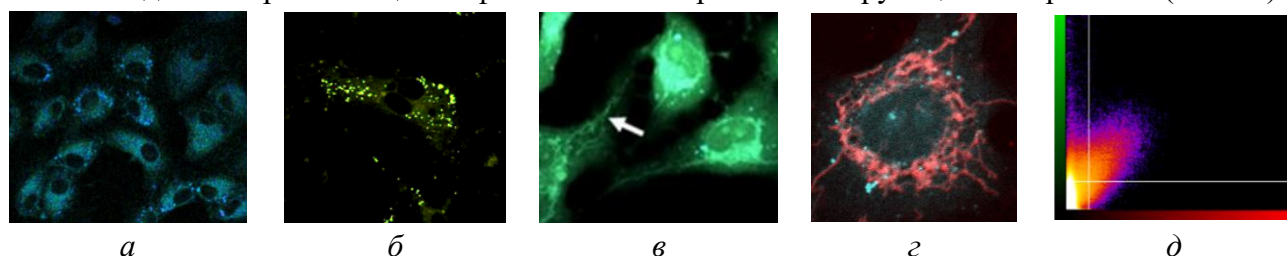


Рис. 12. Конфокальные флуоресцентные изображения клеток *Vero*, инкубированных с (а) Ме-АТЗ **2а**, (б) ДАТЗ **3г**, (в) эфиром **29а** (стрелка указывает на митохондрии), (г) эфиром **29г** и MitoTracker Red (наложение изображений) в фосфатно-солевом буфере в течение 0,5 ч при 37 °С при возбуждении (а,г) $\lambda_{\text{воз}} = 405$ нм и (б,в) $\lambda_{\text{воз}} = 488$ нм. (д) Диаграмма рассеяния колокализации.

Для экспериментов по визуализации использовалась культура эпителиальных клеток зеленой мартышки (*Vero*). Исследования показали, что соединения **2а**, **3а,г**, **12а**, **27** и **29** легко проникают в клетки и флуоресцируют в сине-зеленом и желтом диапазоне. Флуорофоры **12а** и **3а,г** (Рис. 12б) предположительно накапливались в лизосомах и в меньшей степени в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), соединения **2а** (Рис. 12а), **27** и **29** показали яркую синюю и зеленую эмиссию в

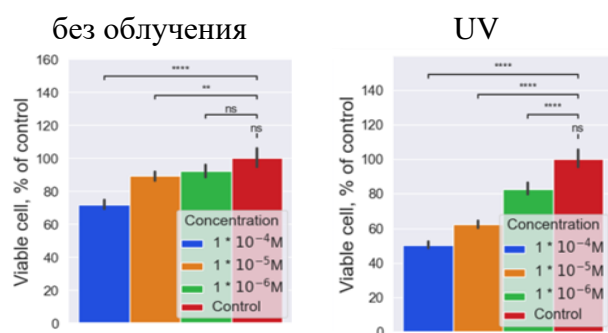


Рис. 13. Результаты МТТ-теста (процент выживаемости клеток) для биоконъюгата **27ж** в обычных условиях и после УФ-облучения ($C = 10^{-4}$, 10^{-5} и 10^{-6} М).

ЭР клетки. Соединение **29а** дополнительно демонстрировало флуоресценцию в ядрышках (Рис. 12в), **29в** в липидных каплях, а **29г** в митохондриях, что было подтверждено в эксперименте с красителем MitoTracker Red (Рис. 12г,д). 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. Проверка биосовместимости с помощью МТТ-теста на клеточные линии *Vero* показала, что флуорофоры и полученные биоконъюгаты нетоксичны. Важным доказательством выделения цитостатика (хлорамбуцила) является снижение процента выживших клеток при инкубации их с биоконъюгатом **27ж** после его предварительного фотооблучения (Рис. 13).

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

⁵ Биологические исследования проведены м.н.с. Мининым А.С. в ИИФ УрО РАН

- 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 тиазолидинов, 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.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ:

1. **Gagarin A. A.** 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, V. A. Pozdina, P. A. Slepukhin, E. Benassi, N. P. Belskaya // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2020. – Vol. 85. – № 21. – P. 13837-13852. (*Scopus, Web of Science*). (1,00 п.л./0,20 п.л.).
2. **Gagarin A. A.** Photocaging of Carboxylic Function Bearing Biomolecules by New Thiazole Derived Fluorophore / **A. A. Gagarin**, A. S. Minin, V. A. Shevyrin, I. P. Kostova, E. Benassi, N. P. Belskaya // *Chemistry – A European Journal*. – 2023. – Vol. 29. – № 59. – e202302079. (*Scopus, Web of Science*). (0,81 п.л./0,18 п.л.).

3. **Gagarin A. A.** Photocaging of amino acids and short peptides by arylidenethiazoles: mechanism, photochemical characteristics and biological behaviour / **A. A. Gagarin**, A. S. Minin, V. A. Shevyrin, E. Benassi, N. P. Belskaya // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2024. – Vol. 12. – № 44. – P. 11402-11413. (*Scopus, Web of Science*) Q1. (0,75 п.л./0,18 п.л.).

Другие публикации:

4. **Гагарин, А. А.** Синтез пиридинотиазолидинонов / **А.А. Гагарин**, В.В. Черненко, П.О. Сунцова, Э. Бенасси, Н.П. Бельская // XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии. Сборник тезисов в 6 томах. – Санкт-Петербург, 2019. – Том 2Б. – С. 141. (0,06 п.л./0,01 п.л.).

5. **Гагарин, А. А.** Синтез и фотофизические свойства пиридинотиазолидинонов и пиридинотиазинонов / **А.А. Гагарин**, П.О. Сунцова, Н.П. Бельская // Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов (MOSM2019). — Екатеринбург, 2019. – С. 150. (0,06 п.л./0,03 п.л.).

6. **Гагарин, А. А.** Реакции пента-2,4-дientiоамида с эфирами ацетилендикарбоновой и пропиоловой кислот / **А.А. Гагарин**, А.С. Минин, Н.П. Бельская // Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии. — Екатеринбург, 2020. – С. 330–332. (0,12 п.л./0,04 п.л.).

7. **Гагарин, А. А.** Новые гибридные структуры на основе малого гетероциклического флуорофора / **А.А. Гагарин**, Н.П. Бельская // Сборник тезисов XXXII Российской молодежной научной конференции с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» – Екатеринбург: УрФУ, 2022. – С. 307. (0,06 п.л./0,03 п.л.).

8. **Гагарин, А. А.** Новые арилидентиазолы с настраиваемыми фотофизическими свойствами / **А.А. Гагарин**, Т.Х. Джуманиязов, Н.П. Бельская // Сборник тезисов всероссийской конференции «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» – Сочи, 2022. – С. 122. (0,06 п.л./0,02 п.л.).

9. Кабакова, А. В. Синтез и оптические свойства новых гибридов на основе 2-арилиден-5-метил-4-фенилтиазола и биомолекул / А.В. Кабакова, И.В. Мохнаткин, **А.А. Гагарин**, Н.П. Бельская // Сборник тезисов XXXIII Российской молодежной научной конференции с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» – Екатеринбург: УрФУ, 2023. – С. 428. (0,06 п.л./0,02 п.л.).

10. **Гагарин, А. А.** Новые конъюгаты «флуорофор-биомолекула» и перспективы их использования в биологии и медицине / **А.А. Гагарин**, А.С. Минин, В.А. Шевырин, Э. Бенасси, Н.П. Бельская // Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов (MOSM 2024). — Екатеринбург, 2024. – С. 98. (0,06 п.л./0,01 п.л.).