

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ  
им. А. Н. НЕСМЕЯНОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

---



*На правах рукописи*

ПАНЧЕНКО

Павел Александрович

**РАЗРАБОТКА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ФОТОХРОМНЫХ, СЕНСОРНЫХ  
СИСТЕМ И ТЕРАНОСТИКОВ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ  
1,8-НАФТАЛИМИДА**

1.4.3 – Органическая химия

1.4.4 – Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора химических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН).

**Научный консультант:** **Федорова Ольга Анатольевна**  
доктор химических наук, профессор, заведующая лабораторией фотоактивных супрамолекулярных систем ИНЭОС РАН

**Официальные оппоненты:** **Ширинян Валерик Зармирович**  
доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гетероциклических соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН)

**Аверин Алексей Дмитриевич**  
доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории элементоорганических соединений кафедры органической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (МГУ имени М. В. Ломоносова)

**Метелица Анатолий Викторович**  
доктор химических наук, проректор по научной и исследовательской деятельности Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Южный федеральный университет (ЮФУ)

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН)

Защита диссертации состоится «30» мая 2023 г. в 11 ч 00 мин на заседании Диссертационного совета 24.1.161.01 на соискание ученой степени доктора химических наук при ИНЭОС РАН по адресу: 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 28, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ИНЭОС РАН ([www.ineos.ac.ru](http://www.ineos.ac.ru)).

Автореферат диссертации разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета 24.1.161.01,  
кандидат химических наук



Ольшевская В. А.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы и степень ее разработанности

В последние годы внимание значительного числа исследователей, работающих в области фотохимии и фотофизики органических соединений, сосредоточено на создании новых фотоактивных материалов для решения ряда важных практических задач в технике, медицине и биологии. Разработка подобных материалов предполагает детальное изучение процессов, происходящих при взаимодействии света с веществом. С этой точки зрения дизайн и синтез гибридных фоточувствительных систем представляет особый интерес в связи с возможностью реализации в них конверсии энергии поглощенного света параллельно по нескольким направлениям.

В качестве основной фотоактивной составляющей в данной работе были выбраны флуоресцентные производные имида нафталевой кислоты (1,8-нафталимида), что обусловлено чувствительностью спектральных свойств данного типа люминофоров к внешнему окружению и природе вводимых в состав их молекул заместителей, относительной простотой их синтеза, а также высокими показателями термической и фотохимической устойчивости. В действительности, производные 1,8-нафталимида за последние два десятилетия зарекомендовали себя как один из наиболее популярных классов функциональных красителей специального назначения.

Детектирование катионов металлов и анионов в объектах окружающей среды и биологических системах с помощью оптической спектроскопии является одним из активно развивающихся междисциплинарных научных направлений, в котором функциональные флуоресцентные красители играют определяющую роль. Анализ содержания ионов металлов в клетке позволяет изучать механизмы биохимических процессов и диагностировать наличие тех или иных заболеваний. Для этой цели широко применяются методы флуоресцентной визуализации. Они характеризуются высокой чувствительностью, неинвазивностью и небольшой сложностью проведения эксперимента. Развитие этих методов напрямую зависит от наличия широкого ассортимента сенсорных реагентов, способных при образовании комплекса с анализируемым субстратом изменять свои спектральные характеристики. С учетом сказанного актуальным представляется дизайн и синтез бифункциональных молекул, содержащих остаток 1,8-нафталимида и рецепторный фрагмент в таком сочетании, в котором связывание аналита приводило бы к возникновению флуоресцентного отклика.

Введение в состав молекул органических красителей-флуорофоров фрагментов, способных при облучении претерпевать фотохромные превращения открывает другой способ направленного изменения флуоресцентных характеристик системы под воздействием внешнего стимула. Фотохромные системы с переключаемой флуоресценцией важны для современных оптических технологий. Например, это могут быть элементы оптической памяти или реагенты для конформационного анализа биомолекул. В рамках диссертационного исследования значительное внимание было уделено разработке гибридных хромофорных систем, содержащих остаток 1,8-нафталимидного флуорофора и фотохромные фрагменты стирильных красителей и нафтопиранов.

Достаточно новым направлением в области создания гибридных фотоактивных систем является разработка фотосенсибилизаторов для онкологической терапистики. Термин «терапистика» возник относительно недавно из сочетания двух слов «терапия» и «диагностика». Этот термин олицетворяет новый подход в медицине, заключающийся в создании лекарственных препаратов, которые с одной стороны являются терапевтическими агентами, а с другой – средством ранней диагностики. В отношении лечения онкологических заболеваний такой подход является актуальным и очень востребованным. В методе фотодинамической терапии

(ФДТ) для подавления развития опухоли используются специальные красители-фотосенсибилизаторы, которые при облучении светом способны передавать свою энергию на молекулярный кислород, содержащийся в клетках и тканях, и переводить его в электронно-возбужденное синглетное состояние. Генерируемый таким образом синглетный кислород обладает цитотоксическими свойствами, т.е. способен разрушать опухолевые клетки. В качестве фотосенсибилизаторов (ФС) наиболее часто применяют природные порфирины, хлорины и бактериохлорины. Эти соединения способны селективно накапливаться в опухоли при введении в организм. Кроме того, они обладают некоторой люминесценцией, что может быть использовано в целях диагностики для установления места расположения опухоли перед облучением. Основным недостатком указанных ФС является невысокая эффективность флуоресценции и сопутствующая генерация синглетного кислорода в режиме флуоресцентной диагностики (ФД). Решением указанной проблемы может быть разработка конъюгатов флуоресцентных красителей с фотосенсибилизаторами. Число известных молекулярных конъюгатов ФС с флуорофорами различных классов в литературе ограничено несколькими примерами. В настоящей работе для создания бифункциональных конъюгатов производные 1,8-нафталимида были использованы в качестве флуоресцентного компонента.

### **Цели и задачи исследования**

В ходе реализации диссертационной работы преследовалось три цели.

1. Разработка методов синтеза производных 1,8-нафталимида, содержащих различные рецепторные группы и изучение влияния комплексообразования на оптические характеристики. В качестве основного типа рецепторов были выбраны краун-соединения, позволяющие связывать катионы металлов. Приоритетной задачей по данному направлению являлось получение молекулярных хемосенсоров и сенсорных материалов на их основе, которые способны к детектированию ионов в водных растворах (то есть в сильно «конкурентной» среде), а также к внутренней калибровке флуоресцентного отклика.
2. Синтез фотоуправляемых гибридных систем на основе 1,8-нафталимида, содержащих фрагменты нафтопиранов и стироловых красителей. Исследование спектральных свойств полученных систем. Для управления флуоресцентными характеристиками молекул с использованием обратимой фотохимической реакции в диссертационной работе планировалось получение соединений двух типов. Первый тип соединений сочетает в одной гибридной хромофорной системе флуорофор (1,8-нафталиимид) и фотохром (нафтопиран, стироловый краситель). В соединениях второго типа фотохромная и флуоресцентная компоненты связаны посредством нековалентных взаимодействий.
3. Разработка препаратов-тераностиков для ФДТ и ФД на основе производных 1,8-нафталимида и бактериохлорина. Создание подобных систем является комплексной задачей, которая включает в себя: синтез флуорофоров, модифицированных функциональными группами для дальнейшей ковалентной сшивки с ФС; подробное изучение оптических свойств каждого из компонентов бисхромофорной системы в растворе; анализ фотофизических процессов, происходящих в конъюгатах при фотовозбуждении и влияния на них структуры спейсера, а также рассмотрение влияния флуорофора на фотодинамические характеристики исходного фотосенсибилизатора.

### **Научная новизна**

Впервые синтезированы производные 4-амино-, 4-(ацил)амино-, 4-метокси и 4-пиразолинил-1,8-нафталимида, содержащие при имидном атоме азота дикарбоксимидной группировки фрагменты 15-краун-5-эфира с различным сочетанием N-, O- и S-гетероатомов в составе

макроцикла, а также открытоцепные рецепторные фрагменты на основе 1,2-бис(*орто*-аминофенокси)этан-*N,N,N',N'*-тетрауксусной кислоты, салицилиденамина и дипирролилметана. Показано, что комплексообразование указанных соединений сопровождается возникновением флуоресцентного отклика на различные субстраты. В ходе исследований также было обнаружено, что дополнительные возможности для модуляции сенсорных свойств возникают при совместном использовании процессов фотоиндуцированного переноса электрона и резонансного переноса энергии поглощенного света в краунсодержащих бисхромофорных системах.

Разработаны методы синтеза неописанных ранее гибридных фоточувствительных систем на основе нафталимидного флуорофора и фрагментов нафтопирана и стирилового красителя. Показано, что данное сочетание фотоактивных фрагментов в одной структуре приводит к соединениям, в которых реакции фотохимической изомеризации могут быть использованы для фотоуправления флуоресценцией. Влияние фотохимических превращений на флуоресценцию красителя продемонстрировано также в супрамолекулярном ансамбле 18-краун-6-эфирсодержащего хромена и производного 4-амино-1,8-нафталимида.

Впервые подробно изучено влияние природы растворителя на спектральные характеристики 4-стирил-1,8-нафталимидов. С использованием время-разрешенной оптической спектроскопии обнаружена их склонность к образованию скрученных возбужденных состояний с переносом заряда. Показано, что в случае метоксизамещенных 4-стирил-1,8-нафталимида скрученные состояния являются флуоресцентными.

В рамках данной работы впервые получены и исследованы конъюгаты нафталимидных флуорофоров и фотосенсибилизатора бактериохлорина, а также показано, что конъюгация нафталимидных красителей и ФС не снижает фотодинамической эффективности последнего. Также впервые описаны гибридные наночастицы с ап-конверсионной люминесценцией, модифицированные ФС и нафталимидным флуорофором, для проведения диагностики и терапии при возбуждении светом инфракрасной (ИК) области.

### **Практическая и теоретическая значимость**

Предложены методы синтеза производных 1,8-нафталимида, содержащих ионофорный фрагмент, фотохромных 4-стирил- и пирано-1,8-нафталимидов с гибридной хромофорной системой, бисхромофорных систем на основе производных нафталимида и бактериохлорина из коммерчески доступных реагентов. Полученные в рамках работы флуорофоры являются удобными модульными компонентами для синтеза на их основе конъюгатов типа «флуорофор – фотосенсибилизатор» и «флуорофор – флуорофор».

Синтезированные дитиакраун-эфирные производные 1,8-нафталимида являются селективными РЕТ-хемосенсорами по отношению к катионам ртути (II) и серебра в водном растворе на уровне их ПДК. Данный тип соединений был запатентован. Способность детектировать  $Ag^+$  сохраняется при переходе к полимерным гетерогенным сенсорам. Это позволяет в перспективе использовать композиты на основе дитиакраунсодержащих производных нафталимида в качестве оптической платформы в миниатюрных оптоволоконных устройствах и сенсорных чипах. В случае краунсодержащих биснафталимидных производных имеется возможность ратиометрического определения концентрации ионов металлов, что открывает возможности для получения флуоресцентных реагентов, пригодных для проведения анализа в живых клетках (то есть в условиях, когда концентрация самого сенсора в среде неизвестна).

Обнаружена возможность обратимого фотопереключения излучения нафталимидного хромофора в составе гибридной системы, содержащей фрагмент нафтопирана. Такое переключение может быть использовано для создания новых фотоактивных материалов, в частности

элементов оптической памяти, реагентов для флуоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения. Определены факторы, влияющие на эффективность флуоресценции 4-стирил-1,8-нафталимидов в растворах, которые в дальнейшем могут быть использованы при выборе подходящих флуорофоров для биологических исследований.

Получены бисхромофорные тераностики для ФДТ и ФД, эффективность которых исследована на биологических объектах *in vitro* и *in vivo*. Установлено, что конъюгаты бактериохлорина и нафталимида являются перспективными терапевтическими и диагностическими агентами, так как позволяют получать флуоресцентные изображения раковых клеток, опухолей у животных и обладают высокой фотодинамической активностью. Также было показано, что модификация наночастиц с ап-конверсионной люминесценцией 4-пиразолин-1,8-нафталимидным флуорофором совместно с фотосенсибилизатором позволяет проводить ФД без сопутствующего токсического действия на клетки. Следует особо подчеркнуть важность разрабатываемых тераностиков как средств неинвазивной визуализации и терапии в онкологии. Сам по себе метод ФДТ является хорошей альтернативой консервативному хирургическому лечению, лучевой терапии и химиотерапии. Однако, даже применяемые сегодня в клинической практике фотосенсибилизаторы не могут в полной мере обеспечить отсутствие фототоксических эффектов при проведении флуоресцентной диагностики. В особенности это является очень критическим фактором при лечении новообразований головного мозга, в случае чего важно как можно более точно установить расположение пораженного участка без сопутствующего разрушения окружающей ткани.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

Методология и методы диссертационного исследования основаны на анализе литературных данных. Для получения целевых продуктов применялся широкий арсенал синтетических методов, включающий как классические реакции соединений ароматического ряда, так и современные приемы создания углерод – углеродных связей и ковалентной сшивки функциональных молекулярных фрагментов различного назначения (реакция Хека, Уги, клик-реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения «азид – алкин»). В отдельных случаях были задействованы методы органической фотохимии. Полученные соединения были подробно охарактеризованы данными физико-химических методов установления строения и состава веществ, таких как ЯМР-спектроскопия на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  (в том числе двумерная), масс-спектрометрия, ИК спектроскопия, элементный анализ. Для изучения комплексообразующих, фотохимических, фотофизических и фотобиологических свойств моно- и бисхромофорных систем широко использовалась оптическая электронная спектроскопия поглощения и испускания (стационарная и с временным разрешением), а также флуоресцентная микроскопия. Анализ результатов проводился с привлечением данных квантово-химических расчетов.

### **Апробация работы**

Результаты работы были представлены в виде устных и стендовых докладов на следующих российских и международных конференциях: The 3-rd International Symposium «Molecular Photonics» (Репино, Санкт-Петербург, Россия, 2012 г.), Всероссийская научная конференция (с международным участием) «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, Россия, 2012 г.), International Conference of Young Researchers on Advanced Materials «ICYRAM-2012» (Сингапур, Сингапур, 2012 г.), XXIV IUPAC Symposium On Photochemistry (Коимбра, Португалия, 2012 г.), XIX Молодежная научная конференция «Ломоносов» (Москва, Россия, 2012 г.), V и VIII Молодежная конференция ИОХ РАН (Москва, Россия, 2012, 2019 гг.), IV, VI и VII Международная молодежная школа-конференция по физической химии краун-

соединений, порфиринов и фталоцианинов (Туапсе, Россия, 2012, 2016, 2018 г.), XIX Всероссийская конференция «Структура и динамика молекулярных систем» (Яльчик, Россия, 2012 г.), 7th PHENICS International Network Symposium (Нант, Франция, 2012 г.), International Symposium On Photochromism «ISOP 2013» (Берлин, Германия, 2013 г.), 13<sup>th</sup> Conference on Methods and Applications of Fluorescence (Генуя, Италия, 2013 г.), III, IV, V, VI и VII Международная конференция «Супрамолекулярные системы на поверхности раздела» (Туапсе, Россия, 2013, 2015, 2017, 2019, 2021 гг.), XXV IUPAC Symposium on Photochemistry (Бордо, Франция, 2014 г.), Chemistry of Organoelement Compounds and Polymers (Москва, Россия, 2014 г.), Международный молодежный научный форум «ЛОМОНОСОВ-2014» (Москва, Россия, 2014 г.), XXVI Международная Чугаевская конференция по координационной химии (Казань, Россия, 2014 г.), X Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2014» (Москва, Россия, 2014 г.), IV Всероссийская конференция по органической химии (Москва, Россия, 2015 г.), Международный Конгресс «KOST-2015» (Москва, Россия, 2015 г.), IV Всероссийская конференция «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» (Санкт-Петербург, Россия, 2015 г.), Зимняя конференция молодых ученых по органической химии WSOC2016 (Красновидово, Россия, 2016 г.), VIII<sup>th</sup> International Symposium «Design and Synthesis of Supramolecular Architectures» (Казань, Россия, 2016 г.), V Всероссийская конференция «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» (Москва, Россия, 2016 г.), 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> International Caparica Conference on Chromogenic and Emissive Materials (Капарика, Португалия, 2016, 2018 гг.), The 4<sup>th</sup> International Symposium «Molecular Photonics» dedicated to academician A. N. Terenin (Санкт-Петербург, Россия, 2016 г.), Dombay organic conference cluster «DOCC-2016» (Домбай, Россия, 2016 г.), Кластер конференций по органической химии «ОргХим-2016» (Санкт-Петербург, Россия, 2016 г.), 28<sup>th</sup> and 29<sup>th</sup> International conference on Photochemistry (Страсбург, Франция, 2017 г.; Боулдер, США, 2019 г.), XVI<sup>th</sup> International seminar on inclusion compounds «ISIC 16» and III<sup>d</sup> Youth school on supramolecular and coordination chemistry (Казань, Россия, 2017 г.), The 4<sup>th</sup> International Scientific Conference «Advances in Synthesis and Complexing» (Москва, Россия, 2017 г.), 8<sup>th</sup> International IUPAC Symposium «Macro- and Supramolecular Architectures and Materials» (Сочи, Россия, 2017 г.), XI конкурс проектов молодых ученых в рамках выставки «Химия-2017» (Москва, Россия, 2017 г.), XVIII<sup>th</sup> International Symposium on Luminescence Spectrometry «ISLS 2018» (Брест, Франция, 2018 г.), VII Всероссийский конгресс «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» (Москва, Россия, 2018 г.), 1<sup>st</sup> Russian-Chinese Workshop on Organic and Supramolecular Chemistry (Казань, Россия, 2018 г.), International Scientific Conference «ChemTrends-2018» (Москва, Россия, 2018 г.), XVI International Conference on Surface Forces (Казань, Россия, 2018 г.), IV Междисциплинарный симпозиум по медицинской, органической, биологической химии и фармацевтике «МОБИ-ХимФарма2018» (Новый свет, Республика Крым, Россия, 2018 г.), British Council Researcher Links Workshop «Macrocycles in Medicine» (Норвич, Великобритания, 2018 г.), International Symposium on Dyes & Pigments (Севилья, Испания, 2019 г.), International Conference «Chemistry of Organoelement Compounds and Polymers 2019» (Москва, Россия, 2019 г.), XXVI Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2019» (Москва, Россия, 2019 г.), XXI Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry (Санкт-Петербург, Россия, 2019 г.), XIV Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН «ФИЗИКОХИМИЯ – 2019» (Москва, Россия, 2019 г.), The XII International Conference on Chemistry for Young Scientists «MENDELEEV 2021» (Санкт-Петербург, Россия, 2021 г.).

## **Достоверность полученных результатов**

Достоверность полученных в работе результатов следует из *i*) надежного установления состава и структуры соединений с помощью комплекса физико-химических методов анализа; *ii*) отсутствия противоречий между выводами, сделанными в результате выполнения работы, и известными литературными данными; *iii*) экспертной оценки редакционных коллегий высокоцитируемых журналов, в которых были опубликованы результаты данного диссертационного исследования.

## **Публикации по теме работы**

По теме диссертационной работы за период с 2012 г. по 2021 г. опубликована 31 научная работа в журналах, рекомендованных ВАК (1 обзор и 30 экспериментальных статей), в том числе 14 – в журналах первого квартиля, и 2 патента. Публикации автора представлены в заключительной части автореферата, а также в тексте диссертации в общем списке литературы (раздел 6 диссертации). Ссылки на собственные публикации содержатся в начале каждого из трех подразделов диссертации (3.1, 3.2 и 3.3) раздела 3 (Обсуждение результатов).

## **Личный вклад автора**

Выбор тематики исследований, постановка задач, интерпретация всех полученных результатов и их обобщение, формулировка выводов, которые выносятся на защиту принадлежат автору данной работы. Автор диссертации участвовал в подготовке и проведении экспериментов, написании научных публикаций и представлении докладов по теме диссертации на конференциях различного уровня. По теме работы под руководством автора защищена диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук (Захарко М. А., 2019), а также за период начиная с 2013 г. по 2020 г. защищены 11 выпускных квалификационных работ (ВКР) студентов Российского химико-технологического университета им. Д. И. Менделеева (5 ВКР бакалавра, 3 ВКР магистра, 3 дипломные работы специалиста).

Измерение спектров флуоресценции с временным разрешением и дифференциальных спектров поглощения промежуточных состояний были выполнены автором на оборудовании Лаборатории волн и материи Аквитании Университета Бордо 1 (Бордо, Франция) и Национального центра научных исследований (CNRS) Франции под руководством Dr. G. Jonusauskas. Получение и расшифровка рентгеноструктурных данных осуществлялась в ИНЭОС РАН д.х.н. проф. Лысенко К. А., д.х.н. Нелюбиной Ю. В. и к.х.н. Архиповым Д. Е. Изучение пленок Ленгмюра-Блоджетт было проведено в Институте физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН) под руководством д.х.н. Селектор С. Л. Синтез и исследование флуоресцентного хемосенсора на сульфат-анион выполнено в Техническом университете Кемница (Кемниц, Германия) при участии автора под руководством профессора Катаева Е. А. Исследования фотохимических трансформаций фотохромных производных нафтопирана с помощью спектроскопии ЯМР проводилось Dr. S. Delbaere и J. Berthet в Университете Лилля (Лилль, Франция). Получение фотосенсибилизаторов и проведение ковалентной пришивки флуорофорных фрагментов к ФС выполнялось в МИРЭА – Российском технологическом университете (РТУ МИРЭА) Притыковым Д. А. под руководством д.х.н. проф. Грина М. А. и д.х.н. проф. Миронова А. Ф. Нафталимидный флуорофор, содержащий пептидный спейсер, был синтезирован на химическом факультете МГУ имени М. В. Ломоносова Зарезиным Д. П. под руководством д.х.н. проф. Ненайденко В. Г. Биологические исследования конъюгатов 1,8-нафталимида и бактериохлорина были выполнены в Институте биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН) Игнатовой А. А. под руководством д.б.н. Феофанова А. В., в Московском научном исследовательском онкологическом институте им. П.

А. Герцена (МНИОИ им. П. А. Герцена) к.б.н. Морозовой Н. Б., к.б.н. Плютинской А. Д., к.б.н. Панкратовым А. А. и в Российском национальном исследовательском медицинском университете им. Н. И. Пирогова к.б.н. Семкиной А. С. Синтез и исследования гибридных наночастиц с ап-конверсионной люминесценцией проводились научной группой Prof. J. Pérez-Prieto в Университете Валенсии (Валенсия, Испания).

### **Благодарности**

Автор выражает благодарность всем перечисленным выше лицам (см. Личный вклад автора), а также сотрудникам лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем ИНЭОС РАН, в которой выполнялась диссертационная работа, д.х.н. Федорову Ю. В., к.х.н. Архиповой А. Н., к.х.н. Павловой М. А. за участие в постановке экспериментов и обсуждении полученных результатов. Особую благодарность выражаю своему научному консультанту, д.х.н. проф. Федоровой Ольге Анатольевне за ценные и важные советы и помощь в освоении химии фотоактивных органических соединений.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований № 12-03-00778, 13-03-93106, 14-03-31935, 15-03-04705, 16-33-00581, 16-53-12042, 18-33-20111, грантов Российского научного фонда № 16-13-10226, 18-73-00118, 20-73-10186, 21-73-20158, Программы Президиума РАН П-8, Соглашений № 14.616.21.0037 и 8533 (в рамках Федеральных целевых программ Министерства образования и науки РФ), Проекта DONOS-311 (в рамках программы ERA.Net RUS Plus), Гранта Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (Договор № 13174), Гранта Национальной ассоциации инноваций и развития информационных технологий (Проект ИК-10), гранта Германской службы академических обменов DAAD (Проект № 331400431), Гранта Президента Российской Федерации МК-5702.2018.3. Спектральные исследования синтезированных соединений проводились при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации с использованием научного оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация общим объемом 406 страниц состоит из вводной части, содержащей общую характеристику работы, литературного обзора, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, заключения, списка литературы, списка основных сокращений и обозначений и содержит 108 схем, 27 таблиц, 112 рисунков. Список литературы включает 551 наименование (с учетом собственных публикаций автора). Нумерация схем, рисунков, уравнений и таблиц в разделах 2 (Литературный обзор), 3 (Обсуждение результатов) и 4 (Экспериментальная часть), а также нумерация соединений в разделах 2 и 3 принята отдельной.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Разработка метода синтеза ранее неизвестных производных 1,8-нафталимида, содержащих краун-эфирный фрагмент в составе заместителя при имидном атоме азота, а также метода синтеза соединений с гибридной хромофорной системой, включающей нафталиимидный флуорофор и фрагмент нафтопирана или стирилового красителя.
2. Анализ возможности увеличения контраста в переключении флуоресцентного сигнала РЕТ- и RET-хемосенсоров на основе краунсодержащих производных 1,8-нафталимида при комплексообразовании с катионом за счет изменения электронодонорных свойств рецепторного фрагмента и  $\pi$ -акцепторной способности нафталиимидного ядра.

3. Использование концепции флуоресцентного РЕТ-хемосенсора с «OFF → ON» типом отклика для детектирования сульфат-аниона в водном растворе.
4. Разработка селективных флуоресцентных хемосенсоров, позволяющих определять катионы ртути (II) и серебра в воде на уровне их ПДК.
5. Применение молекулярного и супрамолекулярного подхода для модуляции спектрально-люминесцентных характеристик нафталимидного хромофора путем направленного изменения конкуренции между процессами излучательной дезактивации, образования скрученных возбужденных состояний с переносом заряда и протекания фотохимических реакций.
6. Использование нафталимидного флуорофора в качестве средства оптической визуализации и светособирающей антенны в условиях *in vitro* и *in vivo* в составе бисхромофорных тераностиков и наногибридных препаратов с целью повышения эффективности ФД и ФДТ.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

### Синтез соединений

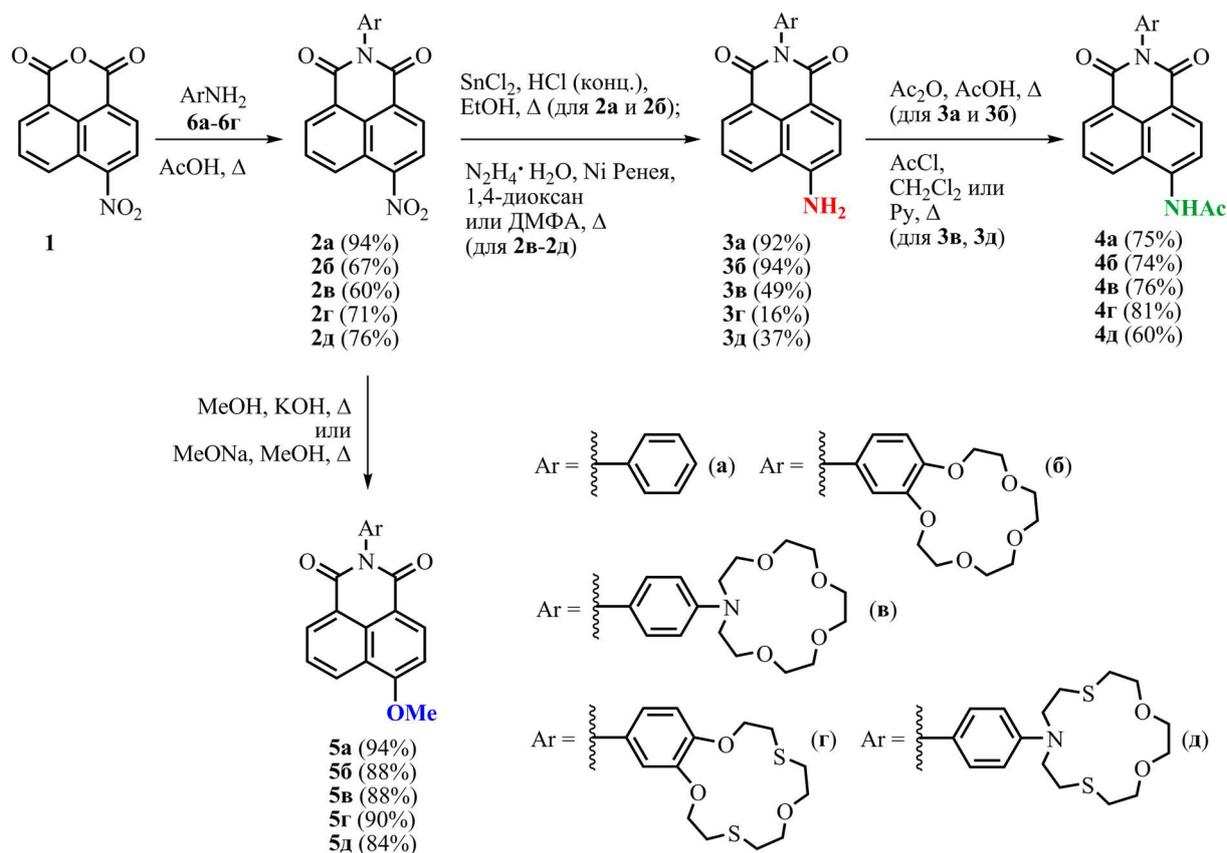
В соответствии с поставленными в диссертационной работе целями (см. выше) объектами исследований были гибридные системы трех типов. Первый тип систем представлял собой соединения, в которых нафталимидный хромофор связан с различными рецепторными группами. В этом случае направленное изменение спектрально-люминесцентных характеристик фотоактивного фрагмента может достигаться за счет комплексообразования, а сами такие соединения представляют собой флуоресцентные хемосенсоры. В качестве основного типа рецептора использовались краун-эфиры, в частности комплексоны на базе 15-краун-5-эфира с различным сочетанием N-, O- и S-гетеро-атомов в составе макроцикла.

Синтез целевых краунсодержащих производных 4-амино-, 4-(ацетил)амино- и 4-метокси-1,8-нафталимида **3б–3г**, **4б–4г** и **5б–5г** (схема 1) осуществлялся из коммерчески доступного 4-нитронафталевого ангидрида **1**. На первой стадии ангидрид **1** имидировали ариламинами **6б–6г** при кипячении в уксусной кислоте, после чего нитрогруппу в 4-м положении нафталинового ядра соединений **2б–2г** восстанавливали с образованием **3б–3г**, либо замещали на метоксигруппу, что позволило получить **5б–5г**. Ацилирование **3б–3г** привело к соответствующим 4-(ацетил)амино-1,8-нафталимидам **4б–4г**. Для сравнительного анализа спектральных характеристик из анилина и ангидрида **1** также были синтезированы *N*-фенилзамещенные **3а–5а**.

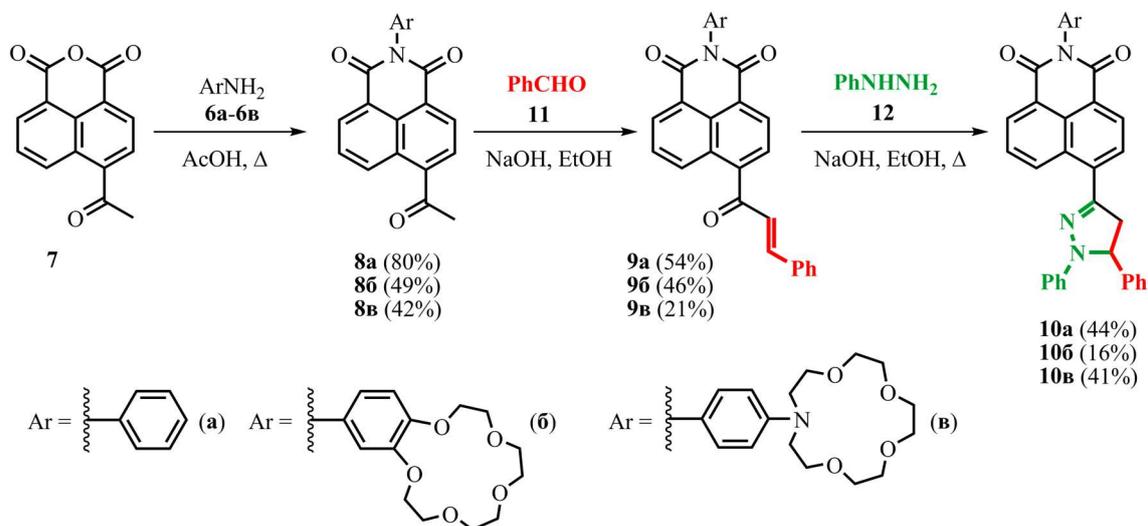
Некоторые затруднения возникали на стадии восстановления и ацилирования. Так, при использовании хлорида олова (II) в солянокислой среде в качестве восстановителя в случае азакраунсодержащего 4-нитропроизводного **2в** наблюдалось одновременное вступление атома хлора в *орто*-положение к аминогруппе. Ацилирование амина **3в** в условиях аналогичных синтезу **4а** и **4б** из **3а** и **3б** (кипячение в смеси  $\text{AcOH}$  и  $\text{Ac}_2\text{O}$ ) не привело к амиду **4в**, а сопровождалось частичным осмолением реакционной массы и образованием трудноразделимой смеси продуктов. В силу указанных обстоятельств для восстановления **2в** и **2г** использовался гидразингидрат в присутствии никеля Ренея, для превращения **3в** и **3г** в **4в** и **4г** – обработка ацетилхлоридом при комнатной температуре или небольшом нагревании.

С целью введения гетероциклического пиразолинильного остатка в состав молекулы исходили из 4-ацетилнафталевого ангидрида **7** (последний получали из аценафтена по описанной в литературе методике) как показано на схеме 2. На первой стадии были синтезированы 4-ацетил-1,8-нафталимиды **8а–8в**, которые далее конденсировали последовательно с бензальдегидом и с фенилгидразином с образованием флуорофоров **10а–10в**.

### Схема 1

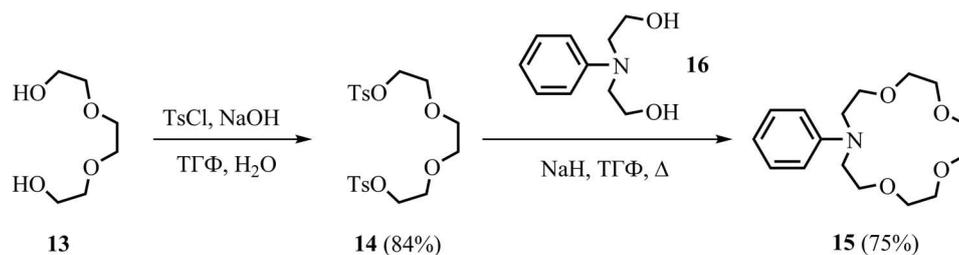


### Схема 2

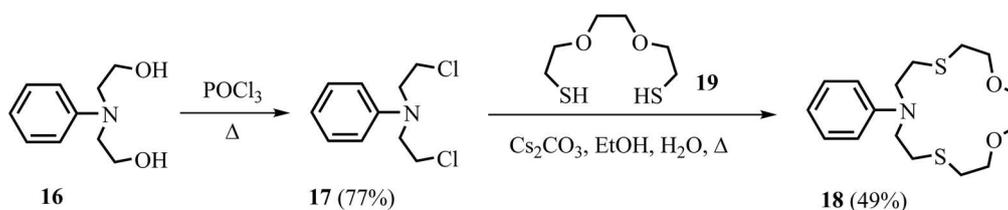


Краунсодержащие ариламины **6в–6д**, используемые в реакции с ангидридами **1** и **7**, получали различными методами. В случае синтеза азакраунсоединений **6в** и **6д** сначала проводили макроциклизацию, используя в качестве исходных соединений *N*-фенилдиэтаноламин **16** и дитозилат **14** (схема 3), либо дихлорид **17** и дитиол **19** (схема 4). Далее для введения аминогруппы в *para*-положение ароматического ядра соединения **15** и **18** подвергали нитрозированию с последующим восстановлением (схема 5). В синтезе бензодитиакраун-эфира **6г** аминогруппу вводили путем нитрования с последующим восстановлением (схема 6). На примере синтеза бензодитиакраунсодержащего 4-нитронафталимида **2г** нами также было показано, что стадия макроциклизации может проводиться и на готовом хромофоре (схема б), однако этот метод оказался менее эффективным.

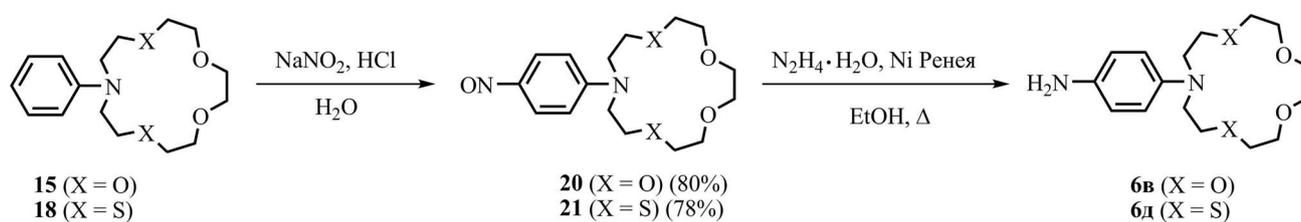
### Схема 3



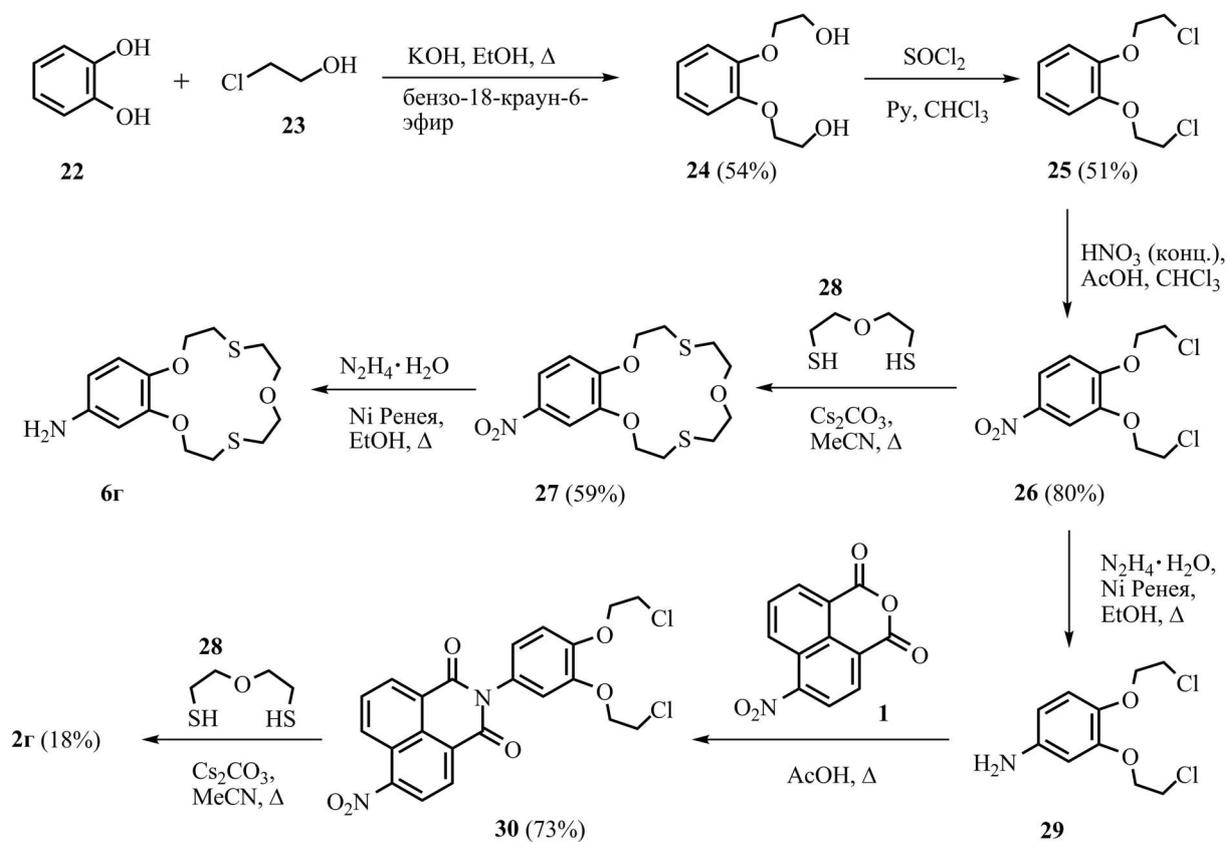
### Схема 4



### Схема 5



### Схема 6



В работе были получены производные нафталимида с открытоцепным рецепторным фрагментом. В качестве последнего выступала алкиламмониевая группа (соединение 33, схема 7),

салицилиденаминогруппа (соединение **38**, схема 8), ВАРТА-рецептор (англ. 1,2-Bis(*ortho*-Amino-Phenoxy)-ethane-*N,N,N',N'*-Tetraacetic Acid, 1,2-бис(*орто*-аминофенокси)этан-*N,N,N',N'*-тетрауксусная кислота, соединение **46**, схема 9) и 5,5'-дикарбоксамидо-дипирролилметановый рецептор (соединение **53**, схема 10). В синтезе **33**, **38** и **46** использовались литературные методики с некото-

Схема 7

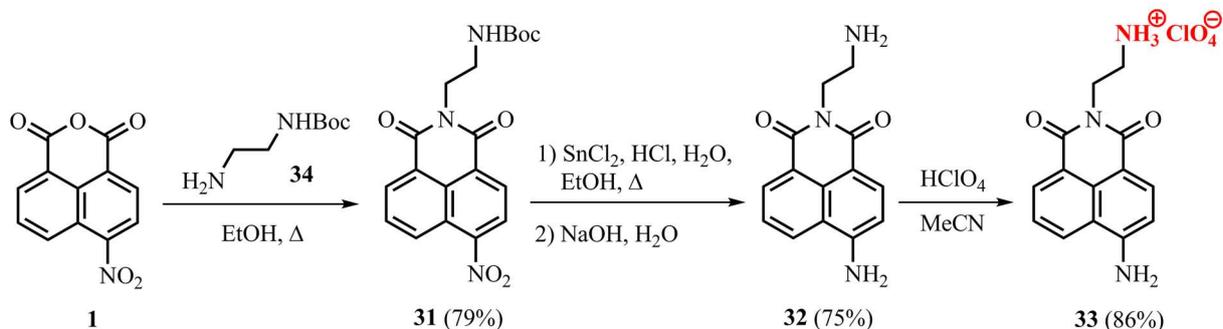


Схема 8

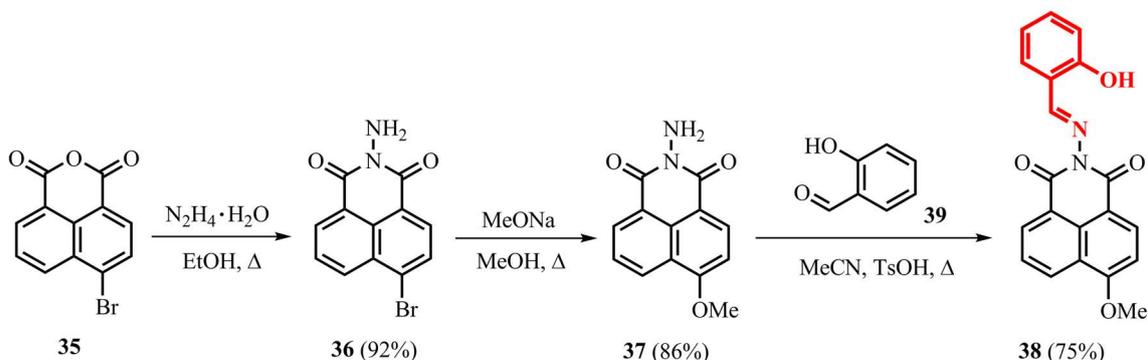
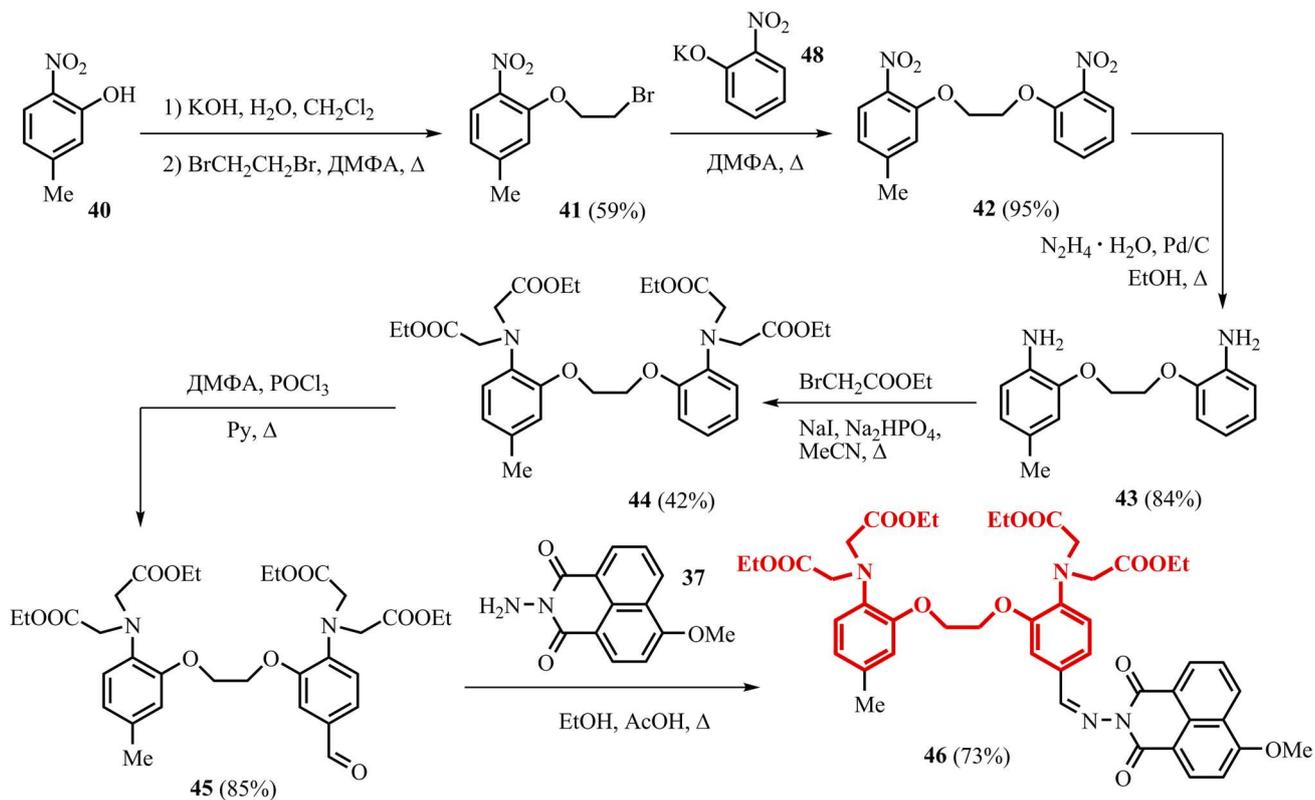
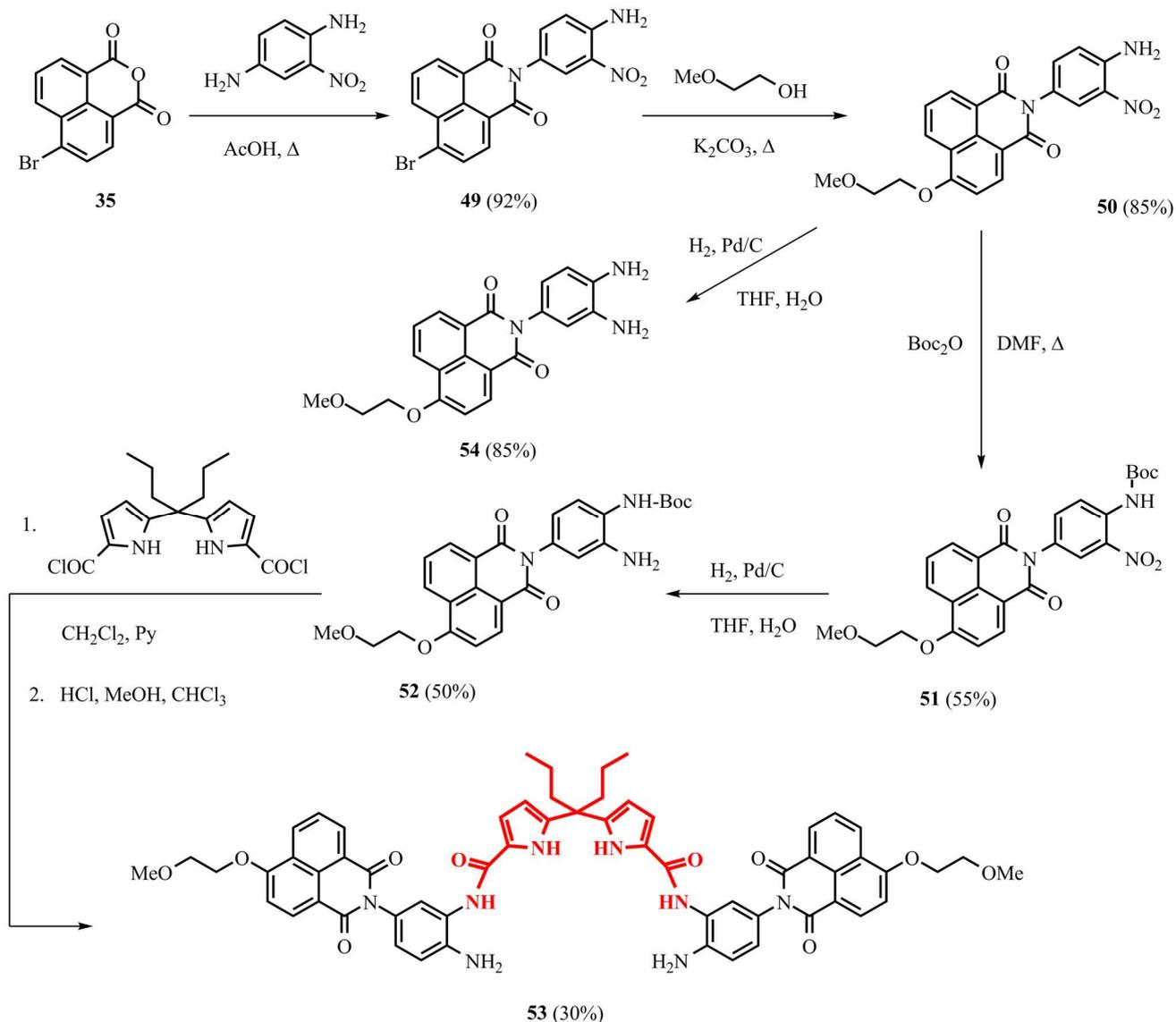


Схема 9



### Схема 10



рыми модификациями. Хемосенсор **53** синтезировали путем ацилирования монобокированного производного диамина **54** (соединение **52**) дихлорангидридом дипирролилметандикарбоновой кислоты (схема 10) с последующим снятием защитной группы. Промежуточный продукт **52** не может быть получен из **54** в классических условиях, в которых проводится введение *трет*-бутилоксикарбонильной защиты, поскольку процесс, как следует ожидать, будет осложняться образованием значительного количества продукта с двумя  $\text{NH}^{\text{Boc}}$ -группами. По этой причине было решено сначала синтезировать  $\text{Boc}$ -производное нитроамина **50** (соединение **51**), который легко получался в две стадии из 4-бромнафталевого ангидрида **35** и 1,4-диамино-2-нитробензола, а далее провести восстановление нитрогруппы. Следует сказать, что ацилирование слабоосновных аминов ангидридом  $\text{Boc}_2\text{O}$  протекает с низкими выходами, либо не идет вовсе. Тем не менее, нагреванием соединения **50** с  $\text{Boc}_2\text{O}$  в среде ДМФА данное превращение с умеренным выходом осуществить удалось.

В гибридных системах второго типа нафталимидный флуорофор сочетается с фрагментом органического фотохрома (нафтопирана или диарилэтилена). Такая комбинация фотоактивных составляющих открывает еще один способ модуляции регистрируемого флуоресцентного сигнала, который заключается в том, что протекание обратимой фотохимической трансформации в фото-

хромной компоненте при облучении светом должно приводить к изменению излучательных характеристик флуорофорного остатка.

Соединения с гибридной хромофорной системой **56a–56в** (схема 11), содержащие фрагмент 1,8-нафталимида и фрагмент диарилэтилена (стирилового красителя), получали по реакции Хека из соответствующих стирилов **57a–57в** и 4-бром-*N*-бутил-1,8-нафталимида **55**. Последний был синтезирован из ангидрида **35** и *n*-бутиламина.

Для введения нафтопиранового остатка в состав молекулы использовалось два метода (схема 12). По первому из них исходный нафтол **58a** вводили в реакцию с дифенилпропаргиловым спиртом **60** в присутствии кислоты. Второй заключался в использовании  $\beta$ -фенилкоричного альдегида **61** и этоксида титана (IV). Выходы целевого продукта **59a** оказались низкими в обоих случаях, но на уровне литературных значений для данного типа реакций. Изомерный нафтопиран **59b** получали только первым методом (схема 13). Исходные нафтолы (**58a** и **58b**) синтезировали из соответствующих нитронафталевых ангидридов (**1** и **62**) и анилина, как показано на схеме 14 (синтез 4-аминопроизводного нафталимида **3a** из **1** представлен на схеме 1).

Схема 11

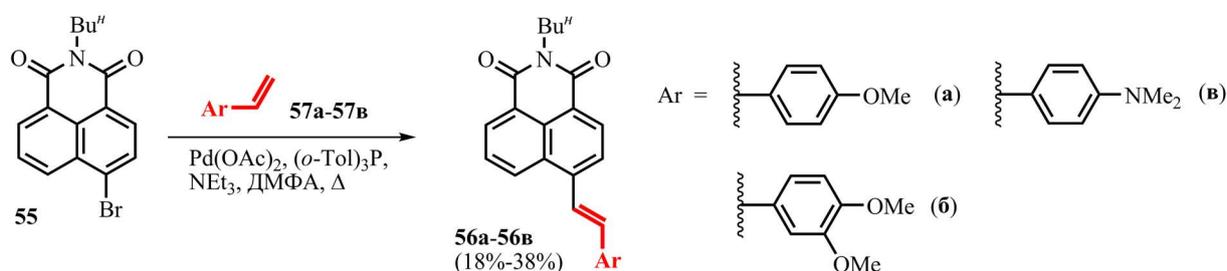


Схема 12

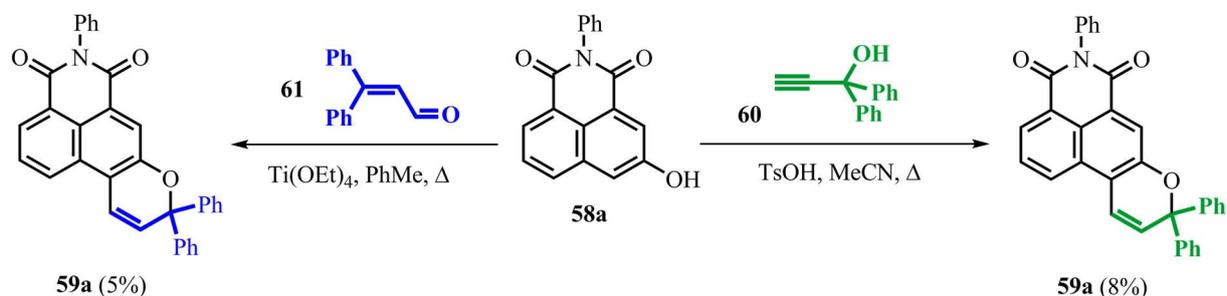
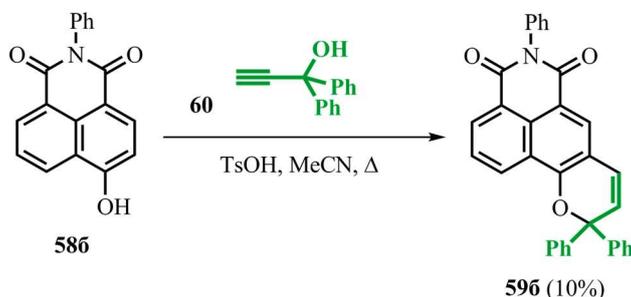
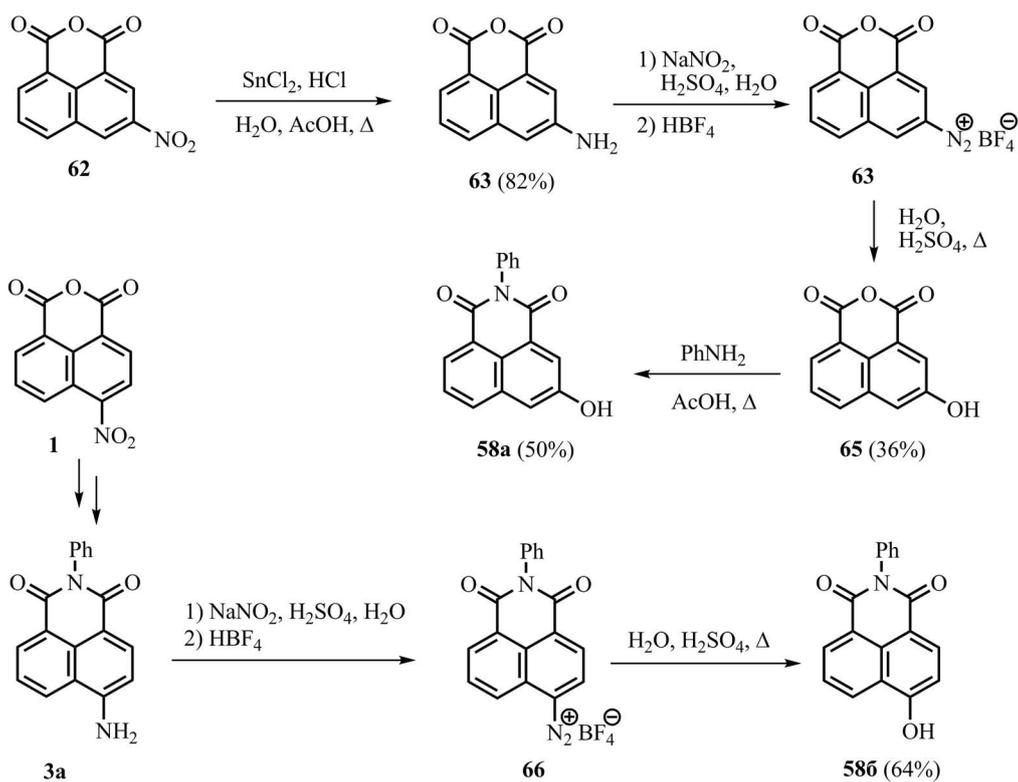


Схема 13

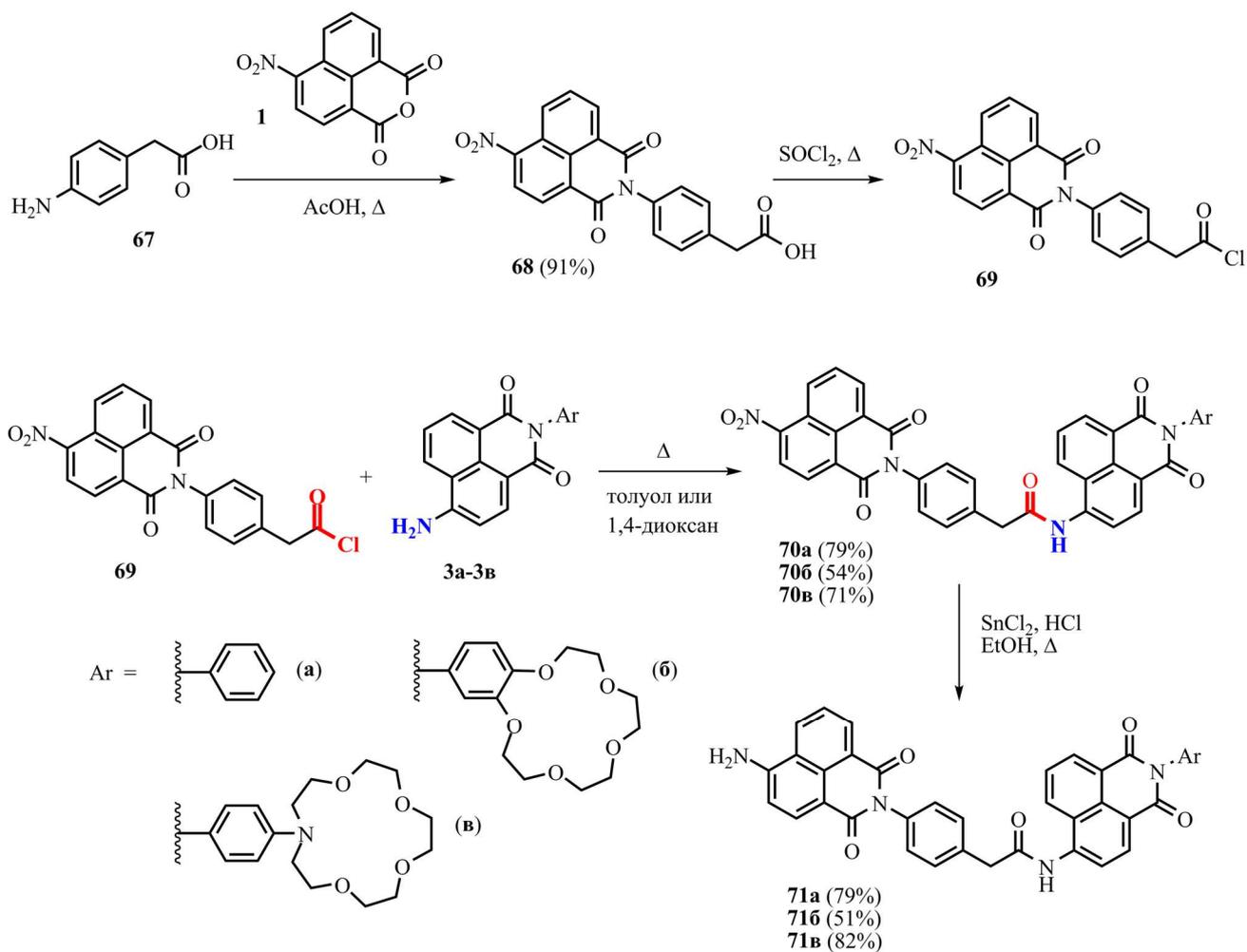


В работе изучались бисхромофорные системы различного назначения. Ковалентная сшивка двух нафталимидных фрагментов при синтезе ратиометрических краунсодержащих хемосенсоров **71b** и **71в** (схема 15) проводилась с использованием реакции ацилирования между хлорангидридом **69** и 4-амино-1,8-нафталимидами **3b** и **3в**, после чего осуществляли восстановление нитрогруппы действием хлорида олова (II) в присутствии соляной кислоты. Для получения конъюгатов **73–77** (схема 16) природного фотосенсибилизатора бактериохлорина с нафталимидными красителями

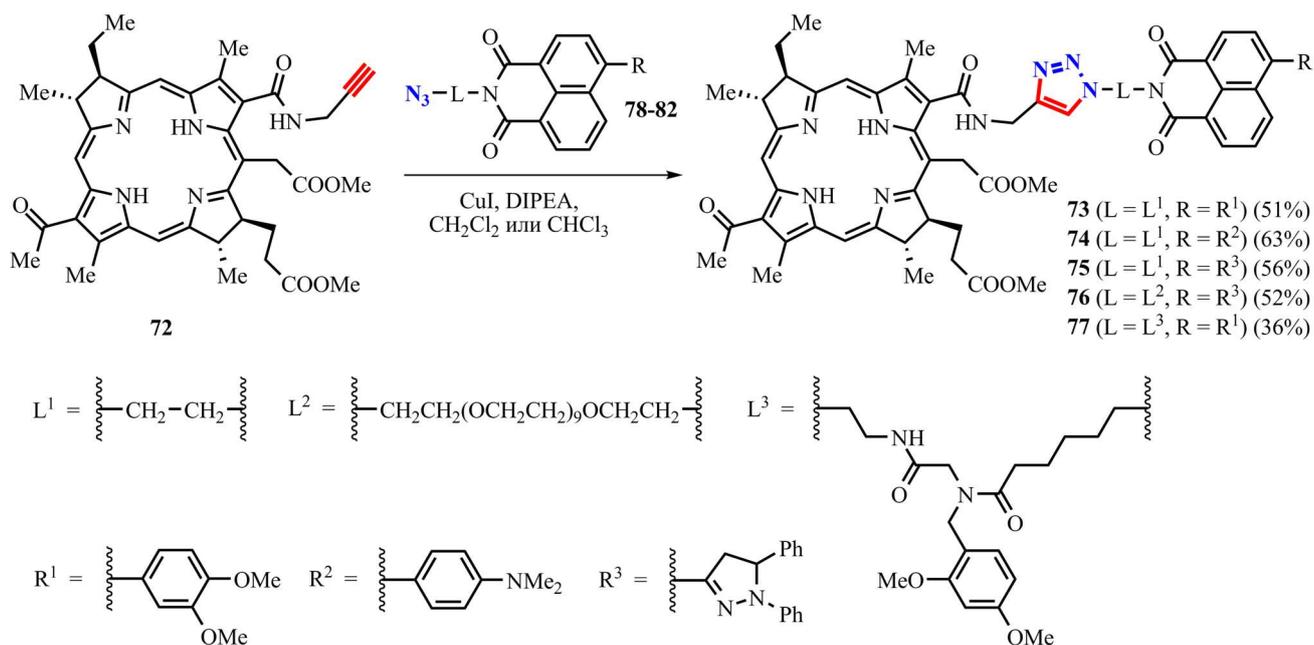
### Схема 14



### Схема 15



### Схема 16

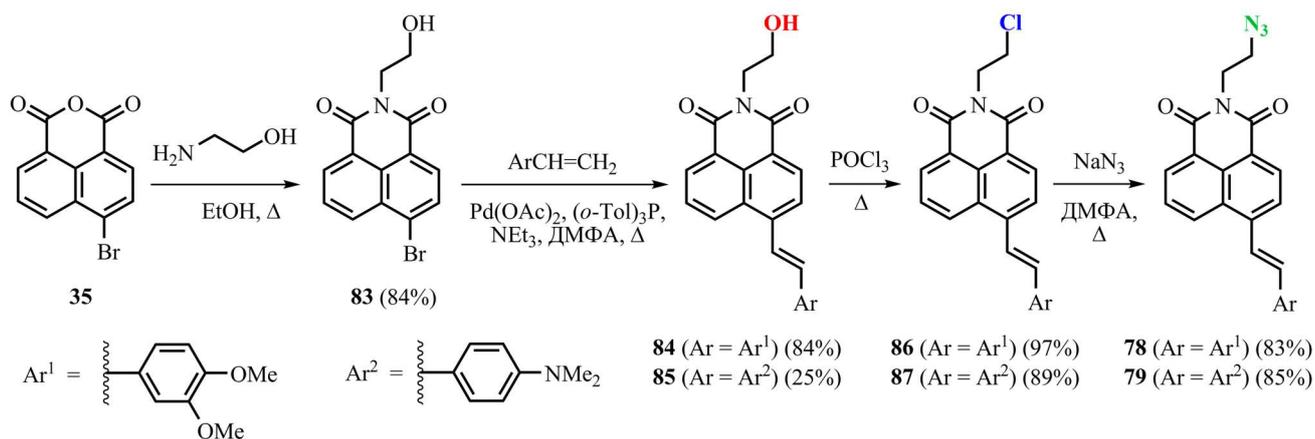


использовалась медь-катализируемая клик-реакция 1,3-диполярного азид-алкинового циклопри-соединения. В нашем распоряжении имелось относительно легкодоступное производное бактериохлорина **72**, содержащее пропаргильную группу (пропаргил-15<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-диметокси-13<sup>1</sup>-амид бактериохлорина *e*). Соединение **72** получали из бактериохлорофилла *a*, который в свою очередь выделяли экстракцией из биомассы пурпурных бактерий *Rhodobater capsulatus*. Полученные этим методом конъюгаты **73–77** с различными спейсерами между фотоактивными фрагментами и с различными электронодонорными группами в нафталимидном остатке представляли собой третий тип гибридных систем, которому посвящена заключительная часть диссертационной работы.

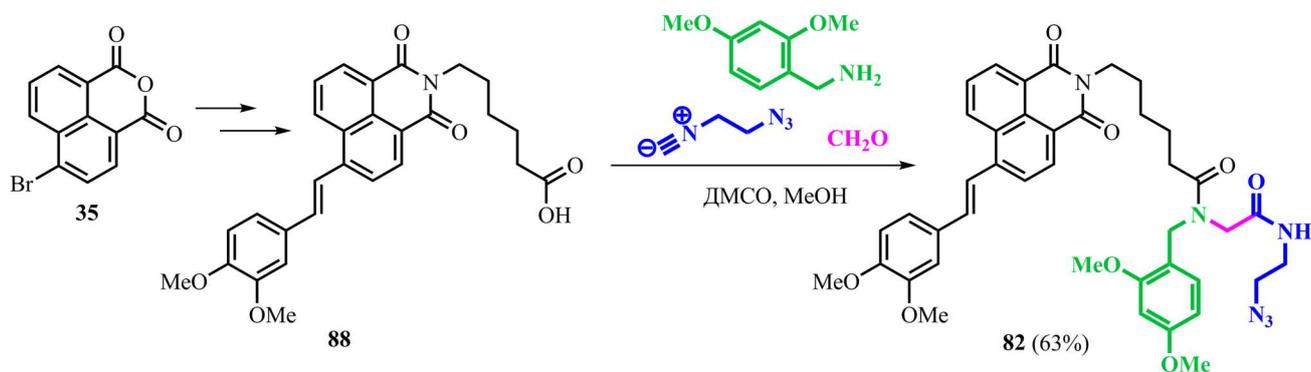
Стирилнафталимиды **78** и **79** для клик-реакции получали по реакции Хека (схема 17). Сначала были синтезированы соответствующие ОН-производные **84** и **85**. Затем проводилось замещение гидроксигруппы на азидную. В ходе работы также было получено производное 4-стирил-1,8-нафталимида **88** (схема 18), содержащее остаток 6-аминогексановой кислоты, который использовался для дальнейшего введения пептидного спейсера по реакции Уги (превращение **88** в **82**). Реакция Уги представляет собой четырехкомпонентную конденсацию изоцианида, карбонильного соединения, амина и неорганической или органической кислоты. Наличие молекулярного фрагмента, включающего амидные связи, предположительно, должно повышать сродство конъюгата на основе соединения **82** к биомолекулам. Такое сродство может увеличивать растворимость соединения в биологической среде, подавляя агрегацию молекул, способствовать более легкому проникновению сквозь клеточные мембраны, а также препятствовать сближению хромофоров в пространстве за счет понижения конформационной подвижности спейсера.

Производные 4-пиразолинил-1,8-нафталимида **80** и **81**, содержащие азидную группу в составе заместителя при имидном атоме азота нафталимидного ядра, получали из 4-ацетилнафталевого ангидрида **7** (схема 19). Соединение **81** с полиэтиленгликолиевым (ПЭГ) фрагментом было синтезировано с целью изучения влияния длины спейсера на эффективность переноса энергии в конъюгатах. При получении **81** стадию ацилирования N<sub>3</sub>-ПЭГ-NH<sub>2</sub> предполагалось проводить последней, используя 4-пиразолинилнафталевый ангидрид, который планировали синтезировать из ангидрида **93** в условиях, аналогичных использованным для конверсии **90** в **91**. Осуществить указанное превращение не удалось: в ходе процесса наблюдалось образование продукта ацилирования PhNHNH<sub>2</sub> ангидридом **93**, который затем частично вступал в конденсацию по циннамоильной

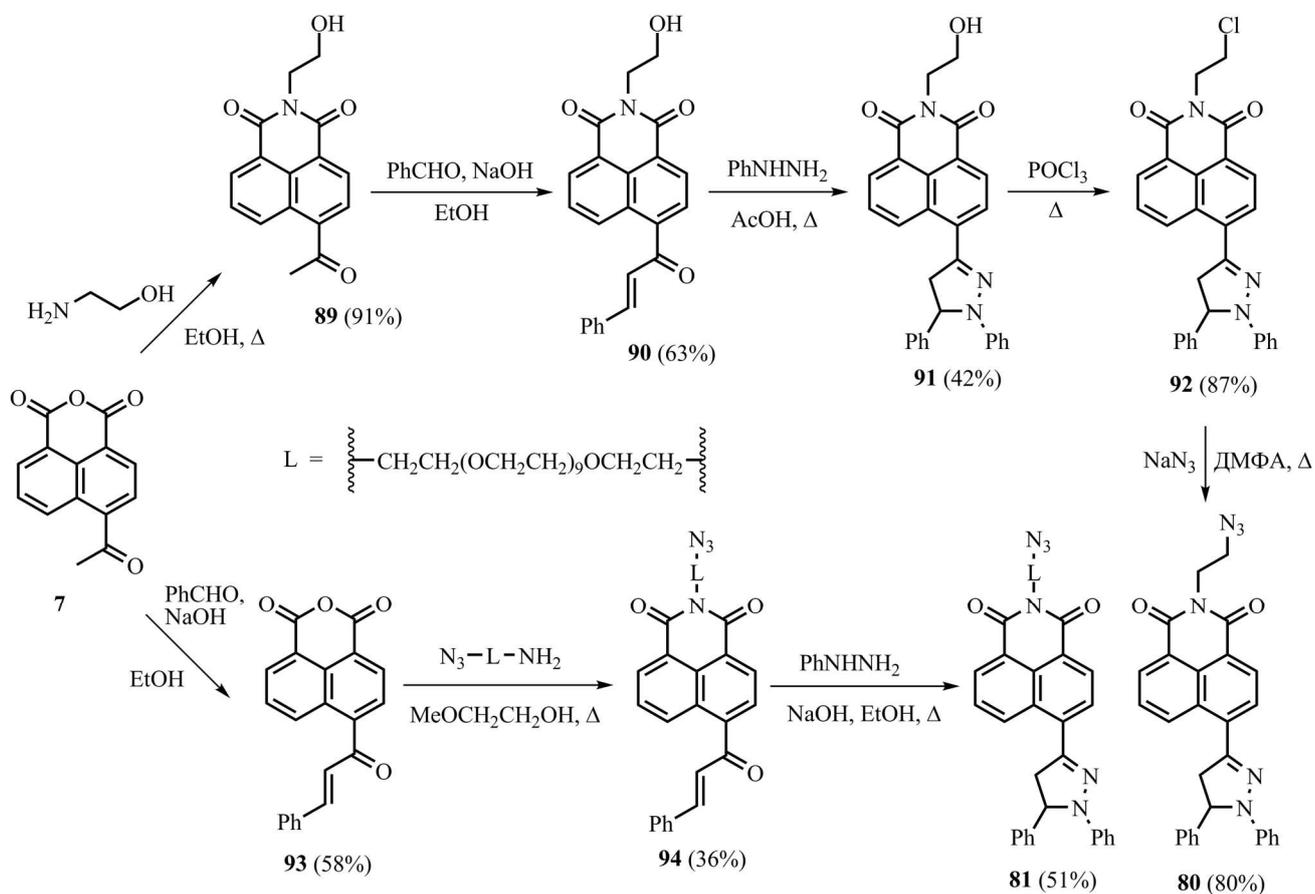
### Схема 17



### Схема 18



### Схема 19



группе с избытком фенилгидразина. По этой причине первоначально из **93** получали циннамоильное производное **94**. На заключительной стадии **94** подвергали конденсации с образованием **81**.

### Флуоресцентные хемосенсоры на основе производных 1,8-нафталимида

В качестве основы для разработки флуоресцентных хемосенсоров использовался ряд флуорофоров, включающий 4-амино-, 4-(ацетил)амино-, 4-метокси- и 4-пиразолинилпроизводные 1,8-нафталимида. Спектрально-люминесцентные свойства соединений с рецепторной бензо-15-краун-5- и *N*-фенилаза-15-краун-5-эфирной группой **3б–5б**, **3в–5в**, **10б** и **10в** (схема 1 и 2) были изучены в ацетонитрильных растворах. Первоначально нами было проанализировано влияние природы заместителя, находящегося в четвертом положении нафталимидного ядра, и природы *N*-арильного фрагмента на положение и интенсивность полос в электронных спектрах поглощения (ЭСП) и флуоресценции. Полученные данные представлены в табл. 1.

**Таблица 1.** Спектрально-люминесцентные характеристики и константы устойчивости соединений **3а–3в**, **4а–4в**, **5а–5в** и **10а–10в** и их комплексов с катионами  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  и  $H^+$  в ацетонитриле.

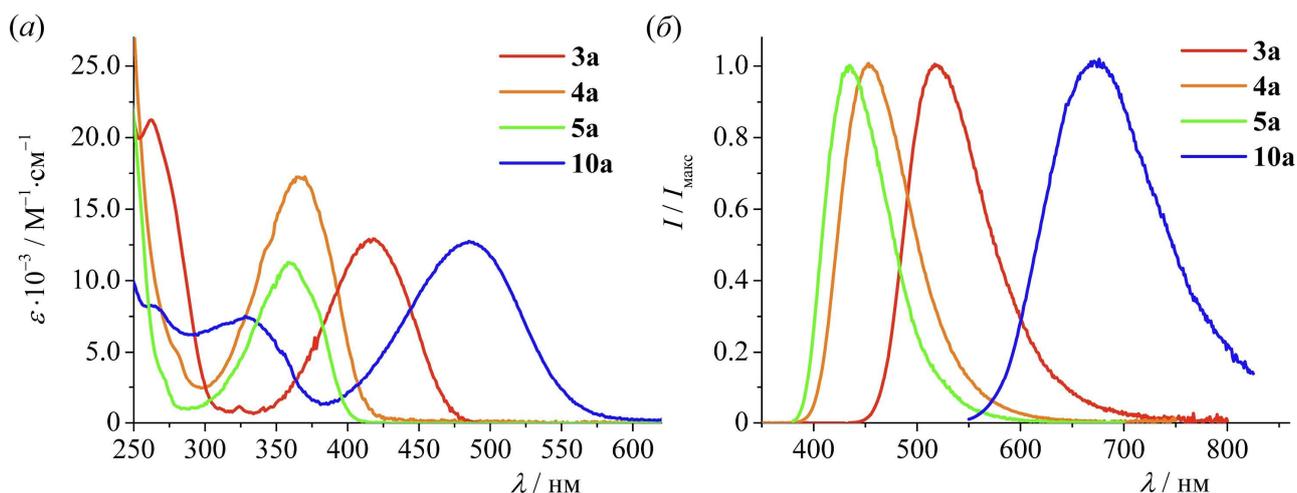
Соединение	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{погл}} / \text{нм}$	$\lg \varepsilon^a$	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}} (\lambda_{\text{возб}}) / \text{нм}$	$\varphi^{\text{фл}}$	$\lg K^b$
<b>3а</b>	417	4.11	518 (420)	0.55	–
<b>3б</b>	414	4.23	519 (415)	0.43	–
<b>(3б)·Mg<sup>2+</sup></b>	417	4.15	521 (415)	0.49	не определена
<b>3в</b>	415	4.17	518 (420)	0.0024	–
<b>(3в)·Mg<sup>2+</sup></b>	420	4.02	520 (420)	0.31	$5.30 \pm 0.03$
<b>(3в)·Ca<sup>2+</sup></b>	420	4.16	520 (420)	0.43	$4.94 \pm 0.02$
<b>(3в)·H<sup>+</sup></b>	420	4.12	520 (420)	0.53	>7
<b>4а</b>	367	4.24	454 (365)	0.90	–
<b>4б</b>	366	4.18	454 (365)	0.0030	–
<b>(4б)·Mg<sup>2+</sup></b>	368	4.18	454 (365)	0.61	$5.33 \pm 0.02$
<b>4в</b>	366	4.20	454 (365)	0.0017	–
<b>(4в)·Ca<sup>2+</sup></b>	369	4.19	456 (365)	0.067	$4.85 \pm 0.02$
<b>(4в)·H<sup>+</sup></b>	369	4.18	457 (365)	0.89	>7
<b>5а</b>	361	4.05	434 (375)	0.85	–
<b>5б</b>	363	4.05	437 (375)	0.0028	–
<b>(5б)·Mg<sup>2+</sup></b>	363	4.03	437 (375)	0.52	$6.57 \pm 0.03$
<b>(5б)·Ca<sup>2+</sup></b>	361	4.06	434 (375)	0.30	$6.12 \pm 0.02$
<b>5в</b>	361	4.11	434 (375)	0.0019	–
<b>(5в)·Mg<sup>2+</sup></b>	363	4.10	437 (375)	0.44	$5.61 \pm 0.02$
<b>(5в)·Ca<sup>2+</sup></b>	361	4.10	435 (375)	0.35	$5.34 \pm 0.02$
<b>10а</b>	484	4.10	671 (490)	0.11	–
<b>10б</b>	484	4.06	671 (490)	0.11	–
<b>(10б)·Mg<sup>2+</sup></b>	490	4.14	681 (490)	0.056	$6.54 \pm 0.07$
<b>10в</b>	481	4.13	664 (490)	0.021	–
<b>(10в)·Ca<sup>2+</sup></b>	489	4.19	679 (490)	0.071	$5.42 \pm 0.01$

<sup>a</sup>Коэффициент экстинкции  $\varepsilon$  имеет размерность  $M^{-1} \cdot cm^{-1}$

<sup>b</sup>Константа устойчивости комплекса  $K$  имеет размерность  $M^{-1}$ .

Длинноволновая полоса в ЭСП *N*-фенил-1,8-нафталимидов **3а–5а** и **10а** (схема 1 и 2) обусловлена электронным переходом с внутримолекулярным переносом заряда (ИСТ-переходом, *англ.* Intramolecular Charge Transfer) с электронодонорной (ЭД) группы при атоме углерода C(4) на карбонильные группы дикарбоксиимидного остатка (рис. 1). Замена аминогруппы

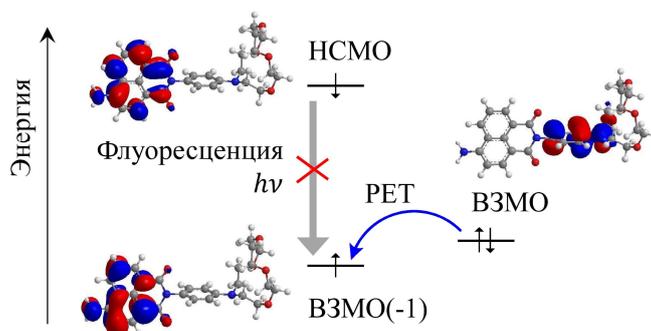
на ацетиламиногруппу при переходе от **3а** к **4а** снижает ЭД свойства атома азота, связанного с нафталиимидным ядром, в результате в спектре поглощения наблюдается гипсохромный сдвиг ICT-полосы на 50 нм. Спектр флуоресценции также смещается в коротковолновую область от 518 до 454 нм (табл. 1). Близкие по величине сдвиги максимумов  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{погл}}$  и  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}}$  (56 и 84 нм соответственно) имели место при замене аминогруппы в **3а** на метоксигруппу с образованием **5а**, что говорит о сопоставимой степени смещения электронной плотности в нафталиимидном хромофоре с участием NHAc- и OMe-заместителей при фотовозбуждении. Наиболее длинноволновое положение среди *N*-фенильных производных максимумы в спектрах поглощения и флуоресценции занимают в случае 4-пиразолилнафталимида **10а**.



**Рисунок 1.** Электронные спектры поглощения (а) и нормализованные спектры флуоресценции (б) **3а–5а, 7а** и **10а** в ацетонитриле. Концентрация соединений в растворе  $10^{-6} - 10^{-5}$  М. Здесь и далее  $I$  и  $I_{\text{макс}}$  – интенсивность флуоресценции при длинах волн  $\lambda^{\text{фл}}$  и  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}}$  соответственно.

Введение краун-эфирных групп в состав *N*-арильного фрагмента практически не изменяло положения спектральных полос, однако сопровождалось тушением флуоресценции. Этот эффект имел место не во всех случаях. Значительное уменьшение квантового выхода флуоресценции ( $\phi^{\text{фл}}$ ) было отмечено для 4-амино-1,8-нафталимида **3в**, 4-(ацетил)аминопроизводных **4б** и **4в**, 4-метокси-1,8-нафталиимидов **5б** и **5в** и пиразолинильного производного **10в** (табл. 1). На основании данных время-разрешенных экспериментов (более подробно – см. текст диссертации) нами было показано, что уменьшение интенсивности эмиссии обусловлено протеканием процесса фотоиндуцированного переноса электрона (PET-процесса, *англ.* Photoinduced Electron Transfer) с *N*-арильного фрагмента на нафталиимидный хромофор (рис. 2), который конкурирует с излучательной дезактивацией возбужденного состояния  $S_1$ .

Для объяснения различий в квантовых выходах флуоресценции соединений **3а–3в**, **4а–4в**, **5а–5в** и **10а–10в** были проведены квантово-химические расчеты методом РМ6. Вследствие практически полного разобщения  $\pi$ -систем нафталиимидного ядра и *N*-арильного остатка, обусловленного стерическими и электронными факторами, молекулярные орбитали (МО) указанных фрагментов имеют локальный характер. В табл. 2 приведены энергии высших заполненных  $\pi$ -МО (ВЗМО) и низших свободных  $\pi$ -МО (НСМО) нафталиимидного хромофора (не выделены подчеркиванием) и ВЗМО *N*-арильной группы (подчеркнутые значения). Принадлежность орбиталей к соответствующим молекулярным фрагментам определялась исходя из распределения электронной плотности, которая в зависимости от типа орбитали оказывалась локализованной на том или ином участке молекулы. В качестве примера использованных при этом изображений  $\pi$ -МО на рис. 2 приведены графические изображения граничных молекулярных орбиталей для соединения **3в**.



**Рисунок 2.** Молекулярно-орбитальная диаграмма, иллюстрирующая фотофизические процессы в возбужденном  $S_1$ -состоянии соединения **3в**. Изображения граничных  $\pi$ -МО получены методом РМ6.

**Таблица 2.** Энергии граничных  $\pi$ -молекулярных орбиталей (эВ) в соединениях **3а–3в**, **4а–4в**, **5а–5в** и **10а–10в**, рассчитанные с использованием метода РМ6.<sup>a</sup>

	<b>3а</b>	<b>3б</b>	<b>3в</b>	<b>4а</b>	<b>4б</b>	<b>4в</b>	<b>5а</b>	<b>5б</b>	<b>5в</b>	<b>10а<sup>б</sup></b>	<b>10б</b>	<b>10в</b>
НСМО	-1.46	-1.45	-1.45	-1.83	-1.83	-1.82	-1.66	-1.67	-1.64	-1.93	-1.93	-1.91
ВЗМО	-8.85	-8.85	<u>-8.67</u>	-9.40	<u>-9.30</u>	<u>-8.53</u>	-9.39	<u>-9.15</u>	<u>-8.50</u>	-8.83	-8.84	<u>-8.49</u>
ВЗМО(-1)	<u>-9.86</u>	<u>-9.27</u>	-8.84	<u>-9.95</u>	-9.39	-9.39	<u>-9.94</u>	-9.40	-9.38	<u>-9.97</u>	<u>-9.15</u>	-8.80

<sup>a</sup>Значения энергии молекулярных орбиталей, локализованных на *N*-арильном фрагменте при имидном атоме азота нафталимидного ядра, подчеркнуты.

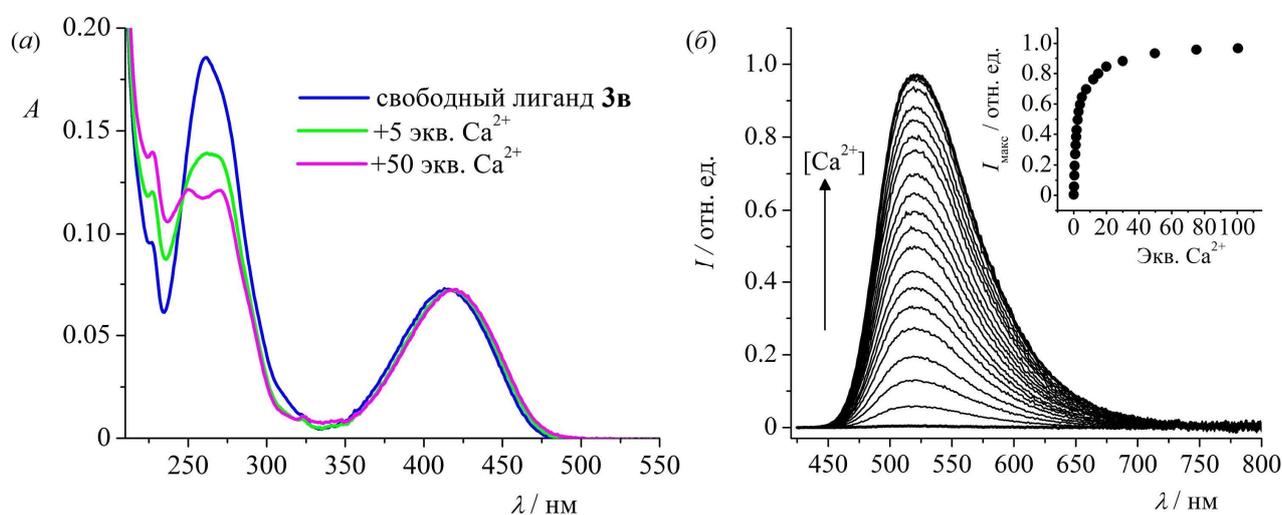
<sup>б</sup>Орбиталь с энергией  $-9.97$  эВ является ВЗМО(-4). ВЗМО(-1), ВЗМО(-2) и ВЗМО(-3) относятся к хромофору.

Как видно из представленных в табл. 2 данных, в случае азакраун-эфирных производных **3в–5в** и **10в** уровень энергии высшей ВЗМО *N*-арильного фрагмента находится выше, чем ВЗМО любого из четырех флуорофоров (в  $S_1$ -состоянии ВЗМО флуорофоров заполнены наполовину). Получается, что в молекулах всех четырех соединений с азакраун-эфирным рецептором реализуется фотоиндуцированный перенос электрона. В результате **3в–5в** и **10в** обладают низким квантовым выходом флуоресценции. Если в роли рецептора выступает фрагмент бензокраун-эфира, то PET-процесс оказывается возможен для 4-метокси- и 4-(ацетил)аминопроизводного: сенсоры **4б** и **5б** плохо флуоресцируют, а **3б** и **10б** характеризуются высоким значением  $\phi^{фл}$ . В случае *N*-фенил-1,8-нафталимидов PET, по всей видимости, затруднен и все четыре соединения (**3а–5а** и **10а**) являются эффективными флуорофорами.

Далее было изучено комплексообразование краунсодержащих производных нафталимида **3б–5б**, **3в–5в**, **10б** и **10в** с катионами магния и кальция в ацетонитриле. Поскольку координация положительно заряженного субстрата по краун-эфирной полости приводит к понижению донорных свойств *N*-арильного заместителя, то мы предположили, что связывание катионов металлов рассматриваемыми молекулами будет подавлять PET-процесс и, следовательно, сопровождаться увеличением интенсивности флуоресценции. Выбор двухзарядных катионов щелочноземельных металлов был обусловлен нашим стремлением добиться образования прочных комплексов с указанными соединениями, что является удобным при изучении катионо-индуцированных оптических эффектов.

Добавление в раствор соединений **3в–5в**, **4б**, **5б** и **10в** перхлоратов магния и кальция (а также  $\text{HClO}_4$  в случае азакраун-эфирных производных **3в** и **4в**) сопровождалось разгоранием флуоресценции, при этом положение максимумов  $\lambda_{\text{макс}}^{фл}$  и  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{полг}}$  оставалось практически неизменным. В качестве примера на рис. 3 представлены изменения в спектрах поглощения и эмиссии сенсора **3в**,

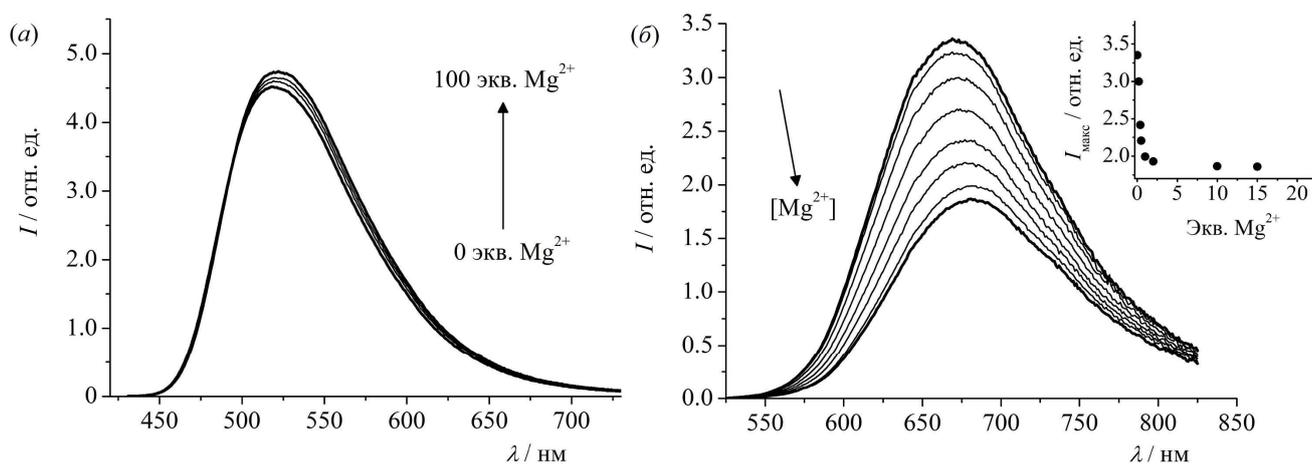
происходящие при добавлении  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  в его раствор в MeCN. Фотофизические характеристики свободных лигандов и их комплексов с катионами, а также константы устойчивости комплексов, определенные методом спектрофлуориметрического титрования с использованием программы SPECFIT/32, приведены в табл. 1. Как видно из приведенных данных, соединения **3в–5в**, **4б**, **5б** и **10в** проявляют сходный характер спектральных изменений при комплексообразовании и различаются лишь по степени разгорания флуоресценции, что видно из сопоставления квантовых выходов флуоресценции свободных лигандов и соответствующих им комплексов. Следует отметить, что в тех ситуациях, когда разгорания флуоресценции не ожидалось по причине неэффективного PET-взаимодействия в лиганде, как, например, для соединения **3б**, оно, действительно, не происходило (рис. 4а), а в случае пиразолинильного производного **10б** наблюдался даже противоположный эффект – уменьшение интенсивности полосы (рис. 4б), что связано с усилением поляризации нафталимидного хромофора в составе комплекса. Такая поляризация выражается в том, что максимумы поглощения и флуоресценции комплекса (**10б**)· $\text{Mg}^{2+}$  батохромно смещены относительно максимумов в спектрах соединения **10а** (табл. 1). Указанное перераспределение  $\pi$ -электронной плотности в нафталимидном фрагменте снижает значение  $\phi^{\text{ФЛ}}$  образующегося комплекса.



**Рисунок 3.** Спектры поглощения (а) и флуоресценции (б) **3в** ( $5.0 \cdot 10^{-6}$  М) в MeCN в присутствии и в отсутствие  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ . Длина волны возбуждения 420 нм. Верхняя вставка на правой половине рисунка (б) показывает зависимость интенсивности флуоресценции в точке максимума ( $I_{\text{макс}}$ ) от добавленного количества эквивалентов  $\text{Ca}^{2+}$ .

Связывание катионов  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  соединениями **3б–5б**, **3в–5в**, **10б** и **10в** в ацетонитрильном растворе отчетливо было зафиксировано с помощью спектроскопии  $^1\text{H}$  ЯМР. При добавлении катиона металла наблюдался сдвиг сигналов протонов бензольного ядра и краун-эфирного цикла в область слабого поля в то время, как положение сигналов протонов нафталимидного фрагмента практически не изменялось (см. данные в тексте диссертационной работы).

Таким образом, было показано, что ведение бензо-15-краун-5-эфирного рецептора в состав *N*-арильного заместителя при имидном атоме азота нафталимидного ядра приводит к возникновению флуоресцентного отклика на комплексообразование вида «OFF → ON» за счет подавления PET-процесса только в случае производных 4-метокси- и 4-(ацетил)аминонафталимида. В то же время данный вид отклика достигается при комбинации фрагмента *N*-фенилаза-15-краун-5-эфира с любым из четырех рассмотренных нафталимидных хромофоров. Среди PET-сенсоров **3в–5в**, **10в**, **4б**, **5б** наименьший контраст в переключении флуоресцентного сигнала при связывании с катионом металла наблюдался для 4-пиразолинильного производного **10в** (см. различие в значениях  $\phi^{\text{ФЛ}}$  для свободных лигандов и соответствующих комплексов в табл. 1). Бензо-15-



**Рисунок 4.** Изменения в спектрах флуоресценции **36** (а) и **106** (б) в MeCN, происходящие при добавлении  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ . Длины волн возбуждения 415 нм (а) и 490 нм (б). Верхняя вставка на правой половине рисунка (б) показывает зависимость интенсивности флуоресценции в точке максимума ( $I_{\text{макс}}$ ) от добавленного количества эквивалентов  $\text{Mg}^{2+}$ . Концентрации соединений  $1.3 \cdot 10^{-5}$  М (**36**) и  $2.0 \cdot 10^{-6}$  М (**106**).

краун-5-содержащий 4-пиразолинилнафталимид **106** демонстрировал тушение флуоресценции в присутствии  $\text{Mg}^{2+}$ , которое является менее предпочтительным (по сравнению с разгоранием) с точки зрения аналитических применений. В силу отмеченных причин 4-пиразолинил-1,8-нафталимидный хромофор далее не использовался для разработки сенсорных устройств.

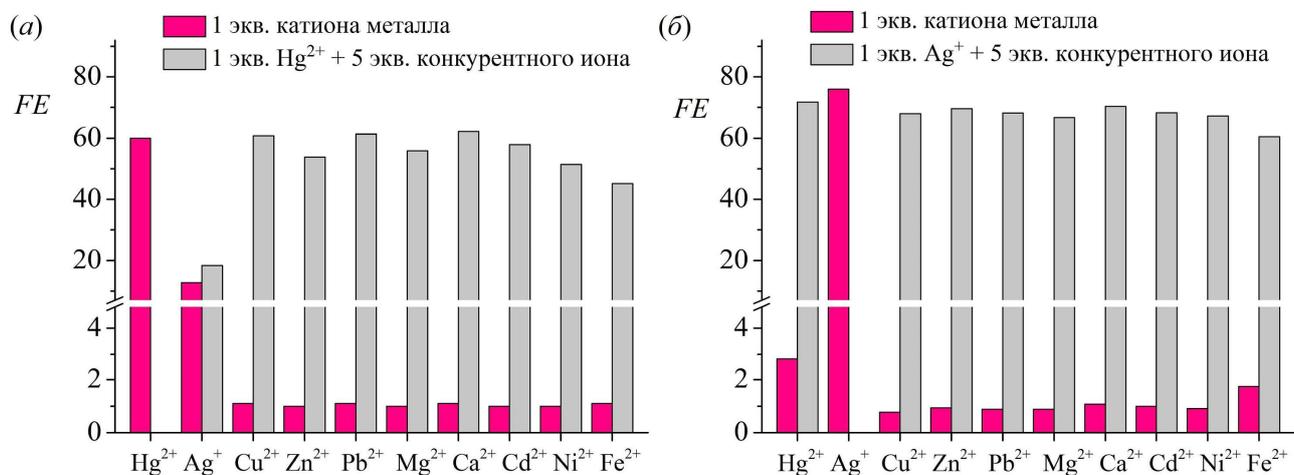
На следующем этапе работы нами была осуществлена модификация краун-эфирного рецептора путем введения двух атомов серы вместо двух атомов кислорода. С одной стороны, такая модификация не привносит практически ни каких изменений в  $\pi$ -электронную структуру хромофора, но с другой стороны, у соединения появляется способность связывать мягкие катионы тяжелых и переходных металлов в водных растворах. Наиболее интересные сенсорные свойства оказались у азакраун-эфирных производных **3д–5д** (схема 1). На них остановимся более подробно.

Общей проблемой, которая возникает при разработке флуоресцентных хемосенсоров для анализа ионов тяжелых и переходных металлов в водной среде, является гидролиз солей по катиону, приводящий к закислению раствора и снижению связывающей способности рецепторного фрагмента. Кроме того, очевидно, что в случае соединений с азакраун-эфирной группой регистрируемый аналитический сигнал, разгорание флуоресценции за счет подавления РЕТ-процесса, будет одним и тем же как при протонировании рецептора, так и при его координации с ионом металла. По этой причине предварительно было проанализировано влияние pH на оптические характеристики исследуемых соединений. Анализ зависимости интенсивности флуоресценции сенсоров **3д–5д** от pH показал, что протонирование рецептора начинается при  $\text{pH} < 4$ , т.е. в качестве среды можно использовать буферные растворы, обеспечивающие уровень pH 4.5 и выше.

Количественно спектральный отклик соединений **3д–5д** на присутствие того или иного иона металла в растворе был охарактеризован с помощью степени разгорания флуоресценции *FE* (англ. Fluorescence Enhancement). Величина *FE* рассчитывалась как отношение интенсивности флуоресценции раствора лиганда в точке максимума  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}}$  после добавления рассматриваемого катиона металла к интенсивности до добавления на той же длине волны.

В кислой среде исследуемые соединения проявляли селективный флуоресцентный отклик на катионы ртути (II) и в меньшей степени на катионы серебра. Так, добавление 1 экв.  $\text{Hg}^{2+}$  в раствор **4д** при pH 6.0 в воде вызывало шестидесятикратное увеличение интенсивности эмиссионной полосы, а в присутствии такого же количества  $\text{Ag}^+$  степень разгорания флуоресценции составила 12.8 (рис. 5а). В случае катионов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  изменения

были незначительными. Высокая селективность связывания  $\text{Hg}^{2+}$  также была продемонстрирована на примере аминокпроизводного **3д** при pH 4.7 в смеси вода – метанол (40 об. % MeOH), однако в этом случае переключение флуоресцентного сигнала оказалось менее контрастным: для раствора, содержащего 2 мкмоль/л  $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$  и 2 мкмоль/л **3д**, величина  $FE$  оказалась равной 8.1.



**Рисунок 5.** Степень разгорания флуоресценции ( $FE$ ) соединения **4д** (а) и **5д** (б) в воде в присутствии перхлоратов различных металлов при (а) pH 6.0 (ацетатный буфер, 0.05 моль/л) и (б) pH 7.3 (HEPES-буфер, 0.01 моль/л). Концентрации **4д** и **5д** равны 5 мкМ. Длина волны возбуждения 365 нм (а) и 375 нм (б).

В ходе работы также было исследована возможность детектирования  $\text{Hg}^{2+}$  в присутствии различных конкурентных ионов. В типичном эксперименте спектр испускания записывали до и после добавления 5 экв.  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Ag}^+$  в раствор, содержащий тестируемый хемосенсор и 1 экв.  $\text{Hg}^{2+}$ . Как видно из представленных на рис. 5а данных для соединения **4д**, все катионы за исключением  $\text{Ag}^+$  не вызывают существенного снижения аналитического сигнала. По всей вероятности, **4д** с  $\text{Ag}^+$  образует достаточно устойчивый комплекс, однако интенсивность его флуоресценции ниже по сравнению с комплексом **4д** с  $\text{Hg}^{2+}$ .

При переходе к нейтральной среде профиль селективности комплексообразования изменялся. Исследования, проведенные для 4-метокси-1,8-нафталимида **5д** в HEPES-буфере при pH 7.3, показали, что в указанных условиях наблюдается значительное разгорание флуоресценции в присутствии 1 экв.  $\text{Ag}^+$  ( $FE = 76.0$ ), в то время как добавление  $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$  вызывает меньший спектральный эффект ( $FE = 2.8$ , рис. 5б). По-видимому, в нейтральном водном растворе эффективность комплексообразования с катионами ртути (II) снижается вследствие практически полного гидролиза  $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$ , приводящего к образованию  $\text{Hg}(\text{OH})_2$ . В свою очередь соли серебра в гораздо меньшей степени подвергаются гидролизу по катиону.

Комплексообразование соединений **3д–5д** с катионами  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Ag}^+$  в водном растворе было подробно исследовано. Было проведено спектрофлуориметрическое титрование лигандов перхлоратами указанных металлов. По полученным данным были рассчитаны константы устойчивости образующихся комплексов (табл. 3). Во всех случаях спектральные изменения, происходящие при добавлении соли металла в раствор, соответствовали образованию комплексов состава металл – лиганд 1:1, что также подтверждалось с помощью метода изомолярных серий Остромысленского – Жоба. Также методом стандартного отклонения при низких концентрациях были рассчитаны пределы обнаружения (ПО) катионов ртути и серебра (табл. 3), которые оказались близки к предельно допустимым концентрациям (ПДК) указанных ионов в питьевой воде (30 нМ для  $\text{Hg}^{2+}$  и 0.93 мкМ для  $\text{Ag}^+$ ).

Сенсорные свойства краунсодержащих производных сохранялись при переходе к полимерным композитам. На основе соединения **95** (синтезировано ацилированием **4д** хлорангидридом

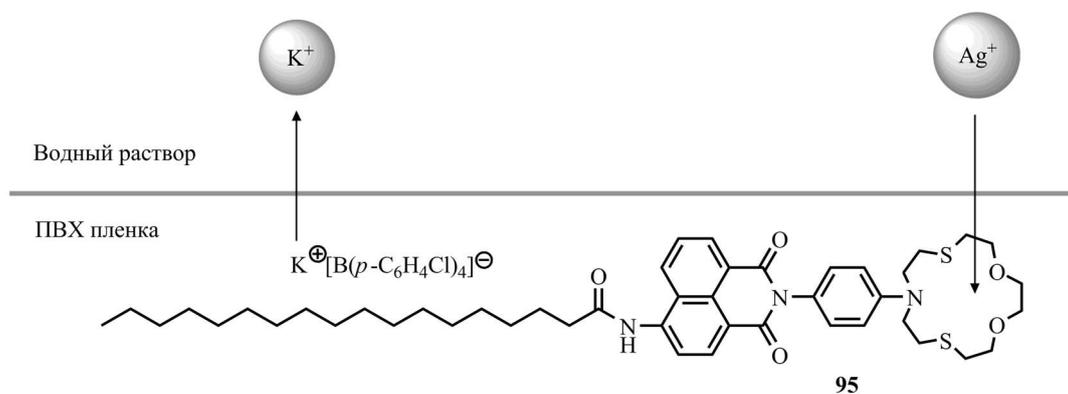
**Таблица 3.** Константы устойчивости ( $K$ ) комплексов состава металл – лиганд 1:1 азадитиакраунсодержащих производных нафталимида **3д–5д** с  $Hg^{2+}$  и  $Ag^+$  и пределы обнаружения ( $C_{ПО}$ ) ионов.

Лиганд (концентрация)	<b>3д</b> (2.0 мкМ)	<b>4д</b> (2.5 мкМ)	<b>5д</b> (5.0 мкМ)
Определяемый катион	$Hg^{2+}$	$Hg^{2+}$	$Ag^+$
Растворитель	MeOH (40 об. %) – $H_2O$	$H_2O$	$H_2O$
pH / Буферная система	4.7 / Ацетатная, 5 мМ	6.0 / Ацетатная, 50 мМ	7.3 / HEPES, 10 мМ
$lg K^a$	$5.74 \pm 0.01$	$6.51 \pm 0.03$	$6.39 \pm 0.07$
$C_{ПО}$	25 нМ	28 нМ	0.38 мкМ

<sup>a</sup>Константа устойчивости комплекса  $K$  имеет размерность  $M^{-1}$ .

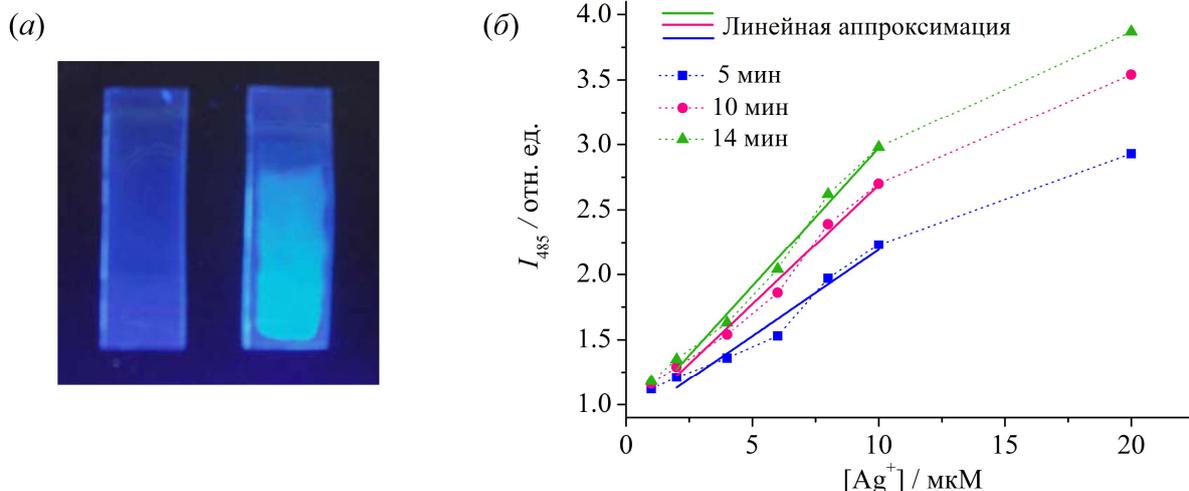
стеариновой кислоты) и поливинилхлорида (ПВХ) были получены пленки, способные детектировать катионы серебра в водном растворе (схема 20). В состав полимерного композиционного материала помимо **95** и ПВХ входил пластификатор (диоктиловый эфир себаценовой кислоты  $C_8H_{16}OOC(CH_2)_8COOC_8H_{16}$ ) и тетра(*para*-хлорфенил)борат калия ( $K[B(p-C_6H_4Cl)_4]$ ). Последний является добавкой, обеспечивающей экстракцию катионов из водного раствора в пленку по ионообменному механизму (схема 20). При связывании катиона органическим комплексом полимерный материал приобретает положительный заряд, что тормозит дальнейшее протекание процесса экстракции. При наличии указанной добавки возникающий положительный заряд уменьшается за счет противотока ионов калия из полимерной пленки в раствор, при этом гидрофобный тетра(*para*-хлорфенил)боратный анион прочно удерживается в органической фазе. Выдерживание такой пленки в водном растворе перхлората серебра при pH 6.0 сопровождалось увеличением интенсивности флуоресценции (рис. 5), что также может быть использовано для количественного определения. ПО катионов  $Ag^+$  составили 3.4, 2.5 и 2.1 мкМ (при выдерживании пленки в растворе соли металла в течение 5, 10 и 14 мин соответственно).

**Схема 20**

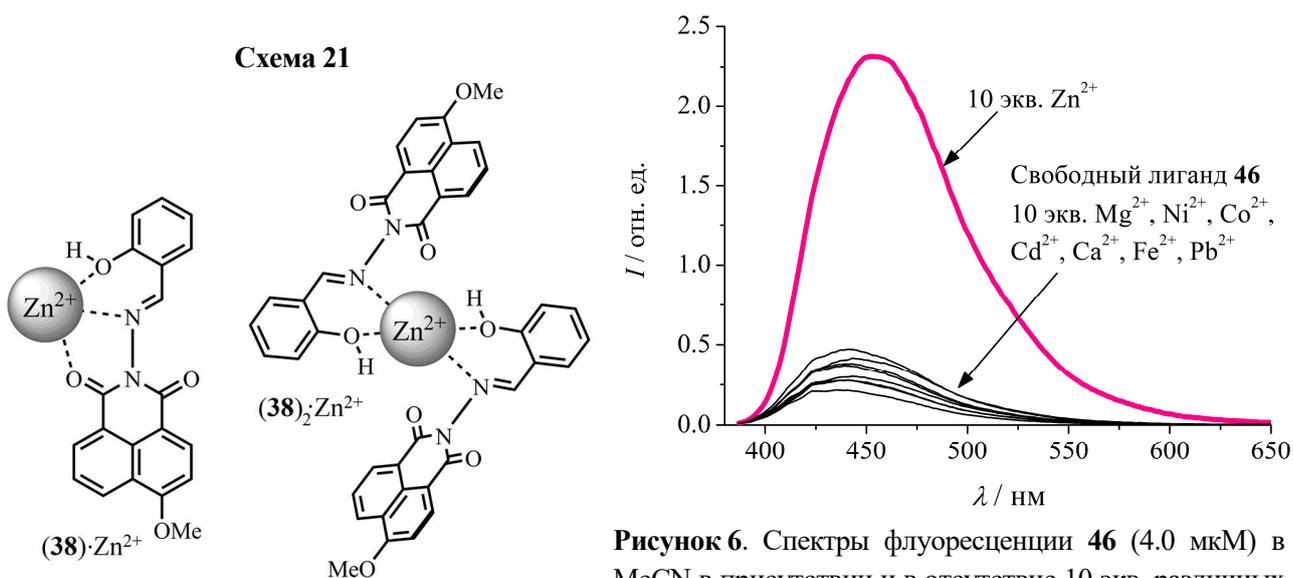


Азадитиакраун-эфирный рецептор, присутствующий в рассмотренных выше соединениях **3д–5д** и **95**, характеризуется достаточно узкой селективностью: его комбинация с нафталимидным флуорофором приводит к сенсорам, способным детектировать в водном растворе только катионы ртути и серебра. С целью расширения ряда определяемых катионов металлов в качестве ионофорной составляющей были использованы открытоцепные рецепторные группы. Так, введение салицилиденаминогруппы в состав молекулы 4-метоксинафталимида привело к РЕТ-хемосенсору на катионы цинка **38** (схема 8). С использованием оптической и  $^1H$  ЯМР спектроскопии, масс-спектрометрии было обнаружено образование двух комплексов состава металл – лиганд 1:1 и 1:2, в которых перенос электрона подавляется (схема 21). Комплексообразование **38** сопровождалось разгоранием флуоресценции (рис. 6). В случае соединения **46** (схема 9), содержащего специфический ионофор ВАРТА на катион кальция, также было обнаружено образованием двух типов

комплексов при координации с  $\text{Ca}^{2+}$  в воде (комплекс  $(55) \cdot \text{Ca}^{2+}$  и комплекс  $(55) \cdot (\text{Ca}^{2+})_2$ ), однако величина спектрального эффекта оказалась небольшой, что может быть обусловлено неполным подавлением РЕТ-взаимодействия.



**Рисунок 5.** Фотография ПВХ пленок на основе **95** (а), сделанная в свете УФ лампы (слева – чистый образец, справа – пленка, обработанная в течение 30 мин  $10^{-2}$  М водным раствором  $\text{AgClO}_4$ ) и зависимость интенсивности флуоресценции сенсорной пленки при 485 нм ( $I_{485}$ ) от концентрации  $\text{AgClO}_4$  при различных временах выдержки в водном растворе при pH 6.0 (б). Длина волны возбуждения 365 нм.

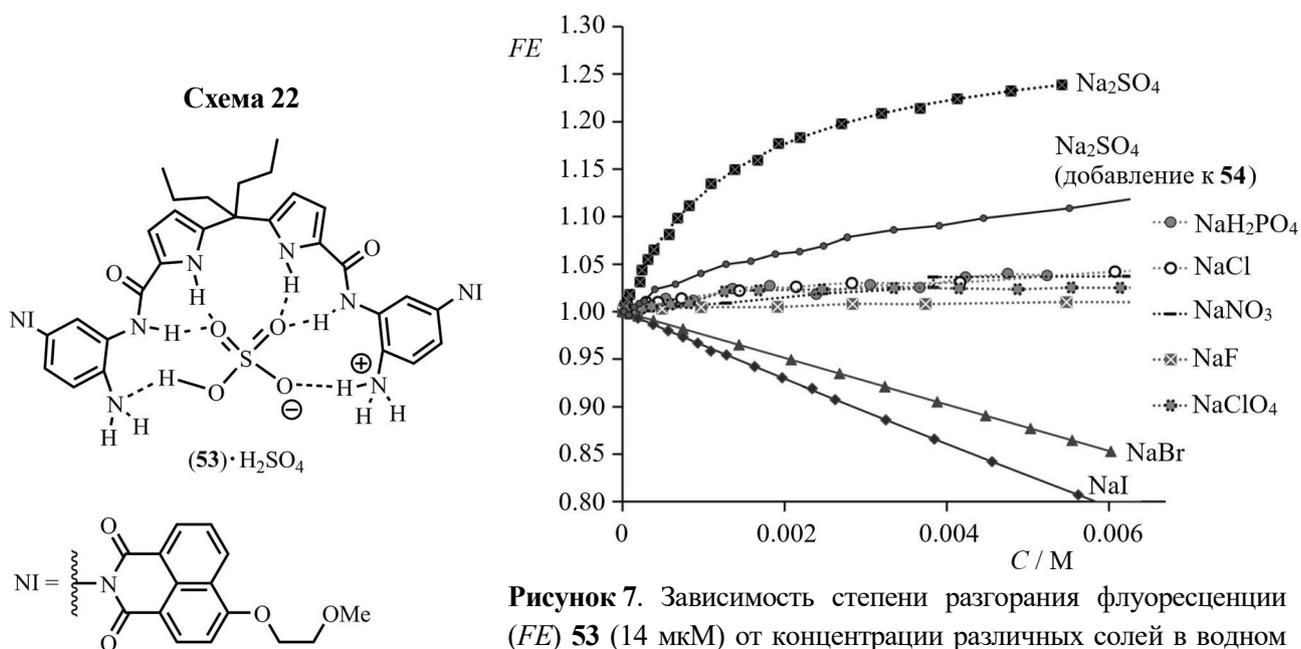


**Рисунок 6.** Спектры флуоресценции **46** (4.0 мкМ) в MeCN в присутствии и в отсутствие 10 экв. различных катионов металлов. Длина волны возбуждения 375 нм.

В рамках работ по созданию ион-активных флуоресцентных устройств мы попытались распространить концепцию РЕТ-сенсора на детектирование анионов. Связывание анионов в водном растворе представляет собой более трудную задачу. Это связано с тем, что анион имеет сложную геометрию и более низкую плотность заряда по сравнению с катионом. Координация аниона рецептором осуществляется за счет водородных связей и ионных взаимодействий. В водном растворе такая координация малоэффективна. Кроме того, связывание аниона часто вызывает тушение флуоресценции.

В качестве ионофора для анионного сенсора был выбран дипирролилметановый фрагмент, который, как известно, способен координировать тетраэдрические анионы, такие как сульфат и ортофосфат. На основе рассматриваемого рецептора был получен нафталимидсодержащий

хемосенсор **53** (схема 10). По его спектру NOESY было установлено, что две аминогруппы находятся в *цис*-положении, то есть рецептор предорганизован для связывания. Связывание аниона таким рецептором должно происходить в кислой среде. В этих условиях аминогруппы протонируются, что обеспечивает появление электростатических взаимодействий и образование водородных связей. Было установлено, что уменьшение уровня pH ниже 4 вызывает частичное протонирование рецептора и разгорание флуоресценции за счет частичного подавления переноса электрона. По этой причине в качестве среды был выбран ацетатный буфер с pH 3.6. В этих условиях добавление сульфата вызывало разгорание флуоресценции (рис. 7), связанное с образованием комплекса состава анион – лиганд 1:1 (схема 22). Остальные анионы эффекта не вызывали. Исключение составляли бромид и йодид, для которых имело место динамическое тушение флуоресценции. Таким образом, с одной стороны, присутствие в структуре **53** способных протонироваться аминогрупп обеспечило электростатическую стабилизацию комплекса с сульфат-анионом, а с другой стороны наличие двух одинаковых флуорофорных фрагментов, чувствительных к pH, обеспечило дополнительный эффект увеличения интенсивности флуоресценции. Этот эффект проявлялся в результате присоединения приходящего вместе с оксианионом второго протона и выступал в качестве аналитического сигнала.



**Рисунок 7.** Зависимость степени разгорания флуоресценции (*FE*) **53** (14 мкМ) от концентрации различных солей в водном растворе, содержащем 10 об. % ДМСО, при pH 3.6 (ацетатный буфер, 50 мМ). Длина волны возбуждения 360 нм.

Общим недостатком рассмотренных РЕТ-сенсоров является то, что у них отсутствует возможность внутренней калибровки оптического отклика. Это делает невозможным проведение количественного анализа в условиях, когда концентрация самого сенсорного реагента в среде неизвестна, например, когда требуется оценивать содержание катионов в живых клетках. Для преодоления данного затруднения необходимо использовать системы, сочетающие рецептор и два хромофорных фрагмента, между которыми реализуется резонансный перенос энергии (RET, *англ.* Resonance Energy Transfer) электронного возбуждения. Такие системы способны проявлять ратиометрический флуоресцентный отклик.

В предложенных нами биснафталимидных производных **71a–71в** (схема 15) возможность резонансного переноса энергии с фрагмента 4-(ацетил)амино-1,8-нафталимида (хромофор-донор, ХД) на фрагмент 4-амино-1,8-нафталимида (хромофор-акцептор, ХА) была подтверждена как теоретически, так и экспериментально. Так, в рамках индукционно-резонансной модели Ферстера

значение критического радиуса  $R_0$  для пары хромофоров **3a** и **4a** (схема 1) составило 41.8 Å, в то время как расстояние между ХД и ХА ( $r$ ) в RET-паре **71a** по данным квантово-химических расчетов методом РМ6 – 12.0 Å, что по уравнению (1)

$$\Phi_{\text{RET}} = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (1)$$

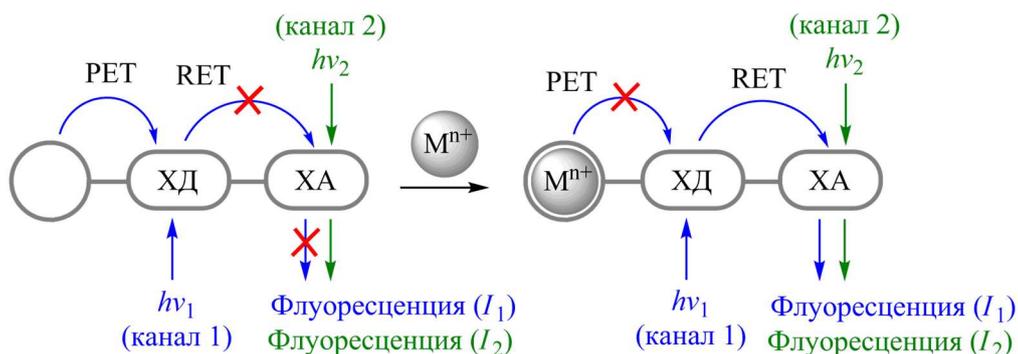
соответствует теоретической эффективности переноса энергии ( $\Phi_{\text{RET}}$ ) равной 0.9994 (99.94%). На основании данных время-разрешенной оптической спектроскопии было найдено, что время жизни возбужденного состояния ХД в отсутствие ХА ( $\tau_{\text{ХД},0}$ , время затухания флуоресценции соединения **4a**) и в присутствии ХА ( $\tau_{\text{ХД}}$ , получено из анализа кинетики сигнала поглощения  $S_1$ -состояния ХД в соединении **71a**) составляют 0.31 пс и 10.0 нс соответственно. Расчет по уравнению (2)

$$\Phi_{\text{RET}} = 1 - \frac{\tau_{\text{ХД}}}{\tau_{\text{ХД},0}} \quad (2)$$

дает экспериментальное значение  $\Phi_{\text{RET}}$  равное 0.99997 (99.997%).

В случае краунсодержащих биснафталимидов **71b** и **71v** возбужденное состояние ХД релаксирует путем переноса электрона с рецептора на нафталимидный остаток. В результате флуоресценции ХА при возбуждении ХД не наблюдается (схема 23, канал 1). Связывание катиона блокирует

Схема 23

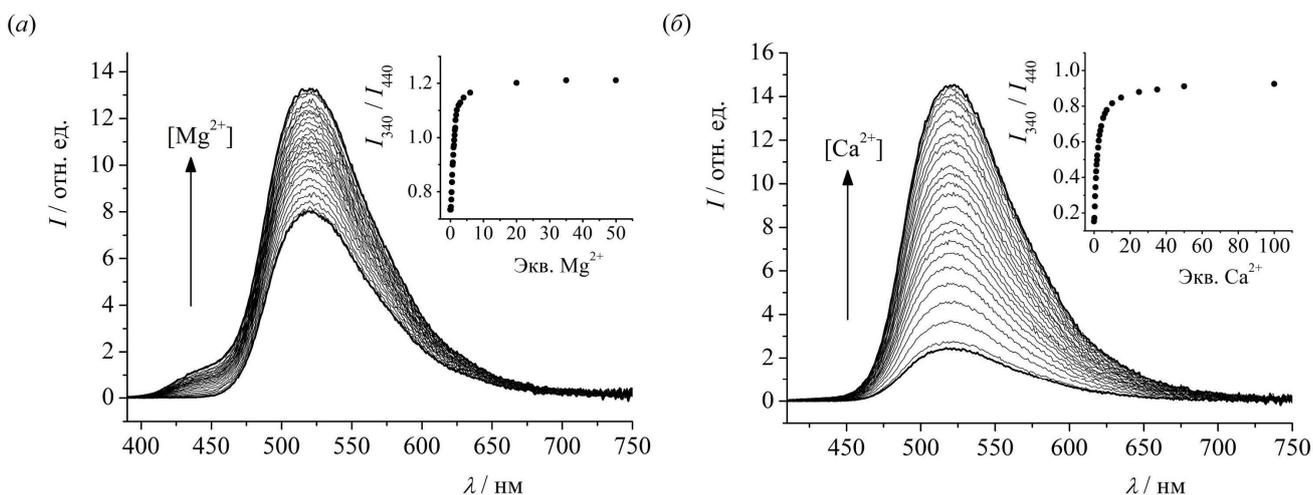


ет RET-процесс, в результате чего протекает RET на ХА. Хромофор-акцептор начинает флуоресцировать, т.е. наблюдается увеличение интенсивности сигнала ( $I_1$ ) в канале 1. Напротив, флуоресценция ХА, полученная при его прямом возбуждении светом с другой длиной волны (это канал 2,  $I_2$  – интенсивность сигнала в канале 2) не является катионо-зависимой (схема 23). Таким образом, можно регистрировать отношение двух интенсивностей флуоресценции  $R$  равное  $I_1/I_2$  и по формуле (3),

$$[M^{n+}] = K_{\text{дисс}} \frac{R - R_{\text{min}}}{R_{\text{max}} - R} \quad (3)$$

зная константу диссоциации образующегося комплекса ( $K_{\text{дисс}}$ ) и пределы, в которых изменяется отношение  $R$  в условиях эксперимента ( $R_{\text{min}}$  и  $R_{\text{max}}$ ), рассчитывать неизвестную концентрацию анализируемого иона ( $[M^{n+}]$ ).

При связывании с катионами  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$  соединения **71b** и **71v**, действительно, демонстрировали ратиометрический флуоресцентный отклик. Отношение двух интенсивностей увеличивалось в процессе спектрофлуориметрического титрования (рис. 8), т.е. перенос энергии оказался катионозависимым. Следует также отметить, что в лиганде **71v** азакраун-эфирный рецептор является более сильным RET-донором. Это приводило к меньшей эффективности RET в **71v** (34%) по сравнению с **71b** (64%) и, как следствие, к более контрастному переключению сигнала.



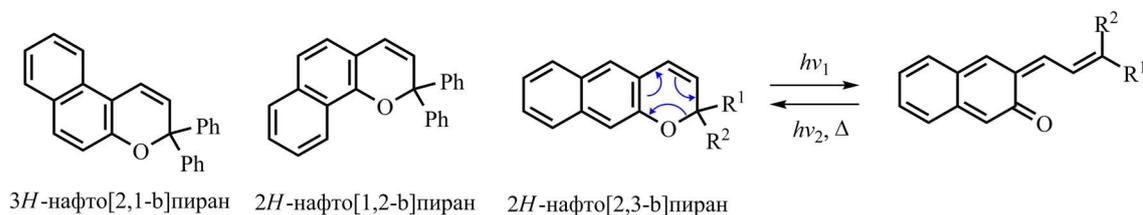
**Рисунок 8.** Изменения в спектрах флуоресценции соединения **71б** (а) и **71в** (б), вызванные добавлением  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  (в случае **71б**) и  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  (в случае **71в**) в MeCN. Длина волны возбуждения ( $\lambda_{\text{возб}}$ ) 340 нм. Концентрации соединений в растворе равны 4.5 мкМ (а) и 6.5 мкМ (б). Верхние вставки показывают зависимость отношения интенсивностей флуоресценции на длине волны 520 нм, измеренных при использовании света возбуждения с  $\lambda_{\text{возб}} = 340$  нм ( $I_{340}$ ) и  $\lambda_{\text{возб}} = 440$  нм ( $I_{440}$ ).

По данным, представленным на рис. 8, были рассчитаны значения логарифмов констант устойчивости комплексов  $(\mathbf{71б}) \cdot \text{Mg}^{2+}$  и  $(\mathbf{71в}) \cdot \text{Ca}^{2+}$ , которые составили  $5.69 \pm 0.03$  и  $5.04 \pm 0.01$  соответственно. С использованием полученных значений и уравнения (3) возможен расчет концентрации ионов металлов. К примеру, отношение интенсивностей флуоресценции  $R$  ( $I_{340}/I_{440}$ ) для раствора сенсора **71в** с концентрацией 6.5 мкМ, содержащего 2 экв.  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ , составляет 0.54. Принимая, что значения  $R_{\text{max}}$  и  $R_{\text{min}}$  равны 0.92 и 0.15 (найденно с использованием зависимости  $R$  от числа экв.  $\text{Ca}^{2+}$ , см. рис. 8з), а  $K_{\text{дисс}} = 1/K = 1/10^{5.04}$  М ( $\lg K = 5.04$  для комплекса  $(\mathbf{71в}) \cdot \text{Ca}^{2+}$ ), равновесная концентрация катионов кальция  $[\text{Ca}^{2+}]$  оценивается в 9.4 мкМ. Найденное значение  $[\text{Ca}^{2+}]$  достаточно близко к тому, которое получается при расчете состава рассматриваемого раствора с помощью программы SPECFIT/32 (9.7 мкМ свободных ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ).

### Фотохромные и сольватофлуорохромные системы на основе производных 1,8-нафталимида

В данном разделе речь пойдет о том, каким образом с помощью фотохимических трансформаций можно изменять спектральные характеристики флуорофора. Для реализации этой идеи было решено соединить флуоресцентную составляющую и фрагмент, способный к фотохромизму, в одной молекуле. В качестве фотохрома были выбраны производные нафтопирана. Нафтопираны обладают превосходными фотохромными откликами, хорошей окрашиваемостью и быстрой обесцвечиваемостью. Под действием света в их молекулах происходит электроциклическое раскрытие цикла с образованием окрашенной мероцианиновой формы (схема 24). Комбинация нафтопиранового и метоксинафталимидного фрагмента может быть осуществлена двумя способами, которые приводят к изомерным производным **59а** и **59б** (схема 12 и 13). Отличаются эти изомеры положением ЭД атома кислорода в нафталимидном ядре. Ожидалось, что протекание фотохимического раскрытия цикла будет приводить к значительному изменению характеристик флуоресценции.

**Схема 24**

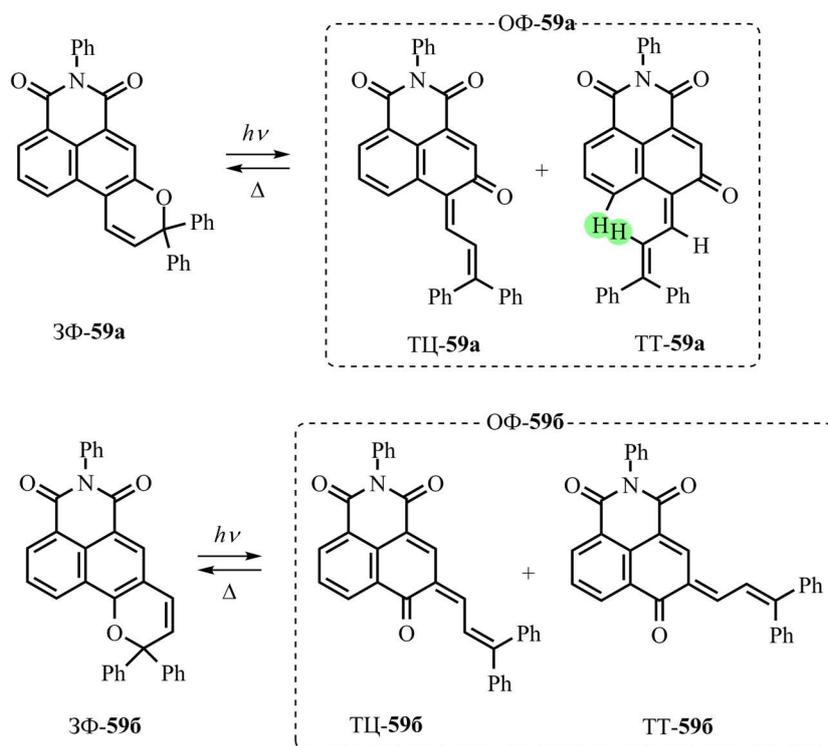


Фотохромные свойства нафтопиранов **59a** и **59b** были изучены в ацетонитриле, метиленхлориде и толуоле с использованием флэш-фотолиза и стационарных оптических экспериментов. Полученные характеристики соединений представлены в табл. 4. При облучении соединения **59a** ультрафиолетовым (УФ) светом (365 нм) наблюдается образование новой полосы поглощения с максимумом 495 нм и уменьшение оптической плотности коротковолновых полос при 352 и 412 нм (рис. 9в), что свидетельствует об образовании открытой мероцианиновой формы **59a** (ОФ-**59a**, схема 25). Спектр, полученный после облучения **59b**, включает пики при 336 и 386 нм, а также пик в длинноволновой области (505 нм), соответствующие ОФ-**59b** (рис. 9г, схема 25).

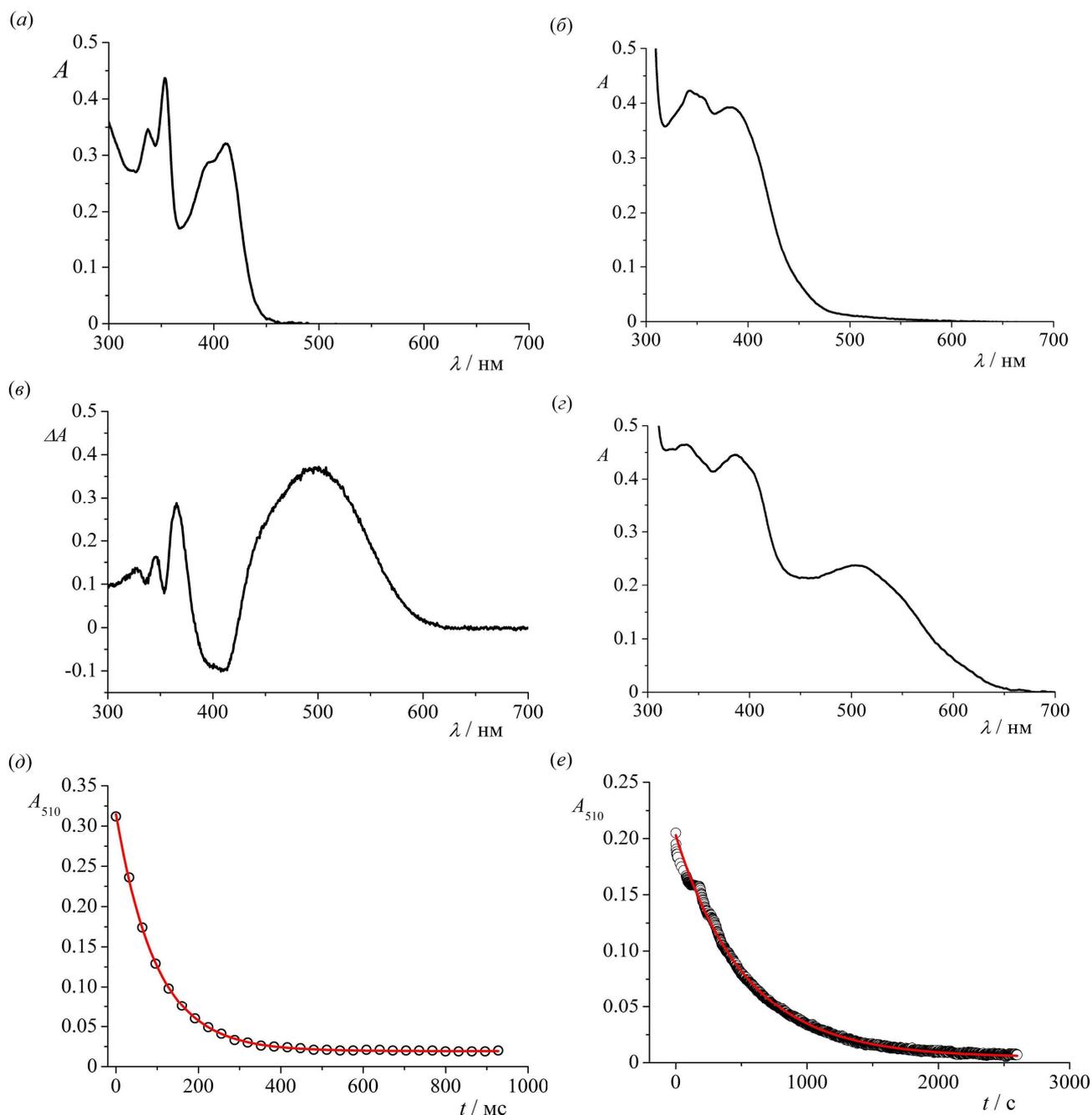
**Таблица 4.** Спектральные свойства нафтопиранов **59a** и **59b** в различных растворителях

Растворитель	Закрытая форма			Открытая форма			
	$\lambda_{\text{погл}}^{\text{макс}} / \text{нм}$	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}} / \text{нм}$	$\varphi^{\text{фл}}$	$\lambda_{\text{погл}}^{\text{макс}} / \text{нм}$	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}} / \text{нм}$	$\tau / \text{с}$	$\varphi^{\text{фл}}$
<b>Нафтопиран 59a</b>							
Ацетонитрил	352, 412	461	0.09	495	–	0.098	–
Дихлорметан	355, 415	458	0.14	505	–	0.176	–
Толуол	355, 415	446	0.04	501	–	0.153	–
<b>Нафтопиран 59b</b>							
Ацетонитрил	341, 388	476	0.12	336, 386, 505	534	532.3	0.005
Дихлорметан	352, 392	471	0.20	336, 391, 515	–	10.3	–
Толуол	345, 387	461	0.09	343, 387, 520	525	2.7	0.003

**Схема 25**



Окрашенные формы нафтопиранов **59a** и **59b** термически переходят обратно в неокрашенные закрытые формы (ЗФ-**59a** и ЗФ-**59b**, схема 25), когда фотооблучение прекращается. Из набора спектров поглощения, которые соответствуют различному времени задержки между моментом регистрации спектра и моментом прекращения облучения были определены кинетики темновой релаксации в выбранных растворителях (MeCN, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, PhMe) (см. в качестве примера рис. 9д и рис. 9е). Открытая форма нафтопирана **59b** достаточно стабильна: в MeCN ее время жизни ( $\tau$ ) составляет 532 с. Время жизни ОФ-**59a** в том же растворителе оказывается более чем на три порядка

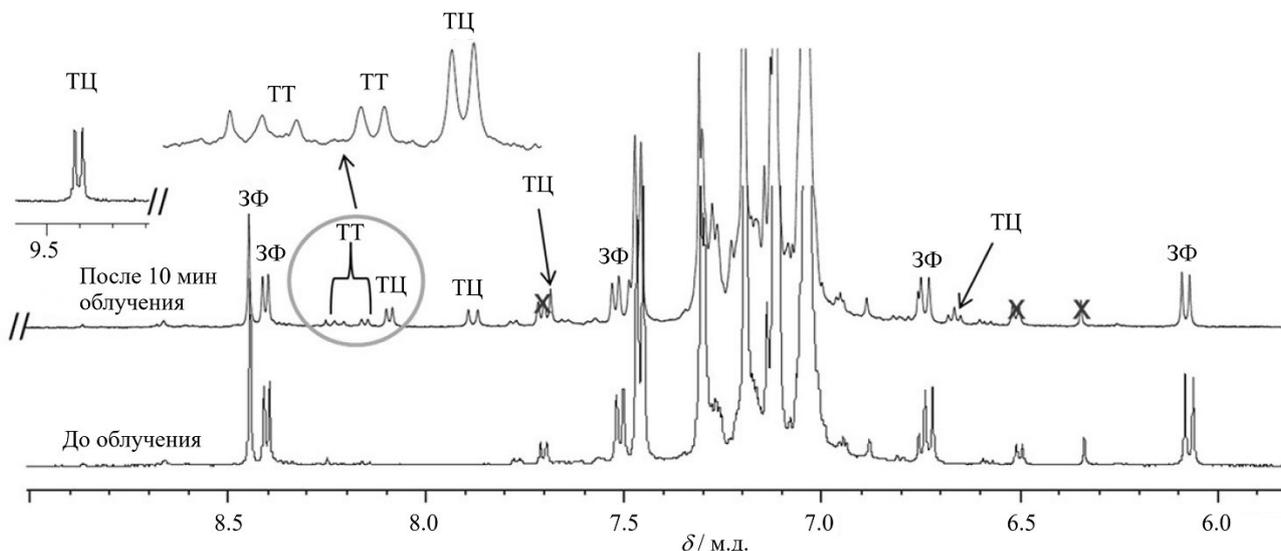


**Рисунок 9.** Спектр поглощения закрытой формы (а, б) и открытой формы (з) **59а** (а) и **59б** (б, з), дифференциальный спектр поглощения **59а** после облучения (д) и зависимость оптической плотности на длине волны 510 нм ( $A_{510}$ ) от времени после облучения нафтопирана **59а** (д) и **59б** (е). Растворитель – MeCN. Концентрации соединений в растворе  $4.0 \cdot 10^{-6}$  М (а) и  $1.0 \cdot 10^{-4}$  М (б – е). Величина  $\Delta A$  на рисунке (в) равна  $A_{\text{обл}} - A_{\text{исх}}$ , где  $A_{\text{исх}}$  и  $A_{\text{обл}}$  – оптические плотности образца до и после облучения соответственно. Точки на рисунках (д) и (е) соответствуют экспериментальным данным, кривые – моноэкспоненциальной аппроксимации.

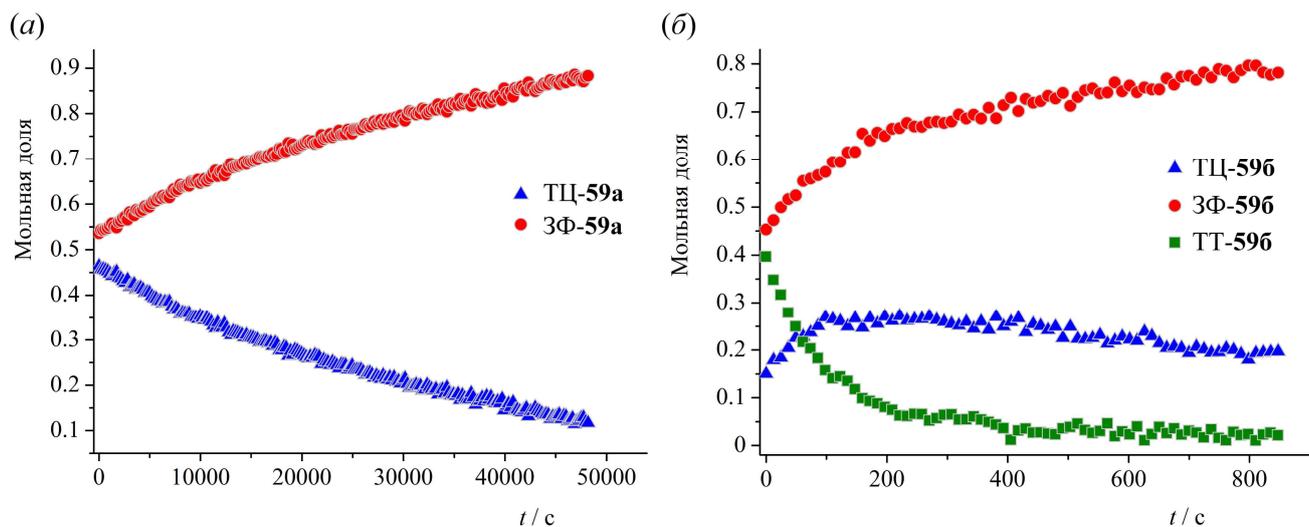
короче (0.098 с, см. табл. 4). Отметим, что в случае соединения **59б** наблюдается выраженное уменьшение времени жизни открытой формы с уменьшением полярности растворителя (табл. 4). По-видимому, это связано с более высоким дипольным моментом ОФ-**59б** по сравнению с ОФ-**59а**.

С целью детального изучения процессов темновой релаксации соединений **59а** и **59б** была использована спектроскопия ЯМР. При облучении **59а** при низкой температуре в толуоле- $d_8$  было зафиксировано образование двух стереоизомерных открытых форм: *транс*оид-*цис*- (ТЦ) и *транс*оид-*транс*-формы (ТТ) (схема 25), однако концентрация ТТ-изомера была небольшой, что не позволило отслеживать изменение его сигналов во времени (рис. 10 и 11а). В случае **59б** открытая

форма оказалась более стабильной и при облучении образовывалось больше ТТ-изомера. В результате удалось зарегистрировать кинетические кривые для всех трех соединений (ЗФ-59, ТТ-596 и ТЦ-596, см. рис. 11б). Из их вида понятно, что ТЦ-изомер является интермедиатом в ходе процесса темновой релаксации: ТТ сначала переходит в ТЦ-форму, а затем ТЦ циклизуется в нафтопиран.



**Рисунок 10.** Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР (ароматическая область) нафтопирана **59a** до и после облучения светом (365 нм) в течение 10 мин при  $-70^\circ\text{C}$  в толуоле- $d_8$ .

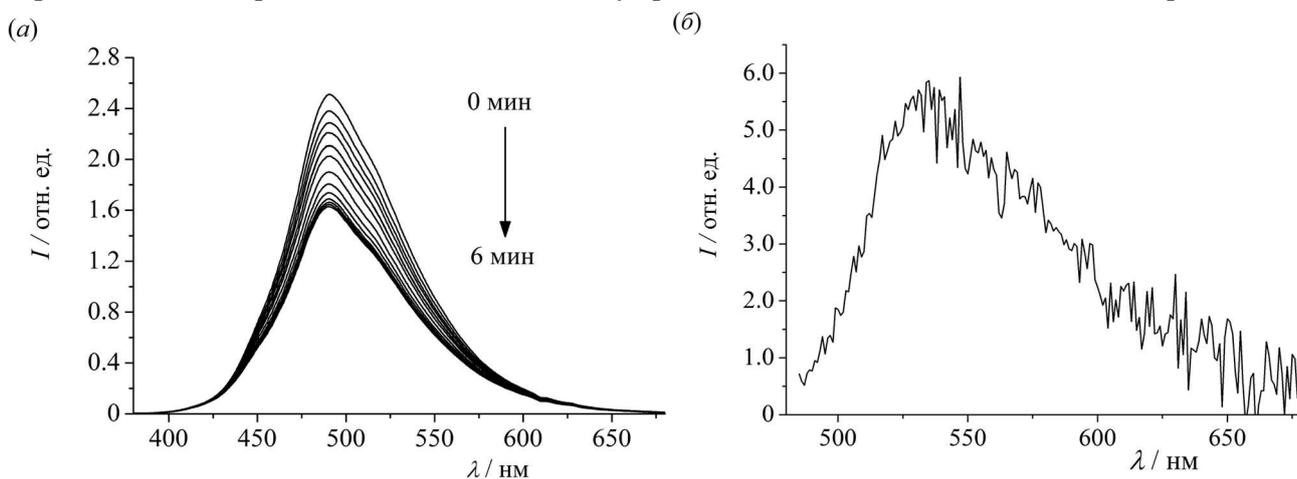


**Рисунок 11.** Кинетика темновой релаксации **59a** (а) и **596** (б) в толуоле- $d_8$  при  $-80^\circ\text{C}$  (а) и  $-40^\circ\text{C}$  (б).

Большая устойчивость открытой формы **596** связана с тем, что этот фотопродукт стабилизируется сопряжением между атомом кислорода в 4-м положении нафталимидного ядра, несущим частичный отрицательный заряд, за счет вклада бетаиновой структуры, и карбонильными группами дикарбоксиимидного остатка. Кроме того, стерическое взаимодействие атома водорода открытоцепного фрагмента в ТТ-**59a** с атомом водорода в *peri*-положении (для наглядности указанные атомы Н помечены зеленым цветом на схеме 25) делает ТТ-изомер **59a** неустойчивым, облегчая его переход в ТЦ-форму, из которой уже и протекает циклизация. Кинетики релаксации открытых форм, полученные методом ЯМР, позволили рассчитать константы скорости перехода ( $k$ ) ТЦ в ЗФ. Например, при температуре  $-50^\circ\text{C}$  эти константы отличаются на два порядка ( $k = 3.1 \cdot 10^{-3} \text{ c}^{-1}$  для перехода ТЦ-**59a**  $\rightarrow$  ЗФ-**59a** и  $k = 4.2 \cdot 10^{-5} \text{ c}^{-1}$  для ТЦ-**596**  $\rightarrow$  ЗФ-**596**).

Далее была проведена оценка способности соединений **59a** и **596** к фотоуправляемой флуоресценции. Как уже отмечалось, молекулы **59a** и **596** сочетают в своей структуре фотохромный

пирановый и флуорофорный нафталиimidный фрагменты. При поглощении фотона образуется возбужденное состояние  $S_1$ , из которого происходит раскрытие пиранового кольца. Флуоресценция также происходит из  $S_1$ -состояния и, таким образом, конкурирует с электроциклической реорганизацией связей, приводящей к образованию открытой мероцианиновой формы. Нафтопираны **59a** и **59б** демонстрируют характерную для алкоксинафталиimidного фрагмента флуоресценцию с  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}}$  в области 440–480 нм с умеренным квантовым выходом 0.04–0.20 (табл. 4, рис. 12а). Для сравнения значение  $\varphi^{\text{фл}}$  4-метокси-*N*-фенил-1,8-нафталиimида **5a** (схема 1) в MeCN составляет 0.85 (табл. 1). Данное различие в эффективности излучательной дезактивации говорит о том, что флуоресценция и фотохимическая реакция в состоянии  $S_1$  могут реализовываться с сопоставимыми скоростями.

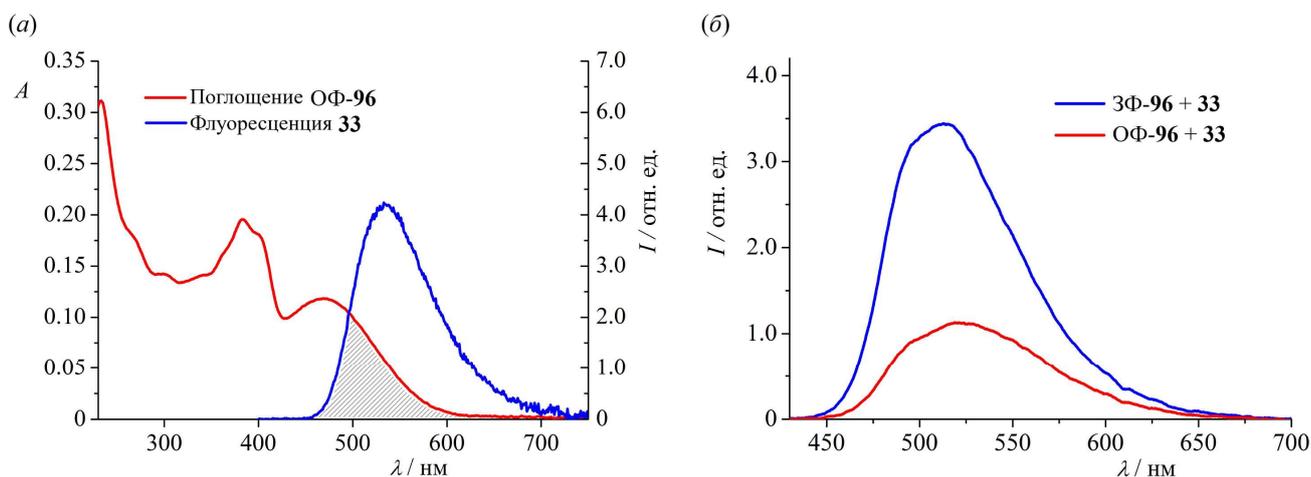
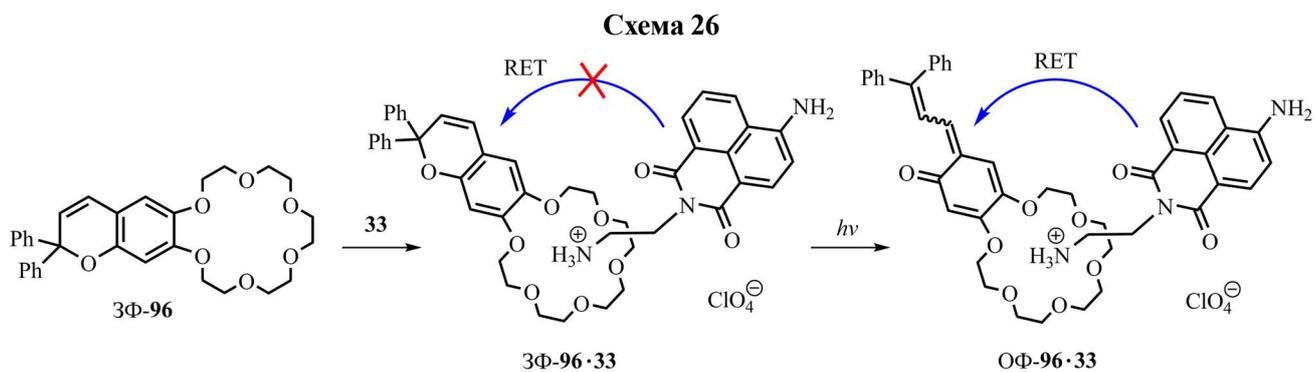


**Рисунок 12.** Изменения в спектре флуоресценции раствора **59б** ( $4.2 \cdot 10^{-5}$  моль/л) в MeCN при облучении (365 нм) при комнатной температуре (а) и спектр флуоресценции открытой формы **59б** в MeCN (б), записанный после УФ облучения раствора 3Ф-**59б**. Длина волны возбуждения 365 нм (а) и 480 нм (б).

В случае соединения **59б**, открытая форма которого имеет достаточно продолжительное время жизни, удалось зарегистрировать спектры испускания ОФ-**59б** в толуоле и ацетонитриле (рис. 12б), а также измерить значения квантовых выходов  $\varphi^{\text{фл}}$ . Как видно из данных табл. 4, значения  $\varphi^{\text{фл}}$  оказались на уровне нескольких тысячных. Слабая флуоресценция открытых форм может быть следствием их относительно высокой полярности, а также образования скученных возбужденных состояний с переносом заряда, склонных к безызлучательной релаксации.

При облучении УФ светом (365 нм) растворов нафтопирана **59б** в ацетонитриле, толуоле и хлористом метиле флуоресценция уменьшалась приблизительно на 20% в течение нескольких секунд. Более продолжительное облучение (6 мин) приводит к образованию фотостационарного состояния, в котором уменьшение интенсивности эмиссионного сигнала составляет 36% от первоначального значения (рис. 12а). Во время облучения видимым светом (515 нм) или после темновой релаксации флуоресценция закрытой формы **59б** восстанавливалась.

Возможность фотопереключения флуоресценции нафталиimidного остатка была продемонстрирована и с использованием супрамолекулярного подхода. С этой целью был получен 4-аминонафталиimid **33** (схема 7) с аммонийной группой в составе *N*-алкильного фрагмента и краунсодержащий нафтопиран **96** (схема 26). При смешивании растворов соединений **33** и **96** образуется комплекс, в котором два компонента удерживаются вместе за счет водородных связей между атомами Н положительно заряженной группы  $\text{NH}_3^+$  и атомами кислорода макроцикла. Нафталиimidный фрагмент в таком комплексе может флуоресцировать, поскольку перенос энергии на фотохром не протекает. При УФ облучении образуется открытая форма фотохрома, спектр поглощения которой перекрывается со спектром флуоресценции нафталиimида (рис. 13а). Это приводит к переносу энергии на мероцианин и тушению флуоресценции нафталиimidного остатка (рис. 13б).



**Рисунок 13.** Перекрывание спектра поглощения ОФ-96 в ацетонитриле (записан после 30 мин УФ облучения 23.0 мкМ раствора 3Ф-96) со спектром флуоресценции 33 (11.4 мкМ) в том же растворителе (а) и спектр флуоресценции раствора 96·33 в дихлорметане (концентрации 96 и 33 равны 23.0 мкМ) до (обозначен как «3Ф-96 + 33») и после («ОФ-96 + 33») облучения светом (313 нм) в течение 25 мин (б). Длина волны возбуждения равна 355 нм (а) и 380 нм (б).

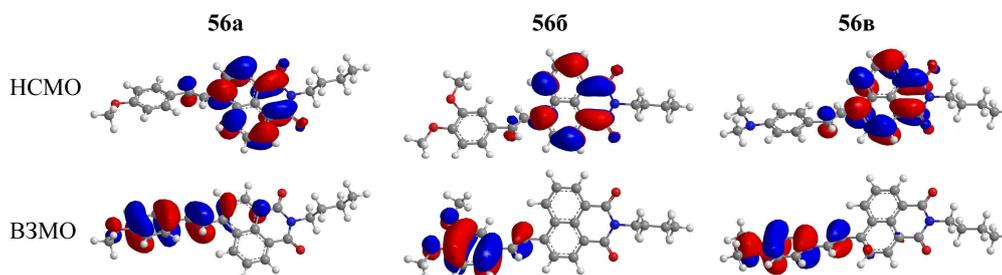
В диссертационной работе был исследован еще один тип соединений, у которых гибридная хромофорная система состоит из фрагментов нафталимида (флуорофора) и стирилового красителя, выполняющего роль фотохромной составляющей (структуры **56а–56в**, схема 11). Помимо того, что производные **56а–56в** являются флуоресцентными фотохромами они еще интересны тем, что стироловый фрагмент в них обладает значительным ЭД эффектом, т.е. для таких соединений следует ожидать длинноволновой флуоресценции, вызванной электронным переходом с внутримолекулярным переносом заряда (ICT). В табл. 5 представлено положение максимумов в спектрах поглощения и испускания **56а–56в** в диметилсульфоксиде и этилацетате. Видно, что увеличение ЭД свойств арильной группы при переходе от **56а** к **56б** вызывает bathochromic shift. В случае диметиламиностирилового производного **56в** полоса располагается уже на границе видимой и ИК области. С ростом полярности растворителя также наблюдался сдвиг максимумов  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{погл}}$  и  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}}$  в длинноволновую область (см. табл 5 и более полные данные в диссертации, включающие спектральные характеристики **56а–56в** в 5 протонных и 11 апротонных растворителях). Отмеченный сольватохромный эффект указывает на увеличение дипольного момента молекул ( $\mu$ ) **56а–56в** при переходе из основного состояния в возбужденное ( $\Delta\mu = \mu_{\text{возб}} - \mu_{\text{осн}} > 0$ ). Полученные из анализа зависимости Стоксова сдвига ( $\Delta\tilde{\nu}$ ) **56а–56в** от ориентационной поляризуемости растворителя разности  $\Delta\mu$  (табл. 5) оказались значительными (для сравнения величина 4.8 Д соответствует дипольному моменту, возникающему при разделении единичных зарядов на расстояние 1 Å), что характерно для полярных ICT-состояний. Другим признаком, подтвер-

ждающим ICT-природу длинноволновых полос в электронных спектрах поглощения и флуоресценции является высокая степень выраженности локального характера граничных  $\pi$ -МО (рис. 14).

**Таблица 5.** Положение максимумов полос в спектрах поглощения и флуоресценции в этилацетате и диметилсульфоксиде и разность дипольных моментов основного и возбужденного состояния ( $\Delta\mu$ ) соединений **56a–56b**.

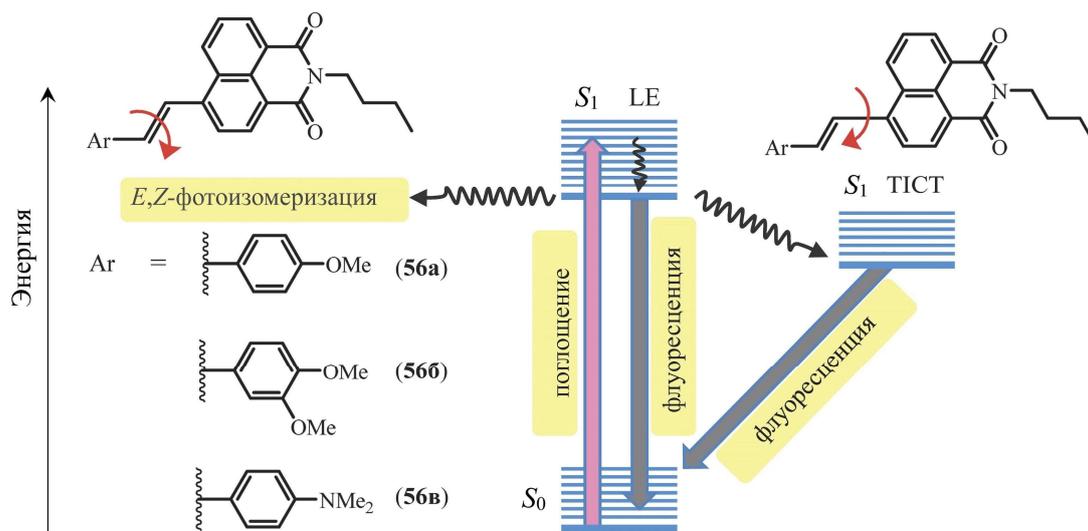
Соединение	Этилацетат			Диметилсульфоксид			$\Delta\mu,^a$ Д
	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{погл}} / \text{нм}$	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}} / \text{нм}$	$\Delta\tilde{\nu} / \text{см}^{-1}$	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{погл}} / \text{нм}$	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}} / \text{нм}$	$\Delta\tilde{\nu} / \text{см}^{-1}$	
<b>56a</b>	405	527	5716	421	589	6775	10.16
<b>56b</b>	413	551	6064	429	620	7181	7.46
<b>56в</b>	460	660	6588	485	776	7732	22.86

<sup>a</sup>Величины  $\Delta\mu$  найдены с использованием уравнения Липперта-Матаги.



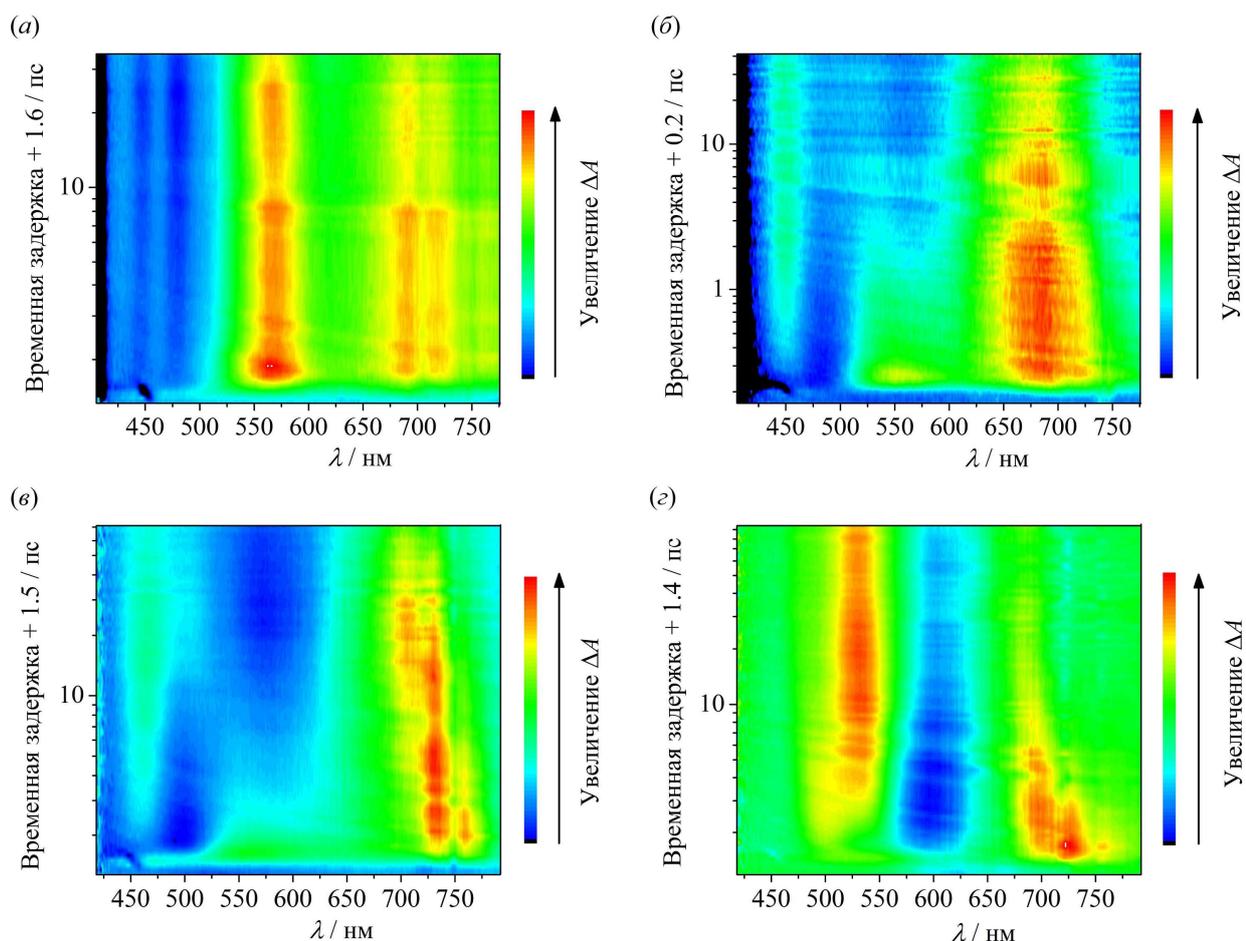
**Рисунок 14.** Граничные молекулярные орбитали соединения **56a–56b**, рассчитанные методом PM6.

Нами было обнаружено, что для стирилнафталимидов **56a–56b** возможно образование возбужденных состояний с переносом заряда двух типов. Первоначально при поглощении света образуется локально-возбужденное состояние (LE), которое характеризуется квазиплоским расположением стирилового и нафталимидного фрагмента (рис. 15). Из такого состояния возможна флуоресценция и *E,Z*-изомеризация. По альтернативному варианту данное состояние может релаксировать путем поворота двух молекулярных фрагментов относительно формально простой  $\sigma$ -связи с образованием скрученного состояния с переносом заряда (TICT-состояния, *англ.* Twisted Intramolecular Charge Transfer state).



**Рисунок 15.** Диаграмма Яблонского, иллюстрирующая фотофизические процессы в молекулах **56a–56b**.

С целью детального анализа фотопроцессов, происходящих в молекулах соединений **56a–56b**, использовалась спектроскопия поглощения промежуточных состояний (TRABS-спектроскопия, *англ.* Transient ABSorption spectroscopy). Для соединений **56a–56b** TRABS-карты были по-



**Рисунок 16.** Спектрально-временные TRABS-карты соединений **56a–56b**: (а) **56a** в циклогексане; (б) **56a** в диэтиловом эфире; (в) **56b** в диэтиловом эфире; (г) **56b** в диэтиловом эфире. Для лучшей визуализации кинетики фотопроцессов на логарифмической временной шкале добавлены сдвиги +1.6, +0.2, +1.5 и +1.4 пс.

лучены в различных растворителях. Когда использовался неполярный растворитель циклогексан, то мы наблюдали только отрицательную полосу вынужденного испускания LE-состояния в области 425 – 500 нм, которая идентифицировалась по наличию характерной колебательной структуры (рис. 16а). При замене циклогексана на более полярный диэтиловый эфир в спектре **56a** появлялась новая отрицательная полоса вынужденного испускания скрученной формы с максимумом около 570 нм (рис. 16б). Очевидно, что этой форме соответствует более низкая энергия, так как максимум полосы смещен bathochромно. Эффект усиливался, если возрастали ЭД свойства заместителя в стироловом фрагменте: в случае **56b** в Et<sub>2</sub>O ТИСТ-полоса оказалась более выраженной (рис. 16в). Скрученное состояние **56b** в эфире образовывалось сразу при возбуждении, сигналы LE-формы отсутствовали (рис. 16г). В растворителях, более полярных, чем Et<sub>2</sub>O, для всех соединений (**56a–56b**) ТИСТ-состояния доминировали.

Отметим, что скрученные состояния с переносом заряда **56a–56b** являются флуоресцентными. Значения  $\phi^{fl}$  и времен затухания флуоресценции ( $\tau$ ) **56a–56b** приведены в табл. 6. В действительности, способность ТИСТ-состояний дезактивироваться путем испускания фотона проявляется нечасто. Например, у 4-диалкиламино-1,8-нафталимидов ТИСТ-состояния практически не флуоресцируют, а их образование считается причиной тушения флуоресценции в полярных растворителях.

Чтобы объяснить влияние природы растворителя на величины  $\phi^{fl}$  и  $\tau$  исследуемых соединений в тех случаях, когда испускание света происходит преимущественно из ТИСТ-формы, была предложена модель, учитывающая наличие двух факторов, которые оказывают противоположное влияние на параметры  $\phi^{fl}$  и  $\tau$ . Первый фактор заключается в стабилизации скрученного

**Таблица 6.** Квантовые выходы ( $\varphi^{\text{фл}}$ ) и времена жизни флуоресценции ( $\tau$ ) соединений **56a–56b** в различных растворителях.

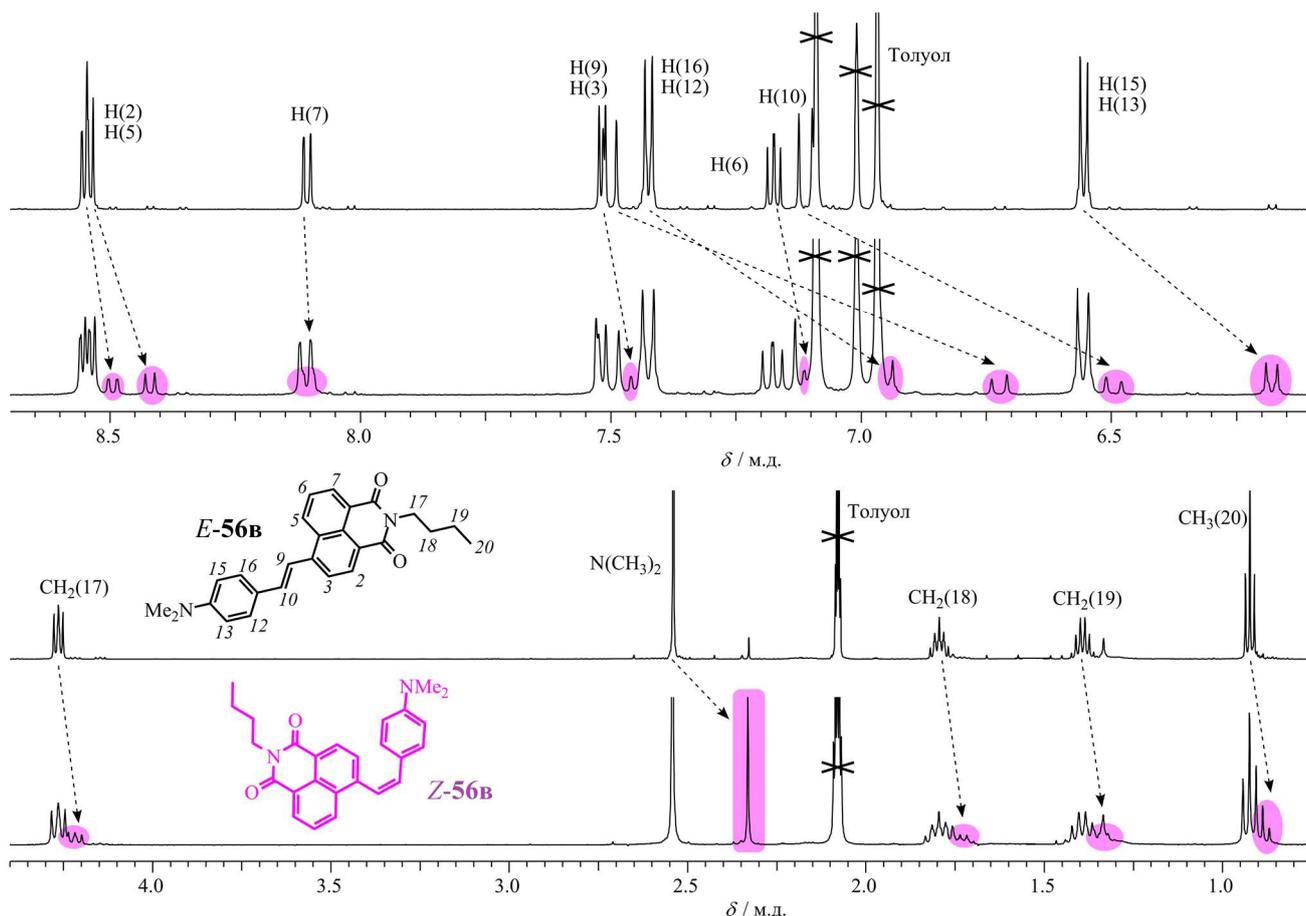
Растворитель (диэлектрическая проницаемость, $\epsilon$ )	$\varphi^{\text{фл}}$ ( $\tau$ / нс)		
	Соединение <b>56a</b>	Соединение <b>56b</b>	Соединение <b>56b</b>
Диметилсульфоксид (46.7)	0.41 (3.05)	0.40 (3.15)	0.019 (0.29)
Ацетонитрил (37.5)	0.33 (2.35)	0.43 (3.80)	0.032 (0.38)
Ацетон (20.7)	0.28 (2.10)	0.50 (4.02)	0.092 (1.05)
1,2-Диметоксиэтан (7.2)	0.26 (1.85)	0.50 (3.43)	0.19 (1.68)
Этилацетат (6.0)	0.25 (1.45)	0.41 (3.13)	0.38 (3.65)
Диэтиловый эфир (4.3)	0.21 (1.08)	0.42 (2.08)	0.36 (3.03)
Этанол (24.6)	0.57 (2.87)	0.16 (1.22)	0.019 (0.082)
Бутанол-1 (17.5)	0.44 (2.62)	0.30 (2.04)	0.037 (0.20)
Гексанол-1 (13.3)	0.44 (2.53)	0.47 (2.81)	0.13 (0.44)

состояния с переносом заряда за счет увеличения сольватации при переходе к более полярному растворителю, что приводит к росту  $\varphi^{\text{фл}}$  и  $\tau$ . С другой стороны, сильная сольватация в полярных растворителях (в особенности специфическая, заключающаяся в образовании межмолекулярных водородных связей в воде и спиртах) приводит к эффективному превращению энергии электронного возбуждения в колебательную энергию в результате ускорения процесса внутренней конверсии  $S_1 \rightarrow S_0$  (второй фактор). Это уменьшает  $\varphi^{\text{фл}}$  и  $\tau$ . Принимая во внимание, что конкуренция между двумя факторами зависит от степени разделения зарядов в ТИСТ-состоянии, которая возрастает в ряду **56a** < **56b** < **56b**, проведенный анализ позволил выявить три типа спектрального поведения при варьировании природы растворителя (табл. 6): *i*) случай, когда доминирует первый фактор (соединение **56a** в апротонных растворителях); *ii*) оба фактора оказывают сопоставимое влияние на релаксацию ТИСТ-форм, в результате чего  $\varphi^{\text{фл}}$  и  $\tau$  практически не изменяются (**56a** в протонных и **56b** в апротонных растворителях); *iii*) доминирует второй фактор (**56b** в протонных и **56b** в протонных и апротонных растворителях).

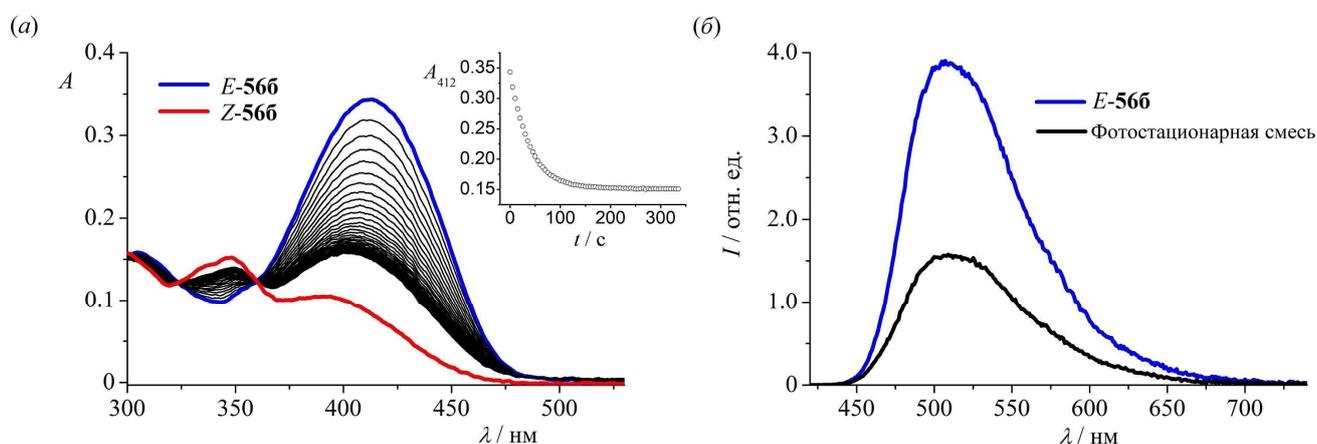
Для изучения *E,Z*-фотоизомеризации соединений **56a–56b** использовались неполярные растворители, толуол и циклогексан, в которых скрученные состояния при возбуждении не образовывались. На рис. 17 приведены спектры  $^1\text{H}$  ЯМР соединения **56b** в дейтеротолуоле. Из представленных спектров видно, что после облучения наблюдается появление второго набора сигналов, который соответствует *Z*-изомеру.

В спектре поглощения в результате *E,Z*-изомеризации происходил гипсохромный сдвиг и уменьшение интенсивности длинноволновой полосы (рис. 18а). По представленным спектральным данным были рассчитаны квантовые выходы прямой и обратной фотореакции, составы фотостационарных смесей и спектры поглощения *Z*-изомеров (табл. 7, рис. 18а). Рассчитанные квантовые выходы прямой и обратной фотореакции (табл. 7) были использованы для оценки доли молекул *E*-изомера в LE-состоянии ( $\varphi_E^{\text{из}}$ ), которые дезактивируются по пути *E,Z*-изомеризации (детали расчета приведены в тексте диссертации). Как показывают значения  $\varphi_E^{\text{из}}$ , (табл. 7) изомеризация является основным релаксационным процессом LE-состояний *E-56a–56b* в толуоле и циклогексане.

В спектре флуоресценции облучение вызывало уменьшение интенсивности эмиссионной полосы (рис. 18б). Было показано, что данный эффект связан с уменьшением оптической плотности образца на длине волны возбуждения. При этом оба стереоизомера характеризуются приблизительно одинаковой способностью к флуоресценции (квантовые выходы *E*-изомеров и соответствующих фотостационаров оказались в значительной степени близкими, см. данные в табл. 7).



**Рисунок 17.** Ароматическая и алифатическая часть  $^1\text{H}$  ЯМР спектра соединения **56b** (20.0 мМ) в толуоле- $d_8$  до (сверху) и после (снизу) облучения светом с длиной волны 436 нм. Сигналы *Z*-изомера помечены розовым цветом. Стрелки показывают сдвиг сигналов в область сильного поля при фотоизомеризации.



**Рисунок 18.** Изменения в спектре поглощения (а) и флуоресценции (б) соединения **56b** (12.0 мкМ), обусловленные протеканием фотохимической *E,Z*-изомеризации в результате облучения фильтрованным светом ртутной лампы (436 нм) в толуоле при комнатной температуре. Длина волны возбуждения, использованная при записи спектра флуоресценции, 415 нм. Верхняя вставка на правой части рисунка (б) показывает зависимость оптической плотности при 412 нм ( $A_{412}$ ) от времени облучения.

Таким образом, было показано, что потеря энергии фотовозбуждения молекулами соединений **56a–56b** протекает путем флуоресценции, образования скрученных состояний с переносом заряда и *E,Z*-изомеризации. Соотношение между указанными каналами изменяется при варьировании как природы растворителя, так и ЭД свойств стирилового фрагмента в положении 4 нафталиimidного ядра. Изомеризация протекает эффективно только в неполярных растворителях, таких как

**Таблица 7.** Квантовые выходы *E,Z*-фотоизомеризации и спектральные характеристики *E*- и *Z*-изомеров соединений **56a–56b** в толуоле и циклогексане.

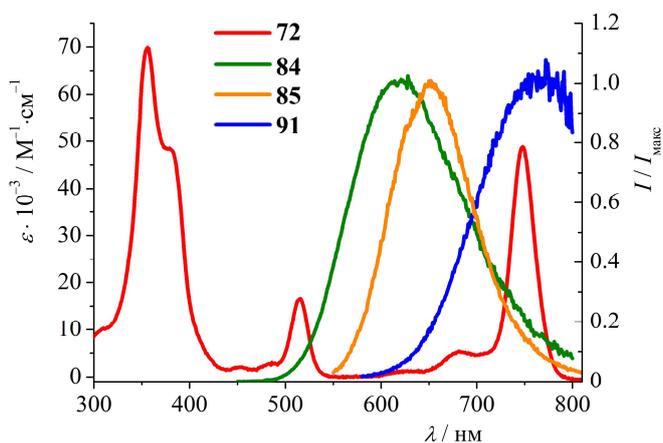
	Толуол			Циклогексан		
	<b>56a</b>	<b>56b</b>	<b>56b</b>	<b>56a</b>	<b>56b</b>	<b>56b</b>
$\lambda_{\text{макс}}^{\text{погл}}/\text{нм}$ ( $\varepsilon \cdot 10^{-3}/\text{M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ), <i>E</i>	405 (21.9)	412 (27.1)	460 (28.2)	398 (21.8)	405 (33.3)	446 (27.9)
$\lambda_{\text{макс}}^{\text{погл}}/\text{нм}$ ( $\varepsilon \cdot 10^{-3}/\text{M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ), <i>Z</i>	382 (11.9)	395 (9.3)	438 (6.2)	376 (15.2)	386 (10.3)	436 (7.7)
$[Z] / [E]$	0.86 / 0.14	0.76 / 0.24	0.61 / 0.39	0.67 / 0.33	0.75 / 0.25	0.71 / 0.29
$\varphi^{E \rightarrow Z}$	0.33	0.22	0.22	0.25	0.23	0.30
$\varphi^{Z \rightarrow E}$	0.44	0.40	0.53	0.49	0.49	0.40
$\varphi_E^{\text{из}}$	0.77	0.62	0.75	0.74	0.72	0.70
$\varphi_E^{\text{фл}}$	0.23	0.35	0.33	0.33	0.27	0.21
$\varphi_E^{\text{из}} + \varphi_E^{\text{фл}}$	~1	~1	~1	~1	~1	~1
$\varphi_{E+Z}^{\text{фл}}$	0.18	0.28	0.32	–	–	–

циклогексан ( $\varepsilon = 1.9$ ) и толуол ( $\varepsilon = 2.4$ ), в которых доминируют квазиплоские LE-состояния. В этом случае фотооблучение вызывает переключение эмиссионного сигнала, выражающееся в тушении флуоресценции, за счет уменьшения оптической плотности образца на длине волны возбуждения. Образованию TICT-состояний способствует введение второй OMe-группы в стироловый фрагмент **56a** или замена OMe- на NMe<sub>2</sub>-группу (т.е. усиление ICT-взаимодействия в хромофоре – первый способ), а также рост полярности среды (второй способ). Начиная с этилацетата ( $\varepsilon = 6.0$ ), испускание флуоресценции происходит преимущественно из TICT-S<sub>1</sub>, причем модуляция эффективности излучательной дезактивации TICT-S<sub>1</sub> также может осуществляться двумя отмеченными способами.

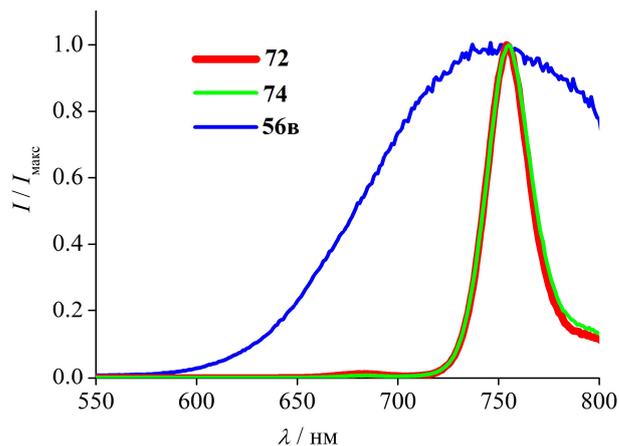
#### **Бисхромофорные системы на основе производных 1,8-нафталимида и бактериохлорина для комбинированной флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии**

В качестве препаратов-тераностиков для ФДТ в диссертационной работе были предложены конъюгаты бактериохлорина **72** и нафталимидных красителей (соединения **73–77**, схема 16). Они представляют собой бисхромофорные системы, в которых между двумя фотоактивными компонентами могут протекать такие фотофизические процессы как перенос энергии, электрона и образование эксиплексов. Вышеназванные процессы могут значительно повлиять на принципиально важные для применения в ФДТ параметры: эффективность генерации синглетного кислорода фрагментом-фотосенсибилизат и интенсивность флуоресценции остатка красителя-люминофора.

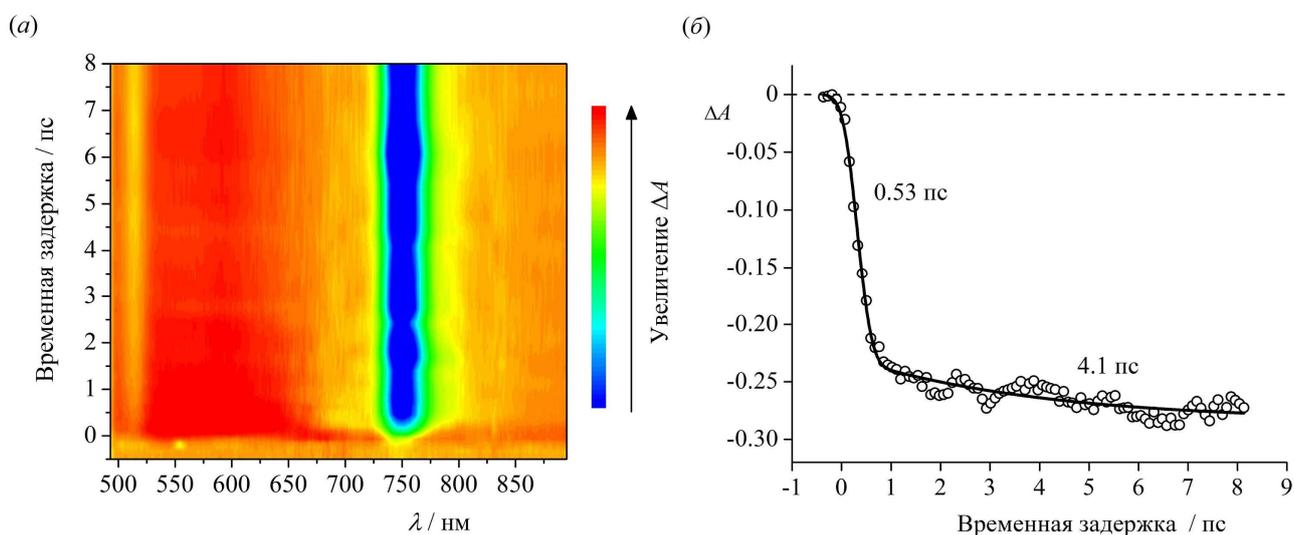
Первой была исследована серия конъюгатов **73–75**. Как уже упоминалось, резонансный перенос энергии (RET) в бисхромофорной системе может происходить при выполнении условия перекрытия спектра флуоресценции ХД со спектром поглощения ХА. На рис. 19 показано взаимное расположение спектра поглощения бактериохлорина **72** и спектров флуоресценции трех нафталимидных красителей **84**, **85** и **91** (схема 17 и 19) в ацетонитриле. Видно, что между спектром поглощения **72** и широкими полосами эмиссии **84**, **85** и **91** наблюдается частичное перекрывание (даже в случае **84** и **91**, максимумы люминесценции которых расположены в области минимального поглощения **72**). Это позволяет предположить протекание RET с красителя на ФС. В действительности, такой перенос энергии мы и наблюдали при возбуждении в полосу поглощения нафталимида для всех трех конъюгатов **73–75**. Например, в спектре испускания **74** (рис. 20) проявлялась только полоса флуоресценции бактериохлорина при 750 нм, что понятно из сравнения со спектром **72**. Широкая полоса эмиссии нафталимида отсутствовала. В TRABS-спектре соединения **74** при облучении нафталимидного остатка было отмечено возникновение отрицательного сигнала выцветания основного состояния бактериохлорина (рис. 21). Данный процесс является быстрым и протекает с характеристическим временем 0.53 пс (рис. 21б). Из сказанного можно заключить,



**Рисунок 19.** Спектр поглощения бактериохлорина **72** и нормализованные спектры флуоресценции производных нафталимида **84**, **85** и **91** в MeCN. Концентрации соединений в растворе  $\sim 10^{-6}$  М.



**Рисунок 20.** Нормализованные спектры флуоресценции **72**, **74** и **56b** в MeCN.  $\lambda_{\text{возб}}$  460 нм (в случае **56b** и **74**) и 515 нм (в случае **72**). Концентрации соединений в растворе 4.7 мкМ.



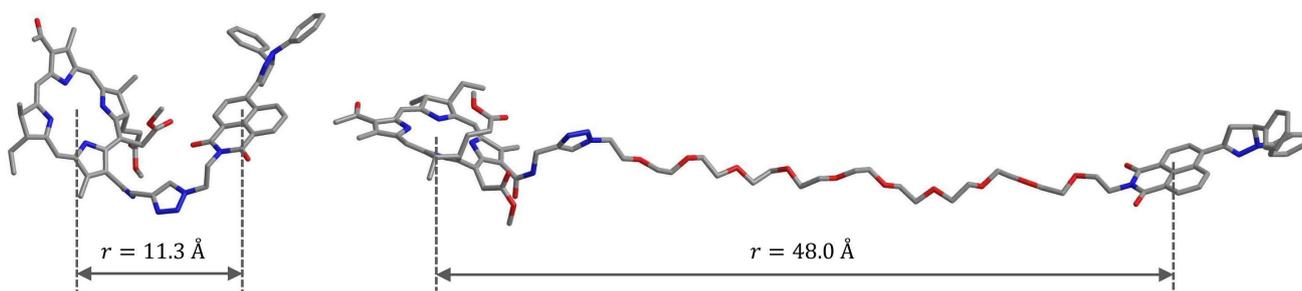
**Рисунок 21.** Спектрально-временная TRABS-карта с пикосекундным разрешением (а) и кинетика релаксации сигнала на длине волны 750 нм (б) конъюгата **74** в MeCN. Длина волны возбуждения 470 нм.

что образование отрицательного сигнала, обусловленного уменьшением числа возбужденных фрагментов бактериохлорина в образце, при облучении нафталимидного хромофора в **74** свидетельствует о реализации переноса энергии в системе. При этом нетрудно видеть, что перенос является безызлучательным (резонансным), поскольку происходит гораздо быстрее (за характеристическое время 0.53 пс), чем дезактивация  $S_1$ -состояния индивидуального хромофора-донора (соединение **56b**, схема 11), для которого время жизни возбужденного состояния в ацетонитриле составляет 0.38 нс (табл. 6). Принимая значения  $\tau_{\text{хд}}$  и  $\tau_{\text{хд},0}$  равными 0.53 пс и 0.38 нс соответственно, по уравнению (2) была рассчитана эффективность переноса энергии  $\Phi_{\text{RET}}$  для конъюгата **74**. Значение  $\Phi_{\text{RET}}$  составило 0.999. Теоретический расчет с использованием индукционно-резонансной модели Ферстера также подтвердил высокую эффективность RET в **74** ( $\Phi_{\text{RET}} = 0.995$ ).

На следующем этапе работы для пары конъюгатов **75**, **76** было проанализировано влияние спейсерного фрагмента, соединяющего нафталимидный хромофор и фотосенсибилизатор. Известно, что константа скорости переноса энергии по индукционно-резонансному механизму обратно пропорциональна расстоянию между хромофорами  $r$  в шестой степени.

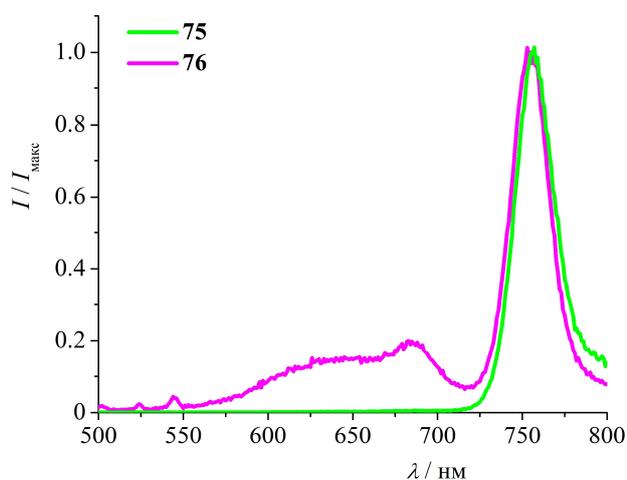
Поэтому одним из наиболее эффективных способов подавления RET-процесса в системе является удлинение спейсера между хромофорами. Эта идея была реализована в конъюгате **76**, содержащем фрагмент ПЭГ в качестве спейсера между ХД и ХА.

Геометрия основного состояния молекулы **76** была оптимизирована с использованием метода РМ6. Значение  $r$  в конъюгате составило 48.0 Å, что существенно больше, чем в случае соединения **75** (11.3 Å, рис. 22). С использованием значения критического радиуса Ферстера  $R_0$  для пары хромофоров **72**, **91** (30.8 Å) по формуле (1) нами была оценена теоретическая эффективность переноса энергии в конъюгате **76**, которая составила 6.5%. Действительно, в спектре испускания **76** появлялась заметная флуоресценция нафталимидного остатка в области 650 нм (рис. 23). Тем не менее, из стационарных и время-разрешенных экспериментов было найдено что  $\Phi_{\text{RET}}$  снижается лишь до 93%. Это говорит о том, что данный спейсер в растворе находится в скрученной конформации.

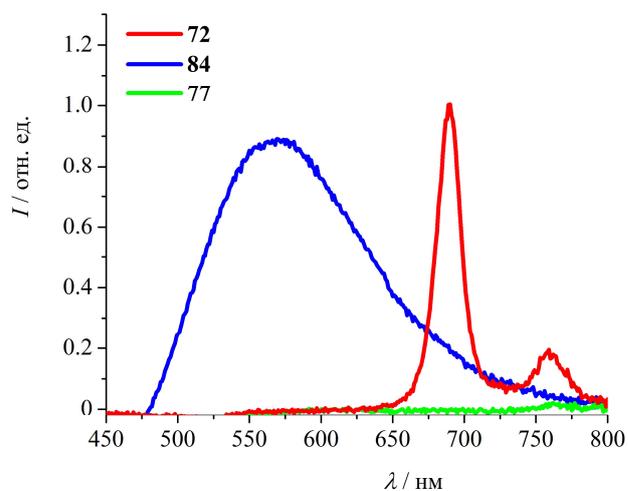


**Рисунок 22.** Оптимизированная методом РМ6 геометрия основного состояния конъюгата **75** (слева) и **76** (справа). Атомы водорода для упрощения рисунка не показаны.

Мы предположили, что скручиванию спейсерного фрагмента в конъюгатах может препятствовать его взаимодействие с содержащимися в биологической системе белками и получили конъюгат **77**. Наличие в структуре спейсера **77** амидных связей предположительно должно приводить к тому, что рассматриваемый тераностик будет способен при введении в организм взаимодействовать с компонентами биологических жидкостей. Оказалось, что такое взаимодействие гасит флуоресценцию **77**: в растворе бычьего сывороточного альбумина (БСА) она полностью отсутствовала. Индивидуальные компоненты конъюгата **77** (бактериохлорин **72** и нафталимид **84**) в БСА сохраняли способность интенсивно флуоресцировать (рис. 24).

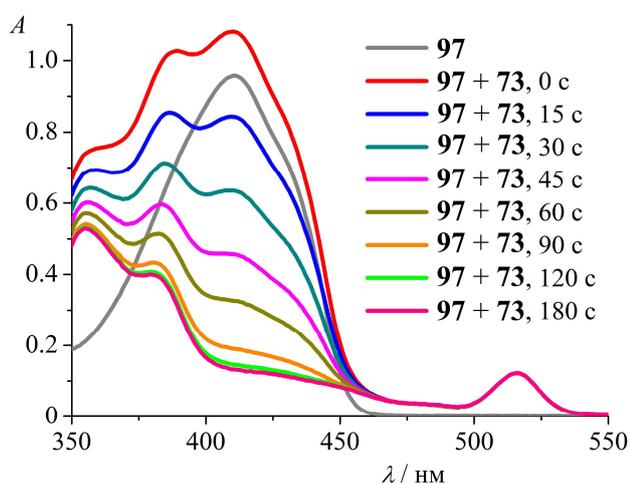
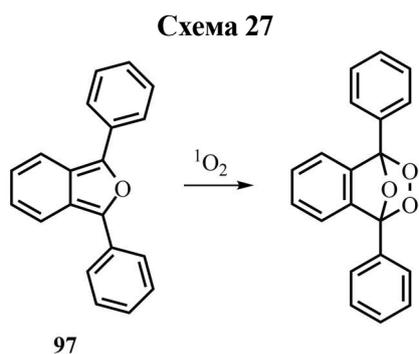


**Рисунок 23.** Нормализованные спектры флуоресценции конъюгатов **75** и **76** в MeCN.  $\lambda_{\text{возб}}$  470 нм. Концентрации соединений в растворе 3.1 мкМ.



**Рисунок 24.** Спектры флуоресценции **72**, **84** и **77** в 10%-ном (масс.) растворе БСА в воде.  $\lambda_{\text{возб}}$  420 нм. Концентрация всех соединений 2.6 мкМ.

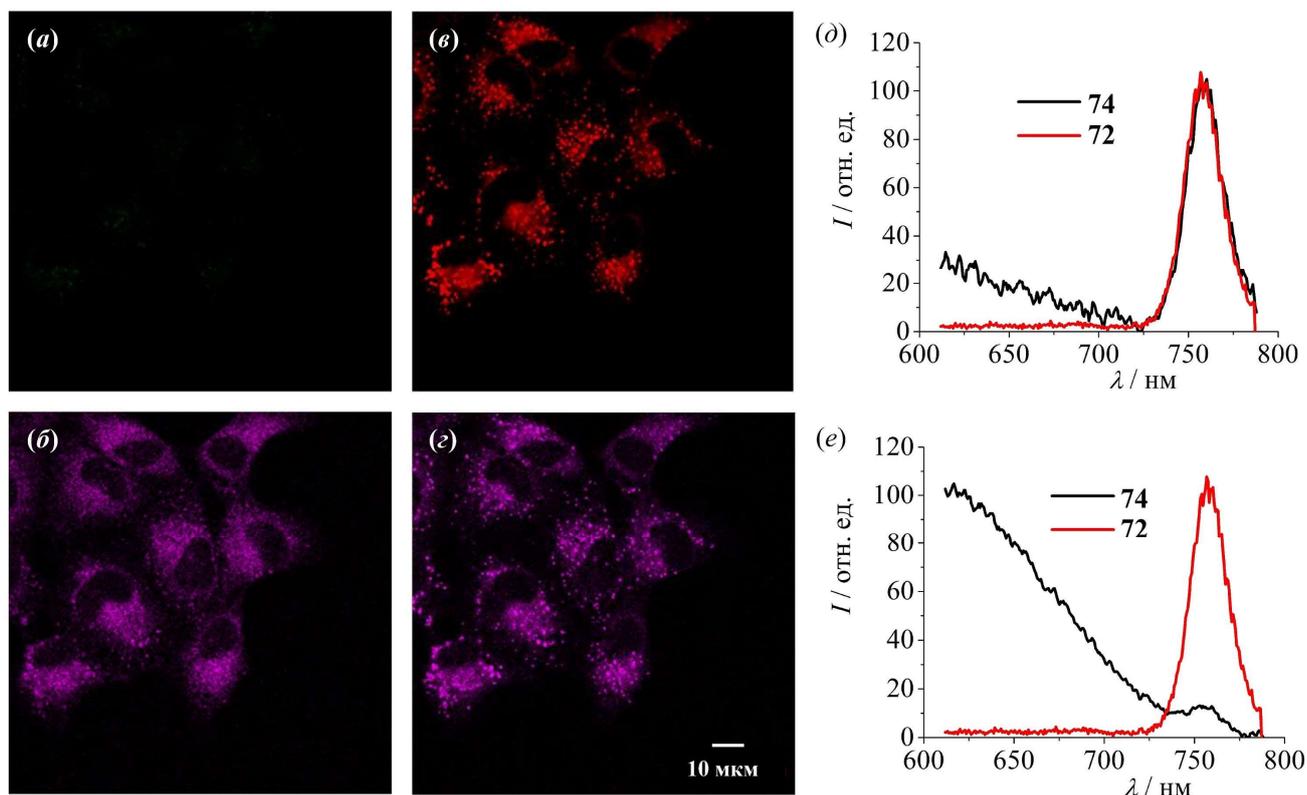
Далее была проанализирована способность соединений **73–77** генерировать синглетный кислород. Исследуемое соединение облучали в присутствии ловушки синглетного кислорода, дифенилдибензофурана **97** (схема 27) в ацетоне. Во всех случаях было отмечено выцветание полосы поглощения ловушки при 410 нм, связанное с образованием бесцветных фотопродуктов (рис. 25). По полученным данным были рассчитаны квантовые выходы генерации синглетного кислорода ( $\Phi_{\Delta}$ ). Рассчитанные значения  $\Phi_{\Delta}$  **73–76** варьировались в пределах 0.65 – 0.83 и оказались близки к  $\Phi_{\Delta}$  бактериохлорина **72** (0.79). Это позволяет заключить, что пришивка к молекуле **72** нафталимидных флуорофоров с образованием **73–76** не приводит к снижению эффективности генерации фотосенсибилизатором  $^1\text{O}_2$ . В то же время для конъюгата **77** величина  $\Phi_{\Delta}$  оказалась самой низкой из рассмотренных соединений (0.49). Данное наблюдение можно объяснить наличием в спейсерном фрагменте **77**  $\pi$ -избыточного бензольного ядра с двумя метоксигруппами, что повышает вероятность участия выделяющихся активных форм кислорода (АФК) в процессе окисления самих молекул конъюгата. Стоит отметить, что при облучении растворов нафталимидных красителей **84**, **85** и **91** светом с длиной волны 510 нм в присутствии **97** наблюдалось лишь незначительное снижение оптической плотности в области 410 нм.



**Рисунок 25.** Электронные спектры поглощения растворов соединения **97** (40.0 мкМ) и смеси **73** (5.0 мкМ) и **97** (40.0 мкМ) в начальный момент времени (0 с) и после 15, 30, 45, ... 180 с облучения светом с длиной волны 510 нм в ацетоне.

После изучения фотофизических свойств конъюгатов **73–77** мы перешли к экспериментам на клетках. Для исследований использовалась клеточная линия аденокарциномы легкого человека A549 и был взят конъюгат **74**. Флуоресцентные изображения клеток, инкубированных с раствором **74** (2 мкмоль/л) в течение 3 ч, получали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа. Облучение клеток светом с длиной волны 488 нм, который преимущественно поглощается нафталимидным фрагментом, проводилось в двух режимах. В первом было задействовано низкоинтенсивное лазерное излучение, подобное тому, которое используется для целей флуоресцентной диагностики, а во втором – высокоинтенсивное излучение, применяемое для достижения терапевтического эффекта. Полученные до и после высокоинтенсивного облучения флуоресцентные изображения клеток и внутриклеточные спектры флуоресценции **74** приведены на рис. 26.

При кратковременном низкоинтенсивном облучении клеток ( $\lambda_{\text{возб}}$  488 нм) флуоресценции нафталимидного красителя не наблюдалось (рис. 26а), но интенсивно флуоресцировал бактериохлорин (рис. 26б). Это наблюдение подтверждает, что перенос энергии с фрагмента нафталимидна на фотосенсибилизатор происходит и в условиях *in vitro*. В спектре флуоресценции **74** (рис. 26д) наблюдается сигнал в области 760 нм, что соответствует испусканию бактериохлорина. Изображе-



**Рисунок 26.** Снимки конфокального флуоресцентного микроскопа, показывающие распределение конъюгата **74** в клетках A549 (*a–c*), и внутриклеточные спектры флуоресценции **74** (*d,e*). Детекция флуоресценции проводилась в области испускания нафталимидного красителя (550 – 650 нм, рисунок (*a,b*)) и бактериохлорина (более 730 нм, (*b,c*)) до (*a,b,d*) и после (*c,e*) продолжительного высокоинтенсивного облучения клеток лазером с длиной волны 488 нм. Красная линия на рисунках (*d*) и (*e*) соответствует спектру флуоресценции бактериохлорина **72** в 1%-ном водном растворе солибилизатора Chremophor® EL. Спектры были нормализованы на наибольшую интенсивность. Клетки инкубировали 3 часа с 2.0 мкмоль/л **74**.

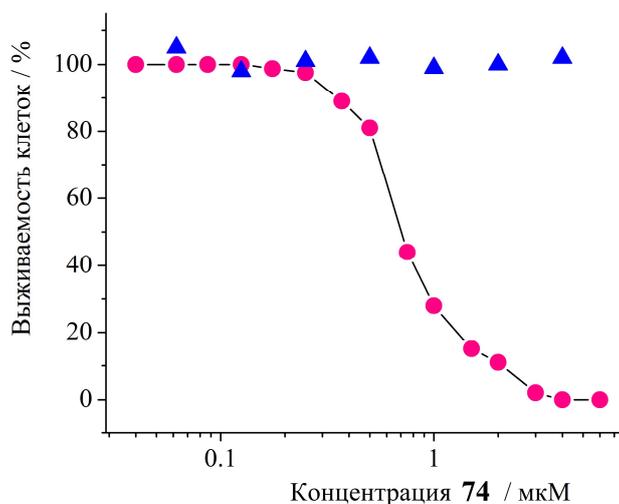
ние клеток, представленное на рис. 26*б*, позволяет видеть, что конъюгат **74** проникает в клетки A549, накапливается в цитоплазме, вызывая диффузное ее окрашивание, и не проникает в ядра.

После высокоинтенсивного облучения на изображении, соответствующем каналу детекции 550 – 650 нм (рис. 26*в*), можно наблюдать проявление флуоресцентного изображения клеток, а в эмиссионном спектре образца появляется широкая полоса (600 – 730 нм), характерная для 4-(*N,N*-диметиламиностирил)-1,8-нафталимида. Интенсивность люминесценции на 750 нм при этом значительно снижается. Данные спектральные эффекты свидетельствуют о фотохимическом разрушении фрагмента бактериохлорина, вероятно, под действием АФК.

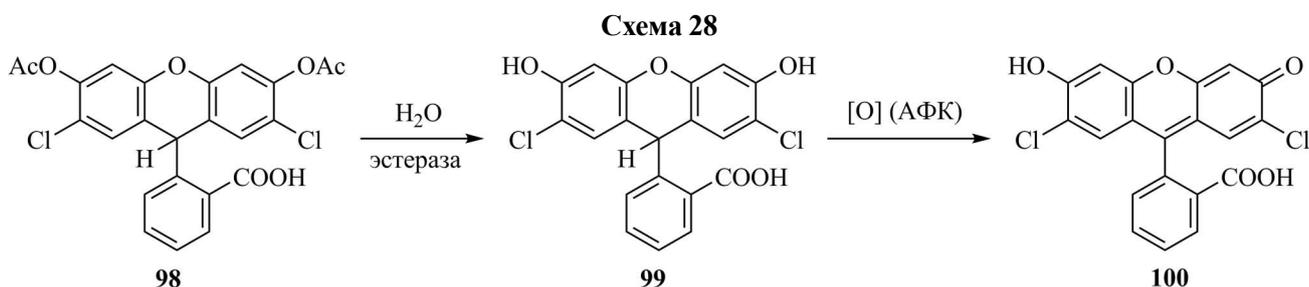
При возбуждении фрагмента фотосенсибилизатора конъюгат **74** демонстрировал фотодинамическую активность по отношению к клеткам линии A549 (рис. 27). Облучение в области длинноволнового максимума поглощения бактериохлорина вызывало гибель 90% клеток при концентрации конъюгата 0.7 мМ. В ряду исследованных концентраций (до 8 мкМ) темновая токсичность у **74** практически отсутствовала.

Способность конъюгата **74** образовывать АФК в клетках была доказана с использованием реагента для определения окислительного стресса, диацетата 2',7'-дихлороди гидрофлуоресцеина **98** (схема 28). Индикатор **98** не флуоресцирует, однако обладает способностью проникать через клеточную мембрану благодаря невысокой полярности молекулы. Попадая внутрь клетки, **98** подвергается реакции деацетилирования под действием клеточных ферментов эстераз с образованием гидроксипроизводного **99**, также нефлуоресцирующего. Соединение **99** чувствительно к присутствию в среде АФК. Вступая с ними в реакцию, **99** количественно переходит продукт **100**, обладаю-

щий интенсивной зеленой флуоресценцией. Таким образом, появление свечения в области желто-зеленых спектральных лучей (530 нм) при возбуждении образца видимым светом с длиной волны 485 нм может служить доказательством образования АФК.



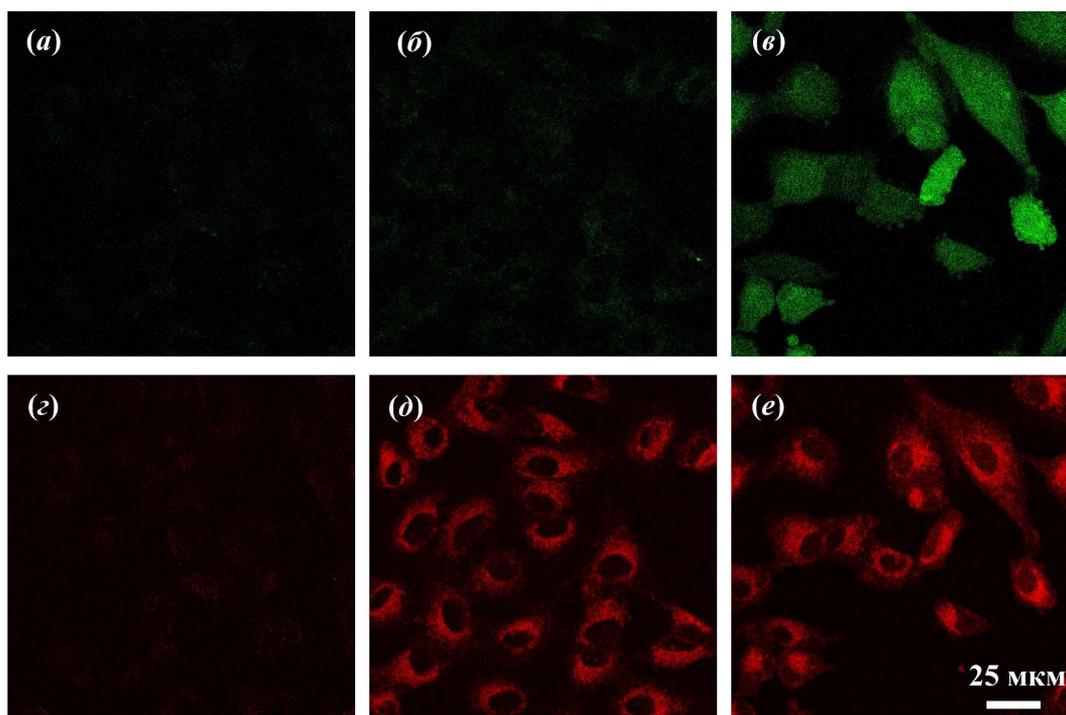
**Рисунок 27.** Зависимость выживаемости клеток линии A549 от концентрации **74** (экспериментальные точки показаны в виде кругов). Клетки инкубировались в растворе конъюгата в течение трех часов, затем облучались светом. Выживаемость определялась через три часа после облучения. Контрольная линия (треугольники) инкубировалась раствором конъюгата **74** в течение 6 ч без последующего облучения. Выживаемость клеток определяли с помощью цитологических флуоресцентных красителей: красителя Хехста 33342 (метит все клетки) и йодида пропидия (метит мертвые клетки).



После облучения клеток A549, инкубированных с растворами конъюгата **74** и реагента **98**, красным светом наблюдалась интенсивная зеленая флуоресценция окисленной формы **100** (500 – 540 нм), а также испускание нафталиimidного компонента конъюгата (600 – 650 нм) (рис. 28*в* и 28*е*). В контрольных экспериментах, при инкубации клеток только с соединением **98** (рис. 28*а* и 28*з*) и только с конъюгатом **74** (рис. 28*б* и 28*д*) появления сигнала в области, в которой флуоресцирует **100**, не наблюдалось.

Таким образом, было показано, что конъюгат **74** является эффективным терапевтическим агентом для ФДТ. При этом ФД может осуществляться с использованием обоих хромофорных фрагментов конъюгата. Длинноволновое поглощение и флуоресценция остатка бактериохлорина делают **74** пригодным для проведения оптической визуализации *in vivo*. В то же время, эмиссия **74** вблизи границы видимой и ИК области спектра плохо подходит для проведения экспериментов на клеточных культурах. Это связано с тем, что большинство конфокальных флуоресцентных микроскопов обладают невысокой чувствительностью в диапазоне 700 – 900 нм. С этой точки зрения флуоресценция нафталиimidного компонента, возникающая в результате фотохимической деструкции фрагмента ФС, может служить удобной альтернативой. Кроме того, переключение сигнала испускания с канала  $\lambda > 730$  нм на канал 550 – 650 нм является индикатором того, что облучение вызывает разрушение фрагментов ФС в **74**, а значит

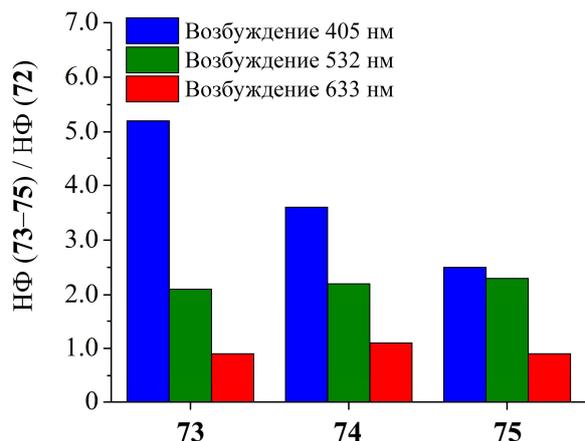
может быть использовано для подбора мощности источника света и продолжительности светового воздействия при проведении ФД и ФДТ.



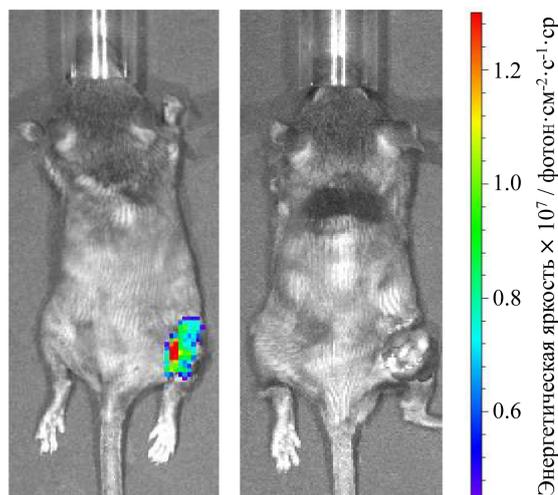
**Рисунок 28.** Снимки клеток A549, полученные с использованием конфокального флуоресцентного микроскопа. Детекция в канале 500 – 540 нм (a–в) соответствует области флуоресценции **100**, в канале 600 – 650 нм (z–e) – флуоресценции нафталиimidного хромофора в составе конъюгата **74**. Снимки были получены в условиях, когда клетки инкубировались с **98**, но без **74** (a,z), с **74**, но без **98** (b,d), с **74** и **98** (в,e), после чего проводилось облучение образцов красным светом.

Далее мы приступили к опытам на животных. Исследования проводились для серии конъюгатов **73–75** *in vivo* и *ex vivo* на мышах с привитой саркомой мягких тканей S37. При введении в организм конъюгаты накапливались в опухоли, что обнаруживалось по флуоресценции фрагмента бактериохлорина. На рис. 29 для трех конъюгатов показан уровень нормализованной флуоресценции (НФ) по отношению к сигналу отдельно взятого фотосенсибилизатора (при расчете НФ интегральную интенсивность испускания в интервале длин волн 648 – 750 нм нормировали на интегральную интенсивность сигнала обратного диффузного рассеяния возбуждающего лазерного излучения). Во всех случаях, когда для возбуждения использовался синий (405 нм) и зеленый свет (532 нм), который поглощается нафталиimidным красителем, флуоресценция была выше по сравнению с тем, когда использовался красный лазер. Это говорит о том, что нафталиimidный фрагмент в конъюгатах выступает в качестве светособирающей антенны, обеспечивающей дополнительную (помимо прямого фотовозбуждения) накачку энергией фрагмента бактериохлорина.

Приведенные данные по флуоресцентным свойствам соединений **73–75** *ex vivo* позволяют заключить, что бисхромофор **73** по сравнению с **74** и **75** обладает наилучшими характеристиками для проведения ФД. По этой причине **73** был использован для визуализации целого организма мыши. В этом эксперименте животное по истечении 30 минут после введения раствора **73** обезболивало изофлураном и облучали синим светом (430 нм) на установке для проведения оптического имиджинга. Флуоресценцию регистрировали в диапазоне 760 – 780 нм. Контрольная мышь с привитой саркомой S37 инъекции препарата на получала. На рис. 30 представлены полученные изображения двух животных, цветная шкала показывает энергетическую яркость испускаемого излучения. Как видно, флуоресцентный сигнал отчетливо показывает место локализации опухоли.



**Рисунок 29.** Отношение нормализованной флуоресценции (НФ) конъюгатов **73–75** к НФ бактериохлорина **72** в ткани саркомы мышей S37 при возбуждении синим (405 нм), зеленым (532 нм) и красным (633 нм) лазером. На каждую точку использовали биологический материал от троих животных и проводили не менее трех измерений в каждом образце.

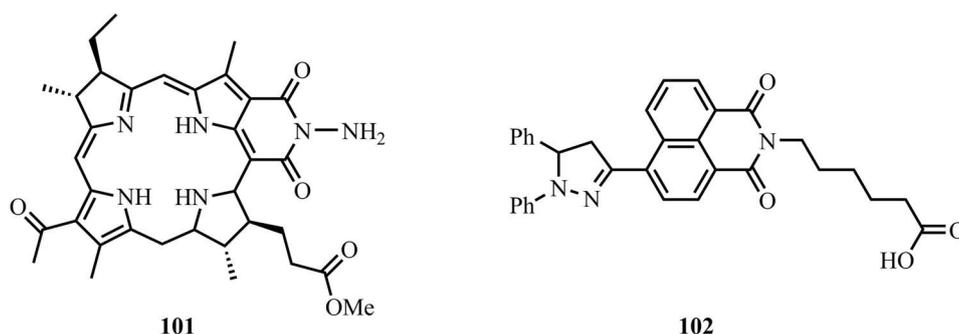


**Рисунок 30.** Флуоресцентное изображение мышцы с саркомой мягких тканей S37 после внутривенного введения **73** (слева) и контрольной мышцы (справа) при облучении ( $\lambda_{\text{возб}}$  430 нм). Регистрация флуоресценции проводилась при 760 – 780 нм. Для лучшей визуализации кожа в области опухоли у обоих животных была удалена.

Фотоиндуцированная противоопухолевая активность конъюгатов при облучении синезеленым светом (350 – 550 нм) оказалась выше, чем у бактериохлорина **72**. Торможение роста опухоли (ТРО) в случае **73** и **74** составило 85 – 100% (в зависимости от времени наблюдения), а коэффициент излеченности (КИ) достигал 60% (для **75** ТРО и КИ были на уровне 79 – 100% и 40%). Следует отметить, что ФС может рассматриваться как высокоэффективный если ТРО  $\geq 70\%$  и/или КИ  $\geq 50\%$ . При использовании красного света (695 – 2500 нм) показатели конъюгатов были такими же, как и у бактериохлорина (ТРО 77 – 100%, КИ 20%). Это также указывает на то, что нафталимидный фрагмент в **73–75** выполняет роль светособирающей антенны.

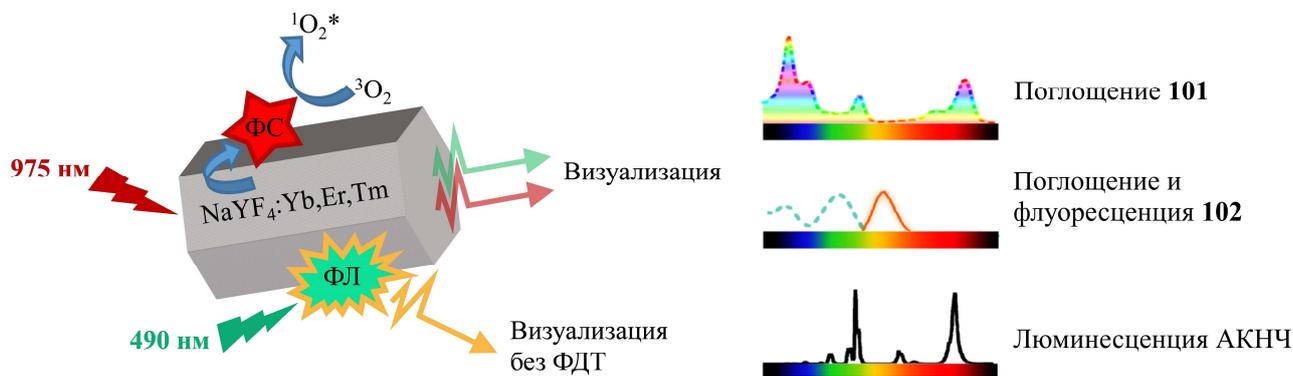
С целью улучшения флуоресцентных характеристик тераностиков в работе был получен наногибридный материал. В качестве основы использовались ап-конверсионные наночастицы (АКНЧ) тетрафториттрата натрия ( $\text{NaYF}_4$ ), допированные ионами лантаноидов: эрбия (Er), иттербия (Yb) и тулия (Tm) (далее АКНЧ $_{\text{ErYbTm}}$ ). При возбуждении в ИК области они демонстрируют узкие полосы испускания в видимом диапазоне. В качестве фотосенсибилизатора был выбран *N*-аминобактериопурпуринимид **101**, а флуорофора – производное 4-пиразолинил-1,8-нафталимид **102** (схема 29). Органические составляющие содержали amino- и карбоксильную группы, с помощью которых они ковалентно «пришивались» к поверхности неорганической частицы. Помимо частиц, которые содержат на поверхности **101** и **102** (АКНЧ $_{\text{YbErTm}}@101/102$ ), для сравнительно-

**Схема 29**



го анализа спектральных свойств были получены наночастицы, модифицированные только флуорофором **102** (АКНЧ<sub>YbErTm@102</sub>) и только фотосенсибилизатором **101** (АКНЧ<sub>YbErTm@101</sub>).

Компоненты наногрида подбирались по их спектральным характеристикам. Например, полосы в спектре испускания частицы очень удачно перекрываются со спектром поглощения фотосенсибилизатора **101** (рис. 31). Это должно способствовать переносу энергии с частицы на пурпуринимид и генерации синглетного кислорода при возбуждении ИК светом. В тоже время, в области поглощения нафталимидного красителя **102** (490 нм) сама частица оптически прозрачна. По логике это должно обеспечивать флуоресцентную навигацию без применения терапии.



**Рисунок 31.** Принцип работы гибридной АКНЧ для ФД и ФДТ (слева) и взаимное расположение полос в спектрах поглощения и люминесценции фотосенсибилизатора (ФС) **101**, флуорофора (ФЛ) **102** и АКНЧ<sub>YbErTm</sub> в ацетонитриле (справа).

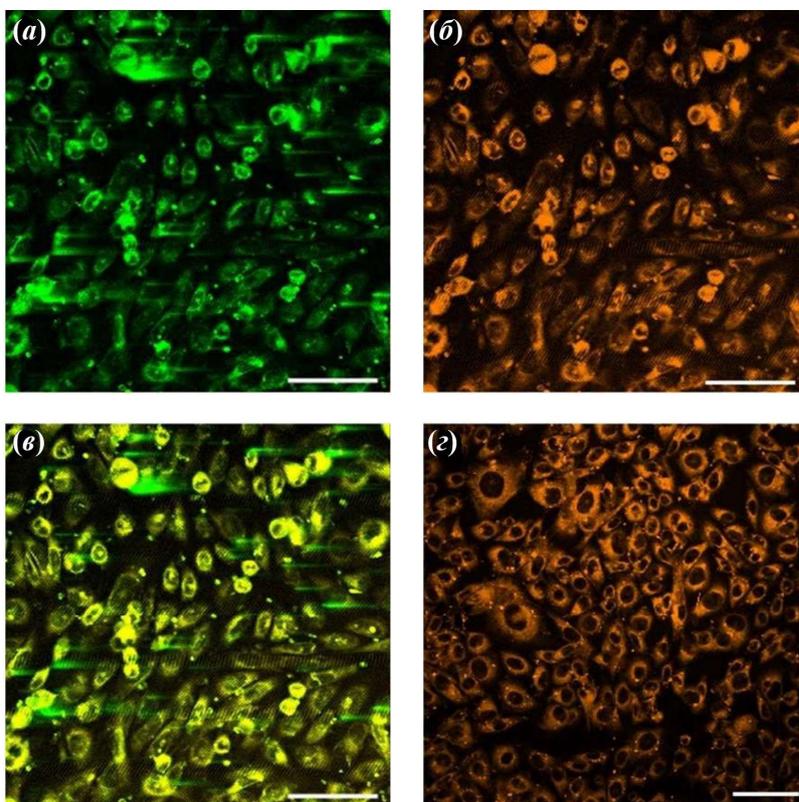
С использованием термогравиметрического анализа и значений коэффициентов молярной экстинкции соединений **101** и **102** в ацетонитриле, было установлено, что на поверхности одной наночастицы в среднем располагается 325 молекул красителя **102** и 5789 молекул **101**, что соответствует 0.1 мг (0.19 мкмоль) **102** и 0.2 мг (3.3 мкмоль) **101** на 1 мг наногридного материала. Размер немодифицированных АКНЧ<sub>YbErTm</sub> по данным электронной трансмиссионной микроскопии составляет  $17.6 \pm 1.1 \times 23.1 \pm 1.1$  нм. Отметим, что при синтезе АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub> во избежание агрегации макрогетероциклических остатков ФС исходные АКНЧ<sub>YbErTm</sub> обрабатывали сначала раствором нафталимидного красителя **102** в водном этаноле в присутствии триэтаноламина, а затем проводили ковалентную пришивку **101** в аналогичных условиях. Частицы выделяли с помощью центрифугирования с последующей многократной промывкой ацетонитрилом.

Возбуждение растворов АКНЧ<sub>YbErTm@102</sub> и АКНЧ<sub>YbErTm@101</sub> в MeCN светом с длиной волны 975 нм приводит к снижению интенсивности зеленой люминесценции лантаноидов в области 520 – 550 нм по сравнению с АКНЧ<sub>YbErTm</sub> на 80% и 55% соответственно, а также к появлению низкоинтенсивных полос при 550 – 600 нм и 830 нм, которые обусловлены испусканием **102** и **101**. Данный спектральный эффект свидетельствует о том, что на поверхности частиц реализуется перенос энергии поглощенного света не только на фотосенсибилизатор **101**, но и на нафталимидный хромофор. При ИК облучении АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub> также наблюдается тушение люминесценции в зеленой области спектра (на 40%) и появление эмиссионной полосы *N*-аминобактериохлорина с максимумом 830 нм. Интересно отметить, что интенсивность флуоресценции **101** при 830 нм в случае АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub> оказалась значительно выше по сравнению с АКНЧ<sub>YbErTm@101</sub>. Это связано с тем, что на поверхности АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub> реализуется сразу несколько процессов переноса энергии. Так, энергия фотовозбуждения иттрия (975 нм) переносится на ионы эрбия и тулия, а от них передается молекулам ФС **101** и ФЛ **102**, при этом возбужденный ФЛ может участвовать в переносе энергии на ФС, что и приводит к разгоранию флуоресценции последнего. Протекающие безызлучательного переноса энергии с ионов лантаноидов на органические хромофоры также

выражалось в двукратном уменьшении времени жизни люминесценции в области 515 – 580 нм (от 60.2 мкс до 28.5 мкс) при переходе от АКНЧ<sub>YbErTm</sub> к АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub>.

Возбуждение АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub> видимым светом с длиной волны 490 нм приводило к появлению в спектре испускания широкой полосы с максимумом 637 нм, соответствующей флуоресценции нафталиimidного красителя. Данное наблюдение свидетельствует о том, что нежелательный процесс переноса энергии с нафталиimidа на ФС в определенной мере подавляется на поверхности наночастиц. Найденный из спектроскопических характеристик хромофоров критический радиус Ферстера  $R_0$  для рассматриваемой пары (ХД **102**, ХА **101**) составляет 31 Å. В то же время, немодифицированные АКНЧ<sub>YbErTm</sub> имеют размер около 23 нм (230 Å). Можно предположить, что в случае неравномерного распределения молекул **102** и **101** по поверхности наночастицы (что вполне вероятно, так как пришивка ФЛ и ФС к поверхности проводилась последовательно) процесс переноса энергии будет эффективно протекать не для всех RET-пар. Нафталиimidные фрагменты, находящиеся на значительном расстоянии от ФС (сопоставимом с  $R_0$  или превышающем его) за счет неполного RET, таким образом, будут обеспечивать наличие флуоресцентного сигнала.

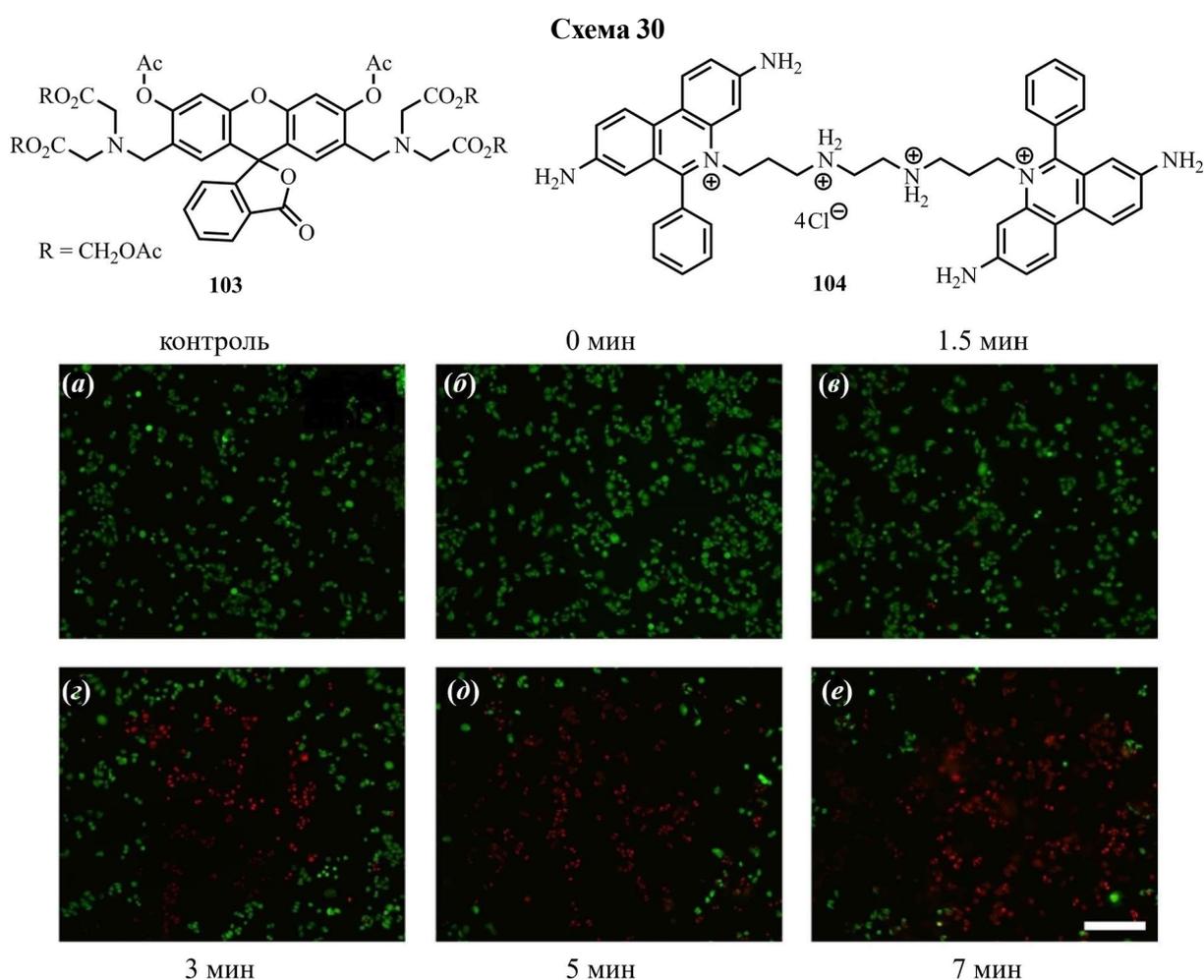
Биологические исследования наноггибрида проводились на клеточной линии нейробластомы человека SH-SY5Y. На рис. 32 представлены люминесцентные изображения клеток после инкубации в культуральной среде с АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub>. Облучение светом с длиной волны 975 нм приводит к испусканию как самих частиц в области 515 – 580 нм (рис. 32а), так и нафталиimidного фрагмента при 590 – 650 нм в результате частичного переноса энергии на него (рис. 32б). Перекрытие двух указанных каналов детекции (рис. 32в) подтверждает сококализацию ап-конверсионных наночастиц и нафталиimidного красителя внутри клетки. Свечение в диапазоне 590 – 650 нм наблюдается и при прямом возбуждении **102** ( $\lambda_{\text{возб}}$  488 нм) в составе на-



**Рисунок 32.** Флуоресцентные изображения клеток SH-SY5Y после инкубации с АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub> (100 мкг/мл, 4 ч). Возбуждение / регистрация: 975 нм / 515 – 580 нм (а), 975 нм / 590 – 650 нм (б), 488 нм / 570 – 670 нм (в). На рисунке (в) показано наложение изображений (а) и (б). Масштабная метка соответствует 50 мкм.

ногибрида видимым светом ( $\lambda_{\text{возб}} 488 \text{ нм}$ , рис. 32*з*), а также ИК лазером с длиной волны 880 нм, на которой АКНЧ<sub>YbErTm</sub> оптически прозрачны, за счет двухфотонного поглощения. Это указывает на возможность проведения ФД с использованием АКНЧ<sub>YbErTm</sub>@101/102 без сопутствующего терапевтического эффекта.

Фототоксичность наночастиц проверялась с помощью LIVE/DEAD Kit набора, который состоит из двух красителей **103** и **104** (схема 30). Соединение **103** (кальцеин АМ) способно проникать через клеточную мембрану и подвергаться деацетилированию под действием клеточных эстераз, превращаясь в интенсивно флуоресцирующий зеленым цветом продукт. Краситель **104** (гомодимер этидия-1) является маркером для ДНК. Частицы **104** в отличие от **103** не способны проникать через мембраны, однако, при их разрушении **104** образует с ДНК комплекс, обладающий красным свечением. Таким образом, использование данного набора индикаторов позволяет отличить живые клетки от мертвых по цвету флуоресценции. Из рис. 33 видно, что большая часть клеток, инкубированных с наногбридом, погибала после 7 мин облучения.



**Рисунок 33.** Результаты изучения выживаемости клеток SH-SY5Y после облучения светом с длиной волны 975 нм в присутствии и в отсутствие АКНЧ<sub>YbErTm</sub>@101/102 с использованием красителей **103** и **104**. Представлены флуоресцентные изображения клеток, которые подвергались световому воздействию в течение 0 (**б**), 1.5 (**в**), 3 (**г**), 5 (**д**) и 7 (**а,е**) мин с предварительной инкубацией с АКНЧ<sub>YbErTm</sub>@101/102 (100 мкг/мл) (**б–е**) и без предварительной инкубации с наночастицами (**а**). Зеленые клетки – живые, красные – разрушенные. Масштабная метка соответствует 200 мкм.

Таким образом, было продемонстрировано, что предложенные нами гибридные ап-конверсионные наночастицы на основе NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er,Tm, фотосенсибилизатора **101** и флуорофора **102** обладают высокой фототоксичностью по отношению к раковым клеткам нейробластомы человека

SH-SY5Y, индуцируемой ИК светом (975 нм). При этом наличие в составе АКНЧ<sub>YbErTm@101/102</sub> нафталимидного красителя, поглощающего в области, где неорганическая частица спектрально прозрачна (488 нм, 880 нм), позволяет осуществлять флуоресцентную навигацию без цитотоксических последствий. Рассмотренная стратегия создания гибридного препарата может быть применена для разработки других систем подобного типа, перспективных для использования в качестве неинвазивных средств диагностики и лечения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Выводы

1. Разработаны методы получения неизвестных ранее производных 4-амино-, 4-(ацетил)амино-, 4-метокси- и 4-пиразолинилпроизводных 1,8-нафталимида, содержащих фрагменты краун-эфиров с различным сочетанием N-, O- и S-гетероатомов и открытоцепные рецепторные группы (соединения вида «нафталимид – рецептор»). Найдены синтетические подходы к соединениям с гибридной хромофорной системой, в которых нафталимидный флуорофор является частью нафтопиранового или диарилэтенового фотохрома, а также к бисхромофорным производным «нафталимид – нафталимид» и «нафталимид – бактериохлорин» с изолированными спейсером  $\pi$ -системами фотоактивных фрагментов.
2. Установлено, что комплексообразование с катионами металлов по рецепторному фрагменту хемосенсоров «нафталимид – рецептор» вызывает разгорание флуоресценции нафталимидного остатка, которое обусловлено подавлением процесса фотоиндуцированного переноса электрона (PET). При этом величина наблюдаемого эффекта может быть изменена за счет варьирования электронодонорных свойств рецептора и  $\pi$ -дефицитного характера флуорофорного остатка. Способность проявлять разгорание флуоресценции по PET-механизму для синтезированных флуороионофоров сохраняется при переходе от растворов в органическом растворителе (ацетонитриле) к водным растворам и к полимерным композитам, что было продемонстрировано на примере дитиакраунсодержащих производных 1,8-нафталимида. Было также показано, что флуоресцентный отклик типа «OFF → ON» при переключении PET-процесса может быть достигнут и в случае детектирования аниона.
3. Обнаружено, что сочетание в молекуле двух структурно близких нафталимидных хромофоров создает условия для реализации эффективного резонансного переноса энергии (RET) электронного возбуждения. При этом введение краун-эфирных групп в молекулу делает указанный перенос катионоуправляемым за счет конкуренции между PET- и RET-процессами в возбужденном состоянии. Более быстрый PET в свободном лиганде способствует более контрастному переключению RET и, следовательно, флуоресценции хромофора-акцептора. Бисхромофорные производные, подобные предложенным, обладают потенциалом использования в качестве ратиометрических флуоресцентных сенсоров для детектирования ионов металлов в биологических средах.
4. Предложено два подхода к созданию флуоресцентных фотохромных систем: в первом из них флуорофор (1,8-нафталимид) и фотохром (нафтопиран, стириловый краситель) объединены в составе одной хромофорной системы, во втором – компоненты устройства образуют супрамолекулярный комплекс. В обоих случаях было обнаружено, что протекание фотохимической реакции вызывает изменение флуоресцентных характеристик нафталимидного остатка. Для производных нафтопирана показано, что наличие пиранового атома кислорода

в 4-м положении нафталимидного ядра приводит к значительной стабилизации открытой формы фотохрома.

5. Установлено, что *N*-бутил-4-стирил-1,8-нафталимиды в растворителях высокой полярности при фотовозбуждении образуют ТИСТ-состояния, для которых возможна излучательная дезактивация. Найдено, что образованию скрученных состояний способствует увеличение ЭД характера стирилового фрагмента в 4-м положении нафталинового ядра, а также увеличение полярности растворителя и его способности к образованию водородных связей. Эффективность флуоресценции скрученных состояний также зависит от перечисленных факторов.
6. Показано, что конъюгация нафталимидных красителей с фотосенсибилизатором не снижает фотодинамической эффективности последнего: бисхромофорные системы сохраняют способность проникать в клетки, демонстрируют низкую темновую токсичность и высокую фотодинамическую эффективность в клеточных испытаниях и опытах *in vivo*. Установлено, что в конъюгатах нафталимидных флуорофоров и фотосенсибилизатора бактериохлорина с высокой эффективностью реализуется процесс резонансного переноса энергии, ухудшающий их флуоресцентные характеристики. Тем не менее, в результате клеточных исследований *in vitro* было установлено, что флуоресцентный отклик нафталимидного фрагмента, проявляющийся в результате разрушения бактериохлорина под действием активных форм кислорода, может быть использован для подбора оптимальных значений мощности и дозы облучения для терапии. Кроме того, нафталимидный хромофор в составе конъюгатов выполняет роль светособирающей антенны, которая обеспечивает дополнительную (помимо прямого фотовозбуждения) накачку энергией фрагмента фотосенсибилизатора, что увеличивает фотоиндуцированную токсичность.
7. Показано, что снижение эффективности RET-процесса за счет введения в конъюгат «нафталимид – бактериохлорин» полигликолиевого спейсера приводит к незначительному снижению эффективности переноса энергии и проявлению флуоресцентного отклика нафталимидного остатка. Имобилизация на поверхности ап-конверсионных наночастиц является эффективным способом улучшения имиджинговых свойств систем на основе бактериохлорина и нафталимида и позволяет проводить диагностику без сопутствующего фотодинамического эффекта.

### **Перспективы дальнейшего развития темы диссертационной работы**

Органические флуоресцентные материалы, разработке которых посвящена диссертация, в настоящее время рассматриваются как чрезвычайно важные элементы оптических молекулярных устройств. Применение органических люминофоров и других фотоактивных соединений в новых областях, объединяемых общим термином «HighTech» (высокие технологии), к которым относится создание имиджинговых реагентов для биологических исследований, элементов солнечных батарей, лекарственных препаратов, флуоресцентных хемосенсоров, электролюминесцентных устройств, систем записи и хранения информации является одним из приоритетных научных направлений во всем мире.

В практическом плане проведенные в работе исследования являются значимыми в отношении использования флуорофоров для оптической визуализации протекающих в организме процессов. По направлению, связанному с получением комбинированных препаратов для ФД и ФДТ, было показано, что существенным недостатком молекулярных конъюгатов состава «фотосенсибилизатор – спейсер – флуорофор» является перенос энергии электронного возбуждения между хромофорами. Дальнейшие исследования могут быть направлены на разработ-

ку систем, в которых указанный процесс подавляется различными способами. В частности, представляет интерес использование спейсеров, способных к расщеплению во внутриклеточной среде (например, дисульфидный спейсер, в котором происходит восстановительный разрыв связи S–S в присутствии глутатиона). Другим приемом может служить введение спейсера, включающего фрагмент с несколькими положительно заряженными группами (например, алкиламмониевыми группами), что должно понижать его конформационную подвижность и препятствовать сближению фотоактивных фрагментов.

Важным направлением для практической медицины является расширение круга используемых для создания тераностиков фотосенсибилизаторов. Так, интересным примером фотосенсибилизаторов являются гетероароматические катионы на основе производных хинозалинина. Они характеризуются средними значениями квантовых выходов генерации синглетного кислорода, однако демонстрируют высокую аффинность к нуклеиновым кислотам, встраиваясь между пар оснований и нарушая физиологический цикл ДНК. Такое сочетание двух механизмов воздействия на ткани также обеспечивает высокую цитотоксичность препарата. Отмеченные фотосенсибилизаторы в отличие от производных порфирина, хлорина и бактериохлорина не обладают тропностью к опухолям, поэтому при создании на их основе тераностиков необходимо присутствие третьего компонента (помимо ФС и ФЛ) – векторной группы, обеспечивающей селективное накопление препарата в опухолевой ткани. В качестве последней могут выступать фрагменты фолиевой кислоты, биотина, углеводные остатки. Введение векторов в случае макрогетероциклических ФС также может повысить эффективность работы тераностика. Таким образом, в перспективе развитие данного направления диссертационной работы может предполагать синтез и изучение сложных трехмодальных систем, которые сочетают функции терапевтического агента, флуоресцентного навигатора и фрагмента, обеспечивающего возможность адресной доставки. Продвижение по такому сложному, но перспективному пути конструирования лекарственных препаратов позволит совершенствовать логику проведения последовательной сборки молекулярного устройства с целью бережного сохранения функций каждого компонента. Найденные в результате изучения спектрально-люминесцентных свойств бисхромофорных систем на основе нафталимида и бактериохлорина закономерности, а также подходы к их получению могут служить хорошим научным заделом для последующих исследований и разработок.

В отношении направления, связанного с визуализацией ионов в водных растворах и в биологических объектах, интересным представляется варьирование структуры рецепторного фрагмента на базе предложенных фотоактивных составляющих с PET- и RET-механизмом возникновения оптического отклика. Это связано с тем, что в последние годы проблема создания флуоресцентных сенсоров приобрела несколько иной характер. Стандартный подход к дизайну молекулы химического сенсора основан на широко известной в супрамолекулярной химии парадигме «ключ – замок». Он заключается в том, что под каждый конкретный анализ подбирается сенсор со строго определенным рецептором. Понятно, что такой подход имеет существенные недостатки. Во-первых, разработка высокоселективных реагентов уже представляет собой весьма трудную задачу. Сначала на основе анализа данных литературы требуется тщательно продумать структуру рецептора, с использованием методов компьютерного моделирования подтвердить целесообразность его синтеза, наконец, осуществить сам синтез, который в большинстве случаев бывает достаточно сложным, изучить селективность связывания и подобрать оптимальные условия анализа. Во-вторых, число субстратов, которые нужно детектировать постоянно растет. Следовательно, можно ожидать точно такого же роста числа хемосенсоров для их определения. В действительности, именно такая тенденция и наблюдается в последние два десятилетия, о чем говорит огромное количество публикаций по данной тематике.

Таким образом, важной проблемой в области разработки оптических сенсорных устройств является поиск принципиально новых подходов к селективному аналитическому определению близких по природе субстратов, позволяющих избегать стихийного роста числа синтезируемых реagens-индикаторов.

Одним из способов преодоления указанной трудности является разработка мультикомпонентных оптических систем с перекрестной чувствительностью. Идея данного подхода заключается в следующем. Для создания устройства используют матрицу, составленную из некоторого (не очень большого) числа сенсорных элементов, каждый из которых различается по структуре рецепторного фрагмента. Важно, что каждый элемент по отдельности не обязательно должен проявлять высокую селективность по отношению к тому или иному субстрату. Поскольку каждый элемент продуцирует свой уникальный оптический отклик, то регистрируемый в процессе анализа множественный сигнал от всей матрицы является высокоспецифичным для данного субстрата подобно тому, как отпечатки пальцев специфичны для каждого человека. Создание сенсорных матриц с перекрестной чувствительностью представляет собой перспективное направление, в котором могут быть использованы результаты по исследованию свойств ион-активных соединений на основе производных 1,8-нафталимида.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК, и патенты

1. Сергеева А. Н., **Панченко П. А.**, Федоров Ю. В., Федорова О. А. Синтез и сенсорные свойства краунсодержащих производных 4-(1,5-дифенил- $\Delta^2$ -пиразолин-3-ил)-1,8-нафталимида // Физикохимия поверхности и защита материалов. – 2012. – Т. 48. – № 5. – С. 440-449 [Sergeeva A. N., **Panchenko P. A.**, Fedorov Y. V., Fedorova O. A. Synthesis and Sensor Properties of Crown-Containing Derivatives of 4-(1,5-Diphenyl- $\Delta^2$ -Pyrazolin-3-yl)-1,8-Naphthalimide // *Protec. Met. Phys. Chem. Surf.* – 2012. – Vol. 48. – № 5. – P. 524-533].
2. **Panchenko P. A.**, Fedorov Y. V., Fedorova O. A., Jonusauskas G. Comparative analysis of the PET and ICT sensor properties of 1,8-naphthalimides containing aza-15-crown-5 ether moiety // *Dyes Pigm.* – 2013. – Vol. 98. – P. 347-357.
3. **Панченко П. А.**, Федорова О. А., Федоров Ю. В. Флуоресцентные и колориметрические хемосенсоры на катионы на основе производных 1,8-нафталимида: принципы дизайна и механизмы возникновения оптического сигнала // *Успехи химии.* – 2014. – Т. 83. – С. 155-182 [**Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Fedorov Y. V. Fluorescent and colorimetric chemosensors for cations based on 1,8-naphthalimide derivatives: design principles and optical signalling mechanisms // *Russ. Chem. Rev.* – 2014. – Vol. 83. – P. 155-182].
4. Селектор С. Л., Богданова Л. Б., Шокуров А. В., **Панченко П. А.**, Федорова О. А., Арсланов В. В. Внутри- и межслойный перенос энергии в планарных системах на основе дифильных производных нафталимида // *Макрогетероциклы.* – 2014. – Т. 7. – С. 311-320 [Selector S. L., Bogdanova L. B., Shokurov A. V., **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Arslanov V. V. Intra- and Interlayer Energy Transfer in Planar Systems Based on Amphiphilic Naphthalimide Derivatives // *Macroheterocycles.* – 2014. – Vol. 7. – P. 311-320].
5. **Panchenko P. A.**, Sergeeva A. N., Fedorova O. A., Fedorov Y. V., Reshetnikov R. I., Schelkunova A. E., Grin M. A., Mironov A. F., Jonusauskas G. Spectroscopical study of bacteriopurpurinimide-naphthalimide conjugates for fluorescent diagnostics and photodynamic therapy // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2014. – Vol. 133. – P. 140-144.

6. 4-Замещенные *N*-арил-1,8-нафталимиды, проявляющие свойства флуоресцентных сенсоров на катионы металлов, и способы их получения // Патент РФ 2515195 (С1). 10.05.2014 / Федорова О. А., Федоров Ю. В., **Панченко П. А.**, Сергеева А. Н., Ощепков М. С., Ощепков А. С.
7. **Панченко П. А.**, Пак В. В., Федорова О. А., Федоров Ю. В., Катаев Е. А. Катионозависимые спектральные свойства флуоресцентного комплексона на основе 1,8-нафталимида с PET-механизмом оптического отклика // Изв. АН, Сер. Хим. – 2015. – № 8. – С. 1871-1876 [**Panchenko P. A.**, Park V. V., Fedorova O. A., Fedorov Y. V., Kataev E. A. Cation-dependent spectral properties of fluorescent complexon based on 1,8-naphthalimide with PET mechanism of optical response // Russ. Chem. Bull. – 2015. – Vol. 64. – No. 8. – P. 1871-1876].
8. **Panchenko P. A.**, Fedorov Y. V., Fedorova O. A., Jonusauskas G. FRET *versus* PET: ratiometric chemosensors assembled from naphthalimide dyes and crown ethers // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2015. – Vol. 17. – P. 22749-22757.
9. Fedorova O. A., Sergeeva A. N., **Panchenko P. A.**, Fedorov Y. V., Erko F. G., Berthet J., Delbaere S. Isomeric naphthalimides bearing pyran units: Insight into mutual relation between structure and photochromic properties // J. Photochem. Photobiol. A. – 2015. – Vol. 303. – P. 28-35.
10. Agafontsev A. M., Shumilova T. A., **Panchenko P. A.**, Janz S., Fedorova O. A., Kataev E. A. Utilizing a pH-Sensitive Dye in the Selective Fluorescent Recognition of Sulfate // Chem. Eur. J. – 2016. – Vol. 22. – P. 15069-15074.
11. **Панченко П. А.**, Архипова А. Н., Захарко М. А., Йонушаускас Г., Федоров Ю. В., Федорова О. А. Синтез и спектральные свойства флуоресцентных красителей на основе производных 4-стирил-1,8-нафталимида // Изв. АН, Сер. Хим. – 2016. – № 10. – С. 2444-2451 [**Panchenko P. A.**, Arkhipova A. N., Zakharko M. A., Jonusauskas G., Fedorov Y. V., Fedorova O. A. Synthesis and spectral properties of fluorescent dyes based on 4-styryl-1,8-naphthalimide // Russ. Chem. Bull. – 2016. – Vol. 65. – № 10. – P. 2444-2451].
12. Arkhipova A. N., **Panchenko P. A.**, Schepel N. E., Fedorov Y. V., Rumyantseva M. N., Marikutsa A. V., Gaskov A. M., Fedorova O. A. Synthesis, Optical Characteristics and Complex Formation of Molecular Receptors Based on 1,8-Naphthalimide Derivatives in Solution and in Composition of Hybrid Tin Dioxide Nanoparticles // Macroheterocycles. – 2017. – Vol. 10. – P. 84-93.
13. Oshchepkov A. S., Oshchepkov M. S., Arkhipova A. N., **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A. Synthesis of 4-Nitro-*N*-phenyl-1,8-naphthalimide Annulated to Thia- and Azacrown Ether Moieties // Synthesis. – 2017. – Vol. 49. – P. 2231-2240.
14. **Panchenko P. A.**, Arkhipova A. N., Fedorova O. A., Fedorov Y. V., Zakharko M. A., Arkhipov D. E., Jonusauskas G. Controlling photophysics of styrylnaphthalimides through TICT, fluorescence and *E,Z*-photoisomerization interplay // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2017. – Vol. 19. – P. 1244-1256.
15. Arkhipova A. N., **Panchenko P. A.**, Fedorov Y. V., Fedorova O. A. Relationship between the photochromic and fluorescent properties of 4-styryl derivatives of *N*-butyl-1,8-naphthalimide // Mendeleev Commun. – 2017. – Vol. 27. – P. 53-55.
16. **Panchenko P. A.**, Grin M. A., Fedorova O. A., Zakharko M. A., Pritmov D. A., Mironov A. F., Arkhipova A. N., Fedorov Y. V., Jonusauskas G., Yakubovskaya R. I., Morozova N. B.,

- Ignatova A. A., Feofanov A. V. A novel bacteriochlorin–styrylnaphthalimide conjugate for simultaneous photodynamic therapy and fluorescence imaging // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2017. – Vol. 19. – P. 30195-30206.
17. **Panchenko P. A.**, Fedorov Y. V., Fedorova O. A. Selective fluorometric sensing of  $Hg^{2+}$  in aqueous solution by the inhibition of PET from dithia-15-crown-5 ether receptor conjugated to 4-amino-1,8-naphthalimide fluorophore // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2018. – Vol. 364. – P. 124-129.
  18. Азакраунсодержащие *N*-арил-1,8-нафталимиды и способ их получения // Патент РФ 2656106 (С1). 31.05.2018 / Федорова О. А., Федоров Ю. В., Лозинский В. И., **Панченко П. А.**, Архипова А. Н., Ощепков М. С., Ощепков А. С., Ощепкова М. С.
  19. Шепелева И. И., Шокуров А. В., Коновалова Н. В., Арсланов В. В., **Панченко П. А.**, Селектор С. Л. Безызлучательный перенос энергии в смешанных монослоях Ленгмюра и пленках Ленгмюра–Блоджетт соединений различного химического состава и строения // *Изв. АН, Сер. Хим.* – 2018. – № 12. – С. 2159-2163 [Shepeleva I. I., Shokurov A. V., Konovalova N. V., Arslanov V. V., **Panchenko P. A.**, Selector S. L. Nonradiative energy transfer in mixed Langmuir monolayers and Langmuir-Blodgett films of compounds of different chemical composition and structure // *Russ. Chem. Bull.* – 2018. – Vol. 67. – № 12. – P. 2159-2163].
  20. Шепелева И. И., Шокуров А. В., Богданова Л. Б., Арсланов В. В., **Панченко П. А.**, Федорова О. А., Селектор С. Л. Комплексообразование краун-замещенного производного нафталимида с тяжелыми металлами в монослоях Ленгмюра // *Изв. АН, Сер. Хим.* – 2018. – № 12. – С. 2259-2261 [Shepeleva I. I., Shokurov A. V., Bogdanova L. B., Arslanov V. V., **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Selector S. L. Complexation of a crown-substituted naphthalimide derivative with heavy metals in Langmuir monolayers // *Russ. Chem. Bull.* – 2018. – Vol. 67. – № 12. – P. 2259-2261].
  21. Francés-Soriano L., Zakharko M. A., González-Béjar M., **Panchenko P. A.**, Herranz-Pérez V., Pritmov D. A., Grin M. A., Mironov A. F., García-Verdugo J. M., Fedorova O. A., Pérez-Prieto J. Nanohybrid for Photodynamic Therapy and Fluorescence Imaging Tracking without Therapy // *Chem. Mater.* – 2018. – Vol. 30. – P. 3677-3682.
  22. **Панченко П. А.**, Лейчу Н. В., Федоров Ю. В., Федорова О. А. Краунсодержащие производные 4-метокси-1,8-нафталимида в качестве основы для разработки флуоресцентных ПЕТ-хемосенсоров на катионы металлов // *Макрогетероциклы.* – 2019. – Т. 12. – С. 319-323.
  23. Shokurov A. V., Alexandrova A. V., Shepeleva I. I., Kudinova D. S., **Panchenko P. A.**, Arslanov V. V., Selector S. L. Ultrathin film sensory system based on resonance energy transfer between non-covalently linked fluorophores // *Mendeleev Commun.* – 2019. – Vol. – 29. – P. 74-76.
  24. **Panchenko P. A.**, Polyakova A. S., Fedorov Y. V., Fedorova O. A. Chemoselective detection of  $Ag^+$  in purely aqueous solution using fluorescence «turn-on» probe based on crown-containing 4-methoxy-1,8-naphthalimide // *Mendeleev Commun.* – 2019. – Vol. 29. – P. 155-157.
  25. Krasnovskaya O. O., Malinnikov V. M., Dashkova N. S., Gerasimov V. M., Grishina I. V., Kireev I. I., Lavrushkina S. V., **Panchenko P. A.**, Zakharko M. A., Ignatov P. A., Fedorova O. A., Jonusauskas G., Skvortsov D. A., Kovalev S. S., Beloglazkina E. K., Zyk N. V., Majouga A. G.

Thiourea Modified Doxorubicin: A Perspective pH-Sensitive Prodrug // *Bioconjugate Chem.* – 2019. – Vol. 30. – P. 741-750.

26. **Panchenko P. A.**, Ignatov P. A., Zakharko M. A., Fedorov Y. V., Fedorova O. A. A fluorescent PET chemosensor for Zn<sup>2+</sup> cations based on 4-methoxy-1,8-naphthalimide derivative containing salicylideneamino receptor group // *Mendeleev Commun.* – 2020. – Vol. 30. – P. 55-58.
27. Zakharko M. A., **Panchenko P. A.**, Ignatov P. A., Fedorov Y. V., Fedorova O. A. New conjugate of bis(*o*-aminophenoxy)ethane-*N,N,N',N'*-tetraacetate with naphthalimide as a fluorescent sensor for calcium cations // *Mendeleev Commun.* – 2020. – Vol. 30. – P. 332-335.
28. Захарко М. А., **Панченко П. А.**, Зарезин Д. П., Ненайденко В. Г., Притьмов Д. А., Грин М. А., Миронов А. Ф., Федорова О. А. Конъюгаты 3,4-диметокси-4-стирилнафталимида и бактериохлорина для фотодинамической тераностики // *Изв. АН, Сер. Хим.* – 2020. – № 6. – С. 1169-1178 [Zakharko M. A., **Panchenko P. A.**, Zarezin D. P., Nenajdenko V. G., Pritmov D. A., Grin M. A., Mironov A. F., Fedorova O. A. Conjugates of 3,4-dimethoxy-4-styrylnaphthalimide and bacteriochlorin for theranostics in photodynamic therapy // *Russ. Chem. Bull.* – 2020. – Vol. 69. – № 6. – P. 1169-1178].
29. **Panchenko P. A.**, Zakharko M. A., Grin M. A., Mironov A. F., Protmov D. A., Jonusauskas G., Fedorov Y. V., Fedorova O. A. Effect of linker length on the spectroscopic properties of bacteriochlorin – 1,8-naphthalimide conjugates for fluorescence-guided photodynamic therapy // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2020. – Vol. 390. – Art. 112338.
30. **Panchenko P. A.**, Fedorov Y. V., Polyakova A. S., Fedorova O. A. Fluorimetric detection of Ag<sup>+</sup> cations in aqueous solutions using a polyvinyl chloride sensor film doped with crown-containing 1,8-naphthalimide // *Mendeleev Commun.* – 2021. – Vol. 31. – P. 517-519.
31. **Панченко П. А.**, Полякова А. С., Федоров Ю. В., Федорова О. А. Флуоресцентный хемосенсор на катионы ртути (II) в водном растворе на основе производного 4-ацетиламино-1,8-нафталимида, содержащего *N*-фенилазадитиа-15-краун-5-эфирный рецептор // *Изв. АН, Сер. Хим.* – 2021. – № 10. – С. 1939-1945 [**Panchenko P. A.**, Polyakova A. S., Fedorov Y. V., Fedorova O. A. Fluorescent chemosensor for mercury(II) cations in an aqueous solution based on 4-acetylamino-1,8-naphthalimide derivative containing the *N*-phenylazadithia-15-crown-5-ether receptor // *Russ. Chem. Bull.* – 2021. – Vol. 70. – № 10. – P. 1939-1945].
32. Fedorova O. A., Arkhipova A. N., **Panchenko P. A.**, Berthet J., Delbaere S., Minkovska S., Fedorov Y. V. Fluorescent photochromic complex of 1,8-naphthalimide derivative and benzopyrane containing benzo-18-crown-6 ether // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2021. – Vol. 405. – Art. № 112975.
33. Morozova N. B., Pavlova M. A., Plyutinskaya A. D., Pankratov A. A., Efendiev K. T., Semkina A. S., Pritmov D. A., Mirinov A. F., **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A. Photodiagnosis and photodynamic effects of bacteriochlorin-naphthalimide conjugates on tumor cells and mouse model // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2021. – Vol. 223. – Art. № 112294.

#### **Избранные тезисы докладов на конференциях**

1. Sergeeva A. N., **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Fedorov Y. V. Alkoxy-naphthalimide Derivatives as the Active Components of Optical Molecular Devices // *The 3-rd International Symposium «Molecular Photonics» (June 24 – 29, 2012, Repino, Saint-Peterburg, Russia): Proc.* – P. 78.

2. **Panchenko P.**, Fedorova O., Fedorov Y. Fluorescent Polymer Sensor Material Based on Thiocrown Ether 1,8-Naphthalimide Derivatives // International Conference of Young Researchers on Advanced Materials «ICYRAM 2012» (July 1 – 6, 2012, Singapore, Singapore): Proc. – Abstract ID ICYRAM 12-A-0273.
3. **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Fedorov Y. V. Naphthalimide based FRET chemosensors for metal ions and protons // XXIV IUPAC Symposium On Photochemistry (July 15 – 20, 2012, Coimbra, Portugal): Proc. – P. 77.
4. **Panchenko P. A.**, Sergeeva A. N., Fedorov Y. V., Fedorova O. A., Delbaere S., Berthet J. Photochromism of Naphthopyrans Bearing Naphthalimide Chromophore // 7<sup>th</sup> International Symposium On Photochromism «ISOP 2013» (September 23 – 26, 2013, Berlin, Germany): Proc. – P. 79.
5. **Panchenko P. A.**, Sergeeva A. N., Fedorova O. A., Fedorov Y. V., Reshetnikov R. I., Schelkunova A. E., Grin M. A., Mironov A. F., Jonusauskas G. Spectroscopical study of bacteriopurpurinimide–naphthalimide conjugates for fluorescent diagnostics and photodynamic therapy // XXV IUPAC Symposium on Photochemistry (July 13 – 18, 2014, Bordeaux, France): Proc. – P. P30.
6. **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Fedorov Y. V., Jonusauskas G. Cation-induced switching of FRET in crown containing naphthalimide dyads // Chemistry of Organoelement Compounds and Polymers (September 8 – 10, 2014, Moscow, Russia): Proc. – P. 37.
7. Пак В. В., **Панченко П. А.**, Федорова О. А. Исследование комплексообразования краун-содержащего 4-аминонафталимида с катионами щелочноземельных металлов // XXVI Международная Чугаевская конференция по координационной химии (6 – 10 октября 2014, Казань, Россия): Тез. докл. – С. 203.
8. Захарко М. А., Сергеева А. С., **Панченко П. А.**, Федорова О. А. Синтез 4-стирил-замещенных 1,8-нафталимида для применения в качестве флуоресцентных навигаторов в фотодинамической терапии онкологических заболеваний // X Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2014» (21 – 24 октября 2014, Москва, Россия): Успехи в химии и химической технологии: сб. науч. тр. – 2014. – Т. XXVIII. – № 10 (159). – С. 49-51.
9. Захарко М. А., **Панченко П. А.**, Федорова О. А. Синтез и оптические свойства бисхромофорных систем на основе производных нафталимида и бактериохлорина для комбинированной флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии рака // Международный Конгресс «KOST-2015» (18 – 23 октября 2015, Москва, Россия): Тез. докл. – С. 233.
10. **Панченко П. А.**, Федорова О. А., Захарко М. А., Архипова А. Н., Федоров Ю. В., Грин М. А., Притьмов Д. А., Миронов А. Ф. Разработка флуоресцентных навигаторов для комбинированных фармацевтических препаратов, эффективно поражающих раковые клетки // V Всероссийская конференция «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» (15 – 16 сентября 2016, Москва, Россия): Тез. докл. – С. 5-6.
11. **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Fedorov Y. V., Jonusauskas G. FRET versus PET: ratiometric chemosensors assembled from naphthalimide dyes and crown ethers // 2<sup>nd</sup> International Caparica Conference on Chromogenic and Emissive Materials «IC<sup>3</sup>EM» (September 5 – 8, 2016, Caparica, Portugal): Proc. – P. 113.

12. Arkhipova A. N., **Panchenko P. A.**, Zakharko M. A., Fedorov Y. V., Fedorova O. A., Jonusauskas G. Fluorescent dyes based on the 4-styryl-1,8-naphthalimide: synthesis and spectral properties // Dombay organic conference cluster «DOCC-2016» (May 29 – June 4, Dombay, Russia): Proc. – P. 145.
13. **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Fedorov Y. V., Jonusauskas G., Arkhipova A. N., Agafontsev A. M., Kataev E. A. Naphthalimide-Containing OFF-ON Fluorescent Sensors for Ions with PET Mechanism of Optical Response // 28<sup>th</sup> International conference on Photochemistry «ICP 2017» (July 16 – 21, 2017, Strasbourg, France): Proc. – Abstract ID MIM-OR-29.
14. **Panchenko P. A.**, Grin M. A., Fedorova O. A., Zakharko M. A., Jonusauskas G., Feofanov A. V. Bacteriochlorin–Naphthalimide Conjugates for Simultaneous Photodynamic Therapy and Fluorescence Imaging // XVIII<sup>th</sup> International Symposium on Luminescence Spectrometry «ISLS 2018» (June 19 – 22, 2018, Brest, France): Proc. – P. 38.
15. Федорова О. А., Грин М. А., Притьмов Д. А., Миронов А. Ф., **Панченко П. А.**, Захарко М. А., Francés-Soriano L., Gonzáles-Béjar M., Pérez-Prieto J. Наногибридный фотосенсибилизатор для онкологической тераностики // VII Всероссийский конгресс «Фотодинамическая терапия и фотодиганостика» (27 – 28 сентября 2018, Москва, Россия): Тез. докл. – С. 24.
16. Захарко М. А., **Панченко П. А.**, Федорова О. А. Флуоресцентные сенсоры на катионы металлов на основе производных нафталимида, содержащих салицилидениминовый рецепторный фрагмент // VII Международная конференция по физической химии порфиринов, фталоцианинов и краун-соединений (10 – 14 сентября 2018, Туапсе, Россия): Тез. докл. – С. 42.
17. **Panchenko P. A.**, Polyakova A. S., Fedorov Y. V., Fedorova O. A. Chemoselective detection of Ag<sup>+</sup> in purely aqueous solution using fluorescence «turn-on» probe based on crown-containing-4-methoxy-1,8-naphthalimide // The 29<sup>th</sup> International conference on photochemistry «ICP 2019» (July 21 – 26, 2019, Boulder, USA): Proc. – Abstract ID DEVInsp\_P8.
18. Zakharko M. A., **Panchenko P. A.**, Fedorova O. A., Pritmov D. A., Grin M. A., Mironov A. F. Developing of theranostic agents for photodynamic therapy based on bacteriochlorin and naphthalimide derivatives // XXI Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry (September 9 – 13, 2019, Saint Petersburg, Russia): Proc. – Vol 6. – P. 255.