

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

---

На правах рукописи



РУЛЕВА АННА ЮРЬЕВНА

**БИССТИРИЛОВЫЕ КРАСИТЕЛИ КАК КОМПОНЕНТЫ  
ФОТОАКТИВНЫХ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ**

02.00.03 – органическая химия

02.00.04 – физическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Научные руководители:

д.х.н. проф. Федорова Ольга Анатольевна

д.х.н. Федоров Юрий Викторович

Москва – 2019

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>1. ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>2. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР</b> .....	10
2.1. Синтез краун-содержащих стироловых производных.....	10
2.1.1. Нейтральные краун-содержащие стироловые красители .....	11
2.1.2. Положительно заряженные краун-содержащие стироловые красители .....	17
2.2. Фотоиндуцированный перенос энергии.....	26
2.2.1. Фотоиндуцированный перенос энергии в стироловых производных .....	27
2.2.2. Фотоиндуцированный перенос энергии в супрамолекулярных ансамблях .....	36
2.3. Основные типы связывания лигандов с ДНК.....	45
2.4. Взаимодействие стироловых производных с ДНК .....	47
<b>3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ</b> .....	56
3.1. Синтез моно- и бисстироловых производных .....	58
3.1.1. Синтез моностироловых производных .....	58
3.1.2. Синтез бисстироловых красителей, содержащих фрагмент дibenzo-18-краун-6 эфира .....	60
3.1.2. Синтез бисстироловых красителей, содержащих фрагмент дифенил-диаза-18-краун-6 эфира .....	65
3.2. Фотоиндуцированный перенос энергии в супрамолекулярных ансамблях бисстироловых красителей с моностироловыми производными, содержащими аммонийный заместитель .....	70
3.3. Супрамолекулярные ансамбли несимметричного бисстиролового производного с молекулами-контейнерами.....	87
3.3.1. Изучение комплексообразования бисстиролового красителя 12 с 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрином.....	89
3.3.2. Изучение комплексообразования бисстиролового красителя 12 с кукурбит[7]урилом .....	92
3.3.3. Изучение тройного комплекса HP- $\beta$ -CD-12-CB[7].....	97
3.4. Связывание моно- и бисстироловых краун-содержащих красителей с ДНК лосося.....	101
3.5. Управление взаимодействием краситель-ДНК посредством капсулирования в полость молекулы-контейнера .....	113

3.5.1. Изучение комплексообразования бисстирилового красителя 16 с ДНК тимуса теленка.....	114
3.5.2. Изучение комплексообразования бисстирилового красителя 16 с кукурбит[7]урилом.....	117
3.5.3. Изучение тройного комплекса бисстирилового красителя 16 с кукурбит[7]урилом и ДНК тимуса теленка .....	119
<b>4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....</b>	<b>124</b>
4.1. Синтетическая часть.....	126
4.2. Спектрофотометрическое определение констант устойчивости комплексов .....	140
4.3. Исследование взаимодействия лигандов с ДНК .....	141
4.3.1. Исследования взаимодействий ДНК-лиганд методами оптической спектроскопии .....	141
4.4. Изучение комплексообразования с помощью спектроскопии ЯМР .....	142
<b>5. ВЫВОДЫ .....</b>	<b>149</b>
<b>6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>150</b>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

BODIPY – boron-dipyrromethene, 4,4-дифтор-4-бора-3*a*,4*a*-диаза-*s*-индацен

CB[n] – кукурбит[n]урил

CD – циклодекстрин

COSY – correlation spectroscopy, гомоядерная корреляционная спектроскопия

DFT – density functional theory, теория функционала плотности

HRMS – high-resolution mass spectroscopy, масс-спектрометрия высокого разрешения

FRET – Förster resonance energy transfer, резонансный перенос энергии по Фёрстеру

NOESY – nuclear Overhauser effect spectroscopy, ядерная спектроскопия с эффектом Оверхаузера

PET – photoinduced electron transfer, фотоиндуцированный перенос энергии

TICT – twisted intramolecular charge transfer, «скрученный» внутримолекулярный перенос заряда

ВЗМО – высшая занятая молекулярная орбиталь

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамид

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИКД – индуцированный круговой дихроизм

КД – круговой дихроизм

НСМО – низшая свободная молекулярная орбиталь

ТГФ – тетрагидрофуран

ТСХ – тонкослойная хроматография

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

## 1. ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Супрамолекулярная химия – область науки, изучающая полимолекулярные ассоциаты, связанные в единое целое посредством межмолекулярных (нековалентных) взаимодействий. Исследования в этой области позволяют создавать новые функциональные материалы, сенсорные устройства, флуоресцентные маркеры для визуализации биологических макромолекул и т.д. В настоящее время одними из наиболее интенсивно развивающихся направлений супрамолекулярной химии являются: разработка новых лигандов для направленного связывания с нуклеиновыми кислотами, изучение особенностей молекулярного инкапсулирования, а также создание фотоактивных ансамблей, реализующих различные фотофизические процессы.

Стириловые красители являются широко используемым классом соединений. Интерес исследователей обусловлен относительной легкостью их получения, а также набором уникальных физико-химических и оптических свойств. В данном диссертационном исследовании в качестве основного компонента супрамолекулярных ансамблей были использованы соединения, состоящие из двух стириловых хромофоров, объединенных между собой различными краун-эфирными группами. Бисстириловые красители были использованы для получения ряда супрамолекулярных структур: ансамбля стириловых красителей, осуществляющих фотоиндуцированный перенос энергии, супрамолекулярных комплексов красителей с ДНК, комплексов «гость-хозяин» с молекулами-контейнерами, а также создание тройной системы на основе ДНК, красителя и кукурбитурила. Рассмотрим каждое направление подробнее.

Фотоиндуцированный перенос энергии является неотъемлемой частью многих фотохимических процессов в живой природе. Создание супрамолекулярных ансамблей, осуществляющих перенос энергии, позволяет создавать искусственные системы, функционирующие по аналогии с биологическими. Это явление широко используется в биохимии для распознавания структуры и конформаций биомacroмолекул (пептиды, ДНК), для визуализации биологических объектов в микроскопии, в фотовольтаике, а также для создания новых функциональных материалов и сенсорных устройств. В настоящее время примеры таких ансамблей, построенных только из органических компонент, достаточно редки, а данная область малоисследована.

Одним из наиболее актуальных направлений медицинской химии является разработка новых соединений для визуализации клеток, что позволит на ранних этапах диагностировать различные онкологические заболевания. В литературе существуют примеры использования стироловых красителей в качестве таких флуоресцентных маркеров [1-2]. Несмотря на достигнутые результаты в этой области, на данный момент не существует красителей, удовлетворяющих всем необходимым требованиям: хорошей биосовместимостью, высокой устойчивостью к биохимическому разложению и фотообесцвечиванию, длительной визуализации клеток, способностью генерировать высокий оптический сигнал и т.д. Поэтому дальнейшая разработка флуоресцентных маркеров или усовершенствование свойств уже существующих является важной фундаментальной задачей.

В то же время, перспективным направлением современной фармакологии является использование молекул-контейнеров для направленной доставки лекарственных средств. Преимуществами данного подхода являются увеличение растворимости медицинского препарата, обеспечение пролонгированного действия активной компоненты, а также защита активного лекарственного соединения от внешних воздействий. Выбор молекулы красителя в качестве компонента такой системы обусловлен возможностью мониторинга наблюдаемых процессов с помощью оптической спектроскопии. Важным аспектом доставки является высвобождение активной терапевтической компоненты под действием биомолекулы. Результаты такого исследования могут быть использованы при создании эффективных лекарственных средств.

### **Цель работы.**

Целью данной работы является синтез краун-содержащих бисхромофорных стироловых производных, а также изучение супрамолекулярных ансамблей данных соединений. Благодаря наличию двух стироловых фрагментов, а также краун-эфирной группы данные соединения являются подходящей структурой для создания целого ряда супрамолекулярных комплексов. Так, наличие краун-эфирной группы позволит получать ансамбли с катионами металлов и органическими соединениями. В то время как стироловые хромофоры способны к связыванию с различными молекулами-контейнерами и ДНК.

Таким образом для выполнения поставленной цели по направлению органического синтеза предполагалось провести разработку и оптимизацию методов получения новых моно- и бисстириловых красителей, функционализированных краун-эфирным фрагментом или алкиламмонийным остатком.

По направлению физико-химических исследований планировалось:

- изучить процесс комплексообразования моно- и бисстириловых красителей и исследовать фотоиндуцированный перенос энергии в данных супрамолекулярных ансамблях;
- исследовать образование смешанных комплексов несимметричного бисстирилового красителя с молекулами-контейнерами – циклодекстрином и кукурбитурилом;
- провести анализ взаимодействия положительно заряженных моно- и бисстириловых краун-содержащих красителей с ДНК;
- подобрать условия образования трехкомпонентной системы кукурбит[7]урил – краситель – ДНК.

#### **Научная новизна.**

Предложены условия синтеза ранее неописанных моно- и бисстириловых красителей, содержащих краун-эфирный фрагмент или алкиламмонийную цепочку.

Показана возможность осуществления фотоиндуцированного переноса энергии, в том числе каскадного, в супрамолекулярных ансамблях моно- и бисстириловых красителей. Продемонстрировано, что замена моностириловой компоненты, связывающейся с краун-эфирной частью, может привести к значительному улучшению характеристик переноса энергии в супрамолекулярном комплексе.

Предложено образование смешанного трехкомпонентного комплекса, включающего несимметричный бисстириловый краун-содержащий краситель, кукурбит[7]урил и  $\beta$ -циклодекстрин.

Впервые продемонстрировано, что кукурбит[7]урил способен вызывать разрушение агрегатов бисстирилового красителя в малой бороздке ДНК с образованием тройного комплекса кукурбит[7]урил – лиганд – ДНК.

### **Практическая ценность.**

Синтезированные бисстириловые красители при связывании с ДНК демонстрируют значительное разгорание флуоресценции, что свидетельствует о перспективности предложенных структур в качестве флуоресцентных маркеров для детектирования ДНК.

Определение состава и структуры комплексов циклодекстринов и кукурбитурилов с бисстириловыми краун-содержащими красителями является важным для использования молекул-контейнеров в инкапсулировании биологически активных соединений с целью улучшения их растворимости, обеспечения пролонгированного действия и целенаправленного биораспределения в организме.

Изучение тройного комплекса кукурбит[7]урил – краситель – ДНК представляет интерес при разработке средств направленной доставки и выведения лекарственных препаратов.

**Личный вклад автора.** Автор диссертации участвовал в анализе литературных данных, обсуждении задач, решаемых в диссертационной работе, подготовке и проведении экспериментов, разработке методик синтеза новых соединений, интерпретации полученных результатов и их обобщении, формулировке основных научных выводов, а также в написании научных публикаций и представлении докладов по теме диссертации на конференциях различного уровня.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 13-03-00806, 14-03-32038, 15-03-04695, 15-03-04705, 16-03-00423, 16-33-00748, 18-33-00971, РФФИ № 16-13-10226.

Автор выражает особую благодарность к.х.н. Черниковой Е.Ю., к.х.н. Бердниковой Д.В., к.х.н. Шепелю Н.Э., д.х.н. Бабиевскому К.К, студенту РХТУ Д.И. Менделеева Леонтьеву Т.Н. и к.х.н. Алиеву Т.М. за участие в постановке экспериментов и обсуждении полученных результатов на разных этапах работы; к.х.н. Цветкову В.Б. за проведение молекулярного моделирования; к.х.н. Годовикову И.А., д.х.н. Перегудову А.С. и к.х.н. Павлову А.А. за помощь в проведении ЯМР-исследований.

**Апробация работы.** По материалам диссертации опубликовано 7 статей, 3 в журналах, рекомендованных ВАК, 4 в журнале РИНЦ. Основные результаты работы были представлены на следующих конференциях: Открытый конкурс-конференция научно-исследовательских работ по химии элементоорганических соединений и полимеров (Москва, Россия, 2018); 8th International IUPAC Symposium «Macro- and Supramolecular Architectures and Materials» (МAM-17) (Сочи, Россия, 2017); VIIIth International Symposium «Design and Synthesis of Supramolecular Architectures» IInd Youth School on Supramolecular and Coordination Chemistry (Казань, Россия, 2016); Зимняя конференция молодых ученых по органической химии (WSOC-2016) (Красновидово, Россия, 2016); Международный Конгресс «KOST-2015» (Москва, Россия, 2015); VI и VII Международная конференция по физической химии краун-соединений, порфиринов и фталоцианинов (Туапсе, Россия, 2016, 2018); IV и V Международная конференция «Супрамолекулярные системы на поверхности раздела» (Туапсе, Россия, 2015, 2017); XXI Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, Россия, 2014); X Региональная студенческая научная конференция с международным участием «Фундаментальные науки – специалисту нового века» (Иваново, Россия, 2014); IX, XI, XII, XIII Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии (Москва, Россия, 2013, 2015, 2016, 2017).

**Структура работы.** Диссертационная работа общим объемом 167 страниц состоит из введения, обзора литературы, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, выводов и содержит 50 схем, 8 таблиц и 101 рисунок. Список литературы включает 188 наименований.

## 2. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Стириловые красители являются важным и широко используемым классом функциональных красителей [3-4]. Благодаря их оптическим свойствам, более высокой фотостабильности по сравнению с классическими цианиновыми красителями и относительной легкости получения данные соединения нашли применение в различных областях науки и технологий. Стириловые красители используются в качестве оптических сенсibilizаторов, хемосенсоров, органических светодиодов и красителей для лазеров [5]. Кроме того, такие производные нашли применение в качестве флуоресцентных маркеров для визуализации биологических молекул.

Введение рецепторного краун-эфирного фрагмента в состав стирилового производного приводит к получению соединений, способных к изменению оптических характеристик при связывании молекул краун-эфирным макроциклом. С другой стороны, координация молекул-гостей может быть использована для построения сложных супрамолекулярных комплексов с участием стирилового производных. В настоящем обзоре представлены основные методы получения краун-содержащих стирилового производных, поскольку бисстириловые красители, включающие краун-эфирный фрагмент, являются одними из основных объектов исследования данной диссертационной работы. Кроме того, в литературном обзоре представлены примеры супрамолекулярных комплексов с переносом энергии и комплексы бисстириловых красителей с ДНК. Указанные типы комплексов также являются предметом рассмотрения данной диссертационной работы.

### 2.1. Синтез краун-содержащих стирилового производных

Структурной единицей стирилового красителей является арилвиниловый фрагмент, который принимает участие в образовании сопряженной хромофорной системы (Схема 1).

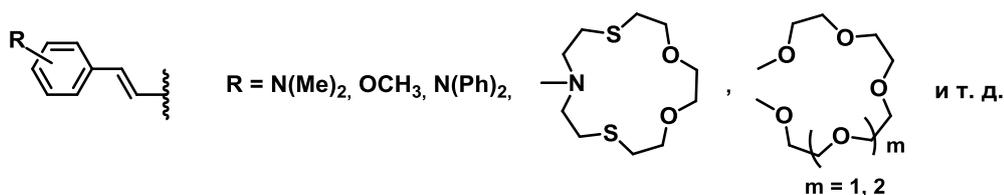


Схема 1

Введение различных краун-эфирных фрагментов в состав хромофорной системы стироловых красителей позволяет создавать на их основе различные молекулярные сенсоры, в которых при связывании катионов металла или органических молекул наблюдается оптический отклик лиганда. В настоящей главе внимание уделено основным подходам к синтезу соединений, сочетающих в своем составе стироловый и краун-содержащие фрагменты. В литературе представлено большое количество публикаций по комплексообразующим, физическим и фотохромным свойствам таких соединений [6-10], однако, в настоящем обзоре данные вопросы не обсуждаются.

### 2.1.1. Нейтральные краун-содержащие стироловые красители

Стириловые производные, содержащие фрагмент аза-15-краун-5 эфира были получены одними из первых среди красителей данного типа [11-16]. Для этого проводили реакцию конденсации формильного производного фенилазакраун-эфира с гетероциклом, содержащим метильную группу, в присутствии основания или уксусного ангидрида (Схема 2).

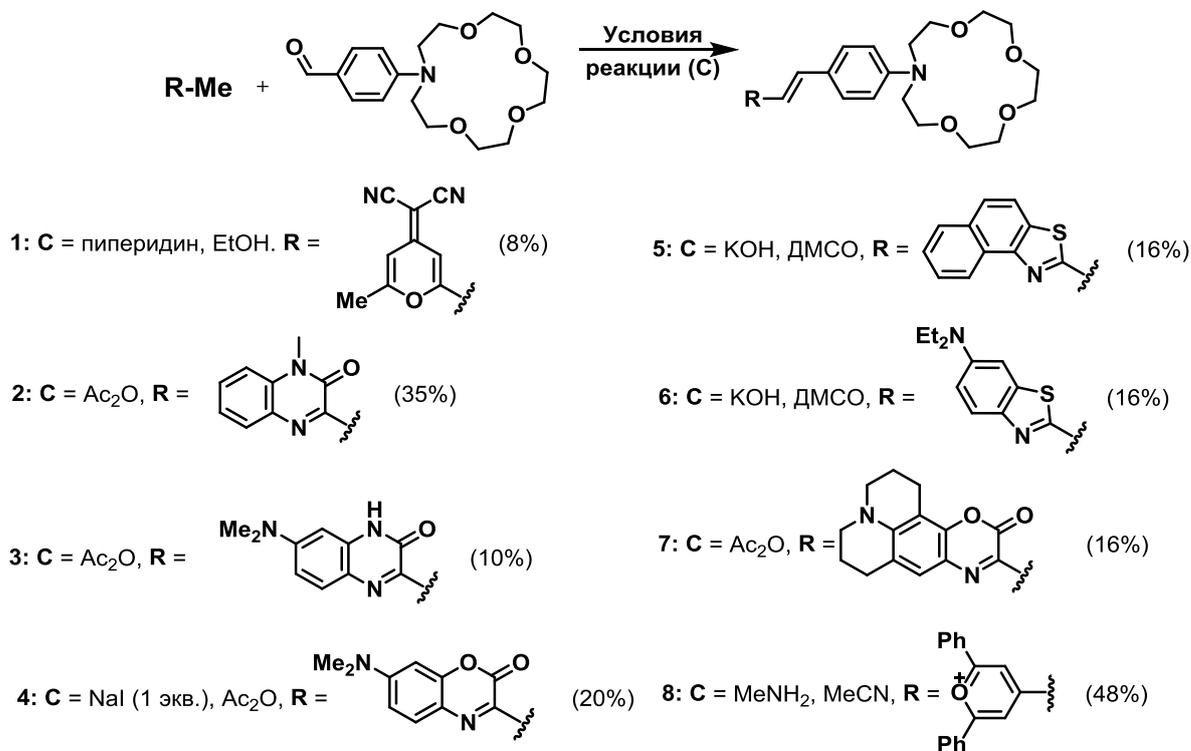
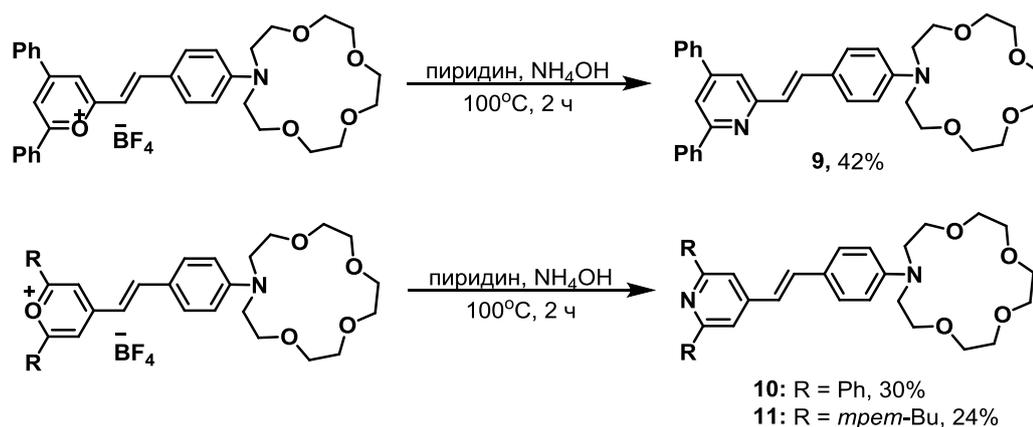


Схема 2

В случае соединения **1** также в качестве побочного продукта образуется бисстириловый краситель. Целевой продукт был выделен с помощью

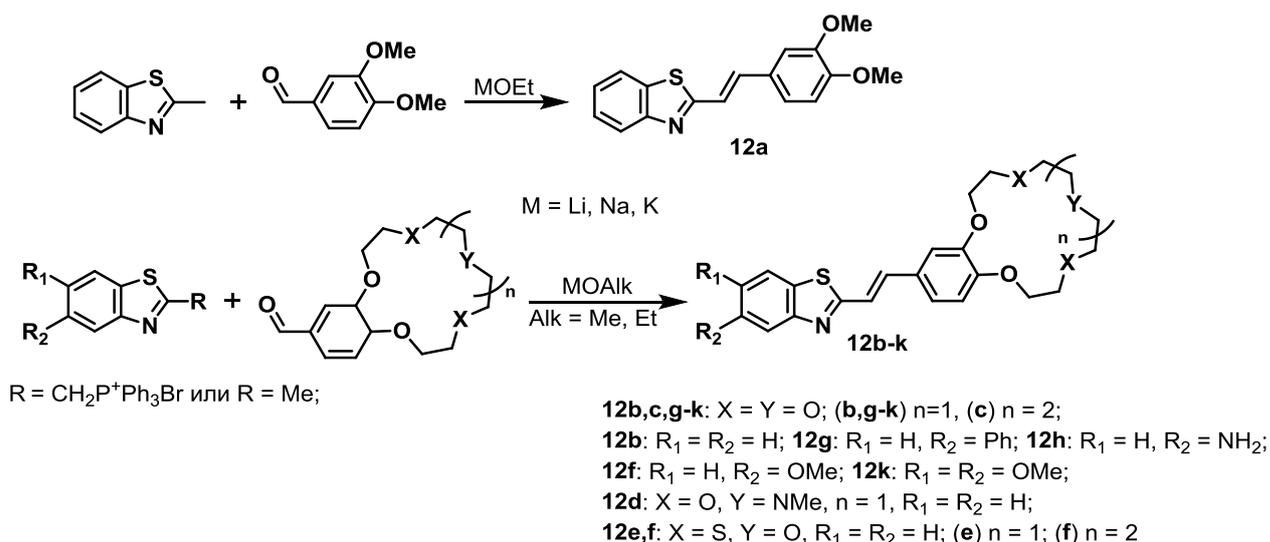
препаративной ТСХ. Для получения стирильных производных **2-4** и **7** реакцию проводили в уксусном ангидриде. Следует отметить, что электронодонорные свойства азкараун эфирной группы дезактивируют бензальдегид. Поэтому в случае соединения **4** выход был существенно увеличен при добавлении стехиометрического количества NaI. По-видимому, связывание катиона натрия макроциклом приводит к уменьшению донорных свойств краун-эфирного фрагмента, что в свою очередь повышает реакционную способность бензальдегида. Для получения бензотиазолиевых производных **5** и **6** реакцию проводили в ДМСО, в качестве основания использовали гидроксид калия. С использованием данной реакции в работе [15] было получено пирилеиевое производное **8** с хорошим выходом, в качестве основания был выбран раствор метиламина. Пирилеиевые соли также могут быть использованы для синтеза стирильных красителей **9-11**, содержащих фрагмент пиридиния (Схема 3).



**Схема 3**

Стоит отметить, что на выход конечного продукта влияют положение атома кислорода в исходной соли (соединения **9** и **10**), а также тип заместителя в пирилеиевом кольце. Так, переход к *tert*-бутильному заместителю приводит к снижению выхода продукта (соединения **10** и **11**).

В 2003 году были получены 2-стирилбензотиазолы, содержащие краун-эфирные фрагменты с различными комбинациями гетероатомов O, S и N [17]. Данные соединения синтезированы путем конденсации 2-метилбензотиазола с формильными производными бензокраун-эфиров в присутствии алкоголятов различных щелочных металлов или по реакции Виттига (Схема 4).



#### Схема 4

При проведении конденсации в условиях реакции Кневенагеля были получены стироловые производные **12 a-k** с выходами от средних до хороших (Схема 4). Было обнаружено, что природа щелочного металла в алкогольате оказывает существенное влияние на выход конечного продукта (Таблица 1).

**Таблица 1** – Выходы продуктов **12a-d** после реакции конденсации в присутствии MOEt

№	Продукт (размер краун-эфира)	MOEt		
		Li	Na	K
1	<b>12a</b> (без краун-эфира)	7	36	<b>54</b>
2	<b>12b</b> (15-краун-5)	2	<b>33</b>	19
3	<b>12b</b> (15-краун-5)*	-	<b>60</b>	24
4	<b>12c</b> (18-краун-6)	-	53	<b>70</b>
5	<b>12d</b> (15-краун-5)	0	<b>45</b>	27
6	<b>12d</b> (15-краун-5)*	-	<b>70</b>	-

\* В условиях реакции Виттига

Так, при отсутствии краун-эфирной группы, наилучшим образом себя показал алкогольат калия: выход продукта составил 54%. Авторы предположили, что при введении краун-эфирного фрагмента может происходить комплексообразование с катионом щелочного металла, которое влияет на взаимодействие между реагентами (Схема 5).

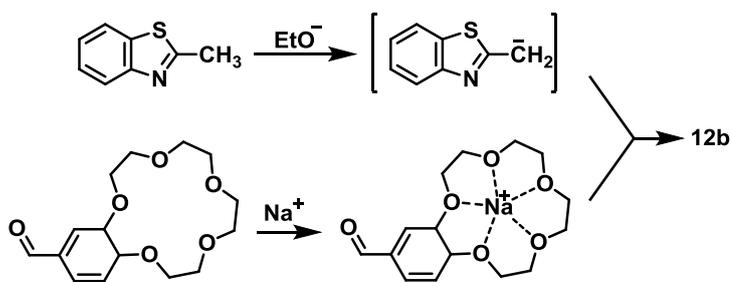


Схема 5

В таком случае выход стирилового производного определяется устойчивостью комплекса металл–краун-эфирный фрагмент. Поэтому при использовании 15-краун-5 эфира в качестве заместителя, алкоголята натрия позволял добиться лучших результатов (Таблица 1, №2, 5), а в случае увеличения размера макроцикла ион калия оказывался эффективнее (Таблица 1, №4). Кроме того, соединения **12b** и **12d** были получены в условиях реакции Виттига с более высокими выходами – 60% и 70% соответственно (Таблица 1, №3, 6). Радиус катиона металла не влиял на выход соединений **12e, f**, так как тиакраун-эфиры не проявляют сродства к катионам щелочных металлов.

Замена этокси-группы в алкоголяте металла на OMe повышает выход продукта, так, в случае соединения **12b** данный показатель увеличивается с 33% (NaOEt) до 53% (NaOMe).

В продолжение исследования была получена серия стироловых красителей, содержащих в своем составе бензо-15-краун-5 эфирный фрагмент и шестичленные азотсодержащие гетероароматические остатки [18]. Синтез соединений **15a-e** основан на аналогичной реакции конденсации метилзамещенных гетероциклов с краунсодержащими бензальдегидами в присутствии алкоголятов щелочных металлов в ДМСО или ДМФА (Схема 6). Мягкие условия реакции являются преимуществом данного метода по сравнению с широко используемой реакцией Виттига и конденсацией в присутствии диизопропиламида лития [19-20].

В ходе оптимизации условий синтеза было обнаружено, что выходы продуктов в реакциях, проводимых в ДМСО, ниже, чем в ДМФА. Авторы предполагают, что ДМСО способен взаимодействовать с исходным бензальдегидом в присутствии сильных оснований. В случае производных хинолина **15d-e** наибольшие выходы были достигнуты при использовании *tert*-BuOK.

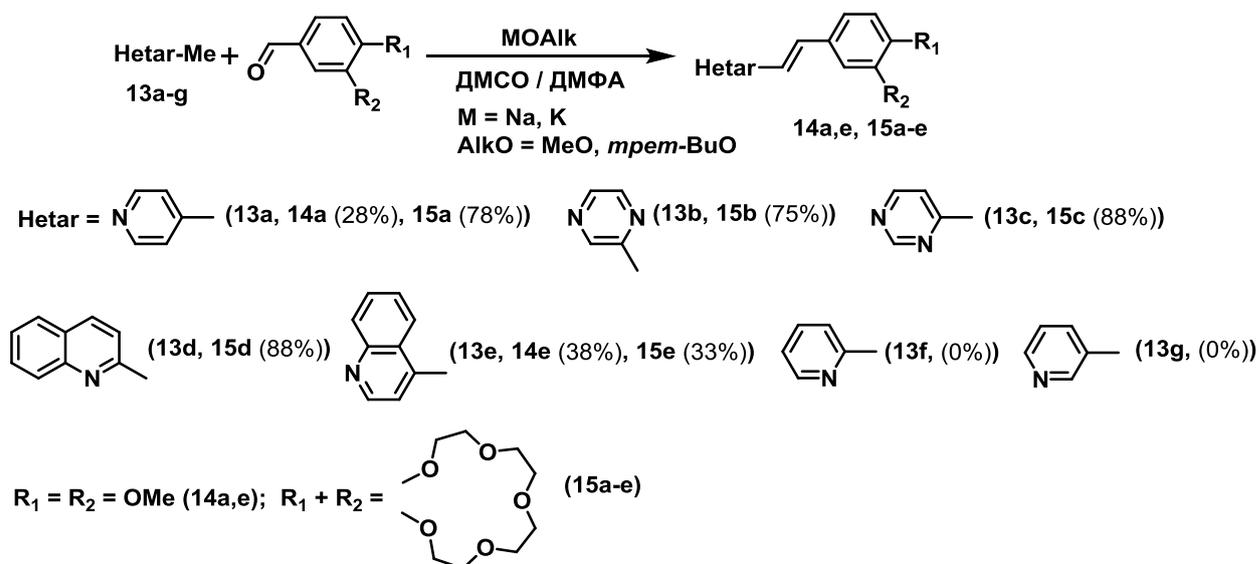


Схема 6

При получении производных **15c** и **15e** возможно протекание побочной реакции Михаэля, в результате которой образуется бисгетероциклический продукт **16e** или **16c** соответственно (Схема 7). Для того, чтобы избежать образования побочных продуктов, следует использовать ДМФА вместо ДМСО или уменьшить количество *трет*-BuOK в реакционной смеси. Также конденсацию необходимо проводить с эквимолярным количеством реагентов, поскольку избыток исходного гетероциклического производного индуцирует побочную реакцию.

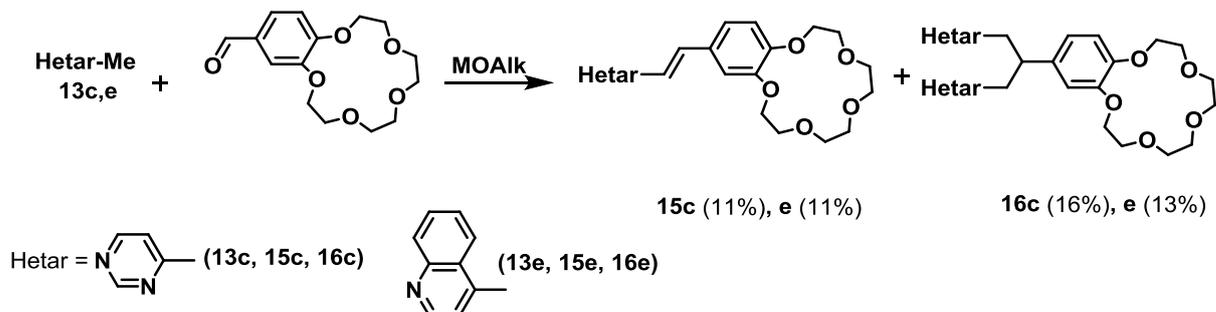


Схема 7

Авторами был сделан вывод о том, что наличие краун-эфирной группы позволяет увеличить выход конечного продукта **15a** почти в три раза по сравнению с аналогичным соединением **14a**, не содержащим данный макроцикл. Причиной, как и в описанных ранее примерах, является комплексообразование катиона щелочного металла с краун-эфиром. В результате данного связывания увеличивается концентрация алкоголят-аниона, не включенного в ионные пары, что способствует эффективной конденсации.

Двумя главными факторами, влияющими на выход продуктов, являются кислотность метильной группы гетероциклического основания и стерическая доступность метильной группы. Например, соединения **13f** и **13g**, обладающие наименьшей кислотностью, не вступают в реакцию конденсации. С другой стороны кислотность метильной группы в соединении **13e** является самой высокой, однако, выход соответствующего продукта **15e** – наименьший по сравнению с **15a-d**. Это может быть связано со стерическим фактором, а именно с наличием аннелированного бензольного кольца.

Конденсация диметилзамещенных гетероциклических оснований приводит к образованию моно- **18a, b, d-f** и бисстириловых производных **19c-f** (Схема 8). В случае образования смеси продуктов для их разделения использовали колоночную хроматографию. Изменение соотношения исходных реагентов приводит к преимущественному образованию моно- или бисстирилового производного.

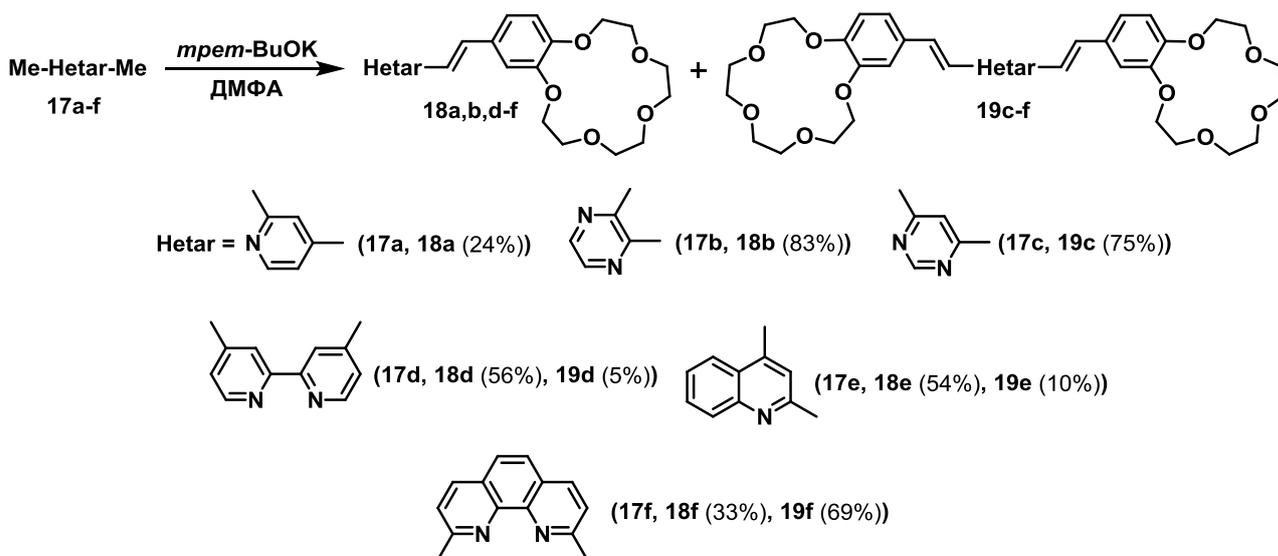
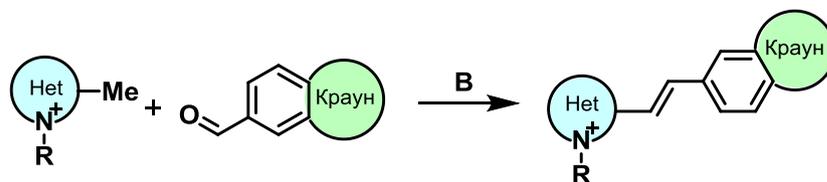


Схема 8

На выход бисстириловых красителей влияют те же факторы, что и для моностириловых производных. Если в исходном соединении метильные группы имеют разную кислотность, то становится возможным получение моностирилового красителя, например, в случае соединения **17a**. В соединении **17c**, напротив, обе метильные группы одинаково реакционноспособны, поэтому невозможно контролировать образование моно- или бис-продуктов путем изменения соотношения реагентов.

## 2.1.2. Положительно заряженные краун-содержащие стироловые красители

Заряженные стироловые красители получают при конденсации метильных производных солей гетероциклических оснований с формильными производными различных краун-эфиров в присутствии оснований или уксусного ангидрида (Схема 9) [21-25].



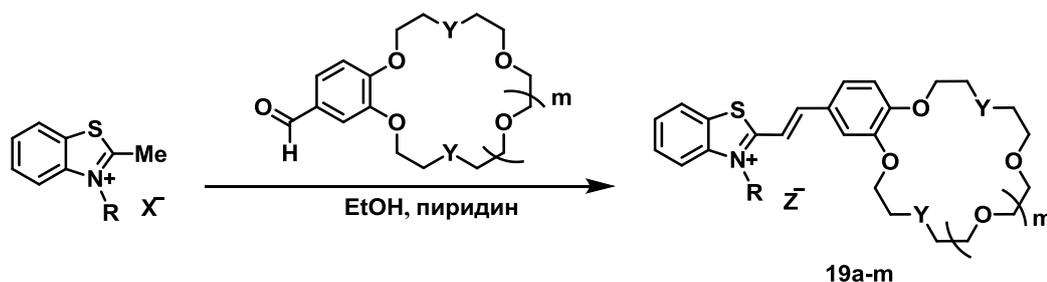
**B = пиридин, пиперидин, Ac<sub>2</sub>O**

Схема 9

На основе бензотиазола был получен ряд стироловых краун-содержащих красителей **19a-m** (Таблица 2) [26-31]. Для этого проводили конденсацию соли метилбензотиазола с бензальдегидными производными краун-эфиров в этаноле в присутствии пиридина в качестве основания.

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы: в случае производных масляной кислоты **19b** и **19e** увеличение размера макроцикла приводит к значительному повышению выхода продукта, замена дитиакраун эфира на полностью кислородный макроцикл также приводит к увеличению выхода стироловых производных (соединения **19f** и **19g**). Замена кислотной группы с карбоксильной на сульфонатную, напротив, приводит к уменьшению выхода красителя (соединения **19g** и **19k**).

Таблица 2 – Синтез стироловых краун-содержащих красителей **19a-m**



Соединение	R	Y	m	Z	Выход, %
<b>19a</b>	Me	S	0	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	71
<b>19b</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	S	0	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	37
<b>19c</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH	S	0	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	72
<b>19d</b>	Me	S	1	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	65
<b>19e</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	S	1	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	64
<b>19f</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH	S	1	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	72
<b>19g</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH	O	1	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	83
<b>19h</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	O	0	-	47
<b>19i</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	O	0	-	45
<b>19j</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	O	1	-	60
<b>19k</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	O	1	-	42
<b>19l</b>	Me	O	1	Γ	45
<b>19m</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	O	1	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	21

На основе бензотиазола также был создан бисстириловый краун-содержащий краситель **21** (Схема 10) [32]. Конденсация бискватернизованной соли **20** с формильным производным 15-краун-5 эфира в присутствии пиридина в качестве основания приводит к образованию смеси целевого бисстирилового производного **21** с побочным продуктом – цианиновым красителем. При проведении реакции в уксусном ангидриде побочный продукт не был обнаружен. На заключительной стадии реакции краситель был переведен в перхлорат путем добавления избытка хлорной кислоты.

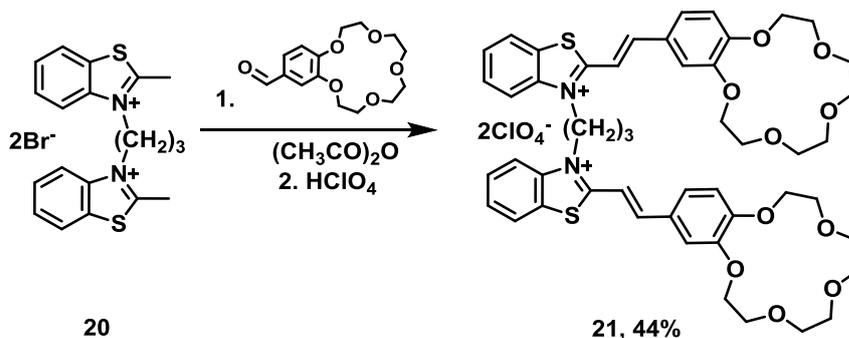


Схема 10

Положительно заряженные стирловые красители также могут быть получены путем кватернизации стирловых оснований. Соединения **23a-e** были получены с выходом от хорошего до отличного путем взаимодействия краун-содержащего 4-стирилхинолина с различными кватернизирующими агентами **22a-e** (Схема 11) [33]. Соединение **23f**, напротив, было получено путем конденсации четвертичной соли с 4-формилбензо-15-краун-5 эфиром в этаноле в присутствии основания и затем переведено в перхлорат.

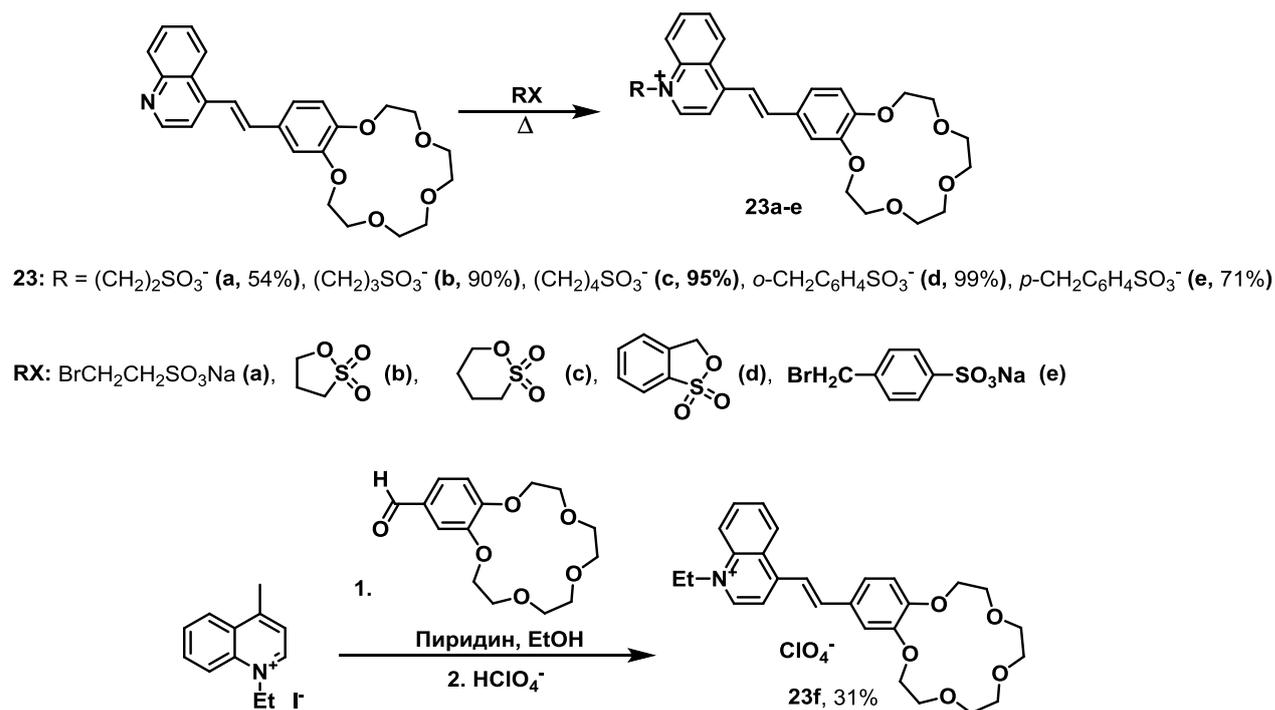
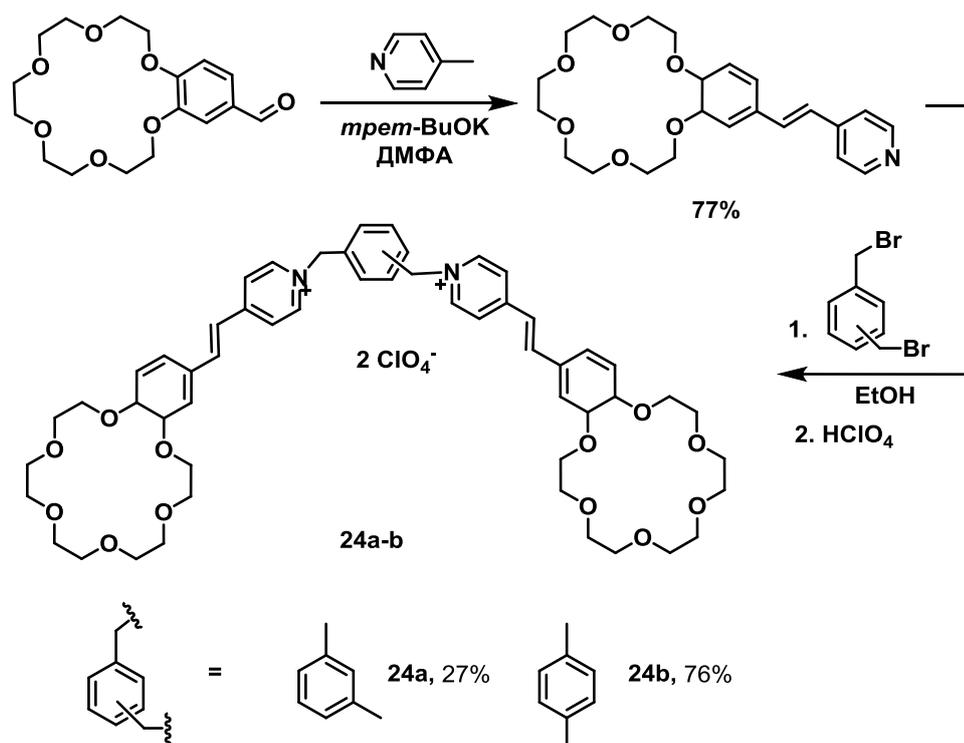


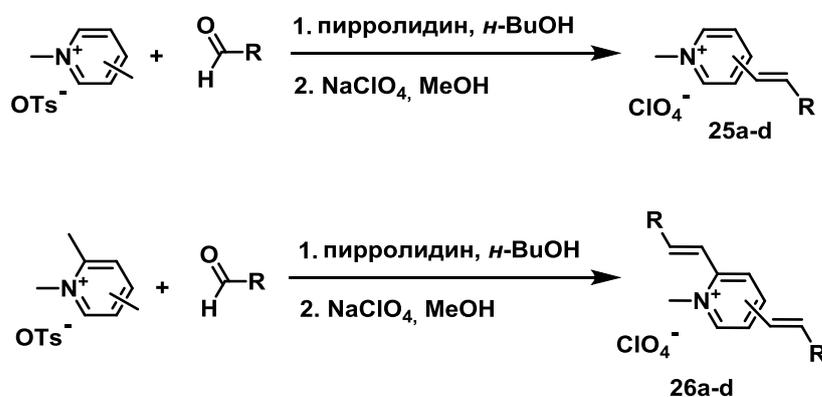
Схема 11

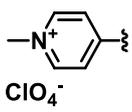
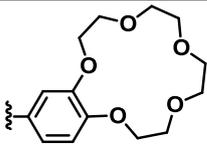
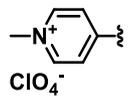
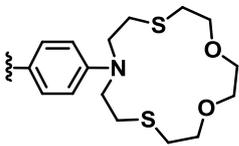
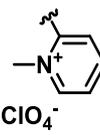
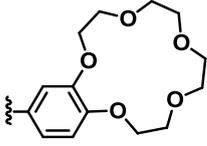
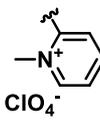
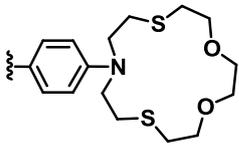
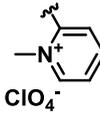
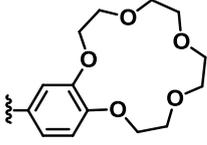
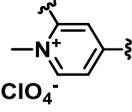
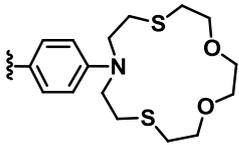
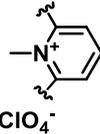
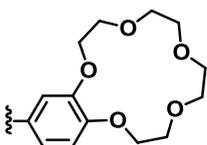
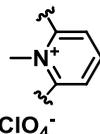
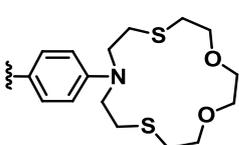
Для получения бисстирловых красителей **24a-b**, содержащих два фрагмента 18-краун-6 эфира, вначале проводили реакцию конденсации 4-метилпиридина с формильным производным краун-эфира, а затем полученный моностирловый краситель вступал в реакцию кватернизации с 1,3(4)-бис(бромметил)бензолом (Схема 12) [34-36]. Интересно отметить, что выход бисстирлового *para*-замещенного красителя **24b** почти в 3 раза больше, чем у соединения **24a**, у которого стирловые фрагменты расположены в *meta*-положении относительно друг друга. По-видимому, это связано с меньшей стерической доступностью свободной метильной группы, находящейся в *meta*-положении, после осуществления первой конденсации.



Е. В. Тулякова с коллегами разработали серию моно- и бисстириловых краун-содержащих красителей **25-26a-d** (Таблица 3) [7-8]. Для их получения тозилат диметилпиридиния (или триметилпиридиния в случае биспроизводных) вводили в реакцию конденсации с соответствующим формильным производным бензокраун-эфира в присутствии пиперидина в качестве основания в *n*-бутаноле. Соединения были выделены в виде перхлоратов.

**Таблица 3** – Синтез стириловых краун-содержащих красителей **25-26a-d**



	Hetar	R	Выход, %
25a			70%
25b			71%
25c			58%
25d			63%
26a			68 %
26b			68 %
26c			65 %
26d			65 %

В продолжение работы был получен несимметричный бисстириловый краситель **27**, содержащий два различных краун-эфирных фрагмента (Схема 13) [9]. На первой стадии проводили конденсацию 2,4-диметилпиридина с 4-формилбензо-15-краун-5 эфиром в присутствии *tert*-BuOK в ДМФА. В результате понижения реакционной способности метильной группы, находящейся в *орто*-положении, данная реакция протекает селективно с образованием только *пара*-замещенного стирилпиридина. Полученный стироловый краситель вводили в реакцию

кватернизации с метил-*n*-толилсульфонатом. Заключительной стадией синтеза является конденсация полученного производного с альдегидом, содержащим азадитиа-15-краун-5-эфирный фрагмент.

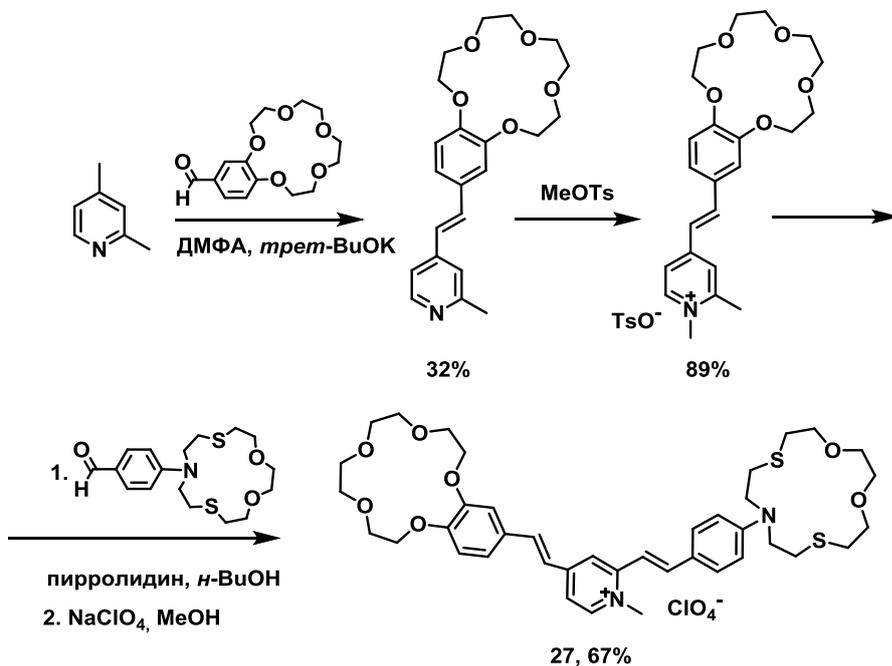


Схема 13

Бердниковой с коллегами были получены производные, **28a-c**, состоящие из двух несопряженных стироловых хромофоров, модифицированных азадитикраун-эфирными фрагментами (Схема 14) [10]. Для этого вначале проводили реакцию кватернизации между бис(бромметил)бензолом и 4-пиколином. Затем полученный бисгетероциклический бромид был переведен в перхлорат и вступал в реакцию конденсации с формильным производным фенилазадитиа-15-краун-5-эфира в условиях реакции Кнёвенагеля.

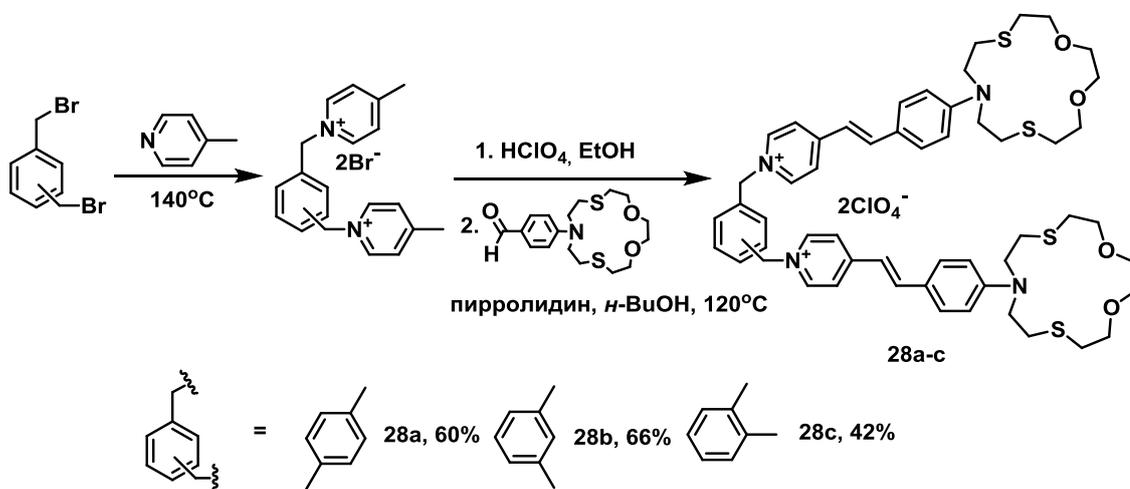


Схема 14

Несимметричный бисстириловый краситель **31**, функционализированный двумя различными краун-эфирными фрагментами, был получен с помощью альтернативного метода [37]. Так вначале путем конденсации соответствующих формилбензокраун-эфиров с 4-пиколином были получены моностириловые основания **29** и **30** (Схема 15) [38].

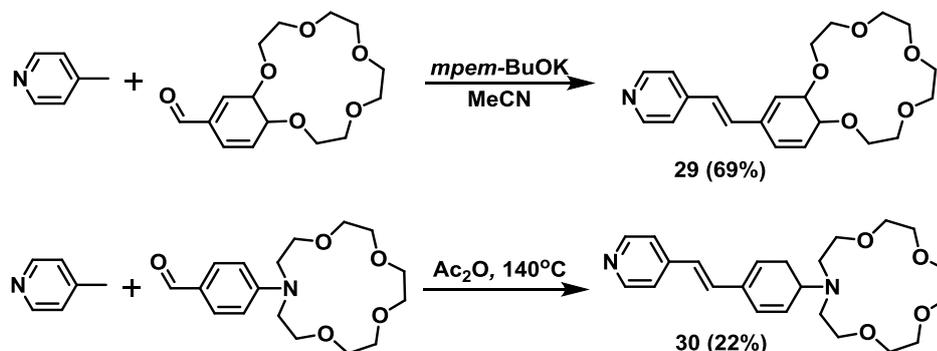


Схема 15

Затем с помощью двух последовательных реакций кватернизации с 1,4-бис(бромметил)бензолом был получен бисстириловый краситель **31** с выходом 42% (Схема 16).

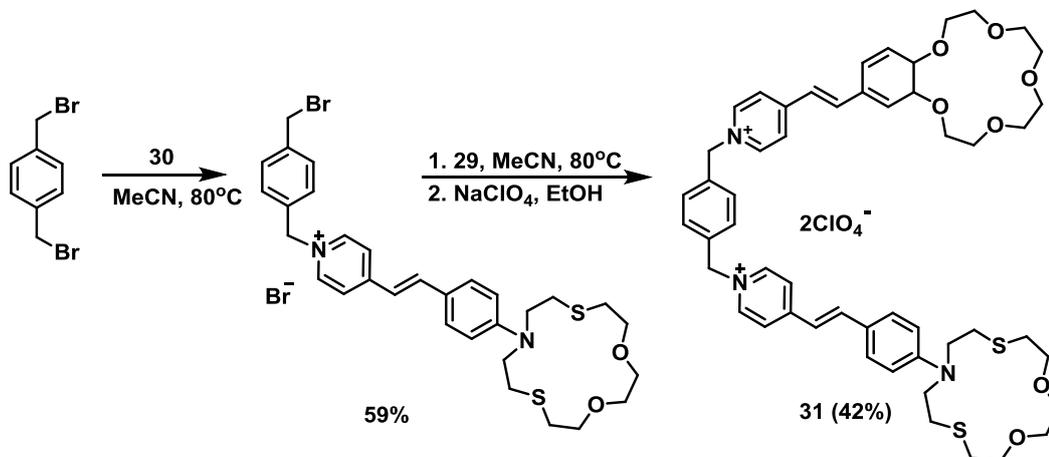


Схема 16

В 2013 году с высоким выходом (до 89%) была получена серия стироловых красителей, содержащих фрагмент *N*-метилбензоаза-15 (18)-краун-5 (6) эфира [39]. Красители **32a-g** получали путем конденсации формильного производного с четвертичными солями гетероциклических оснований в присутствии основания (Схема 17). Выходы красителей, содержащих фрагмент *N*-метилбензоаза-15-краун-5 эфира, больше, чем в случае красителей с 18-членными макроциклами, что, вероятно, связано с более низкой растворимостью последних в реакционной смеси.

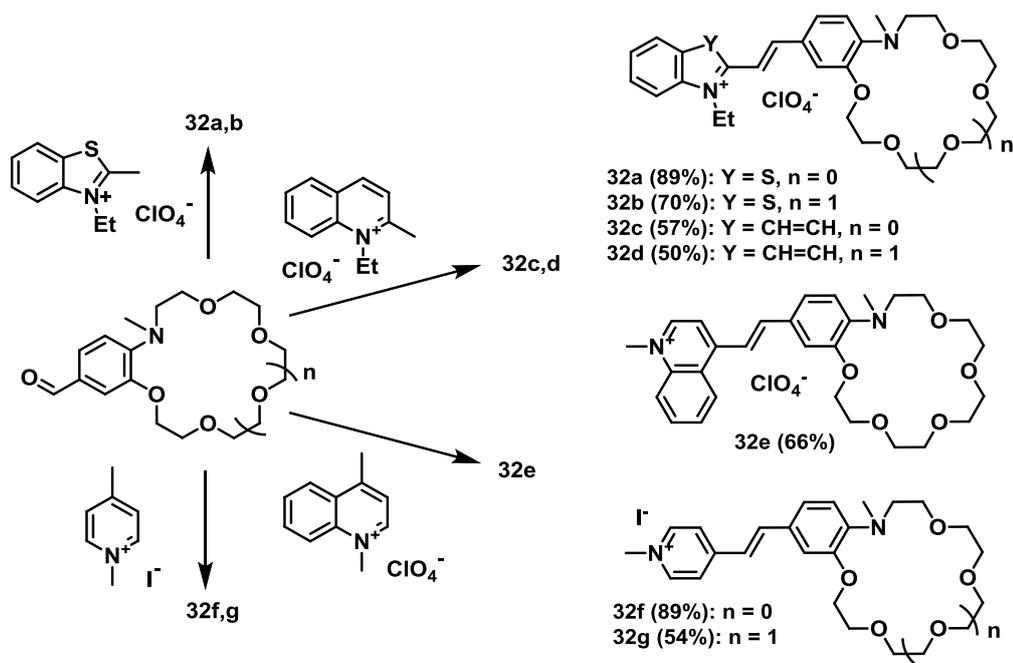


Схема 17

В настоящее время растет количество публикаций, посвященных созданию стириловых красителей, содержащих в своей структуре фрагмент BODIPY (boron-dipyrromethene, 4,4-дифтор-4-бора-3*a*,4*a*-диаза-*s*-индацен). Причины, побуждающие исследователей обратить особое внимание на эти соединения, подробно рассмотрены в следующем разделе. Здесь же остановимся на синтезе краунсодержащих BODIPY-стириловых красителей.

Shao с коллегами синтезировали ряд симметричных бисстириловых производных на основе BODIPY [40]. Для синтеза соединений **33a-d** проводили конденсацию 4'-формилбензо-18-краун-6 эфира с тетраметильными производными BODIPY в присутствии пиперидина и уксусной кислоты (Схема 18).

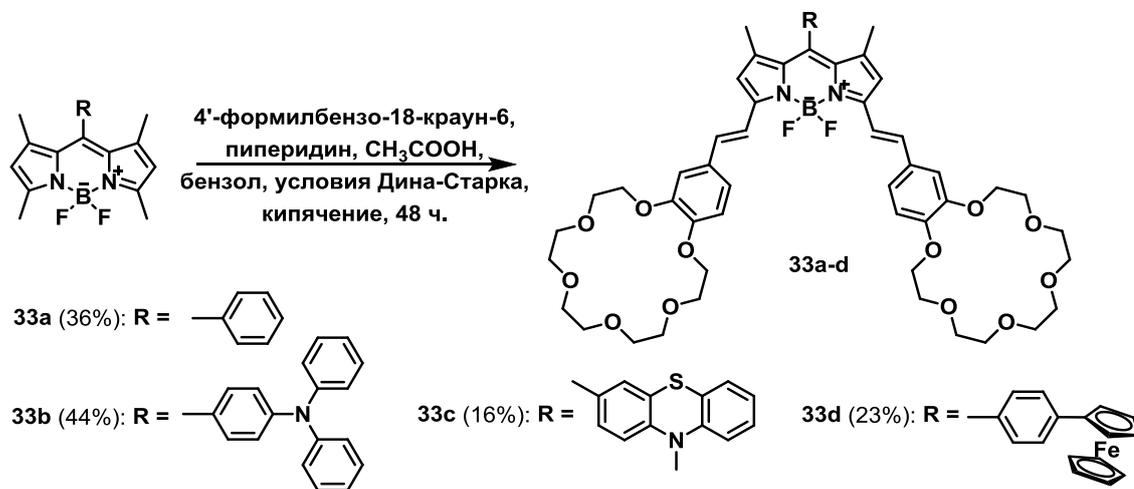


Схема 18

Группой ученых под руководством Kobayashi получены моно- и бисстириловые краун-замещенные стирил-BODIPY **34a-b** (Схема 19) [41-42]. Соединения **34a-b** получали путем конденсации 4'-формилбензо-15-краун-5 эфира с производным BODIPY в присутствии ледяной уксусной кислоты и пиперидина в атмосфере аргона. Для азеотропного удаления воды, образовавшейся в ходе реакции конденсации, была использована ловушка Дина-Старка. Целевые продукты были выделены с помощью колоночной и флэш-хроматографии.

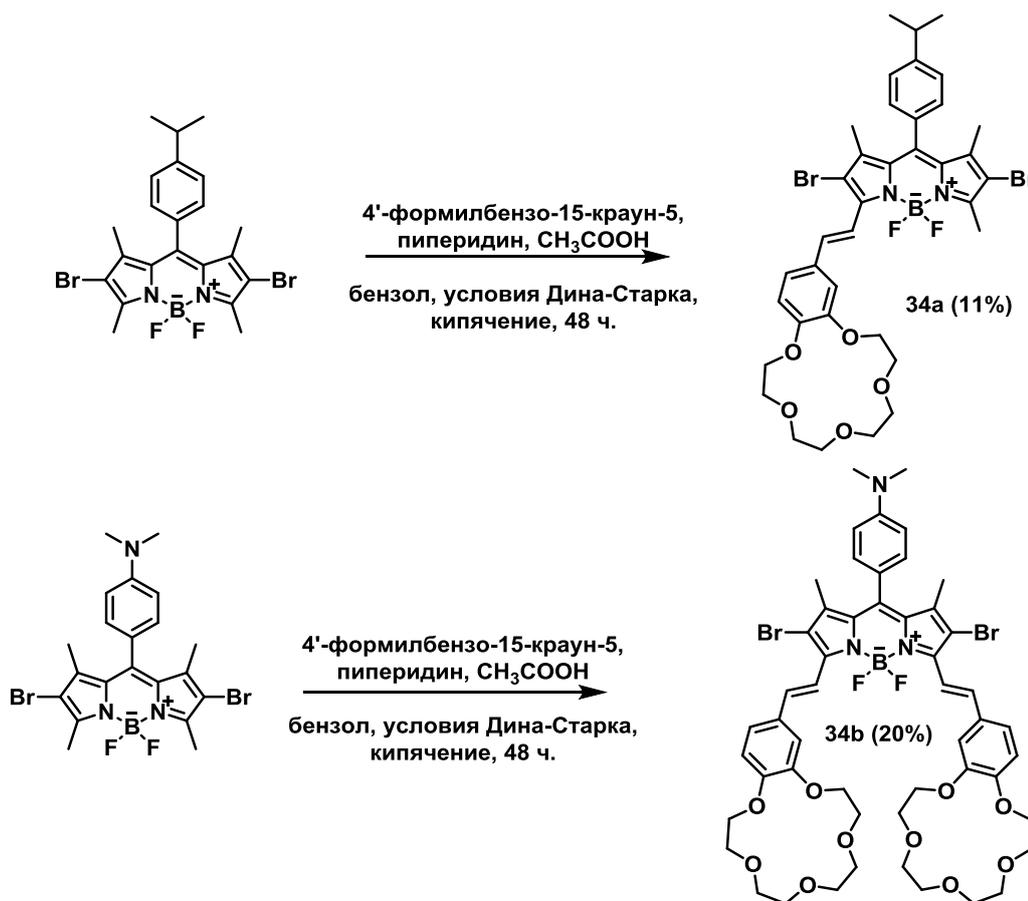


Схема 19

Таким образом, к настоящему времени получен целый ряд стириловых краун-содержащих красителей. Реакция Кнёвенагеля является наиболее универсальным и широко используемым методом синтеза данных производных. В литературе представлено мало примеров синтеза несимметричных бисстириловых красителей, содержащих краун-эфирные остатки. Однако сочетание различных стириловых фрагментов в одной молекуле расширяет физико-химические свойства, а, следовательно, и возможные области применения таких производных.

## 2.2. Фотоиндуцированный перенос энергии

Резонансный перенос энергии по Фёрстеру (Förster resonance energy transfer, в литературе встречается также как fluorescence resonance energy transfer, FRET) является одним из основных механизмов процесса переноса энергии. FRET происходит между хромофором-донором, способным безызлучательно передать энергию электронного возбуждения посредством диполь-дипольного взаимодействия к близлежащему хромофору-акцептору [43-44]. Для данного процесса характерно полное или частичное тушение флуоресценции донора, а также сокращение времени жизни его возбужденного состояния, одновременно с увеличением интенсивности флуоресценции акцептора. FRET-системы широко используются в биотехнологии, медицине, биоимиджинге и при создании флуоресцентных сенсоров [45-46]. Кроме того, в настоящее время особый интерес исследователей привлекают искусственные системы, способные имитировать естественный фотосинтез [47-48]. Данные системы на основе FRET эффективно поглощают солнечный свет и превращают его в полезные формы энергии. Примерами таких систем являются элементы солнечных батарей, ратиометрические сенсоры и фотовольтаические устройства [49-51].

Остановимся подробнее на механизме данного процесса. При поглощении кванта света донор энергии переходит в возбужденное состояние, затем в результате кулоновского взаимодействия между диполями происходит резонансный перенос энергии на акцептор. При этом происходит безызлучательная релаксация донора энергии одновременно с переходом электрона акцептора энергии из основного в возбужденное состояние (Схема 20).

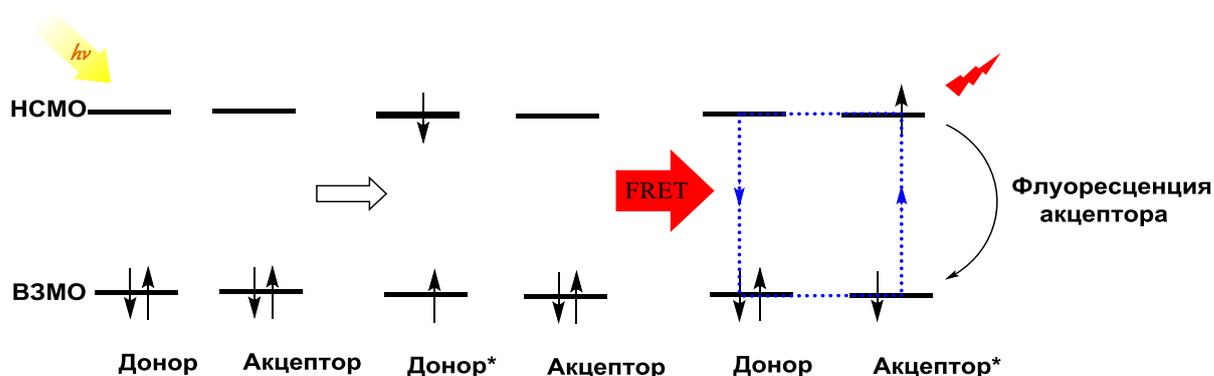


Схема 20

Для реализации резонансного переноса энергии по Фёрстеру необходимо выполнение следующих условий:

1. спектр флуоресценции донора энергии перекрывается со спектром поглощения акцептора энергии;
2. расстояние между хромофорами составляет 1 – 10 нм;
3. диполи донора и акцептора расположены в пространстве как можно более параллельно друг к другу.

Эффективность переноса ( $E_{FRET}$ ) обратно пропорциональна расстоянию между донором и акцептором в шестой степени и описывается уравнением:

$$E_{FRET} = R_0^6 / (R_0^6 + r^6),$$

где  $r$  – расстояние между донором и акцептором,  $R_0$  – Фёрстеровский радиус, расстояние между донором и акцептором, при котором эффективность переноса энергии составляет 50 % [52]. Радиус Фёрстера можно рассчитать по формуле:

$$R_0^6 = \frac{9 \ln(10) k^2 Q_D}{128 \pi^5 N_A n^4} J,$$

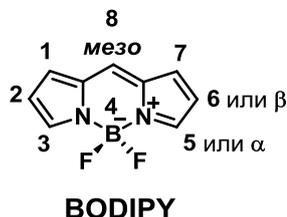
где  $k^2$  – фактор, описывающий взаимное расположение двух векторов диполей донора и акцептора,  $Q_D$  – квантовый выход флуоресценции донора в отсутствие акцептора,  $N_A$  – число Авогадро,  $n$  – показатель преломления среды,  $J$  – интеграл перекрывания спектра флуоресценции донора со спектром поглощения акцептора [53].

Таким образом, эффективность FRET зависит от нескольких факторов, тем самым обеспечивая разнообразные способы управления данным процессом. Благодаря тому, что перенос энергии реализуется при расстоянии между донором и акцептором до 10 нм, возможно изучение данного процесса как внутри одной молекулы, так и в супрамолекулярных ансамблях. Данный процесс позволяет изучать строение макромолекул, например, белков и полинуклеотидов, за счет введения в их структуру подходящей донорно-акцепторной пары [54].

### 2.2.1 Фотоиндуцированный перенос энергии в стирильных производных

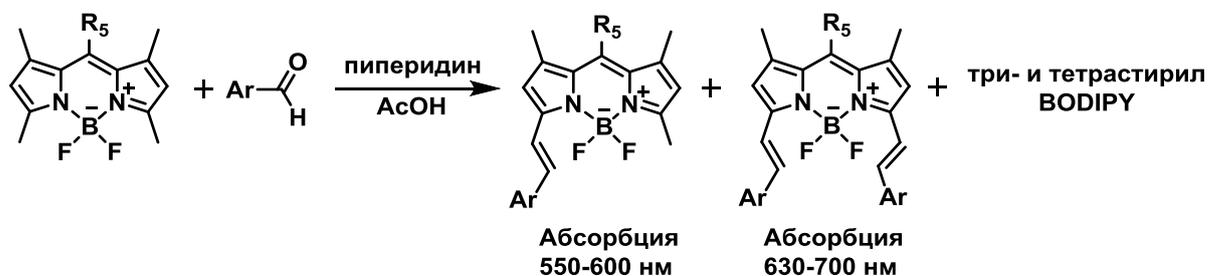
Среди хромофоров, обычно используемых в качестве составных частей искусственных фотосинтетических систем, молекулы на основе BODIPY (boron-dipyrromethene, 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен) привлекают особое внимание исследователей [55]. Такие соединения химически устойчивы, обладают

как высокими коэффициентами поглощения, так и высокими квантовыми выходами флуоресценции, кроме того, их спектральные свойства можно легко настроить путем введения или изменения одного или нескольких заместителей в 1-3 и 5-8 положениях (Рис. 1) [56].



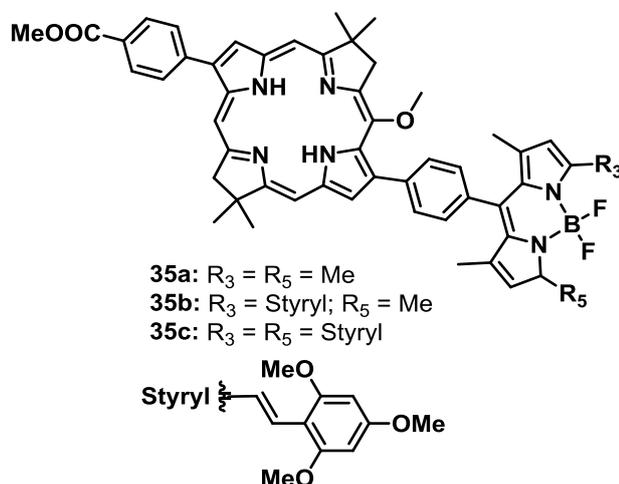
**Рисунок 1** – Строение BODIPY

Один из наиболее часто используемых способов для батохромного смещения поглощения BODIPY – введение стириловых заместителей [57-59]. Кроме того количество таких заместителей и их различные электронные свойства позволяют более тонко настроить положение максимума поглощения. Таким образом, незамещенный BODIPY поглощает около 500 нм, монозамещенный BODIPY при ~ 550-600 нм, а дизамещенный BODIPY уже при ~ 630-700 нм. Моно- и дистирил производные BODIPY могут быть легко синтезированы из соответствующих метильных производных (Схема 21).



BODIPY, усовершенствованные стирильным фрагментом, нашли применение в качестве флуорофоров для биоимиджинга [60-61], фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии (ФДТ) [62-63], а также были включены в светособирающие комплексы или антенны, в которых осуществляется процесс передачи энергии (Energy transfer arrays). В таких комплексах BODIPY с моностирильным заместителем является либо донором энергии, либо акцептором, в то же время BODIPY с двумя стириловыми фрагментами выступают преимущественно в качестве акцептора энергии [64-66].

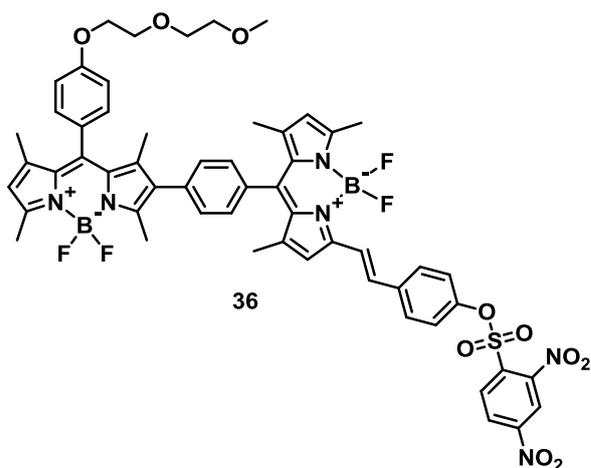
Группой американских ученых была синтезирована и исследована новая светособирающая антенна на основе стироловых производных BODIPY (Styryl-BODIPY) ковалентно связанных с бактериохлорином, при этом количество стироловых заместителей варьировалось от 0 до 2 (Рис. 2) [67].



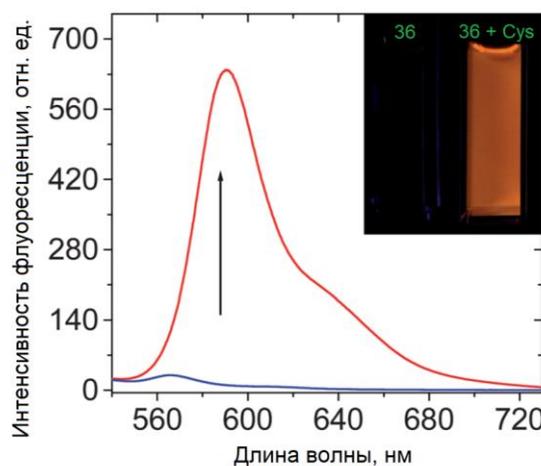
**Рисунок 2** – Светособирающая антенна на основе Styryl-BODIPY

Дополнительный bathochромный сдвиг спектра поглощения BODIPY достигался благодаря введению в стироловый фрагмент трех метокси-групп, обладающих сильным электронодонорным эффектом, в результате максимумы поглощения соединений **35a-c** находятся в интервале от 500 нм до 670 нм. Возбуждение антенн в толуоле в максимуме поглощения донора энергии BODIPY во всех случаях приводит к переносу энергии на акцептор – бактериохлорин – с эффективностью более 90 %. Кроме того было исследовано влияние диэлектрической проницаемости растворителей ( $\epsilon$ ) на квантовый выход флуоресценции и эффективность переноса энергии. Было показано, что оба показателя являются высокими при низкой диэлектрической проницаемости среды, однако, при  $\epsilon \geq 9$  происходит резкое тушение флуоресценции, что, по-видимому, вызвано конкурирующим процессом переноса электрона с бактериохлорина на BODIPY. Данное свойство позволяет создавать на основе таких соединений флуорофоры, чувствительные к изменению условий среды. Кроме того такие соединения являются особенно ценными для различных биомедицинских применений, так как их поглощение и флуоресценция находятся в терапевтическом окне прозрачности тканей.

На основе Styryl-BODIPY был разработан молекулярный сенсор для селективного обнаружения цистеина и гомоцистеина [68]. Краситель **36** можно условно разделить на два фрагмента: незамещенный BODIPY и Styryl-BODIPY, которые связаны между собой фенильным кольцом (Рис. 3). Для улучшения растворимости в водном растворе в сенсор дополнительно была введена полиэфирная цепь. В свободном состоянии краситель не флуоресцирует, тогда как в присутствии цистеина или гомоцистеина реализуется высокоэффективный перенос энергии (Рис. 4).



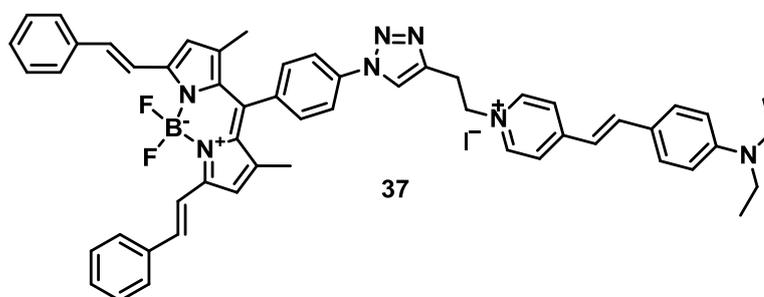
**Рисунок 3** – Строение молекулярного сенсора **36**



**Рисунок 4** – Спектр флуоресценции свободного соединения **36** (синий) и в присутствии цистеина (красный) при  $\lambda_{\text{возб}} = 505$  нм в смеси MeOH:H<sub>2</sub>O 4:1;  $C_{36} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{цистеин}} = 3 \cdot 10^{-3}$  М

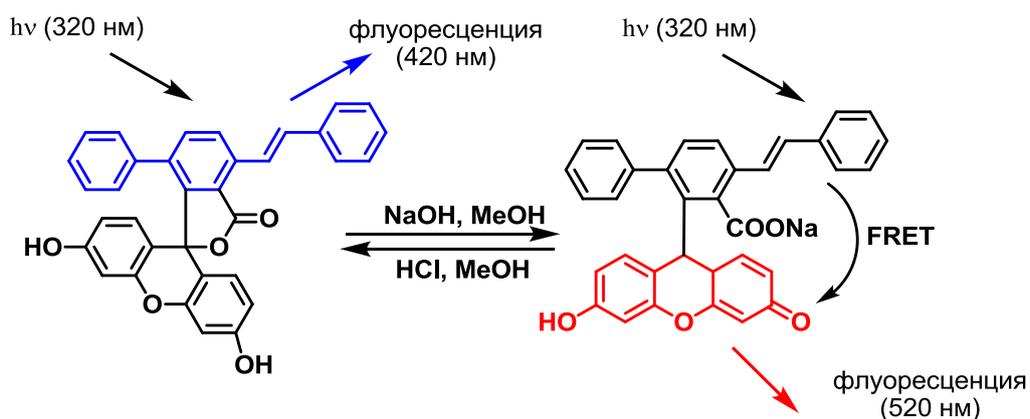
Так, при возбуждении донора энергии (фрагмент BODIPY с полиэфирной цепью) при 505 нм, наблюдается флуоресценция, соответствующая акцептору энергии (BODIPY со стироловым фрагментом)  $\lambda_{\text{max}} = 590$  нм. Переключение флуоресценции в данной молекуле вызвано тем, что под действием тиолов происходит отщепление 2,4-динитробензосульфонового фрагмента. Эта группа – сильный акцептор электронов, создающий в данном соединении возбужденное темное состояние (dark excited state, состояние атома или молекулы, при котором они не могут поглощать или излучать фотоны), благодаря чему в свободном состоянии молекула не флуоресцирует. Полученный сенсор также может использоваться для визуализации *in vivo* клеточных тиолов.

М. D. Donato с коллегами разработали новую систему, включающую в себя связанные ковалентной связью фрагменты BODIPY и стирилового красителя, но несопряженные между собой (Рис. 5) [69]. В соединении **37** реализуется фотоиндуцированный перенос энергии от донора энергии (стириловый краситель), к акцептору (фрагмент BODIPY) с почти количественной эффективностью. Кроме того, было обнаружено, что этот процесс также чрезвычайно быстрый, 70-80 % энергии переносится от донора к акцептору в субпикосекундный временной интервал. На основе теоретических исследований, таких как расчет электронной связи между донором и акцептором, а также конформационный анализ системы на основе DFT-расчетов (Density functional theory, теория функционала плотности) был предложен перенос энергии по Фёрстеру.



**Рисунок 5** – Структура производного Styryl-BODIPY **37**

Ж. Kadokawa с коллегами синтезировали и изучили спектральные свойства флуоресцеина, модифицированного стироловым фрагментом (Схема 22) [70].



**Схема 22**

Спектр флуоресценции данного соединения при возбуждении в 320 нм в растворе HCl/MeOH имеет максимум флуоресценции при 420 нм, который соответствует излучению стирилового фрагмента. В то же время, при

возбуждении данного соединения при той же длине волны в растворе NaOH/MeOH, наблюдается максимум флуоресценции при 520 нм, соответствующий флуоресценции флуоресцеина в хиноидной форме. При изменении pH раствора происходит переход флуоресцеина из лактонной в хиноидную форму, в результате чего становится возможным протекание фотоиндуцированного переноса энергии со стирилового красителя на флуоресцеин (Схема 22). Регулирование процесса переноса энергии посредством изменения кислотности среды, позволяет рассматривать такие соединения как возможные флуоресцентные pH сенсоры.

В работе [71] был изучен перенос энергии в комплексах симметричных краун-содержащих бисстириловых красителей **38a-d** с катионом  $Mg^{2+}$  (Схема 23). Такие соединения в присутствии перхлората магния способны образовывать по краун-эфирному фрагменту два типа комплексов 1:1 и 1:2. При этом, согласно данным ЯМР экспериментов, образование моноядерного комплекса с  $Mg^{2+}$  сопровождается сближением двух стироловых фрагментов и образованием комплекса сэндвичевого типа, тогда как в свободном состоянии и в биядерном комплексе структура красителей является линейной. Такое сближение хромофоров, а также подходящее расположение полос флуоресценции донора (хромофор с  $Mg^{2+}$ ) и поглощения акцептора (свободный хромофор) приводит к эффективному протеканию переноса энергии (73 – 99 %) в данных системах.

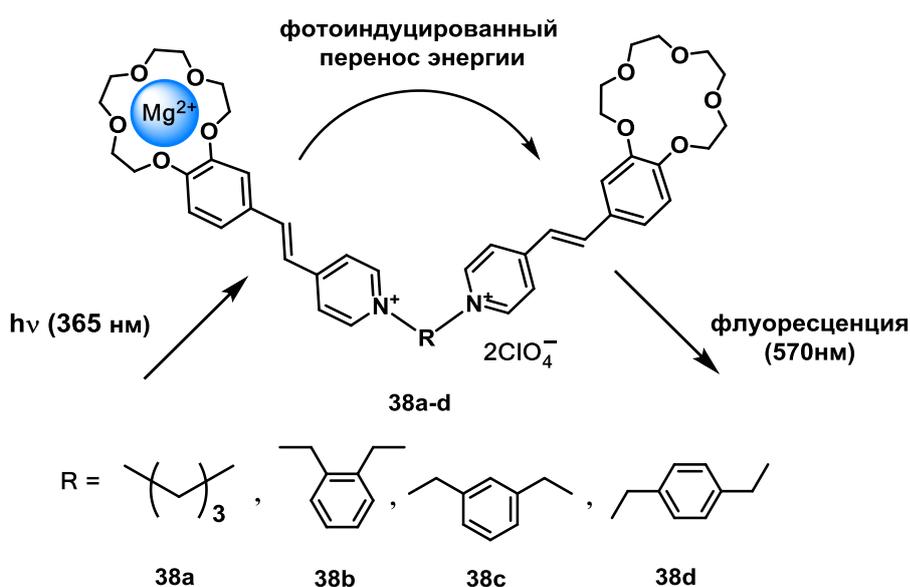


Схема 23

Д. В. Бердниковой с коллегами синтезирован новый несимметричный бисстириловый краситель **39**, содержащий два различных краун-эфирных фрагмента: бензо-15-краун-5 и азадитиа-15-краун-5 (Схема 24) [37].

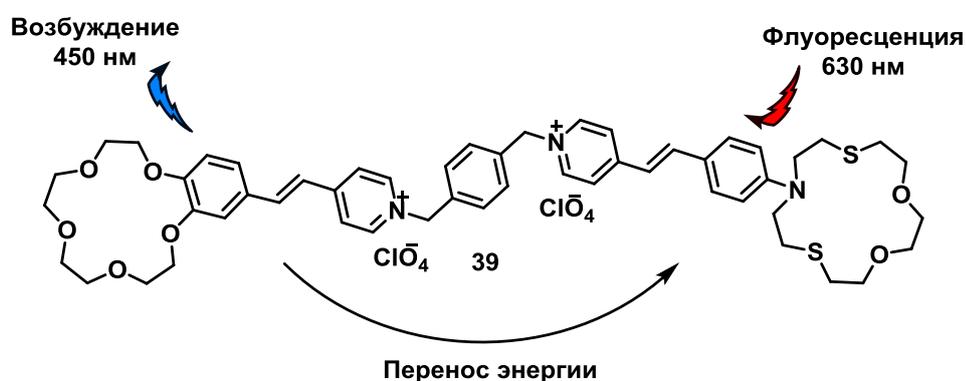


Схема 24

Из-за наличия двух хромофорных систем, спектр поглощения красителя имеет два максимума: 420 нм, соответствующий бензокраун замещенному стириловому фрагменту (О-хромофор) и 486 нм, соответствующий азадитиакраун замещенному стириловому фрагменту (N-хромофор) (Рис. 6, а). Благодаря близкому расположению двух хромофоров, а также подходящим спектральным характеристикам (спектр флуоресценции донора имеет перекрывание со спектром поглощения акцептора), в данной системе происходит перенос энергии по Фёрстеру от О-хромофора на N-хромофор (Схема 24).

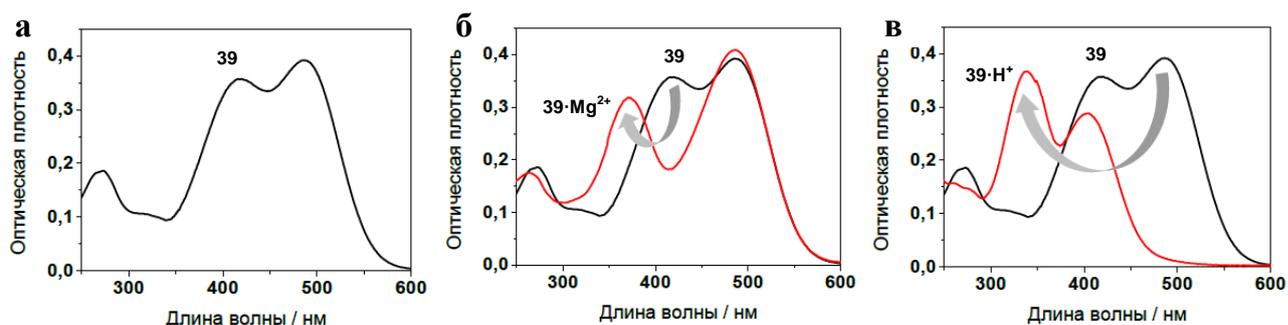


Рисунок 6 – Спектры поглощения красителя **39** (а) и его комплексов с  $Mg^{2+}$  (б) и  $H^+$  (в)

При добавлении  $Mg(ClO_4)_2$  к раствору красителя, происходит связывание катиона  $Mg^{2+}$  по кислородному краун-эфир, что приводит к гипсохромному сдвигу полосы поглощения О-хромофора на 52 нм (Рис. 6, б). Кроме того такое комплексообразование вызывает гипсохромный сдвиг флуоресценции О-хромофора, что обеспечивает более полное спектральное перекрывание между

флуоресценцией O-хромофора и поглощением N-хромофора, что благоприятствует передаче энергии в комплексе красителя с  $Mg^{2+}$  (Схема 25).

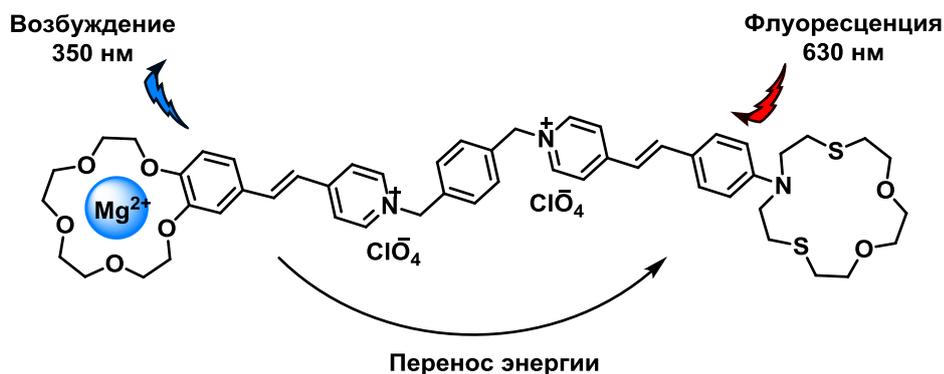


Схема 25

В свою очередь при добавлении  $HClO_4$  к раствору красителя происходит связывание протона по атому азота азадитиакраун-эфира, что приводит к гипсохромному сдвигу полосы поглощения N-хромофора на 148 нм (Рис. 6, в). Из этого следует, что в протонированном красителе полосы поглощения хромофоров меняются местами: теперь N-хромофор поглощает в более коротковолновой области. Данный факт позволяет изменить направление переноса энергии на обратное: N-хромофор выступает в качестве донора энергии, а O-хромофор – в качестве акцептора (Схема 26).

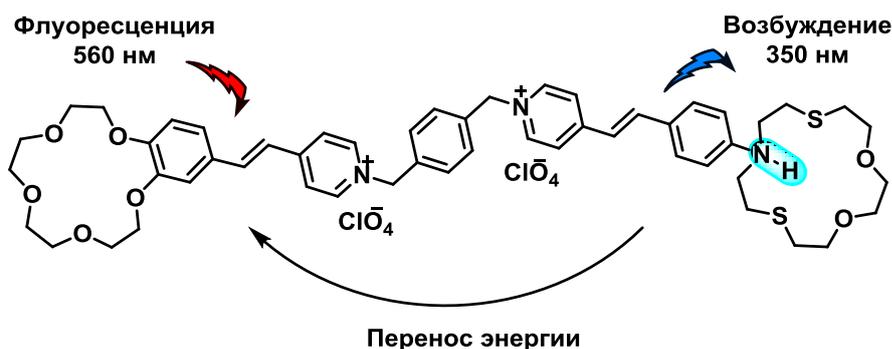


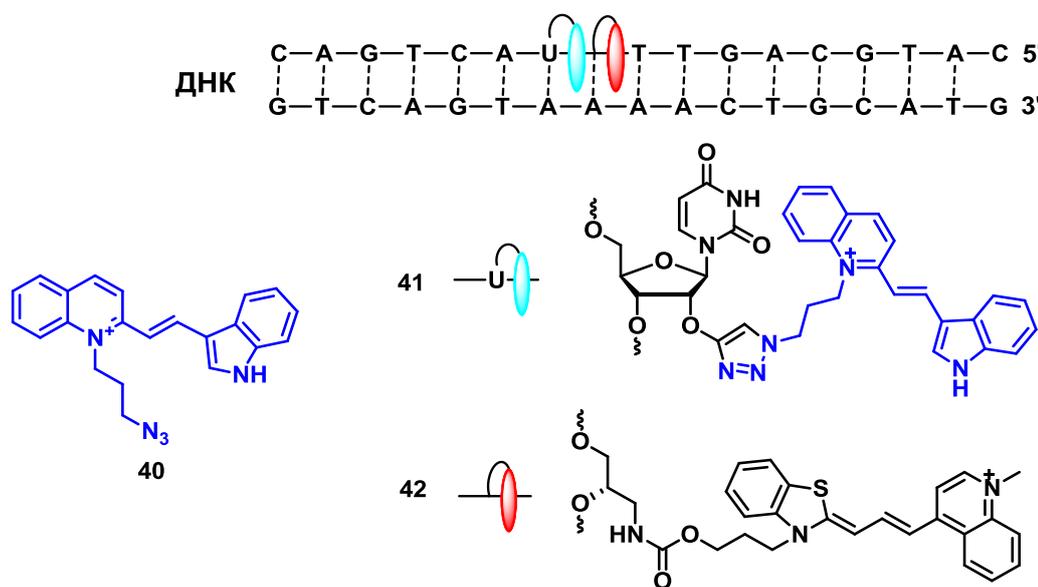
Схема 26

Таким образом, описанные красители могут рассматриваться как флуоресцентные сенсоры для ионов металлов. Изменяя краун-эфирный фрагмент, можно варьировать селективность красителей по отношению к конкретным ионам металлов и наблюдать катион-селективный вид флуоресценции. Так, например, кислородсодержащие краун-эфиры проявляют сродство к ионам щелочных и

щелочноземельных металлов, тиакраун-эфиры могут быть использованы для избирательного связывания с  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , азакраун-эфиры предпочтительны для координации ионов переходных и тяжелых металлов. Кроме того, с помощью комплексообразования и протонирования становится возможным управлять процессом переноса энергии, изменяя его эффективность и направление.

Двойная ковалентная маркировка (dual covalent labeling) нуклеиновых кислот используется для создания чувствительных к гибридизации флуоресцентных маркеров [72-73]. В таком случае наблюдаемые спектральные изменения могут быть вызваны экситонными взаимодействиями двух одинаковых хромофоров, либо переносом энергии между двумя различными молекулами. Ковалентная пришивка красителей к олигонуклеотидам осуществляется с помощью клик-реакции азид-алкинового циклоприсоединения [74-75].

На основе индола и хинолина группой немецких ученых был получен стирильный краситель **40** (Рис. 7), который затем был ковалентно присоединен к 2'-пропаргил модифицированному уридину ДНК с получением нуклеозида **41** (Рис. 7) [76]. В качестве следующего основания в цепи ДНК использовали производное красителя тиазоловый красный **42**. Спектр флуоресценции **41** перекрывается со спектром поглощения красителя **42**, поэтому в одноцепочечной ДНК реализуется процесс переноса энергии с **41** на **42**. Однако в двухцепочечной ДНК этот процесс почти полностью блокирован, вследствие чего данная система красителей является интересной альтернативой сенсорам, определяющим тип гибридизации ДНК.



**Рисунок 7** – Система красителей, определяющая тип гибридизации ДНК

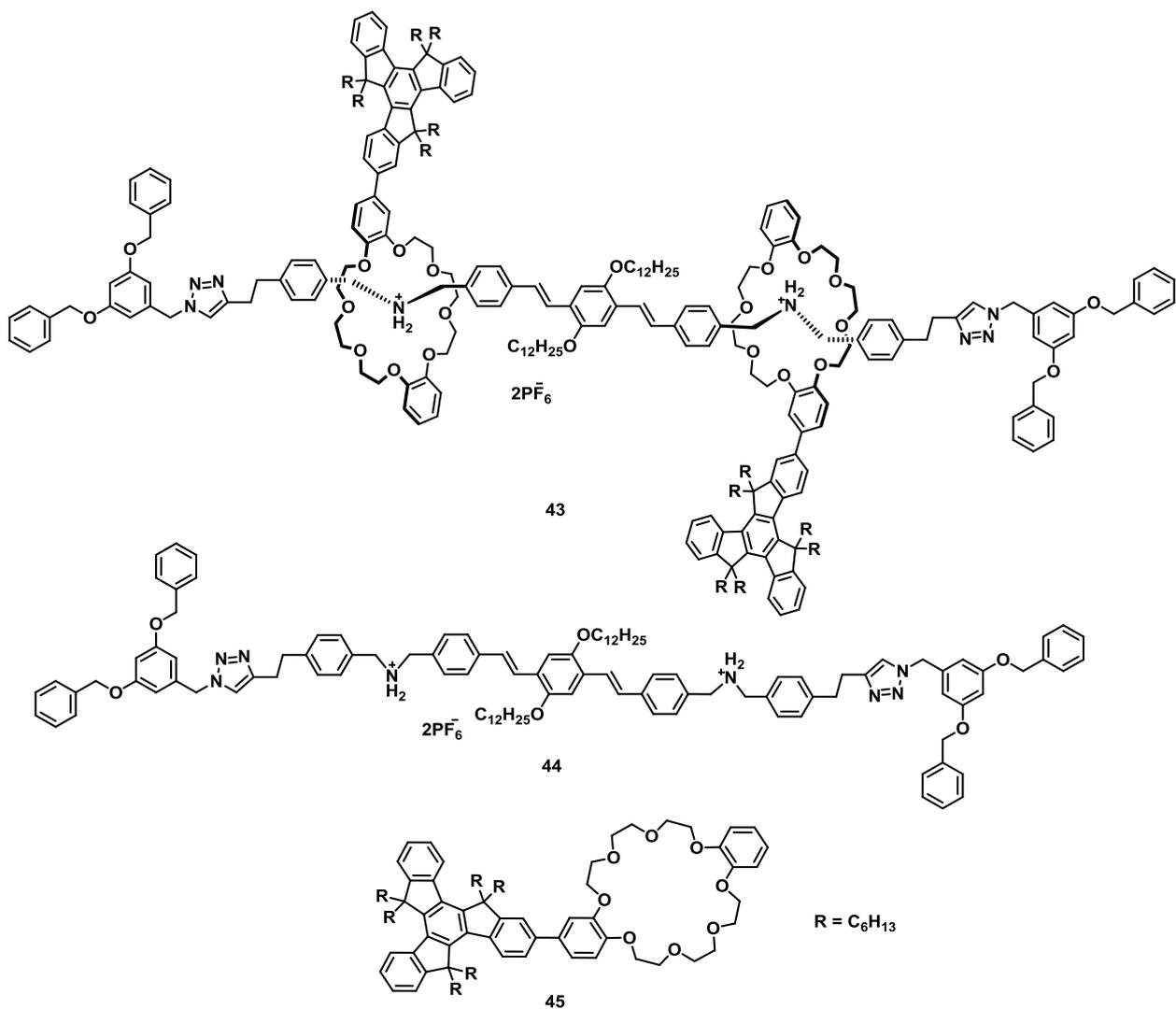
## 2.2.2. Фотоиндуцированный перенос энергии в супрамолекулярных ансамблях

В последние годы все больше внимания уделяется изучению фотоиндуцированного переноса энергии между хромофорами, связанными посредством нековалентных взаимодействий [77-78]. Такие супрамолекулярные системы, участвующие в процессе фотоиндуцированного переноса энергии, активно исследуются для создания искусственных фотосинтетических систем и наноразмерных молекулярных устройств для преобразования солнечной энергии [79]. Кроме того разнообразные ансамбли с переносом энергии находят применение в ферментативном анализе, при мониторинге доставки лекарственных средств, при создании биосенсоров, а также в фотодинамической терапии раковых заболеваний [80-81].

Важным преимуществом супрамолекулярных систем, участвующих в процессе фотоиндуцированного переноса энергии, является возможность быстрого изменения состава комплекса, без проведения трудоемкого органического синтеза сложных молекул [78]. Кроме того, при изменении условий такие системы способны к самопроизвольной организации, либо распаду.

В настоящем обзоре приведены примеры систем с переносом энергии с участием краун-содержащих соединений и молекул-контейнеров, что отвечает теме диссертации и дает представление о месте проведенных исследований в современных разработках в данной области. Более детальное рассмотрение представленных в литературе примеров привело бы к непомерному увеличению объема литературного обзора. Ссылки на обзоры на данную тему приведены в начале данной главы.

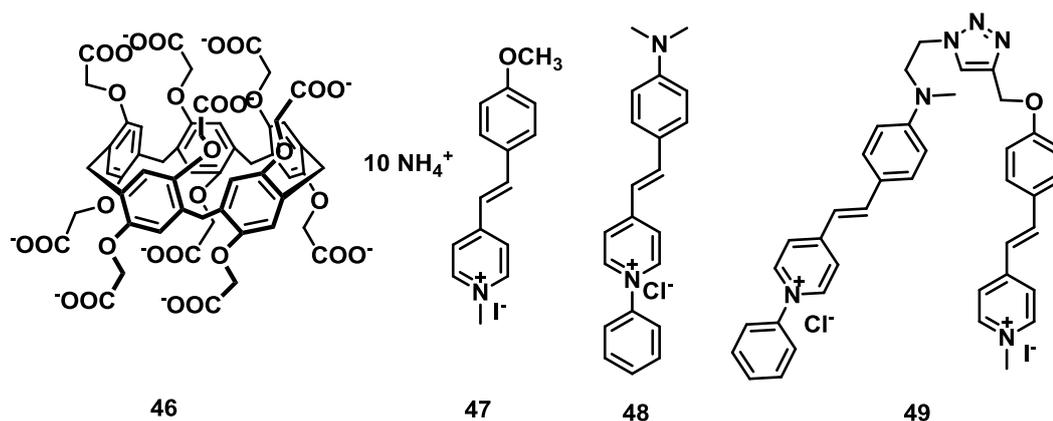
J.-Y. Wang и коллеги с помощью клик-реакции азид-алкинового циклоприсоединения синтезировали [3]ротаксан **43**, состоящий из производного олиго (*n*-фениленвинилена) **44** и двух производных дибензо[24]краун-8 эфира **45** (Рис. 8) [82]. Структура и чистота соединения **43** подтверждены с помощью <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения (ESI HRMS). Фотофизические свойства ротаксана **43** и его исходных соединений были изучены как в растворе, так и в тонких пленках. Во всех случаях наблюдался эффективный перенос энергии от доноров – производных дибензо[24]краун-8 эфира **45** – к акцептору энергии – олиго (*n*-фениленвинилена) **44**.



**Рисунок 8** – Структура [3]ротаксана **43** и его исходных соединений **44** и **45**

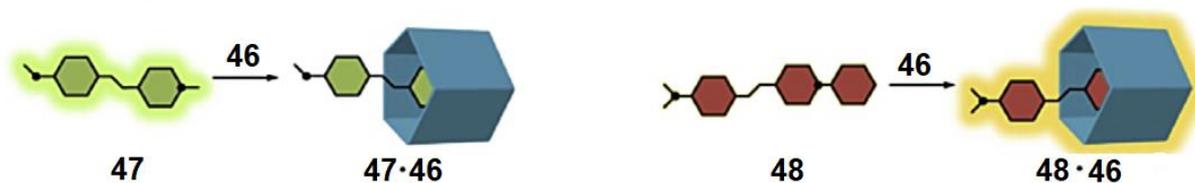
Такая система может быть использована в качестве эффективной светособирающей антенны, имитирующей естественный процесс фотосинтеза. Кроме того, данное исследование открывает подход к созданию управляемой светособирающей молекулярной машины или других наноразмерных оптоэлектронных устройств.

На основе водорастворимого пиллар[5]арена **46** и стироловых красителей **47-49** венгерскими учеными были созданы различные супрамолекулярные ансамбли (Рис. 9) [83]. Такой карбоксилированный пиллар[5]арен является подходящей молекулой для образования комплексов включения с молекулами-гостями, содержащими аммонийные группы, соли пиридиния, а также другие электроноакцепторные заместители [84].



**Рисунок 9** – Структура пиллар[5]арена **46** и стириловых красителей **47-49**

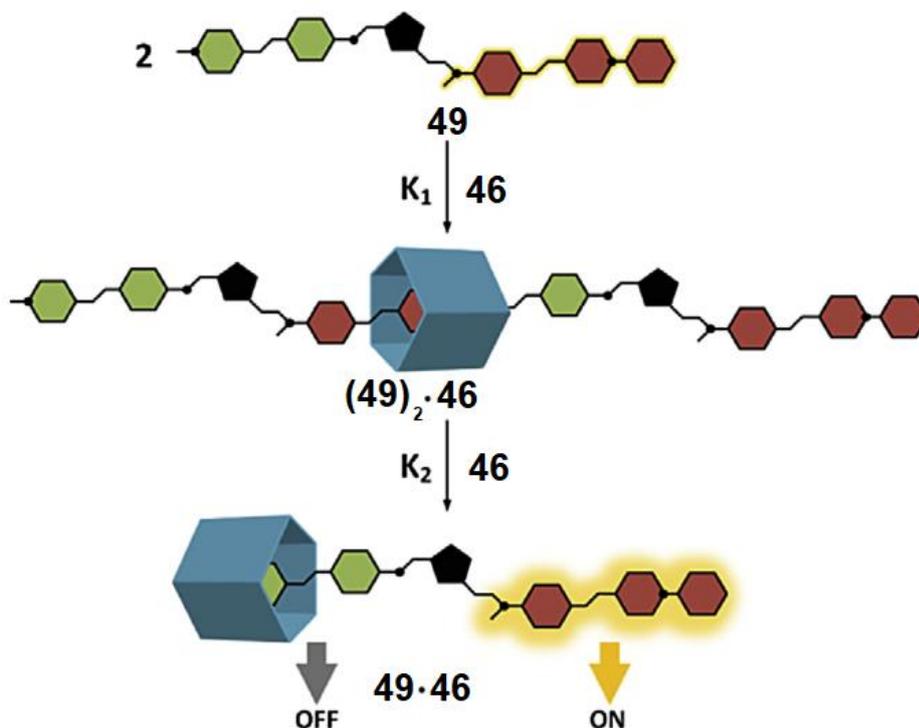
Моностириловые красители **47** и **48** образуют супрамолекулярные комплексы с **46** благодаря электростатическим, гидрофобным и  $\pi$ - $\pi$ -стэкинг взаимодействиям. При образовании ансамблей поглощение обоих красителей смещается батохромно благодаря отрицательному сольватохромному эффекту. Однако флуоресцентные отклики красителей различны: в случае красителя **47** наблюдается гашение флуоресценции, а краситель **48**, напротив, демонстрирует разгорание флуоресценции (Рис. 10).



**Рисунок 10** – Комплексообразование красителей **47** и **48** с пиллар[5]ареном **46**

На основе моностириловых красителей **47** и **48** с помощью клик-реакции азид-алкинового циклоприсоединения был получен бисстириловый краситель **49**. Благодаря перекрытию полос флуоресценции **47** и поглощения **48**, а также близкому расположению хромофоров в данном красителе возможно протекание FRET. Однако данный процесс реализуется лишь частично. Добавление пиллар[5]арена к водному раствору **49** приводит к изменению эффективности процесса переноса энергии в данном красителе: интенсивность флуоресценции акцептора возрастает, тогда как флуоресценция донора энергии полностью гасится (Рис. 11). Стоит отметить, что и донорная, и акцепторная части красителя могут образовывать комплексы включения с пиллар[5]ареном **46**, а анализ

спектрофотометрического титрования **49** раствором макроцикла показал наличие комплексов состава 1:1 ( $k_1 = 4.0 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ ) и 2:1 ( $k_2 = 4.1 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) (Рис. 11).



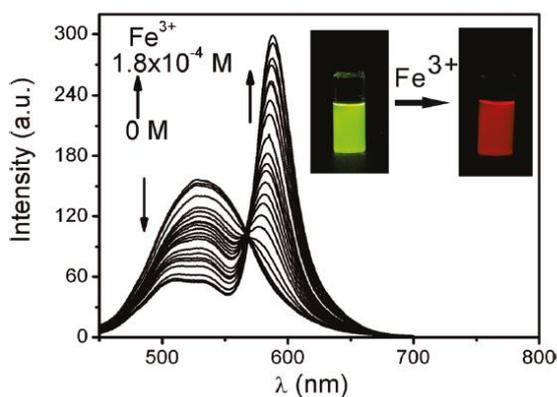
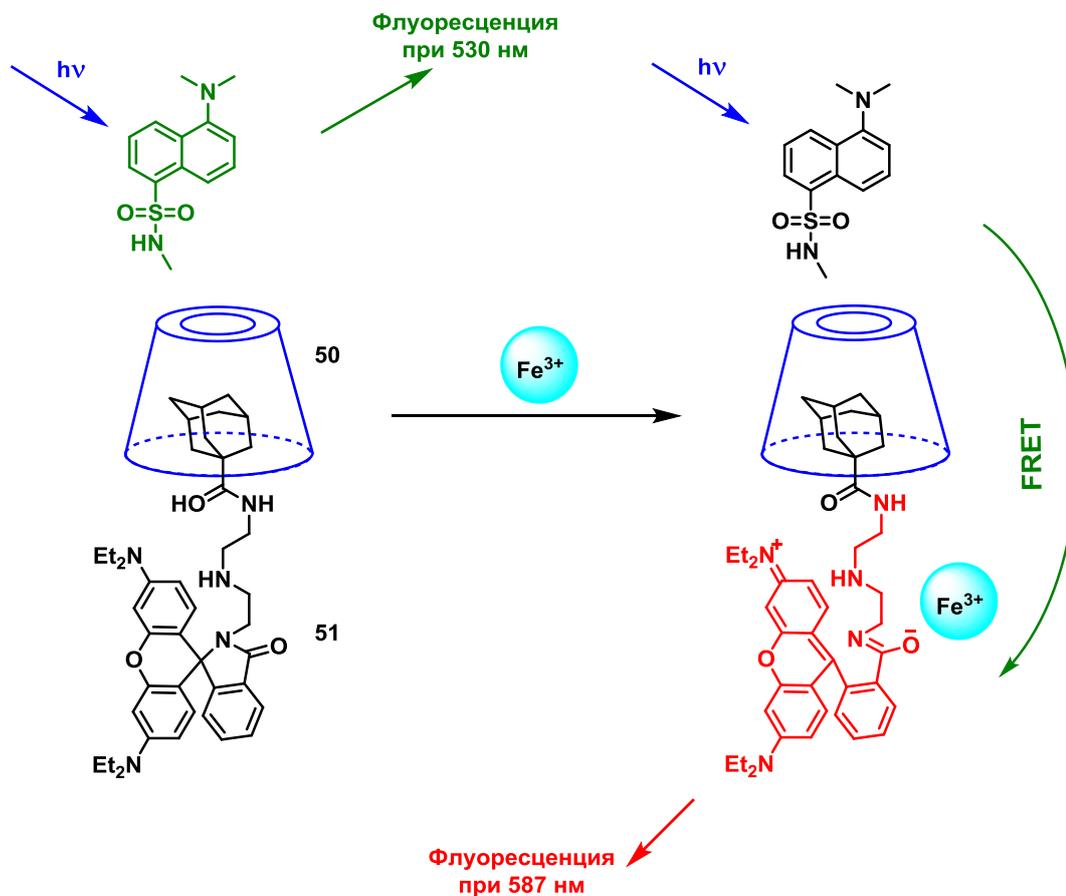
**Рисунок 11** – Комплексообразование красителя **49** с пиллар[5]ареном **46**

Таким образом, за счет взаимодействия молекулы-гостя с макроциклом становится возможным управлять эффективностью переноса энергии в данном красителе. Авторы полагают, что результаты данного исследования могут быть полезны при создании новых сольватохромных сенсоров на основе FRET в сложных матрицах биологического происхождения.

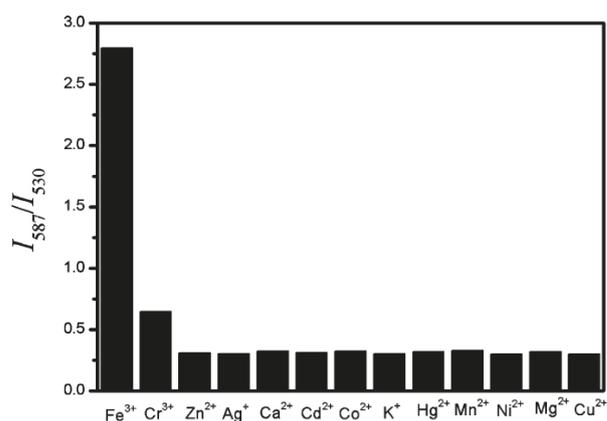
На основе супрамолекулярного ансамбля дансил-производного  $\beta$ -циклодекстрина ( $\beta$ -CD) **50** и родамина, модифицированного адамантаном **51** был создан водорастворимый ратиометрический сенсор на катион  $\text{Fe}^{3+}$  (Схема 27) [85]. Образование устойчивого комплекса включения происходит за счет взаимодействия адамантильной группы с производным  $\beta$ -CD.

Спиrolактамная форма родамина является селективным сенсором на катионы железа (III). При таком взаимодействии происходит раскрытие цикла и образование цвиттерионной формы родамина, обладающей длинноволновой флуоресценцией. Вследствие чего в присутствии  $\text{Fe}^{3+}$  в данной системе реализуется

FRET, где дансильный фрагмент выступает в качестве донора энергии, тогда как комплекс родамина с  $\text{Fe}^{3+}$  становится акцептором энергии (Схема 27).



**Рисунок 12** – Спектр флуоресценции супрамолекулярного комплекса **50** и **51** ( $C = 1 \cdot 10^{-4}$  M) в воде при добавлении катионов железа (III), ( $\lambda_{\text{возб}} = 410$  нм, pH = 7.0). Фотографии супрамолекулярного комплекса в воде при УФ облучении до и после добавления  $\text{Fe}^{3+}$  ( $C = 1 \cdot 10^{-4}$  M)

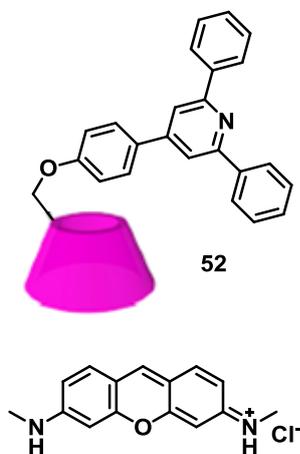


**Рисунок 13** – Изменение интенсивности флуоресценции ( $I_{587}/I_{530}$ ) супрамолекулярного комплекса **50** и **51** ( $C = 1 \cdot 10^{-4}$  M) в воде при добавлении различных катионов металлов ( $C = 8 \cdot 10^{-5}$  M) ( $\lambda_{\text{возб}} = 410$  нм, pH = 7.0)

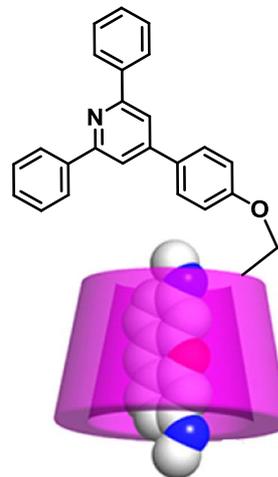
В результате происходит исчезновение максимума флуоресценции дансильного фрагмента (530 нм) и появление новой полосы, соответствующей родамину (587 нм) (Рис. 12).

Исследователями также была изучена селективность новой системы. На рисунке 13 показано, что присутствие в растворе катионов  $\text{Fe}^{3+}$  индуцирует заметное увеличение интенсивности флуоресценции при 587 нм, в то время как присутствие в растворе катионов  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Ag}^+$  не вызывает значительного флуоресцентного отклика.

На основе супрамолекулярного комплекса производного  $\beta$ -циклодекстрина **52** и красителя акридиновый красный был создан новый молекулярный переключатель, растворимый в воде (Рис. 14) [86]. 2,4,6-триарилпиридиновый хромофор, включенный в структуру  $\beta$ -циклодекстрина, способен обратимо изменять свои спектральные свойства при различном рН среды. В данном ансамбле производное  $\beta$ -циклодекстрина **52** выступает в качестве молекулы-хозяина и способно инкапсулировать в своей неполярной полости акридиновый красный, образуя соединения включения (Рис. 15).



**Рисунок 14** – Структура производного  $\beta$ -циклодекстрина **52** и красителя акридиновый красный



**Рисунок 15** – Образование комплекса включения между производным  $\beta$ -циклодекстрина **52** и красителем акридиновый красный

В данной системе полоса флуоресценции триарилпиридинового фрагмента не имеет значительного перекрывания со спектром поглощения акридинового красного, в результате чего перенос энергии затруднен. Однако при

протонировании триарилпиридинового хромофора его спектр флуоресценции смещается, что приводит к значительному перекрытию со спектром поглощения донора энергии и, следовательно, к осуществлению переноса энергии (Схема 28). При добавлении NaOH к такому супрамолекулярному ансамблю наблюдается восстановление флуоресценции непротонированного триарилпиридинового хромофора и затруднение переноса энергии. Система выдерживает не менее 10 циклов изменения pH. Предполагается, что данная система может найти применение при создании новых оптических молекулярных устройств.

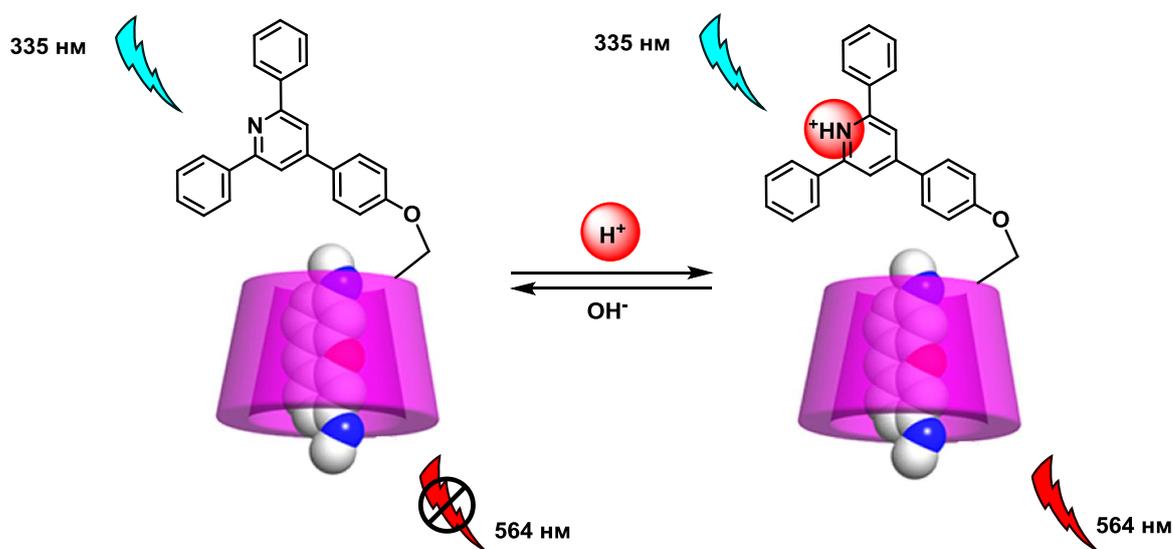
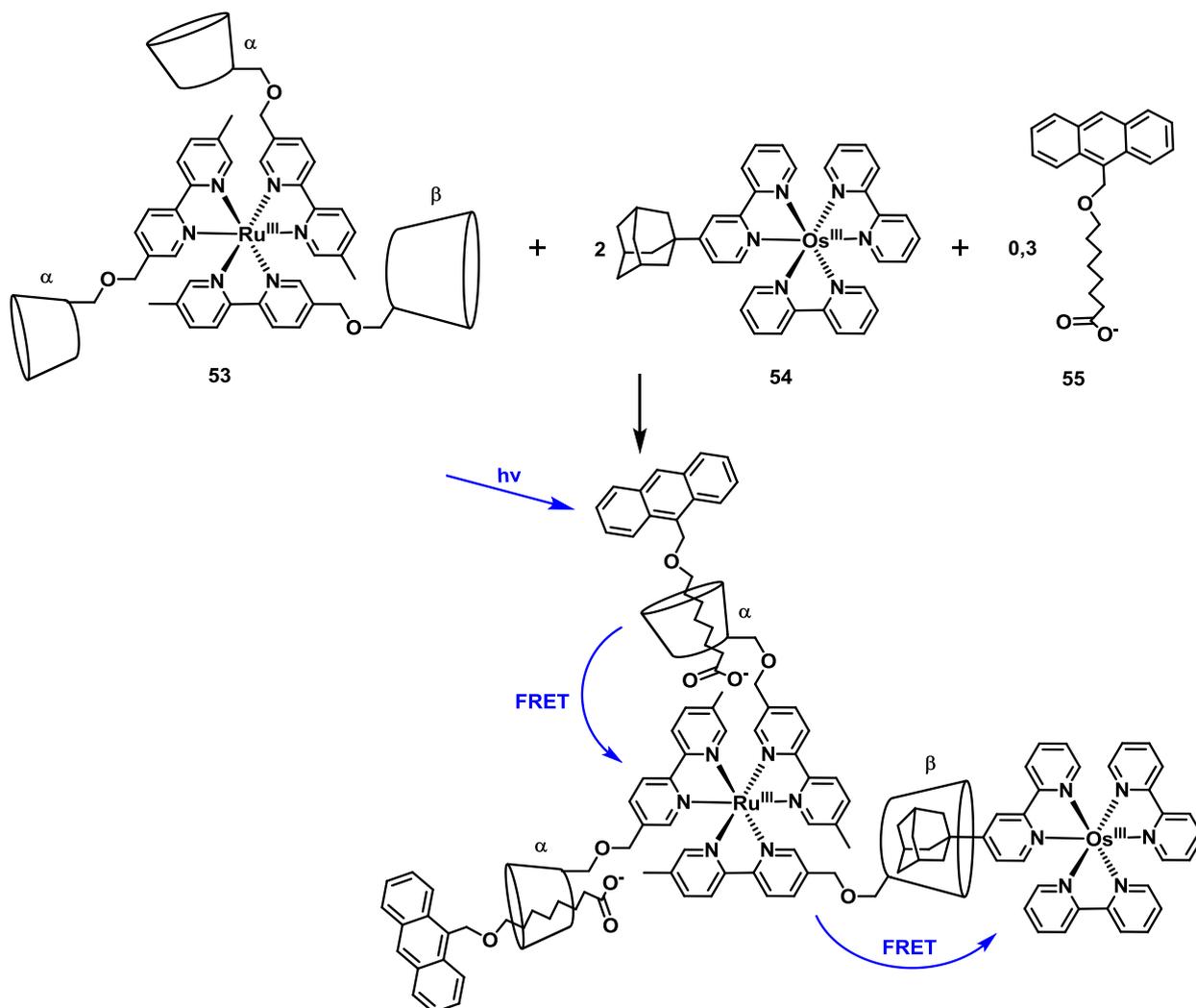


Схема 28

Особый интерес представляют супрамолекулярные системы, в которых осуществляется многоступенчатый, каскадный перенос энергии. J.A. Faiz с коллегами исследовали супрамолекулярный ансамбль, состоящий из трех различных фотоактивных компонентов, в котором происходит двухступенчатый фотоиндуцированный процесс переноса энергии (Схема 29) [87].

Центром такой системы является комплекс рутения с тремя бипиридиновыми лигандами, модифицированными  $\alpha$ - и  $\beta$ -циклодекстринами **53**. Данные макроциклы образуют комплексы «гость-хозяин» с производными антрацена **55** в случае  $\alpha$ -циклодекстринов и с производным адамантана **54** в случае  $\beta$ -циклодекстрина. Процесс переноса энергии в данной системе был изучен с помощью спектроскопии временного разрешения. Как показано на схеме 29 первичным донором в таком супрамолекулярном ансамбле выступает производное антрацена **55**, которое при возбуждении передает энергию на рутениевый комплекс

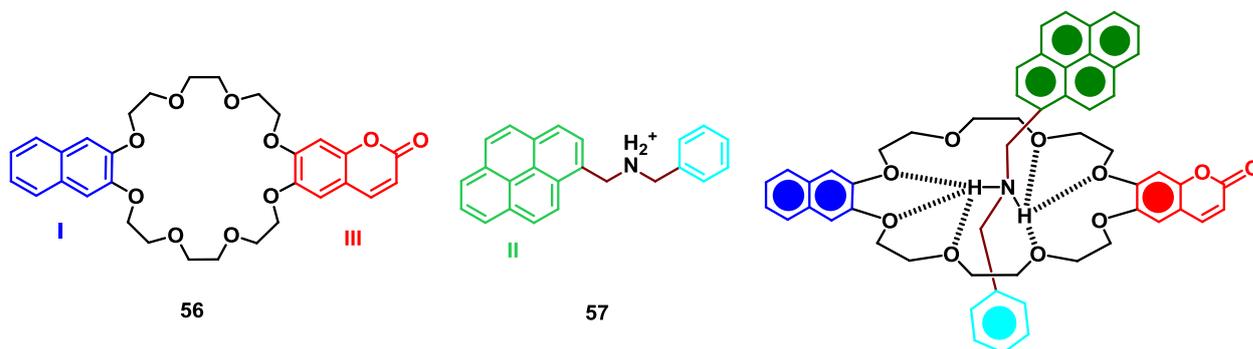
**53.** Молекула **53** в свою очередь является вторичным донором и осуществляет передачу энергии на трипиридиновый комплекса осмия **54**. В результате такого каскадного переноса энергии произошло разгорание флуоресценции конечного акцептора **54** на 20 %.



**Схема 29**

Группой индийских ученых был изучен каскадный перенос энергии на основе органического супрамолекулярного ансамбля [88]. Молекула **56** состоит из двух хромофорных систем, связанных между собой 24-краун-8-эфиром (Рис. 16). Нафталиновый фрагмент **I** выступает в качестве первичного донора энергии, а кумарин **III** играет роль терминального акцептора. Производное пирена **57**, благодаря спектральному перекрытию как с **I**, так и с **III**, является первичным акцептором, а затем вторичным донором при протекании каскадного переноса энергии. Соединения **56** и **57** способны образовывать псевдоротахсан с помощью

водородных связей, а также  $\pi$ - $\pi$ -стэкинг взаимодействия, что было подтверждено методами спектроскопии  $^1\text{H}$  ЯМР и рентгеноструктурного анализа (Рис. 16).



**Рисунок 16** – Структура соединений **56** и **57**, а также их супрамолекулярного ансамбля

С помощью изотермического калориметрического титрования была определена константа образования данного ансамбля  $k = 2.3 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$ . В данной системе осуществляется каскадный перенос энергии от нафталинового фрагмента **I** к пирену **II**, а затем на кумарин **III**. Однако наряду с этим процессом происходит также прямой перенос энергии – с первого донора на конечный акцептор **I**→**III**. С помощью спектроскопии временного разрешения определена эффективность FRET, которая составила 65 % (**I**→**II**), 94 % (**II**→**III**) и 96 % (**I**→**III**).

Таким образом, к настоящему времени получен и исследован целый ряд мультихромофорных систем, участвующих в фотоиндуцированном переносе энергии. Данные соединения являются востребованными в широком спектре областей, они могут быть использованы для создания органических электролюминесцентных устройств, лазеров и биомаркеров, применяемых при долгосрочном мониторинге живых клеток. Важным преимуществом таких систем является возможность использования полезных свойств хромофоров (интенсивного поглощения донора и узкой полосы излучения, высокого квантового выхода акцептора).

Перенос энергии, протекающий в супрамолекулярных системах, имеет ряд преимуществ. Прежде всего, межмолекулярные системы имеют возможность обратимой самоорганизации и разрушения ансамбля при изменении условий. Помимо этого, супрамолекулярная сборка может уменьшать нежелательную агрегацию молекул [86]. Данная стратегия позволяет легко варьировать состав супрамолекулярного ансамбля исходя из конкретных целей исследования.

### 2.3. Основные типы связывания лигандов с ДНК

ДНК является важной биомолекулой, которая способна взаимодействовать с различными молекулами-гостями по нескольким сайтам связывания [89-91]. Такое взаимодействие часто приводит к значительному изменению структуры нуклеиновой кислоты и может влиять на процесс передачи генетической информации. Таким образом, ДНК-связывающие агенты обладают высоким потенциалом использования в качестве химиотерапевтических препаратов, которые могут подавить репликацию генов или транскрипцию в опухолевых клетках [92-96]. Кроме того, такое взаимодействие гость-хозяин может быть использовано для детектирования нуклеиновых кислот в случае, когда при связывании происходит изменение физических свойств молекулы гостя. Чаще всего для визуализации ДНК используют органические красители, обеспечивающие изменение оптического отклика при связывании с макромолекулой [97]. Таким образом, разработка молекул, способных связываться с ДНК с высокой селективностью и большой константой ассоциации, является одной из самых важных и сложных задач в этой области.

Связывание лигандов с макромолекулой ДНК может осуществляться как за счет образования ковалентных связей [98], так и посредством межмолекулярных взаимодействий [99]. В этом случае комплексообразование происходит за счет образования водородных связей, электростатических и гидрофобных взаимодействий, а также сил Ван-дер-Ваальса.

В зависимости от локализации молекулы-гостя в структуре ДНК различают три типа связывания (Рис. 17).



Рисунок 17 – Типы связывания лигандов с ДНК

1. Механизм *внешнего связывания* основан на неспецифических электростатических взаимодействиях между положительно заряженными атомами лиганда (например,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  или полиамины) с сахарно-фосфатным скелетом ДНК.

2. При *интеркаляции* происходит встраивание молекулы между парами азотистых оснований ДНК. Такая молекула должна быть плоской (как правило, это полициклические ароматические системы), достаточно гидрофобной и вступать в  $\pi$ - $\pi$ -стэкинг взаимодействия с нуклеиновыми основаниями [100-103].

3. *Залегание* лиганда *в бороздку ДНК* – третий тип связывания молекул с ДНК. При закручивании цепей ДНК в двойную спираль образуются две бороздки – большая и малая. Небольшие органические молекулы обычно взаимодействуют с малой бороздкой, а связывание белков происходит в большой бороздке ДНК [102]. Комплекс лиганд-ДНК стабилизируется за счет электростатических и Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, а также благодаря образованию водородных связей [104].

Соединения, потенциально пригодные для создания на их основе лекарственных препаратов, обычно являются интеркаляторами или связываются с малой бороздкой ДНК. Однако внешние электростатические взаимодействия лиганд-ДНК также играют важную роль, поскольку ассоциация положительно заряженных противоионов с полианионом ДНК оказывает сильное влияние на конформацию и стабильность молекулы нуклеиновой кислоты.

Большинство интеркалирующих агентов используются в качестве антибактериальных, противопаразитарных и противоопухолевых средств, поскольку интеркаляция ингибирует репликацию ДНК и процесс транскрипции, тем самым подавляя деление и рост клеток [105-107].

Многие молекулы, связывающиеся с малой бороздкой ДНК, также обладают высоким потенциалом в качестве терапевтических реагентов [108]. Сиквенс-специфичные лиганды могут быть использованы в хромосомном анализе. Кроме того, такие соединения обладают различной биологической активностью: противоопухолевой, антипротозойной, противовирусной и антибактериальной. Однако большая часть исследований агентов, залегающих в бороздке ДНК, посвящена разработке противораковых агентов.

## 2.4. Взаимодействие стирловых производных с ДНК

В настоящее время стирловые красители широко используются для детектирования биомолекул. Благодаря тому, что при взаимодействии с ДНК флуоресценция данных соединений может разгораться в сотни раз, а также из-за их способности проникать в клетку, стирловые красители успешно применяются для визуализации внутриклеточной ДНК [109].

Группой N. Акбай был синтезирован и исследован ряд моно- и бисстириловых красителей (Рис. 18) [109].

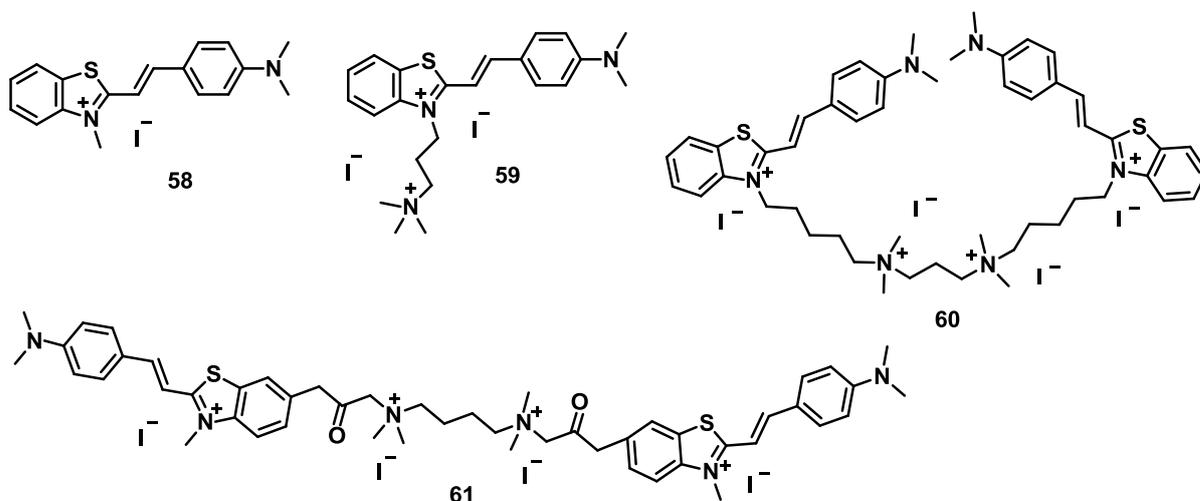


Рисунок 18 – Структура моно- и бисстириловых красителей 58-61

Взаимодействие красителей с ДНК было изучено с помощью спектрофотометрического и флуориметрического титрований. Для всех красителей наблюдается батохромный сдвиг максимума поглощения при связывании с ДНК, кроме того во всех случаях изменение спектров поглощения красителей при добавлении к ним ДНК имеет нелинейный характер. Вначале титрования наблюдается падение оптической плотности, а при увеличении концентрации ДНК наблюдается восстановление данного параметра. Данные спектральные изменения свидетельствуют об образовании H-агрегатов красителя в ДНК. На основе данных флуориметрического титрования были рассчитаны константы устойчивости комплексов красителей с ДНК ( $k_b$ ) и число пар оснований ДНК, занятых одной связанной молекулой красителя ( $n$ ) (Таблица 4).

**Таблица 4** – Параметры связывания красителей **58-61** с ДНК

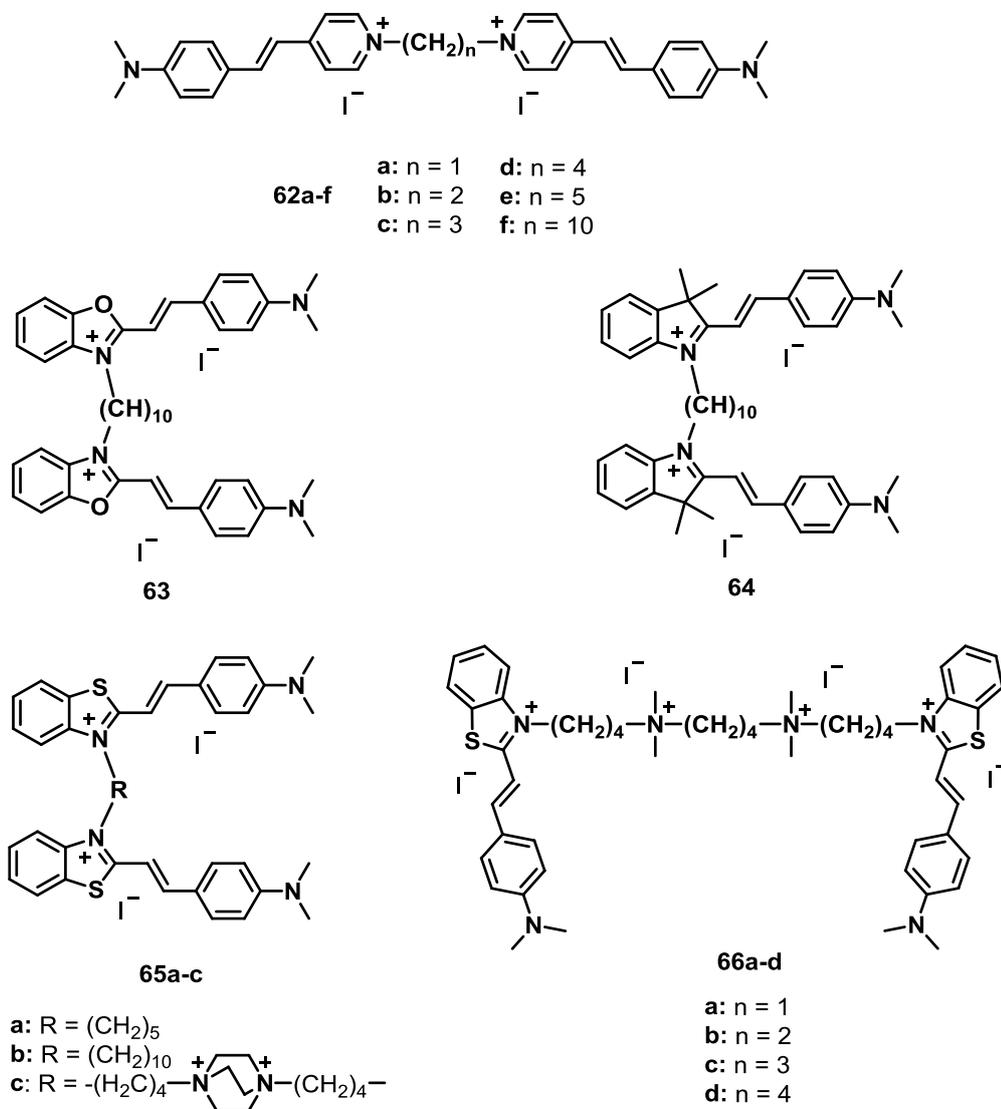
Краситель	$k_b \cdot 10^{-4}, M^{-1}$	n
<b>58</b>	1.8±0.3	3.4±0.8
<b>59</b>	6.2±0.9	2.3±0.5
<b>60</b>	10.0±1.4	4.9±2.2
<b>61</b>	2.7±0.8	14.5±3.2

Таким образом, введение N-алкиламониийного заместителя в структуру красителя **58** приводит к увеличению константы связывания примерно в 3 раза. Для бисстирилового красителя **60** с положительно заряженным линкером оценочная константа связывания возрастает в 5 раз по сравнению с исходным мономером **58**. Однако константа связывания другого бисстирилового красителя **61** близка по значению к константе **58**, таким образом, положение связывающего линкера и его структура значительно влияют на сродство к ДНК.

На основании числа пар оснований ДНК, связанных одной молекулой красителя, был сделан вывод о типе взаимодействий красителя с ДНК. В случае моностириловых красителей **58** и **59** исследователи предполагают интеркаляцию. Бисстириловые красители **60** и **61**, отличающиеся друг от друга положением линкера, демонстрируют различные типы комплексов лиганд-ДНК. Значение n для **60** указывает на бис-интеркалирующий механизм связывания, тогда как **61** связывается с ДНК посредством укладки в бороздку. Кроме того была изучена селективность красителей к полинуклеотидам А-Т (Аденин-Тимин) и G-C (Гуанин-Цитозин). Наибольшая селективность наблюдается в случае бисстирилового красителя **61** по отношению к А-Т последовательностям, моностирил **59** проявляет меньшую избирательность к А-Т нуклеотидам, тогда как остальные красители не являются селективными.

Группой украинских ученых была получена серия бисстириловых красителей, отличающихся друг от друга гетероциклическими фрагментами и мостиковой группой, связывающей стириловые хромофоры (Рис. 19) [110-112]. Было показано, что в ряду красителей пиридиниевого типа при увеличении длины линкера от n = 5 наблюдается повышение сродства красителей к ДНК по сравнению с исходным мономером, что приводит к значительному разгоранию флуоресценции бисстириловых красителей. Наибольшее разгорание

флуоресценции (в 134 раза) при взаимодействии с ДНК проявляет краситель **62e**. Для красителей **62a-b**, у которых расстояние между связанными хромофорами мало, на основании спектров поглощения и компьютерного моделирования было предположено образование в растворе J-агрегатов.

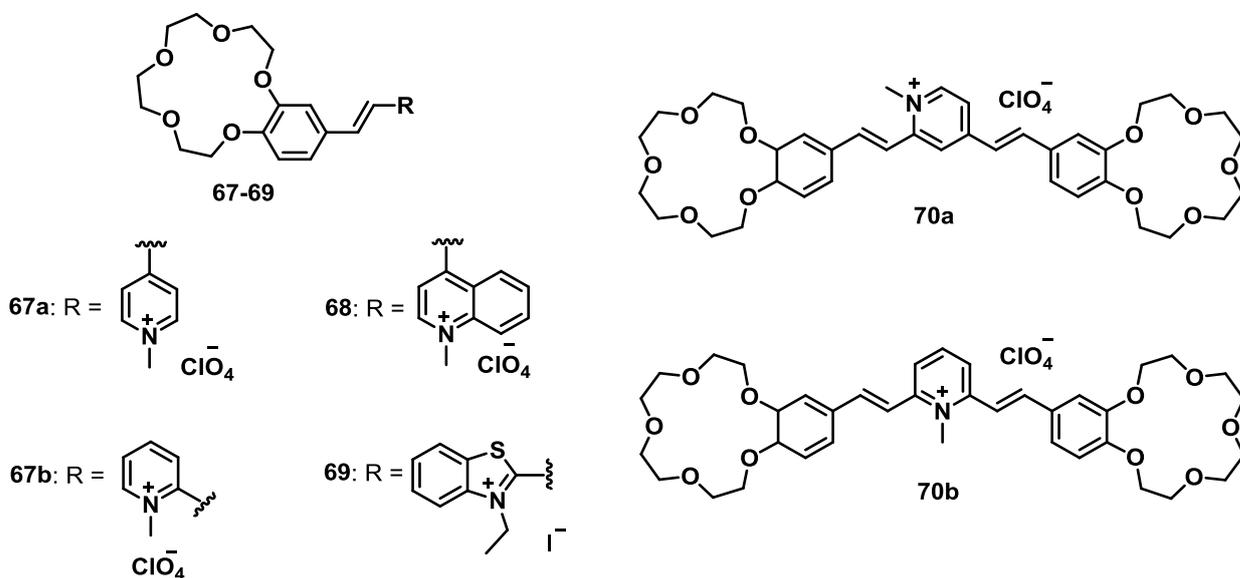


**Рисунок 19** – Структура бисстириловых производных **62-66**

Бисстириловые красители, содержащие в своей структуре фрагменты бензотиазола, бензоксазола и 1,3,3-триметил-3-индола **63-65**, напротив, демонстрируют меньшую интенсивность флуоресценции в присутствии ДНК, чем их моностириловые аналоги. Кроме того, было показано, что красители бензотиазолиевого типа **66a-d** и **65c** являются эффективными сенсорами для ДНК в условиях двухфотонного возбуждения.

Таким образом, данные стириловые красители могут быть использованы в качестве флуоресцентных маркеров для обнаружения и визуализации ДНК.

Д. В. Бердниковой с коллегами было изучено влияние размера гетероциклического фрагмента и положения стироловых заместителей на взаимодействие красителей с ДНК [113]. Для этой цели были получены моно- и бисстириловые краун-содержащие красители **67-70**, представленные на рисунке 20.

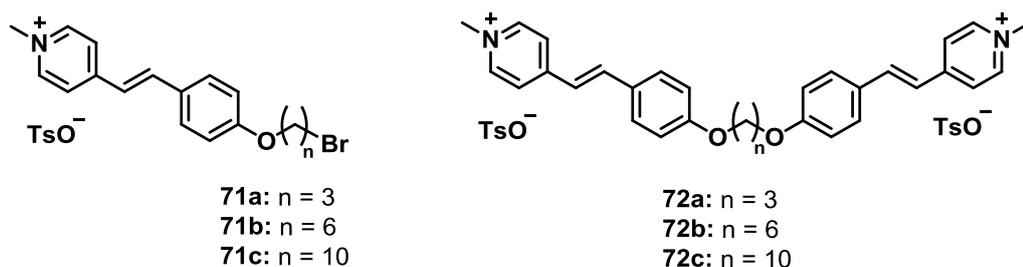


**Рисунок 20** – Структура моно- и бисстириловых краун-содержащих красителей **67-70**

Для оценки связывания красителей с ДНК был проведен ряд исследований, включающих оптическую спектроскопию, линейный дихроизм и изучение тепловой денатурации ДНК в присутствии красителей. Во всех случаях при добавлении к растворам красителей ДНК наблюдается батохромный сдвиг максимума поглощения, а также разгорание флуоресценции красителей. При этом бисстириловые красители **70a-b** показали наибольшее увеличение флуоресценции в 28-54 раза, тогда как флуоресценция моностириловых производных **67-69** изменяется слабее – в 4-14 раз. Константы связывания красителей **67a** и **70a-b** находятся в диапазоне между  $k_b = 2 \cdot 7 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ , в случае моностириловых красителей **68** и **69** данный показатель существенно ниже:  $k_b = 5.9 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  и  $k_b = 2.8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  соответственно. Кроме того, было предположено образование агрегатов красителей вдоль основной цепи ДНК при высокой концентрации лиганда. На основании данных спектроскопии линейного дихроизма и тепловой денатурации ДНК для всех красителей предложена модель взаимодействия посредством интеркаляции. Также было показано, что красители **67b** и **69** со стироловым заместителем в *орто*-положении имеют наименьшие константы связывания, что, по-видимому, объясняется стерическими трудностями, которые могут препятствовать полному

доступу лигандов к карману ДНК. Экспериментальные данные и сравнение с результатами, полученными для моно- и бисстириловых красителей аналогичной структуры, позволяют сделать вывод, что в данном случае влияние краун-эфирного фрагмента на образование комплексов с ДНК незначительно.

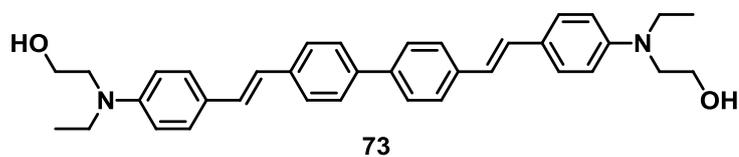
В продолжение исследования влияния структуры стириловых производных на взаимодействие с ДНК была получена серия стириловых красителей, содержащих алкоксильную группу (Рис. 21) [114].



**Рисунок 21** – Структура моно- и бисстириловых красителей **71-72**

Было обнаружено, что длина алкильного заместителя оказывает решающее влияние на режим связывания красителей. Для моностириловых производных удлинение алкилбромидной группы приводит к последовательному переключению режима связывания от интеркаляции (краситель **71a**) к связыванию в малой бороздке (краситель **71b**) и затем к связыванию в большой бороздке (краситель **71c**). Введение второго стирилового хромофора в случае красителей **72a** и **72b** приводит к связыванию в малой бороздке ДНК. В то же время бисстириловое производное **72c**, линкер которого содержит десять атомов углерода, как и в случае моностирилового красителя **71c**, взаимодействует с большой бороздкой ДНК. Это свойство позволяет использовать данные красители в качестве перспективных маркеров для исследования ДНК-связывающих белков. Константа устойчивости была определена только в случае красителя **71a** ( $k_b = 1.4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ ), все остальные красители образуют хиральные агрегаты в присутствии ДНК, что мешает точному определению данного параметра. Таким образом, полученные результаты могут быть использованы для рационального проектирования флуоресцентных лигандов, демонстрирующих желаемые типы взаимодействий ДНК-лиганд.

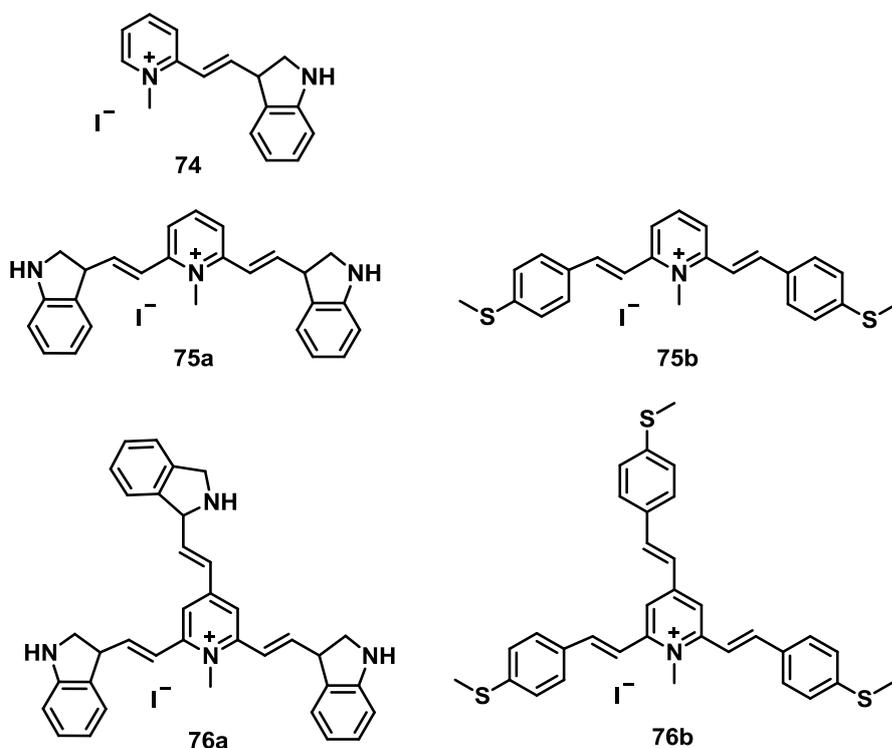
С целью разработки эффективного флуоресцентного маркера для двухфотонной визуализации ДНК китайскими учеными получено бисстириловое производное **73** (Рис. 22) [115].



**Рисунок 22** – Структура бисстирилового красителя **73**

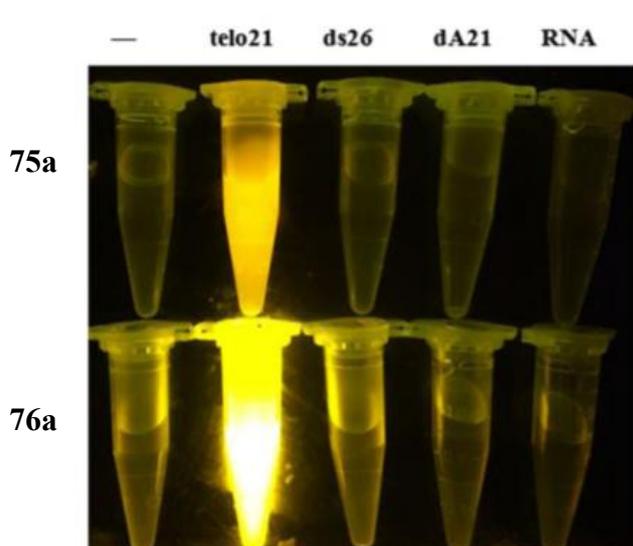
Исследователями была рассчитана константа связывания данного красителя с ДНК равная  $2.5 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ , предложен возможный механизм взаимодействия посредством залегания лиганда в бороздку ДНК, а также определено сечение двухфотонного поглощения красителя. Анализ флуоресцентных характеристик данного соединения показал, что соединение **73** можно использовать в качестве эффективного флуоресцентного зонда для одно- и двухфотонного детектирования ДНК.

Ли с коллегами синтезировали и охарактеризовали серию стириловых производных, отличающихся друг от друга количеством стириловых хромофоров и гетероциклическими фрагментами (Рис. 23) [116].

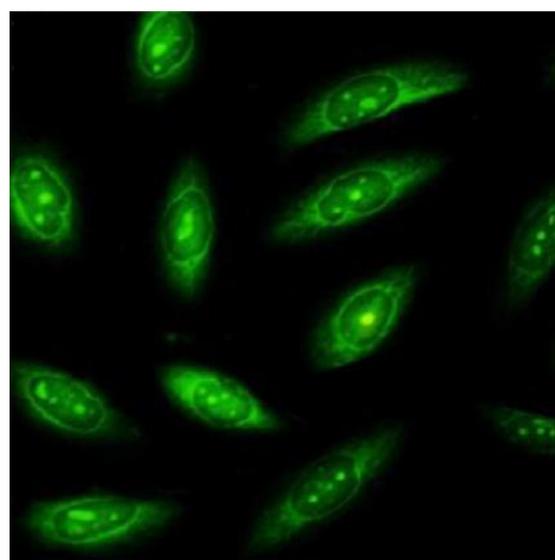


**Рисунок 23** – Структура стириловых производных **74-76**

Исследования показали, что данные соединения способны селективно связываться с G-квадруplexами по сравнению с другими типами ДНК. В целом бисстириловые красители **75a-b** демонстрируют лучшую селективность и интенсивность флуоресцентного отклика, чем моно- и трисстириловые красители. Было обнаружено, что красители **74**, **75a** и **76a**, содержащие индольный гетероциклический фрагмент, проявляют лучшую селективность по отношению к квадруplexам теломерной ДНК *telo21* по сравнению с другими нуклеиновыми кислотами – двухцепочечной ДНК *ds26*, одноцепочечной ДНК *dA21* и РНК (Рис. 24).



**Рисунок 24** – Изменение флуоресценции **75a**, **76a** ( $\lambda_{\text{возб}} = 302$  нм) в присутствии различных нуклеиновых кислот: G-квадруplex *telo21*, двухцепочечная ДНК *ds26*, одноцепочечная ДНК *dA21* и РНК в 10 мМ буферном растворе Трис- HCl, 60 мМ KCl, pH = 7.4

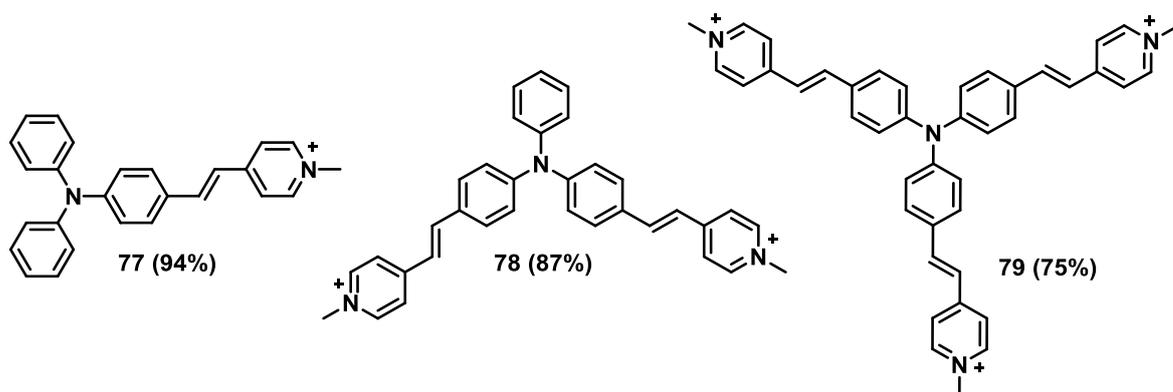


**Рисунок 25** – Визуализация живых клеток линии PC3 красителем **75a** в присутствии рибонуклеазы

Соединение **75a** продемонстрировало наилучшие показатели селективности и чувствительности к *telo21*, а также самую высокую константу связывания ( $k_b = 5.02 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ ), кроме того **75a** имеет самый низкий предел обнаружения *telo21* среди исследуемых соединений (33.07 нМ). Также была продемонстрирована способность **75a** к отображению G-квадруplexов в нативном электрофорезе в полиакриламидном геле и в живых клетках линии PC3 (Рис. 25).

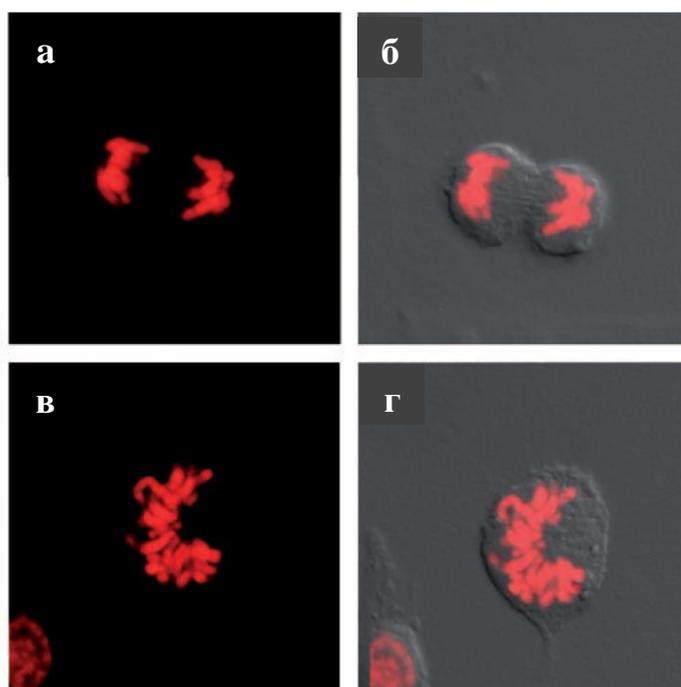
На основе фрагмента трифениламина получен ряд моно-, бис- и трисстирил(пиридиновых) производных **77-79**, проявляющих высокое сродство к

двухцепочечной ДНК и обладающих большим сечением двухфотонного поглощения (Рис. 26) [117].



**Рисунок 26** – Структура стириловых производных **77-79**

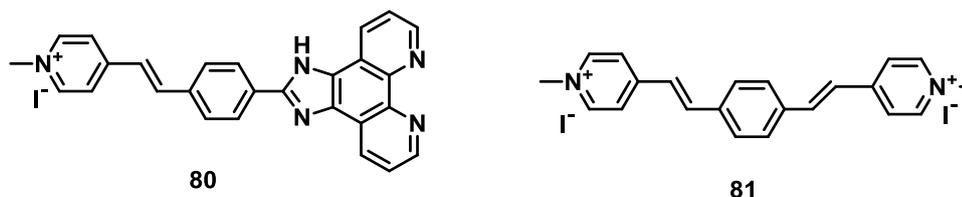
Согласно исследованиям моностириловый краситель **77** проявляет слабую аффинность к ДНК, тогда как красители **78** и **79**, напротив, демонстрируют значительное разгорание флуоресценции в присутствии ДНК. Одно- и двухфотонная конфокальная визуализация клеток с помощью данных соединений показала, что они обладают красной флуоресценцией ( $\lambda_{\max} = 660-680$  нм) и обеспечивают высококонтрастную визуализацию ядерной ДНК (Рис. 27).



**Рисунок 27** – Изображения получены с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии клеток линии CHO-K1 в различных состояниях митоза. а и б – флуоресценция **79** в хромосомах клеток, б и г – наложение фазово-контрастного и флуоресцентного изображений

Таким образом, уникальные оптические свойства соединений **78-79** в сочетании с их высокой фотостабильностью и простотой синтеза делают эти соединения чрезвычайно привлекательными для использования в конфокальной и двухфотонной флуоресцентной микроскопии биологических объектов.

С целью разработки потенциальных флуоресцентных маркеров для обнаружения ДНК были получены моно- и бисстириловые красители **80-81**, представленные на рисунке 28 [118].



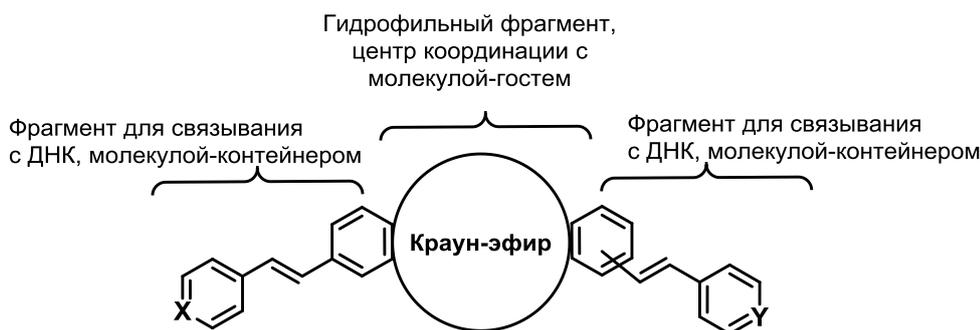
**Рисунок 28** – Структура стириловых производных **80-81**

С помощью уравнения Скэтчарда были рассчитаны константы устойчивости комплексов данных красителей с ДНК:  $k_b = 3.06 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$  в случае соединения **80** и  $k_b = 1.08 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$  для красителя **81**. Данный показатель сопоставим по значению с константой ассоциации для красителя DAPI, который используется в биохимическом анализе [119]. Кроме того ММТ-тест показал, что полученные соединения имеют низкую токсичность и могут применяться для двухфотонного детектирования живых клеток.

Таким образом, к настоящему времени получен и исследован целый ряд стириловых производных. На основании обзора литературы можно сделать вывод о развитии новых областей применения стириловых красителей. Данные соединения используются в качестве сенсоров, флуоресцентных маркеров, а также органических электролюминесцентных материалов. Однако в литературе отсутствуют примеры красителей, в которых два стириловых фрагмента связаны между собой с помощью краун-эфирной группы, тогда как данный фрагмент может послужить дополнительным сайтом связывания катионов металлов или органических молекул, а также улучшить растворимость таких соединений в водных растворах, что особенно важно для их применения в биофармацевтических исследованиях. Одновременно с этим наличие в структуре красителя двух стириловых фрагментов позволит улучшить оптические характеристики системы, а также обеспечить более прочное связывание с различными рецепторами.

### 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Объектами синтеза и исследования в настоящей диссертационной работе являлись бисстириловые красители, в которых два стириловых хромофора объединены через 18-краун-6 эфирный фрагмент (Рис. 1). Такая структура обеспечивает независимость двух стириловых фрагментов относительно друг друга. Присутствующий в молекулах краун-эфирный фрагмент выполняет сразу несколько функций: способствует лучшей растворимости красителей в полярных органических растворителях и в воде, а также является центром координации молекул-гостей. Известно также, что краун-эфиры влияют на биологическую активность соединения [120-122], и могут участвовать в координации с ДНК [123-125]. Кроме того, как отмечалось в Литературном обзоре данной диссертационной работы, при всем многообразии известных к настоящему времени стириловых производных, бисстириловые красители, представленные в данной диссертационной работе, ранее не были известны.



**Рисунок 1** – Назначение структурных фрагментов краун-содержащего бисстирилового красителя

В настоящей работе исследования проводились по нескольким направлениям, а именно: поиск методов синтеза симметричных и несимметричных стириловых производных, определение их оптических характеристик, а также получение функциональных супрамолекулярных ансамблей на основе данных красителей. Поскольку бисстириловые красители находят применение при разработке маркеров биологических объектов и флуоресцентных компонентов диагностических медицинских препаратов, то наиболее важными исследованиями новых соединений этого класса является анализ поведения в процессах, связанных с биологическими объектами.

Таким образом, в работе получено и исследовано 4 вида супрамолекулярных ансамблей, имитирующих некоторые процессы в биологических объектах.

- Супрамолекулярные ансамбли с моностириловыми производными, содержащими аммонийный заместитель. Основной целью исследования в данном разделе являлось изучение фотоиндуцированного переноса энергии.
- Супрамолекулярные ансамбли несимметричного бисстирилового производного с молекулами-контейнерами – 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрином и кукурбит[7]урилом.
- Супрамолекулярные ансамбли бисстириловых краун-содержащих красителей с ДНК.
- Трехкомпонентная супрамолекулярная система кукурбит[7]урил – краситель – ДНК.

### 3.1. Синтез моно- и бисстириловых производных

При подготовке данного раздела использованы собственные публикации автора [126-127].

#### 3.1.1. Синтез моностириловых производных

Для подбора наиболее подходящих по физико-химическим характеристикам моностириловых красителей, был получен ряд соединений, в которых варьировался тип гетероциклического фрагмента и длина алкильной цепи между аммонийным заместителем и атомом азота гетероциклического фрагмента. Краситель **2** получен в результате двухстадийного синтеза (Схема 1). Вначале проводили конденсацию 4-(диметиламино)бенzalдегида с 4-пиколином в основных условиях с получением красителя **1** [128]. Далее, региоселективная кватернизация полученного соединения гидробромидом 2-бромэтиламина приводила к образованию *E*-изомера целевого продукта **2**, который выделяли в виде перхлората путем замены аниона брома на перхлорат анион при добавлении в раствор красителя перхлората натрия.

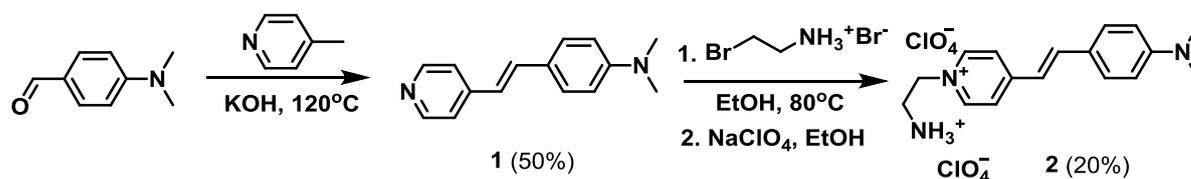


Схема 1

Для получения моностирилового красителя **4**, содержащего более длинный алкильный заместитель, напротив, вначале проводили реакцию кватернизации 4-пиколина гидробромидом 3-бромпропиламина. А затем конденсировали полученную четвертичную соль **3** с 4-(диметиламино)бенzalдегидом в *n*-бутаноле при кипячении в присутствии пиридина в качестве основания, что приводило к образованию *E*-изомера целевого продукта **4** (Схема 2).

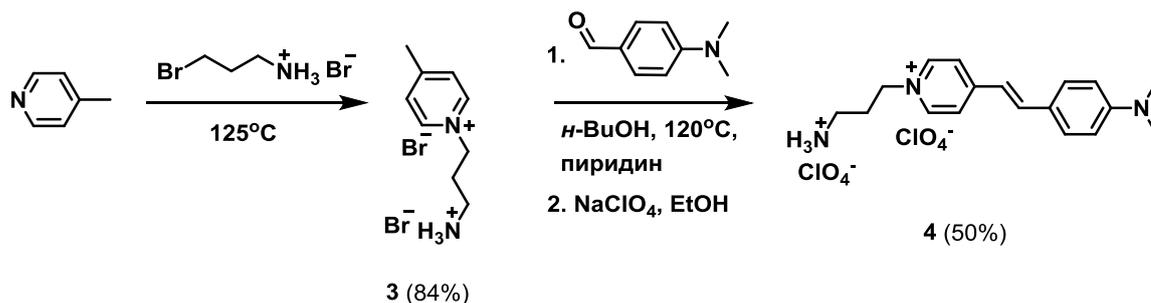


Схема 2

Моностириловый краситель **6**, содержащий фрагмент бензотиазола, был получен с помощью двухстадийного синтеза, аналогичного методу получения соединения **4** (Схема 3). Вначале проводили реакцию кватернизации 2-метилбензотиазола гидробромидом 3-бромпропиламина в толуоле при кипячении. Конденсация полученной четвертичной соли **5** с 4-(диметиламино)бензальдегидом в этаноле или уксусном ангидриде при кипячении приводила к образованию *E*-изомера целевого продукта **6**. Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР полученного соединения приведен на рисунке 2.

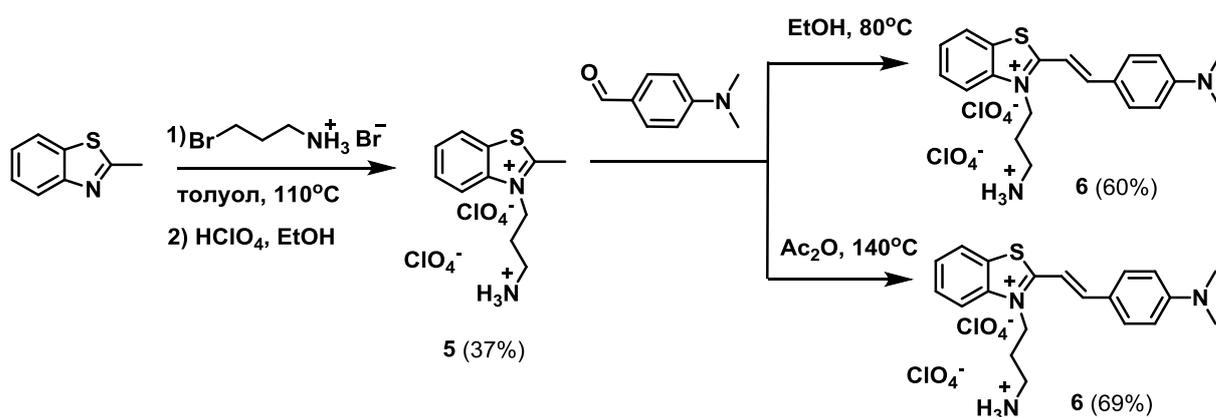


Схема 3

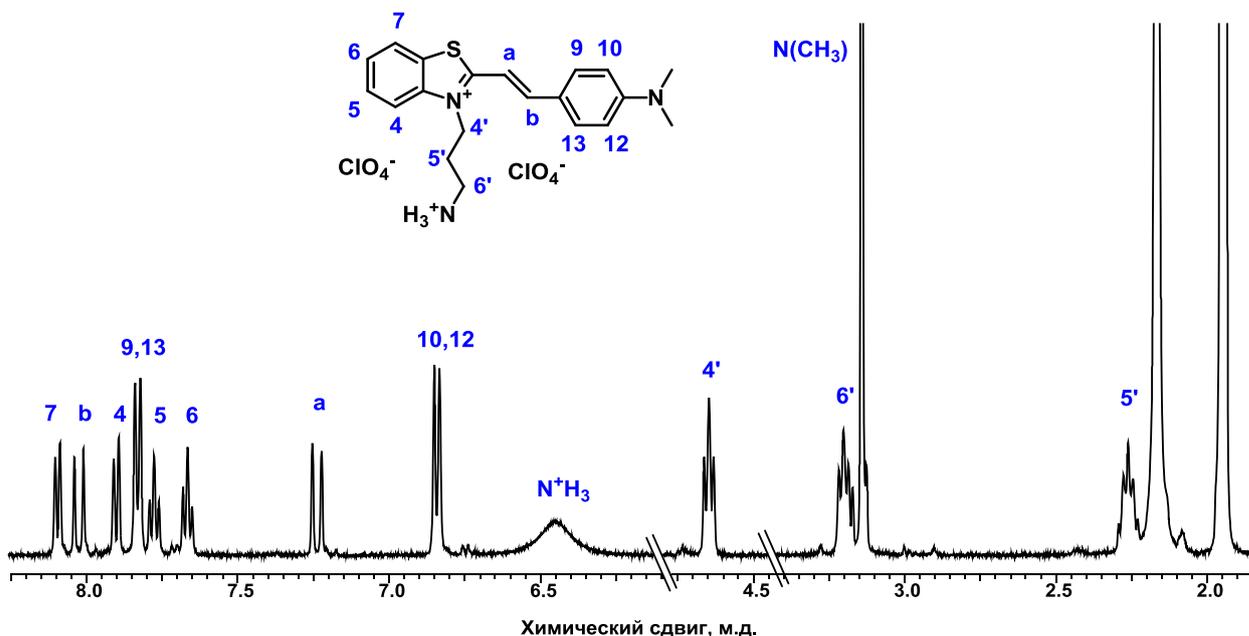


Рисунок 2 – Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР моностирилового красителя **6** в CD<sub>3</sub>CN

Также были получены и охарактеризованы моностириловые красители **8** и **9**, содержащие в своей структуре краун-эфирный фрагмент. Для этого вначале проводили реакцию кватернизации 4-пиколина метил-*n*-толилсульфонатом при нагревании (Схема 4).

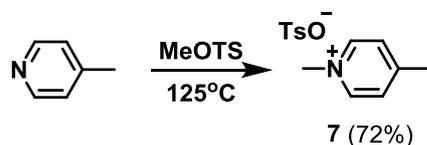


Схема 4

А затем конденсировали полученную четвертичную соль **7** с соответствующим формильным производным кислородного или диазакраун-эфира в присутствии основания (Схема 5). Красители **8** и **9** были выделены в виде перхлоратов при добавлении к их растворам расчетного количества хлорной кислоты.

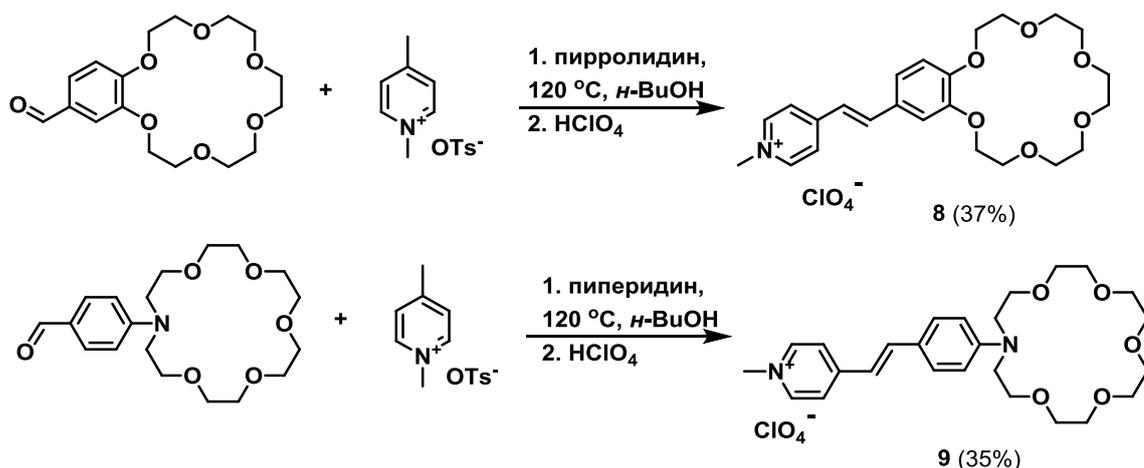
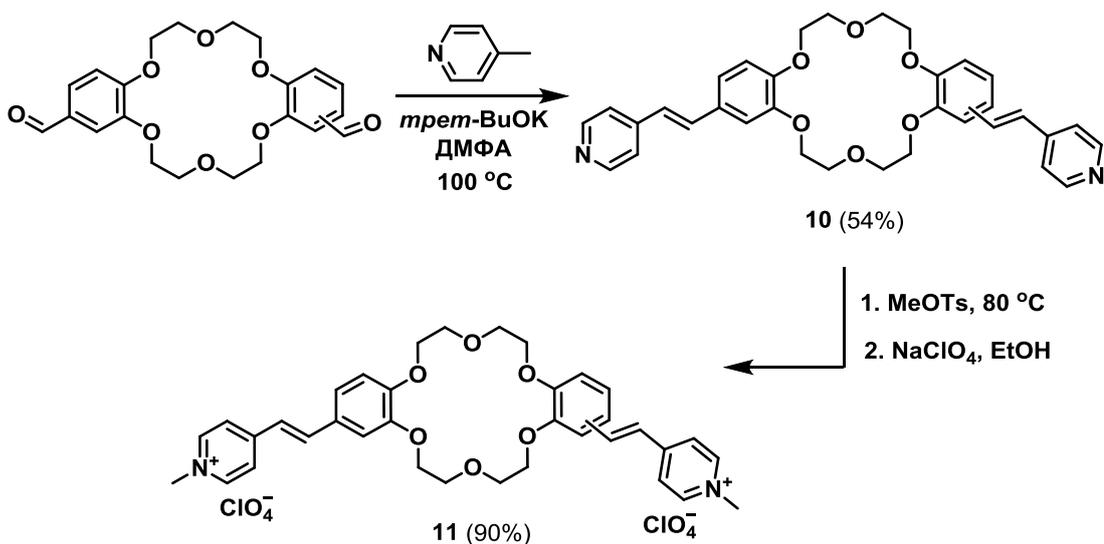


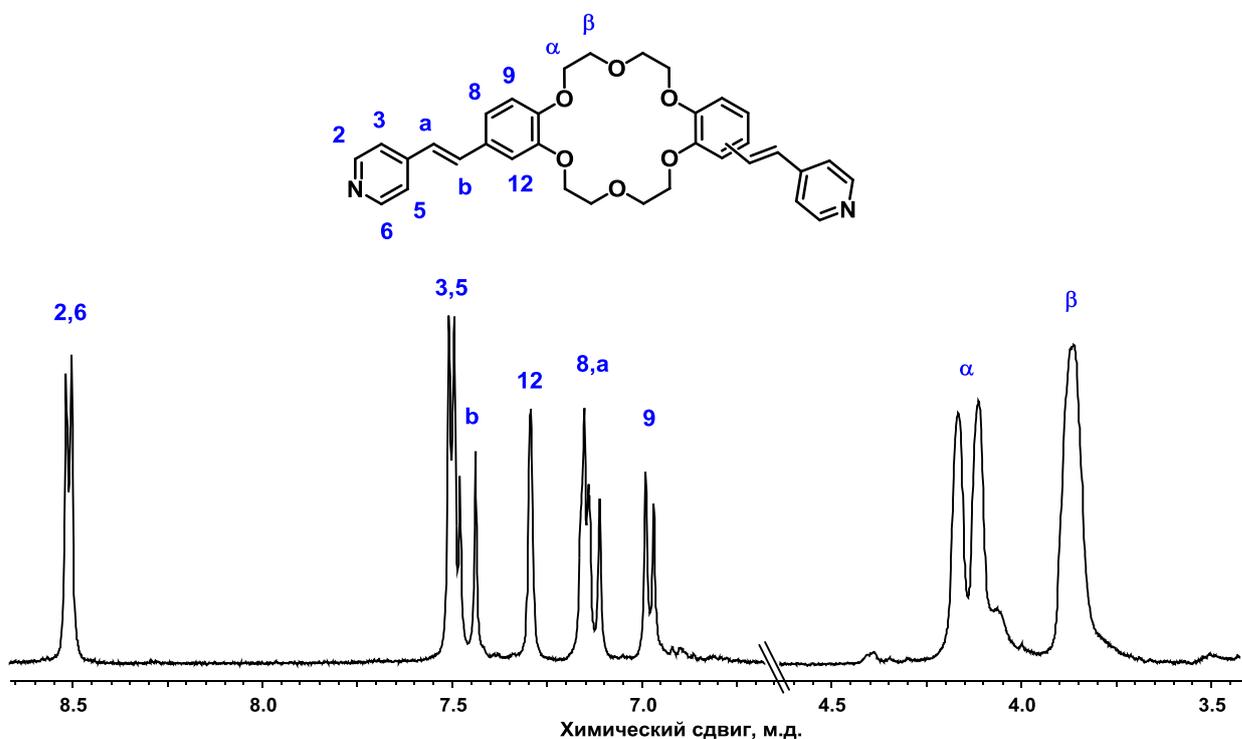
Схема 5

### 3.1.2. Синтез бисстириловых красителей, содержащих фрагмент дибензо-18-краун-6 эфира

Бисстириловый краситель **10** получен с помощью конденсации 4-пиколина с диформильным производным 18-краун-6-эфира в ДМФА, в присутствии сильного основания *трет*-БуОК (Схема 6). Кватернизация соединения **10** избытком метил-*n*-толилсульфоната приводила к образованию 18-краун-6-содержащего бисстирилового красителя **11**, который выделяли в виде перхлората путем добавления расчетного количества хлорной кислоты (Схема 6). Согласно данным спектроскопии ЯМР соединения **10** и **11** были получены в виде *E,E*-изомеров (Рис. 3).



**Схема 6**



**Рисунок 3** – Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР бисстирилового красителя **10** в  $\text{DMSO-}d_6$

Для получения несимметричного бисстирилового красителя **12** проводили аналогичную реакцию кватернизации соединения **10** при недостатке метил-*n*-толилсульфоната: **10**:MeOTf = 1:0,8 (Схема 7). В результате реакции образовалась смесь моно- и бис-кватернизованных продуктов (масс-спектр реакционной смеси (ИЭР) в MeCN,  $m/z$ : 298 [**11**] $^{2+}$ ,  $m/z$ : 581 [**12**] $^{+}$ ). Таким образом, даже при проведении реакции в недостатке кватернизирующего агента выход симметричного красителя **11** больше по сравнению с монокватернизованным красителем **12**.

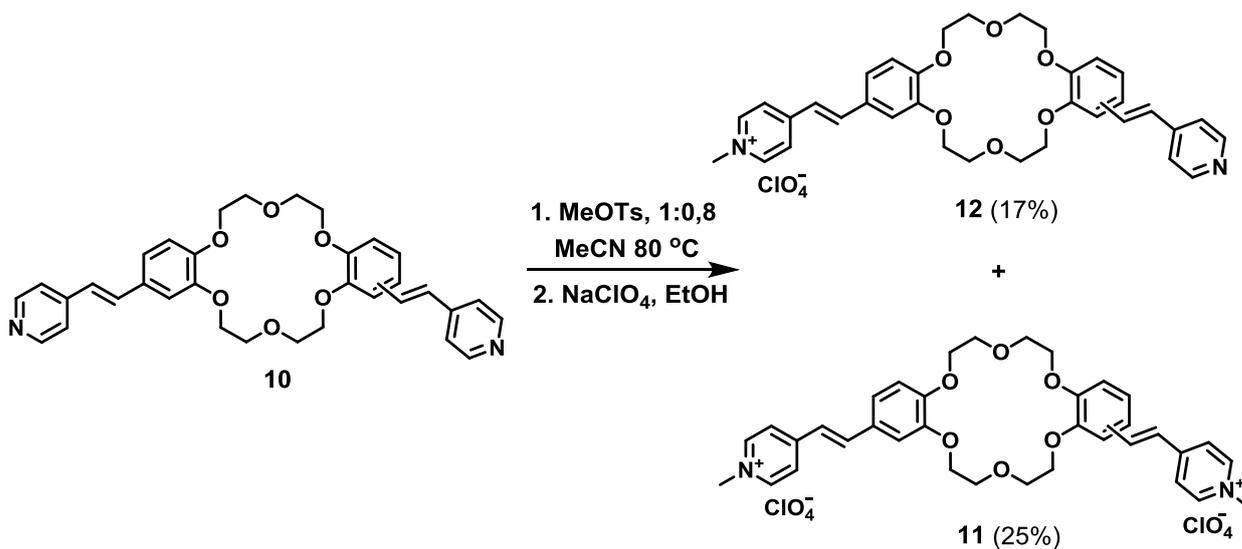


Схема 7

Выделение целевого продукта **12** проводилось с помощью колоночной хроматографии. Согласно данным <sup>1</sup>H ЯМР бисстириловый краситель **12** получен в виде *E,E*-изомера (Рис. 4).

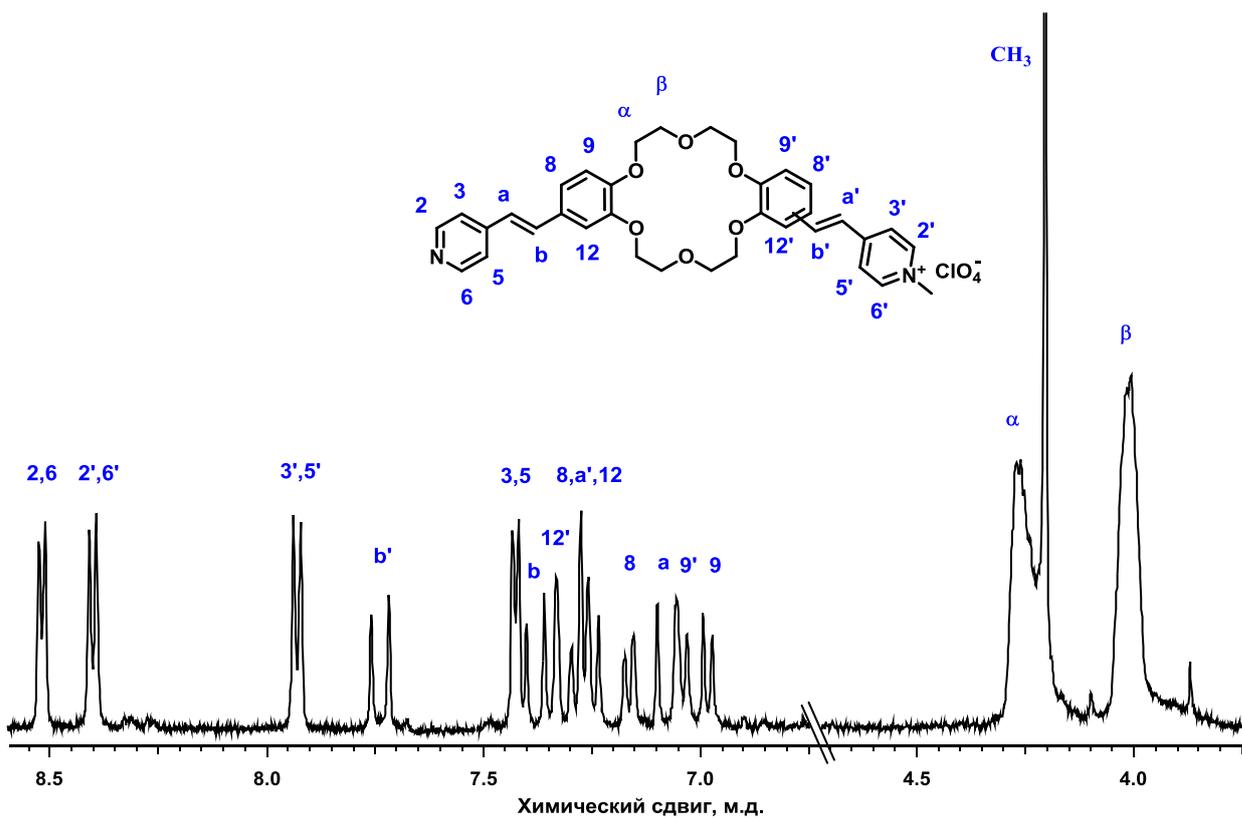


Рисунок 4 – Спектр <sup>1</sup>H ЯМР бисстирилового красителя **12** в CD<sub>3</sub>CN

Для получения несимметричного красителя **12** 18-краун-6-содержащего бисстирилового красителя **18** была предложена последовательная конденсация исходного диформилдибензо-18-краун-6-эфира с двумя различными гетероциклическими фрагментами. Важным фактором, влияющим на скорость реакции, является кислотность метильной группы, вступающей в конденсацию. Поскольку реакционная способность метильной группы 1,4-диметилпиридиния существенно выше чем в случае 4-пиколина, то для получения продукта моноконденсации вначале проводили реакцию формильного производного с незаряженным гетероциклическим фрагментом (Схема 8).

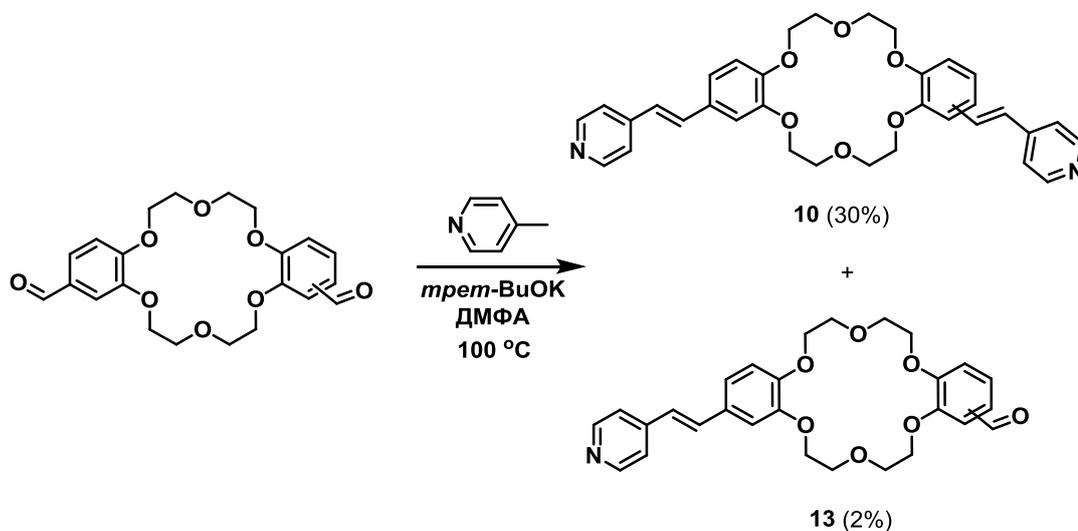


Схема 8

Однако было обнаружено, что при конденсации даже эквивалентного соотношения исходных реагентов (1:1) преимущественно образуется бисстириловый краситель **10**. Выделить моностириловый краситель **13** в данной реакции не удалось.

Другим подходом для получения моностирилового красителя **13** является метод Хорнера-Эммонса-Уодсворта. В данном случае для получения моностириловых производных используются стабилизированные фосфонаты, которые образуются при взаимодействии диэтилфосфита с  $\alpha$ -галогензамещенными субстратами. Олефинирование альдегидов данными нуклеофилами протекает по механизму, аналогичному реакции Виттига с тем различием, что на последней стадии превращения происходит элиминирование диэтилфосфата (Схема 9) [129-131].

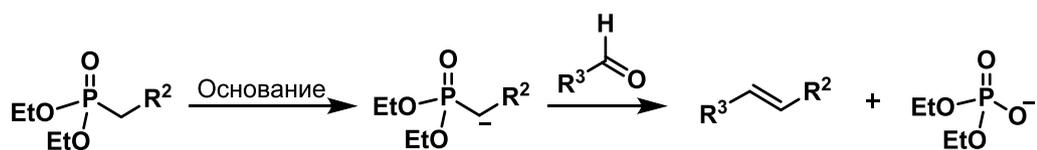


Схема 9

Вначале проводили восстановление 4-пиридинкарбоксальдегида с помощью борогидрида натрия в присутствии перхлората лития, полученный 4-(гидроксиметил)пиридин **14** обрабатывали соляной кислотой и вводили в последующую реакцию с тионилхлоридом с образованием хлорида 4-(хлорметил)пиридиния **15** (Схема 10).

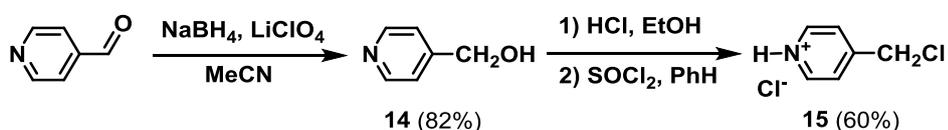


Схема 10

Производное **15** обрабатывали содовым раствором, после чего полученный 4-хлорметилпиридин взаимодействовал с диэтилфосфонатом, который образовывался при взаимодействии металлического натрия с диэтилфосфитом. Полученный фосфонат подвергали последующей конденсации с 4',4''(3'')-диформилдибензо-18-краун-6 эфиром в условиях реакции Виттига-Хорнера (Схема 11).

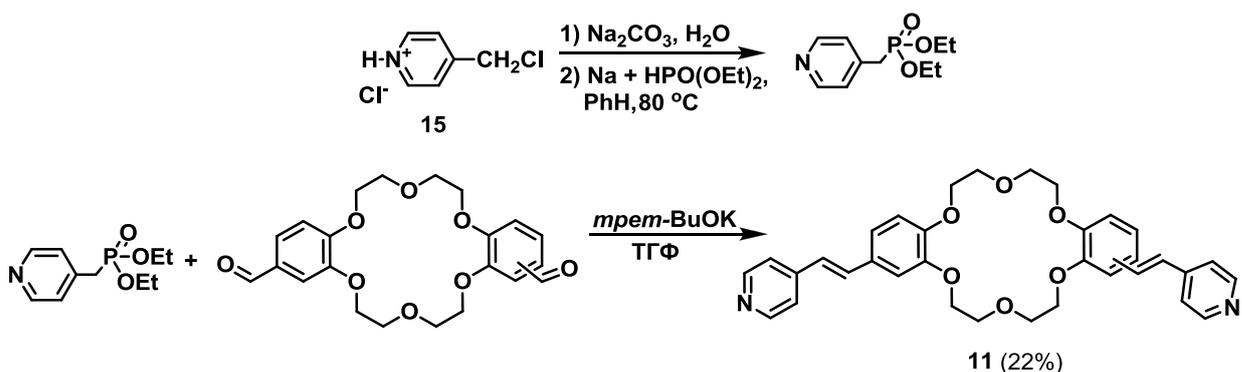


Схема 11

С целью получить моностириловый краунсодержащий краситель **12** реакцию проводили при избытке бисформильного производного. В результате реакции продукт **12** получен не был, выделены исходный бисальдегид и бисстириловый краситель **11**. Таким образом, наиболее подходящим методом для получения несимметричного бисстирилового красителя **12** является реакция монокватернизации бисстирилового красителя **10** (Схема 7).

В полученных красителях **10-12** стирильные фрагменты могут располагаться как в *транс*-, так и в *цис*-положениях относительно друг друга. Это связано с тем, что при синтезе исходного бисальдегида возможно образование смеси 4',4''- и 4',3''-диформилдибензо-18-краун-6 эфиров. Доказать наличие или отсутствие двух изомеров с помощью физико-химических методов (ЯМР спектроскопия, ВЭЖХ, масс-спектрометрия с ионизацией распылением (ИЭР)) не удастся.

### 3.1.2. Синтез бисстириловых красителей, содержащих фрагмент дифенил-диаза-18-краун-6 эфира

Для получения бисстирилового красителя **16**, содержащего диаза-18-краун-6 эфирный фрагмент, проводили конденсацию четвертичной соли **7** с бисформильным производным краун эфира в основных условиях (Схема 12).

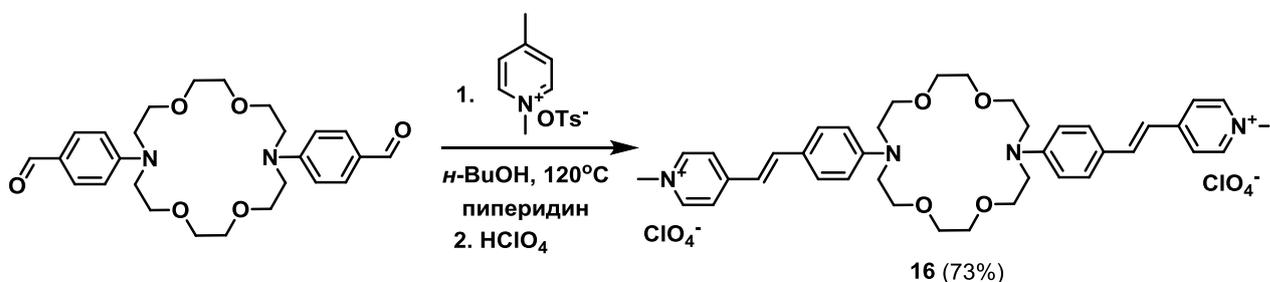


Схема 12

Для получения незаряженного бисстирилового красителя **17**, содержащего диаза-18-краун-6 эфирный фрагмент, проводили конденсацию 4-пиколина с бисформильным производным краун эфира в присутствии уксусного ангидрида (Схема 13).

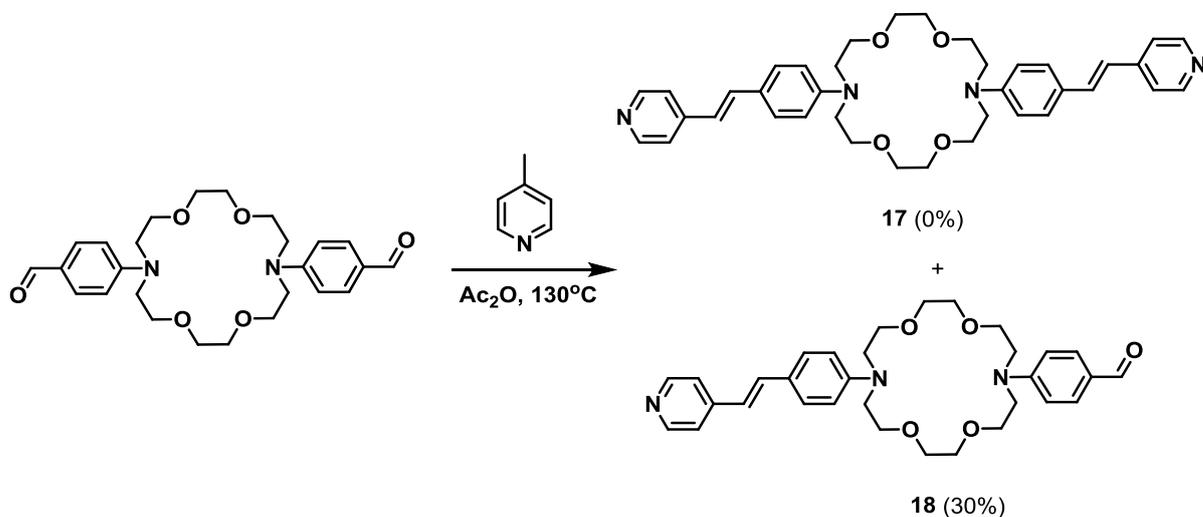


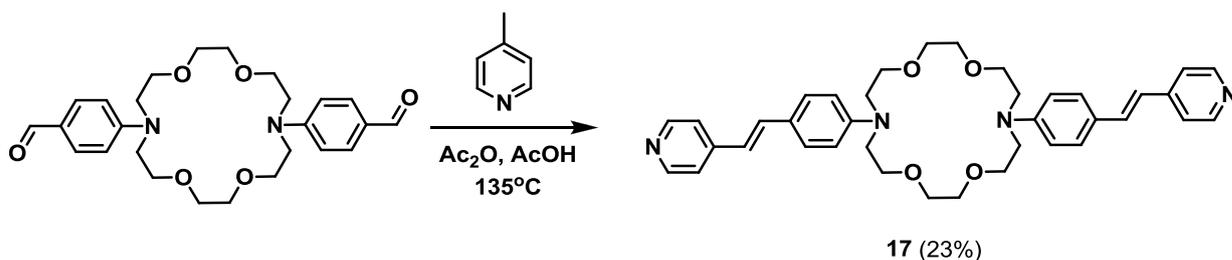
Схема 13

Однако было обнаружено, что такая реакция приводит к получению только моностирилового красителя **18**, тогда как образование бисстирилового красителя **17** не наблюдалось даже при использовании в реакции значительных избытков 4-пиколина (Таблица 1).

**Таблица 1** – Зависимость выходов продуктов **17** и **18** от соотношения исходных реагентов

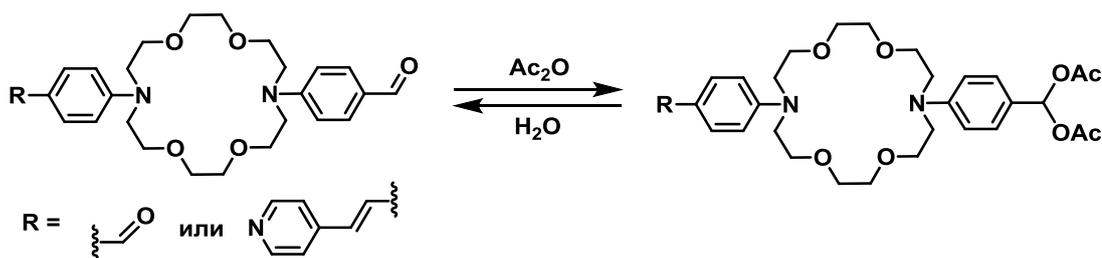
Соотношение реагентов	Выход продукта, %	
	<b>17</b>	<b>18</b>
4-пиколин : формильное производное		
2.2 : 1	0	19
5 : 1	0	30

Проведение данной реакции в среде уксусного ангидрида с уксусной кислотой (2:1), напротив, способствует образованию бисстирилового красителя **17** (Схема 14).



**Схема 14**

В литературе известны примеры взаимодействия производных бензальдегида с уксусным ангидридом с образованием геминального диацетата, который устойчив в этих условиях [132-133]. По-видимому, этот процесс происходит и в данном случае (Схема 15), что объясняет образование только моностирилзамещенного красителя **18** при нагревании 4-пиколина и формильного производного в уксусном ангидриде. При последующей обработке реакционной массы водой происходит гидролиз, поэтому в продуктах реакции выделены исходный бисальдегид и продукт **18**.



**Схема 15**

Присутствие же в реакционной массе уксусной кислоты может приводить к образованию водородной связи между альдегидной группой краун-эфирного производного и карбоксильной группой (Схема 16). Это, с одной стороны, препятствует взаимодействию альдегидной группы с уксусным ангидридом, а с другой – способствует активации формильного заместителя. Вероятно, по этой причине в данном процессе наблюдалось образование бисстирилового красителя **17**.

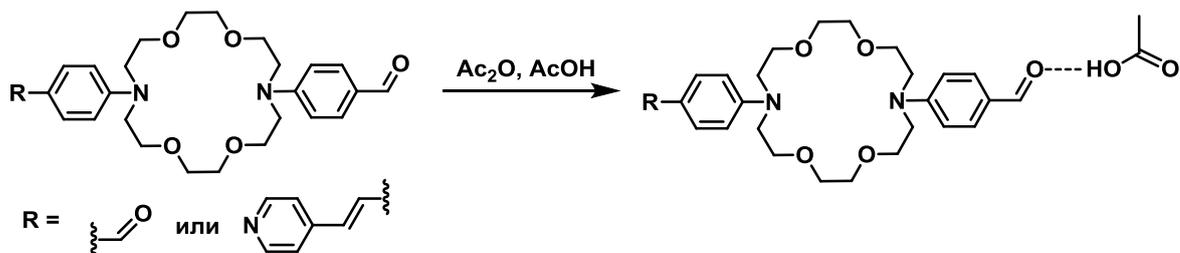


Схема 16

Моностириловый краситель **18** также был получен по реакции Хорнера-Эммонса-Уодсворта. Для этого хлорид 4-(хлорметил)пиридиния обрабатывали содовым раствором, после чего полученный 4-хлорметилпиридин взаимодействовал с диэтилфосфонатом (Схема 17). Полученный гетероциклический фосфонат вступал в реакцию конденсации с бисформильным производным краун-эфира.

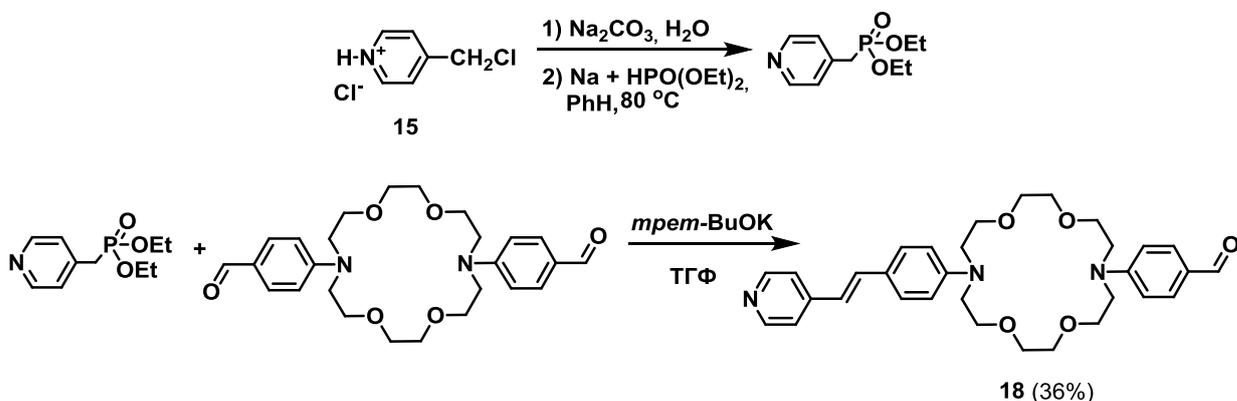


Схема 17

Особый интерес представляет получение несимметричного бисстирилового красителя, имеющего в своём составе две различные хромофорные системы. С этой целью проводили конденсацию полученного моностирилового красителя **18** с четвертичной солью **7**. Реакцию проводили в *n*-BuOH, в присутствии пирролидина, в результате с выходом 15% был получен несимметричный бисстириловый краситель **19** (Схема 18).

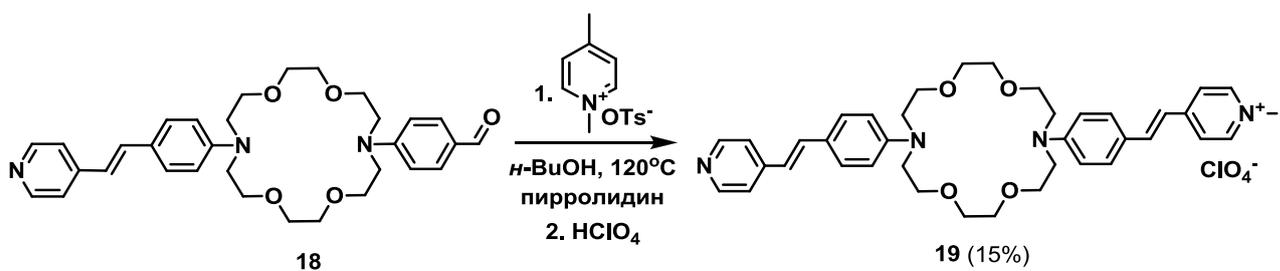


Схема 18

Согласно данным  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопии бисстириловые красители **16-17** и **19** были выделены в виде *E,E*-изомеров (Рис. 5-6).

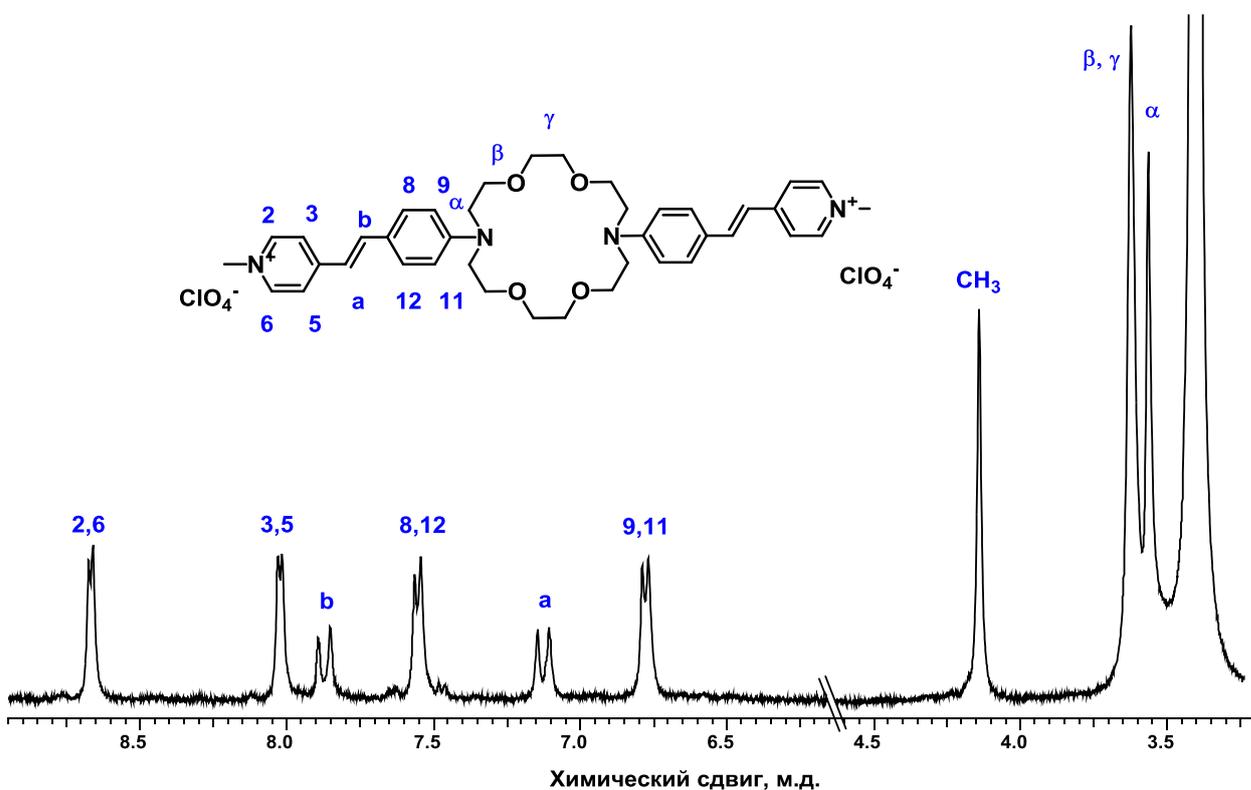
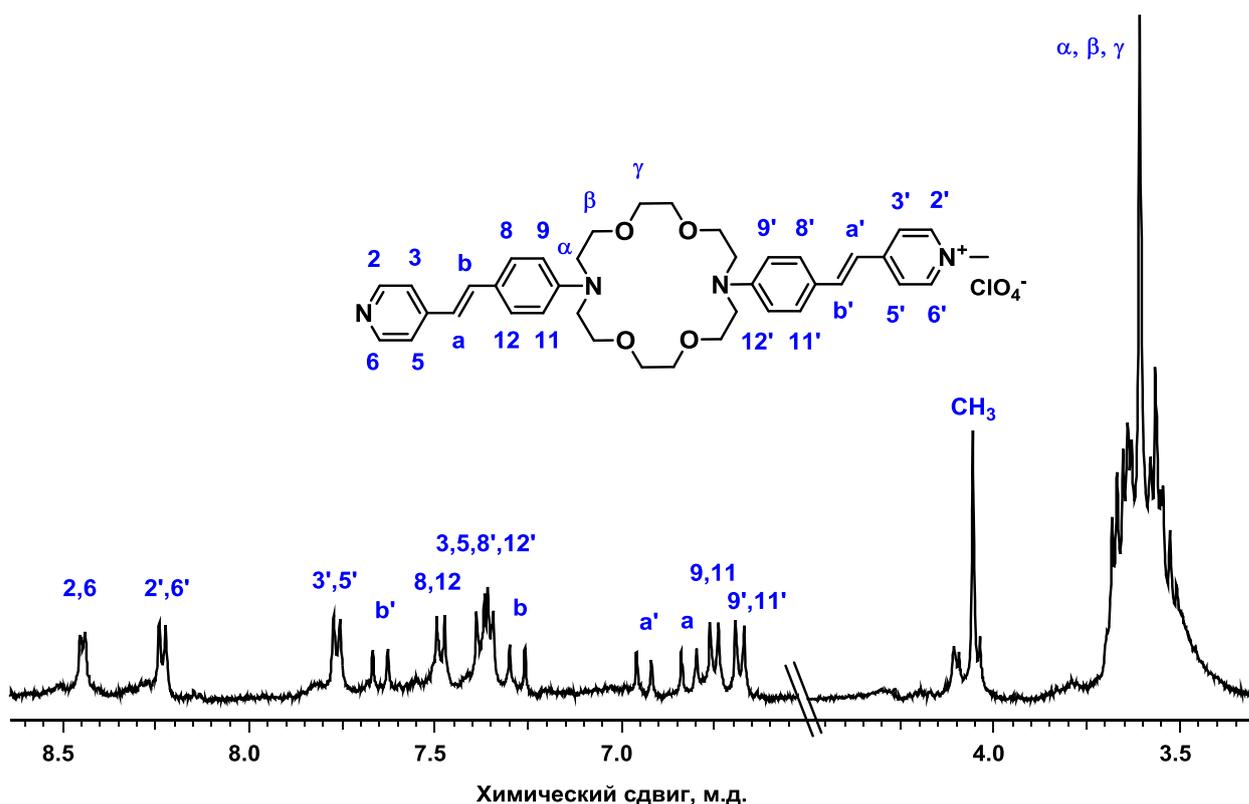


Рисунок 5 – Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР бисстирилового красителя **16** в  $\text{DMSO-}d_6$



**Рисунок 6** – Спектр <sup>1</sup>H ЯМР бисстирилового красителя **19** в CD<sub>3</sub>CN

Таким образом, предложены и оптимизированы методы получения неописанных ранее 18-краун-6-содержащих и диаза-18-краун-6-краун-содержащих моно- и бисстириловых красителей пиридинового ряда. Кроме того, получена серия моностириловых красителей, в которых варьировался тип гетероциклического фрагмента и длина алкильного линкера. Структура всех полученных соединений была доказана с помощью методов ЯМР-спектроскопии, ИЭР-масс-спектрометрии и элементного анализа.

### 3.2. Фотоиндуцированный перенос энергии в супрамолекулярных ансамблях бисстириловых красителей с моностириловыми производными, содержащими аммонийный заместитель

При подготовке данного раздела использованы собственные публикации автора [126,134-135,174].

Аммонийные группы способны координироваться с краун-эфирами за счет образования водородных связей между атомами кислорода макроцикла и водородами аммонийной группы [136]. В настоящей работе это свойство было использовано для связывания бисстириловых и моностириловых компонентов в единый комплекс (Рис. 7). Таким образом, при использовании комплексообразования можно создать ансамбль компонент, между которыми возможно протекание переноса энергии.

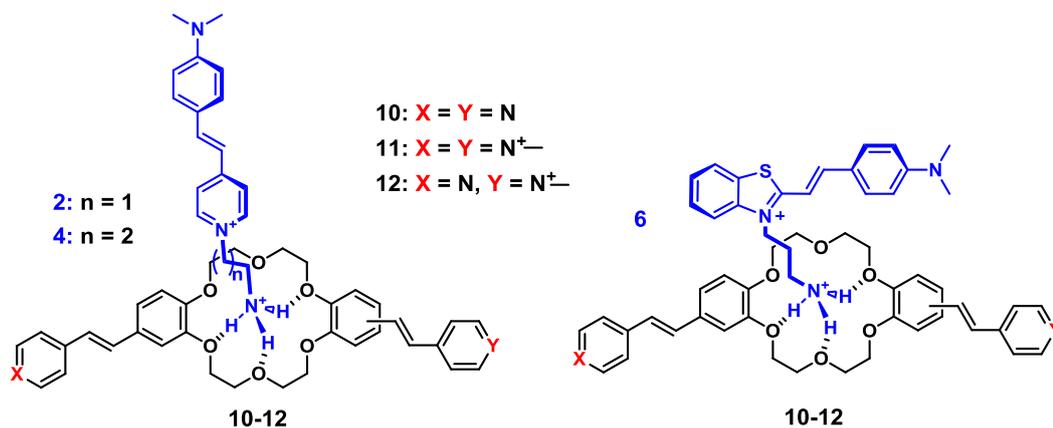
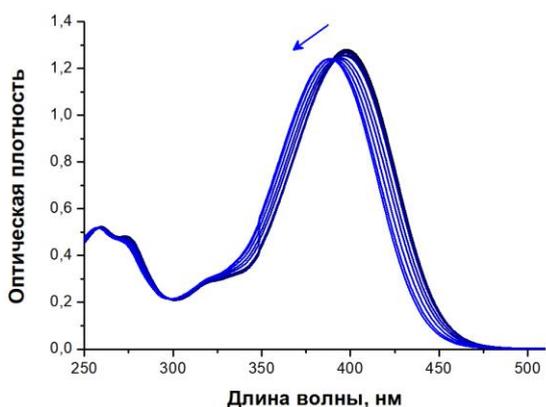


Рисунок 7 – Схема образования супрамолекулярных ансамблей стириловых красителей

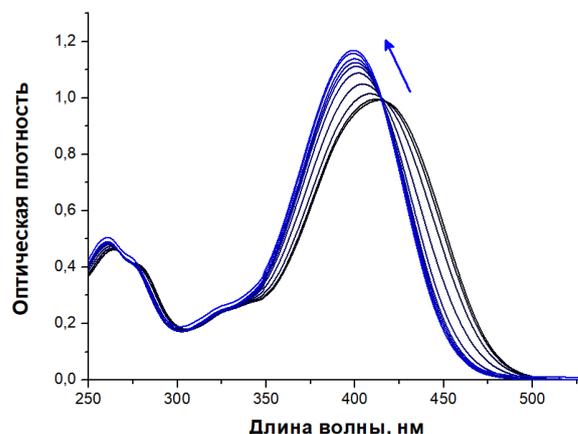
Поскольку в настоящей работе рассматриваются супрамолекулярные комплексы красителей, то за процессами как комплексообразования, так и переноса энергии возможно наблюдать с использованием оптической спектроскопии. Так, исходные бисстириловые красители **10-12** демонстрируют интенсивное поглощение в видимой области. Координация аммонийных производных вызывает смещение полосы поглощения красителя в область коротких длин волн. Для определения константы устойчивости таких комплексов было проведено спектрофотометрическое титрование бисстириловых красителей **10** и **11** перхлоратом аммония. Измерение констант устойчивости комплексов предполагает добавление в раствор бисстирилового красителя добавок моностириловой компоненты до момента прекращения изменений в спектре

бисстирилового красителя. Поскольку константы устойчивости комплексов краун-эфир – аммонийное производное, как правило, невысоки, то для проведения измерений необходимо использование больших избытков моностириловой компоненты. При этом будет наблюдаться появление высокоинтенсивной полосы поглощения, на фоне которой не будут видны изменения во второй бисстириловой компоненте. В связи с этим для оценки эффективности комплексообразования при проведении титрования моностириловый краситель был заменен на перхлорат аммония.

Для определения условий, соответствующих наиболее эффективному комплексообразованию, титрование красителя **11** проводилось в двух различных растворителях: полярном ацетонитриле и неполярном дихлорметане (Рис. 8-9).



**Рисунок 8** – Спектрофотометрическое титрование соединения **11** ( $C_{11} = 3.0 \cdot 10^{-5}$  М)  $\text{NH}_4\text{ClO}_4$  ( $C_{\text{NH}_4\text{ClO}_4} = 0 - 9.6 \cdot 10^{-3}$  М) в MeCN при 25 °С



**Рисунок 9** – Спектрофотометрическое титрование соединения **11** ( $C_{11} = 3.0 \cdot 10^{-5}$  М)  $\text{NH}_4\text{ClO}_4$  ( $C_{\text{NH}_4\text{ClO}_4} = 0 - 1.5 \cdot 10^{-4}$  М) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 25 °С

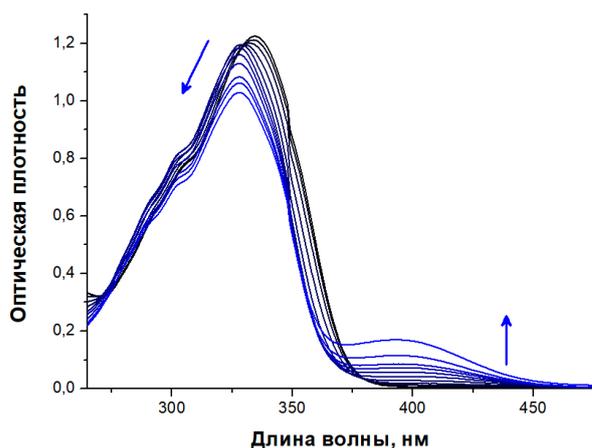
Электронные спектры поглощения свободного бисстирилового красителя **11** и его комплекса с катионом аммония характеризуются интенсивными полосами поглощения с максимумами в области  $\lambda_{\text{max}} = 398$  нм и  $\lambda_{\text{max}} = 388$  нм в ацетонитриле, тогда как в хлористом метиле вследствие отрицательного сольватохромизма спектры поглощения имеют максимумы  $\lambda_{\text{max}} = 415$  нм и  $\lambda_{\text{max}} = 399$  нм соответственно. Эти полосы обусловлены внутримолекулярным переносом заряда с электронодонорной краун-эфирной части на акцепторную пиридиновую. При увеличении концентрации перхлората аммония наблюдается небольшой гипсохромный сдвиг максимума полосы поглощения бисстирилового красителя **11** ( $\Delta\lambda = 10$  нм в случае ацетонитрила и  $\Delta\lambda = 16$  нм в случае дихлорметана). Это

связано с тем, что атомы кислорода краун-эфира, входящие в состав хромофора, образуют водородные связи с катионом аммония, что приводит к снижению электронной плотности на краун-эфирном фрагменте. В результате затрудняется процесс переноса заряда в молекуле красителя, и полоса поглощения смещается в более коротковолновую область.

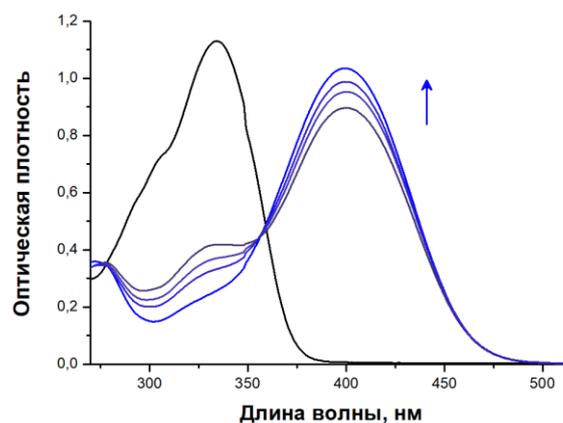
Обработка данных спектрофотометрического титрования с помощью программы SpecFit/32 показала наличие в растворе комплексов состава 1:1 [**11**<sub>1</sub>·(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)<sub>1</sub>] с константой устойчивости  $\log K_{11} = 2.45 \pm 0.03$  в случае ацетонитрила, константа устойчивости в случае неполярного хлористого метилена оказалась на три порядка выше и составила  $\log K_{11} = 5.8 \pm 0.2$ .

Таким образом, спектрофотометрическое титрование бисстирилового красителя **11** перхлоратом аммония показало, что более устойчивый комплекс образуется в неполярном растворителе (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). По-видимому, это объясняется тем, что связывание катиона аммония гидрофильной полостью краун-эфира из неполярной среды приводит к более эффективной стабилизации энергии системы по сравнению с комплексообразованием в полярной среде. Дальнейшие исследования комплексов проводились в среде CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Электронные спектры поглощения свободного незаряженного бисстирилового красителя **10** и его комплекса с катионом аммония в дихлорметане характеризуются интенсивными полосами поглощения с максимумами в области  $\lambda_{\max} = 335$  нм и  $\lambda_{\max} = 327$  нм, соответственно. При увеличении концентрации перхлората аммония также наблюдается небольшой гипсохромный сдвиг максимума полосы поглощения бисстирилового красителя **10** ( $\Delta\lambda = 8$  нм) (Рис. 10). Одновременно с этим появляется еще один пик с максимумом поглощения  $\lambda_{\max} = 399$  нм. Вероятно, происходит отщепление протона от аммонийной группы моностирилового красителя и его перенос на пиридиновый атом азота. Для подтверждения данного предположения были получены спектры поглощения красителя **10** при добавлении хлорной кислоты (Рис. 11). При этом наблюдалось появление пика с максимумом поглощения  $\lambda_{\max} = 399$  нм, соответствующего запротонированной форме красителя **10**.



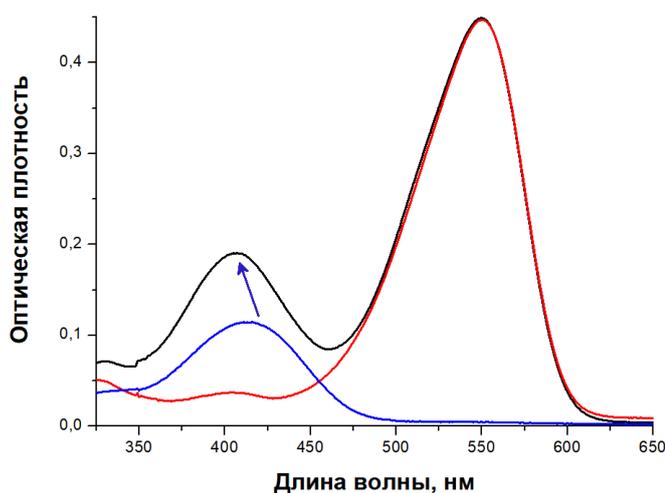
**Рисунок 10** – Спектрофотометрическое титрование соединения **10** ( $C_{10} = 2.5 \cdot 10^{-5}$  М)  $\text{NH}_4\text{ClO}_4$  ( $C_{\text{NH}_4\text{ClO}_4} = 0 - 3.3 \cdot 10^{-4}$  М) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 25 °С



**Рисунок 11** – Спектры поглощения соединения **10** при различных концентрациях  $\text{HClO}_4$  ( $C_{\text{NH}_4\text{ClO}_4} = 0 - 2.08 \cdot 10^{-5}$  М) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 25 °С

Обработка данных спектрофотометрического титрования с помощью программы SpecFit/32 показала наличие в растворе комплексов состава 1:1 –  $[\text{10}_1 \cdot (\text{NH}_4^+)_1]$  с константой устойчивости  $\log K_{11} = 6.6 \pm 0.5$ .

Образование комплексов между бисстириловым красителем и моностириловой молекулой-гостем было также подтверждено методом спектроскопии поглощения. На рисунке 12 в качестве примера приведены спектры поглощения комплекса красителей **11** и **6**, а также их комплекса.

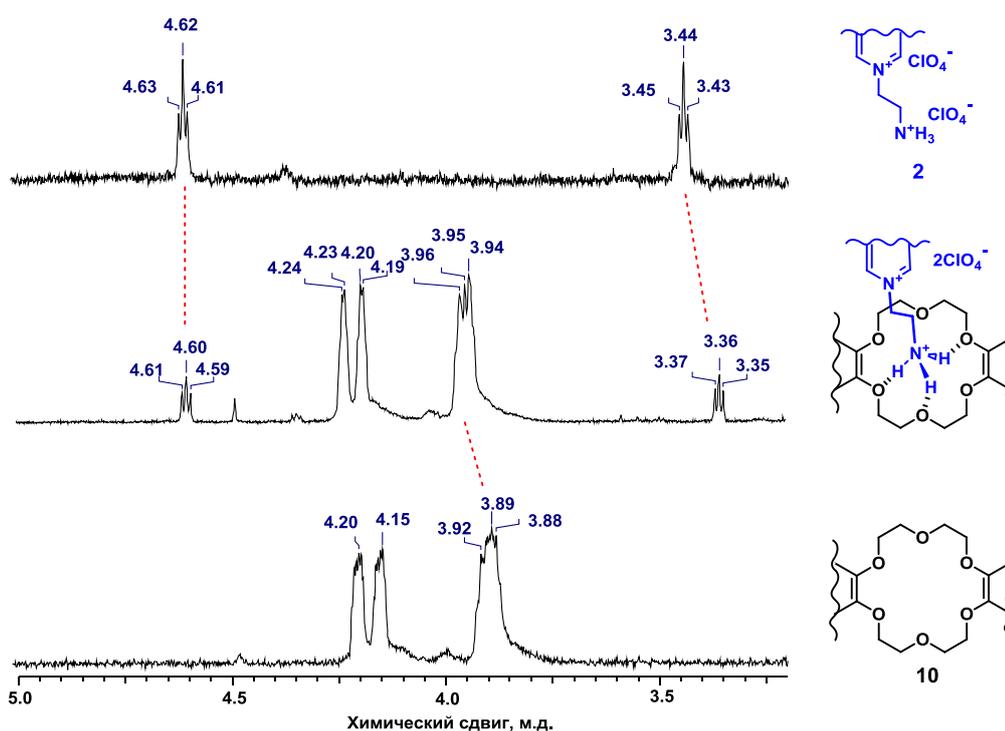


**Рисунок. 12** – Спектры поглощения свободных красителей **11** (синий) и **6** (красный), а также их комплекса (черный) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С ( $C_{11} = 2.5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_6 = 5 \cdot 10^{-5}$  М)

При комплексообразовании наблюдается сдвиг полосы поглощения бисстириловых красителей **10** и **11** в область более коротких длин волн, для обоих

красителей сдвиг составил 8 нм. Таким образом, максимумы поглощения красителей **10** и **11** при образовании комплекса находятся в области 327 нм и 407 нм соответственно. Увеличение концентрации акцепторной компоненты приводит к дальнейшему гипсохромному сдвигу полосы поглощения красителя, даже при пятикратных избытках не удается достичь полного комплексообразования. Таким образом, в спектре комплекса содержатся две полосы поглощения, соответствующие двум компонентам – моно- и бисстириловому красителям, спектр поглощения бисстириловой компоненты в комплексе гипсохромно смещен по отношению к свободному красителю.

Координация аммонийной группы по краун-эфирному фрагменту была подтверждена методом ЯМР-спектроскопии. При сравнении спектров ЯМР свободных компонент и их комплексов наблюдаются сдвиги сигналов протонов краун-эфирного фрагмента и алкильного спейсера, при этом сигналы ароматических протонов практически не изменяли своего положения (Рис. 13).

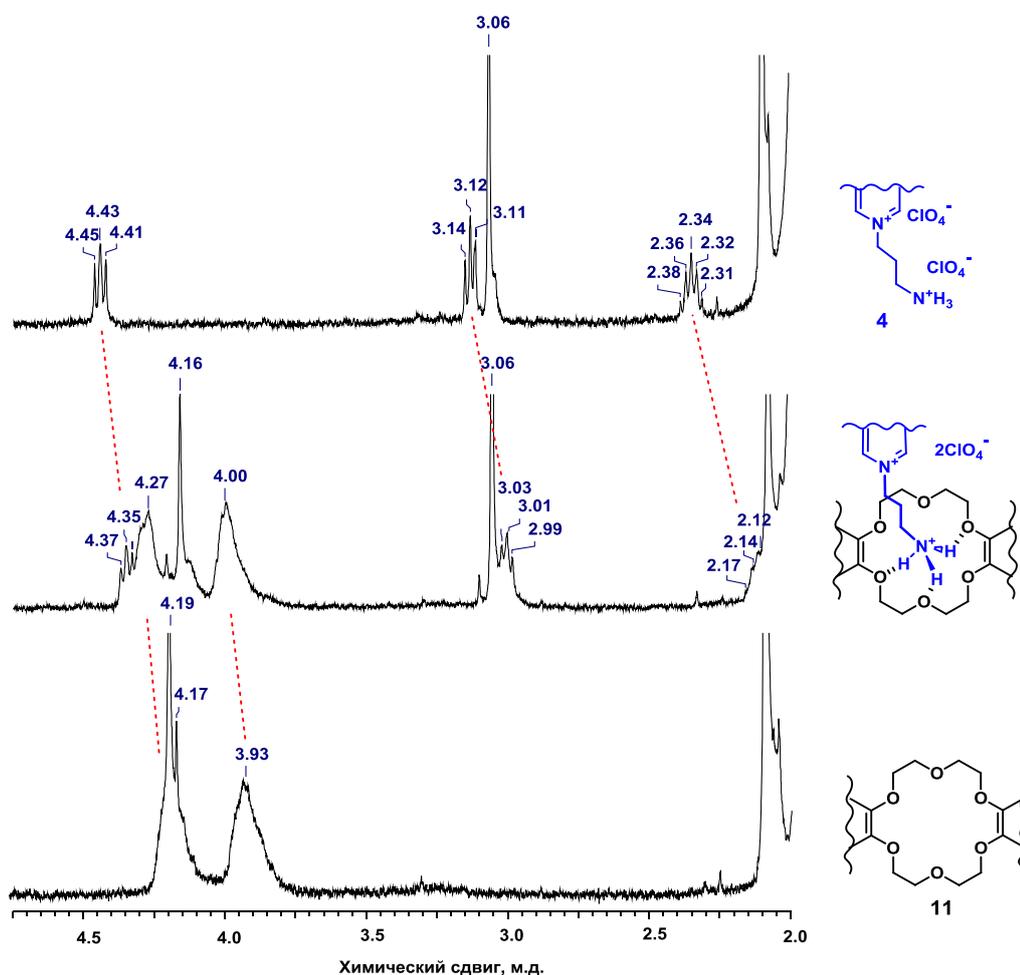


**Рисунок 13** – Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР свободных красителей **2**, **10** и их комплекса, ( $C = 10^{-3}$  М) в  $\text{CD}_3\text{CN}$  при  $25^\circ\text{C}$

Сигналы протонов алкильной группы в присутствии бисстирилового красителя смещаются в сильное поле, при этом сдвиг значительно сильнее у протонов, находящихся в непосредственной близости к аммонийной группе.

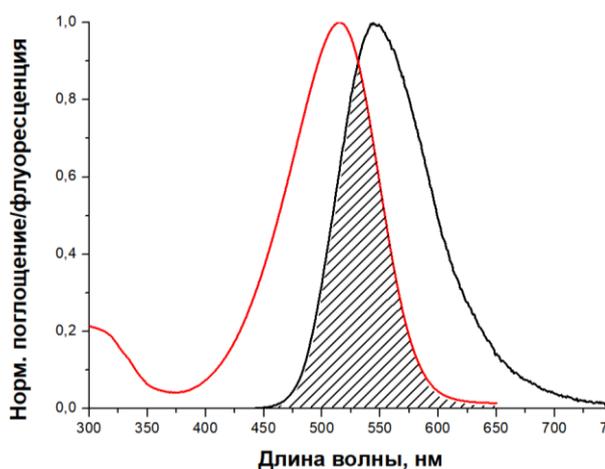
Протоны краун-эфира, напротив, претерпевают слабополюный сдвиг, поскольку комплексообразование приводит к понижению электронной плотности в полости макроцикла.

На рисунке 14 представлены спектры свободных красителей **4** и их комплекса в смеси растворителей  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1).

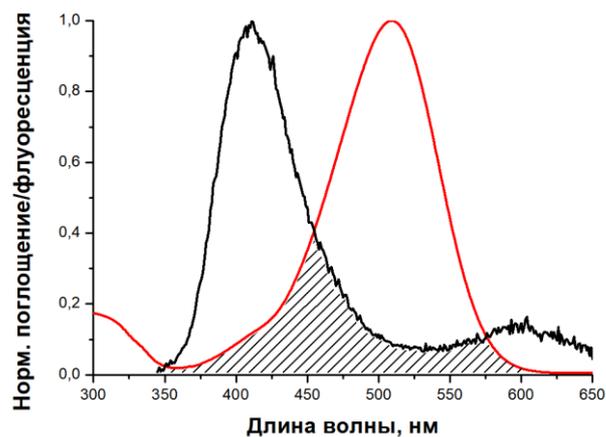


**Рисунок 14** – Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР свободных красителей **4**, **11** и их комплекса, ( $C = 3 \cdot 10^{-3}$  М) в  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1) при 25 °С

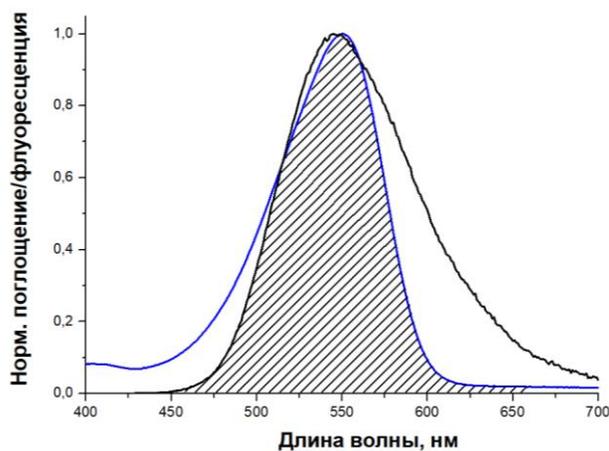
В рассматриваемых ансамблях моно- и бисстириловых красителей оптические свойства компонентов удовлетворяют основному условию для реализации процесса переноса энергии – перекрыванию полосы поглощения акцептора энергии (в нашем случае это моностириловый краситель) и полосы испускания донора энергии – бисстирилового красителя. Это демонстрируют приведенные ниже спектры (Рис. 15а-г).



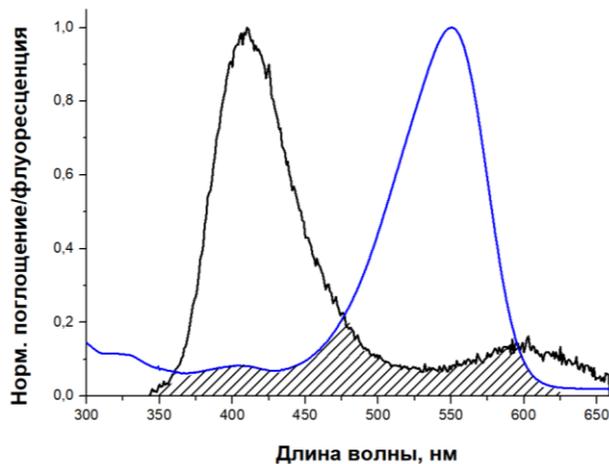
**Рисунок 15а** – Нормализованные спектры поглощения моностирилового красителя **2** (красный) и флуоресценции бисстирилового красителя **11** (черный) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С



**Рисунок 15б** – Нормализованные спектры поглощения моностирилового красителя **4** (красный) и флуоресценции бисстирилового красителя **10** (черный) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С

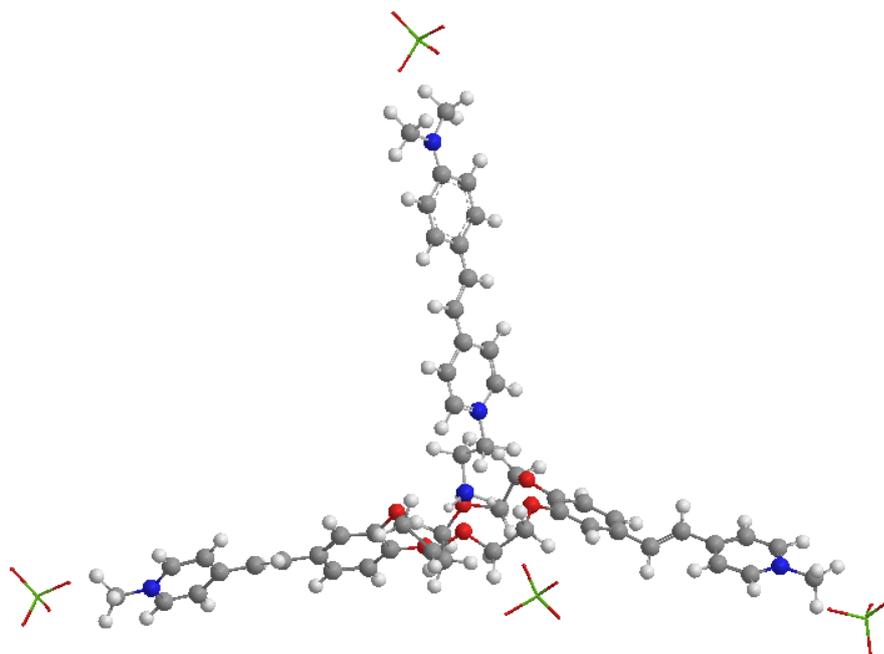


**Рисунок 15в** – Нормализованные спектры поглощения моностирилового красителя **6** (синий) и флуоресценции бисстирилового красителя **11** (черный) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С



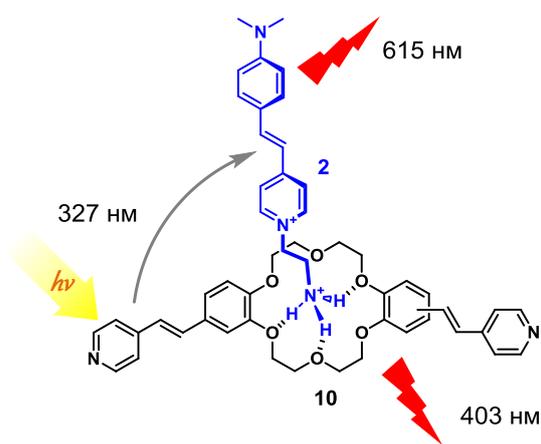
**Рисунок 15г** – Нормализованные спектры поглощения моностирилового красителя **6** (синий) и флуоресценции бисстирилового красителя **10** (черный) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С

Выполнение второго условия – близкого расположения донора и акцептора, обеспечивается организацией компонент в один супрамолекулярный ансамбль. Для оценки расстояния между донорами и акцепторами энергии была проведена оптимизация комплексов с помощью программы MORAC (метод PM7) (Рис. 16). Согласно выполненным расчетам расстояние между донором и акцептором во всех случаях не превышает 1 нм, т.е. структура комплексов удовлетворяет условию близкого расположения компонент.

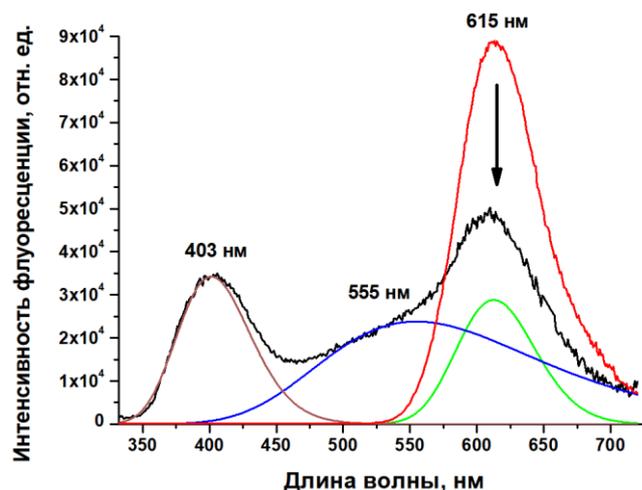


**Рисунок 16** – Оптимизированный комплекс красителей **2** и **11** рассчитанный с помощью программы МОРАС (метод RM7)

Комплексы бисстирилового красителя **10** с моностириловыми красителями **2** и **4**. Рассмотрим вначале комплекс незаряженного бисстирилового красителя **10** и моностирилового красителя **2** (Рис. 17). При возбуждении комплекса светом с длиной волны 327 нм наблюдается сложный флуоресцентный сигнал, представленный на рисунке 18 черным цветом.



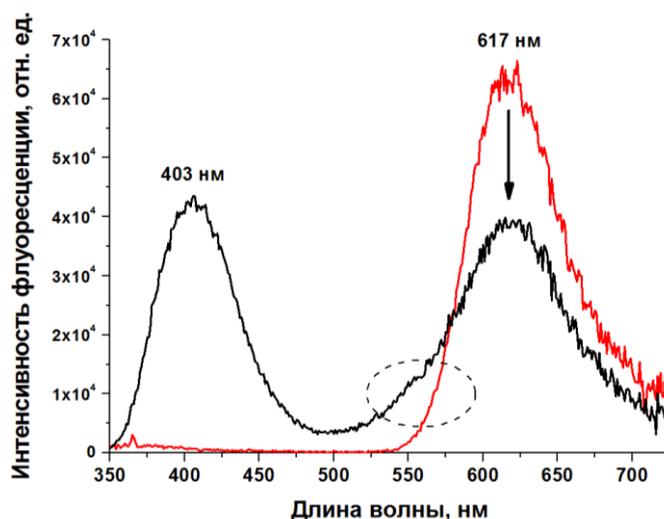
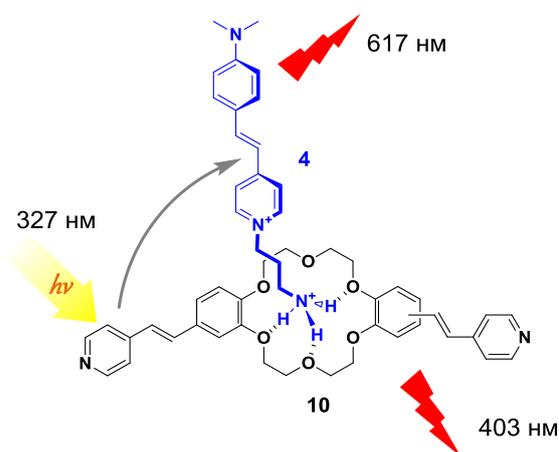
**Рисунок 17** – Схема переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **10** и моностирилового красителя **2**



**Рисунок 18** – Спектр флуоресценции комплекса красителей **2** и **10** ( $C_2 = C_{10} = 3 \cdot 10^{-5}$  М) (черный), свободного красителя **2** ( $C_2 = 3 \cdot 10^{-5}$  М) (красный) при  $\lambda_{\text{возб}} = 327$  нм в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С; спектры: коричневый, синий и зеленый получены при разложении спектра флуоресценции комплекса по Гауссу

Данный спектр при разложении по Гауссу представляет собой 3 отдельных полосы с максимумами флуоресценции:  $\lambda_{\text{fluo}}^1 = 403$  нм (соответствует флуоресценции самого бисстирилового красителя **10**, коричневый),  $\lambda_{\text{fluo}}^2 = 555$  нм, (соответствует флуоресценции протонированной формы бисстирилового красителя **10**, синий) и  $\lambda_{\text{fluo}}^3 = 615$  нм (соответствует флуоресценции акцептора энергии – красителя **2**, зеленый). Однако, свободный моностириловый краситель **2** так же, хотя и незначительно, поглощает при 327 нм, причем интенсивность флуоресценции свободного красителя больше, чем в комплексе с красителем **10** (Рис. 18, красный). Следовательно, в данном комплексе перенос энергии не наблюдается.

Рассмотрим процессы, которые можно наблюдать в комплексе незаряженного красителя **10** и моностирилового красителя **4**, содержащего более длинный алкильный заместитель (Рис. 19).



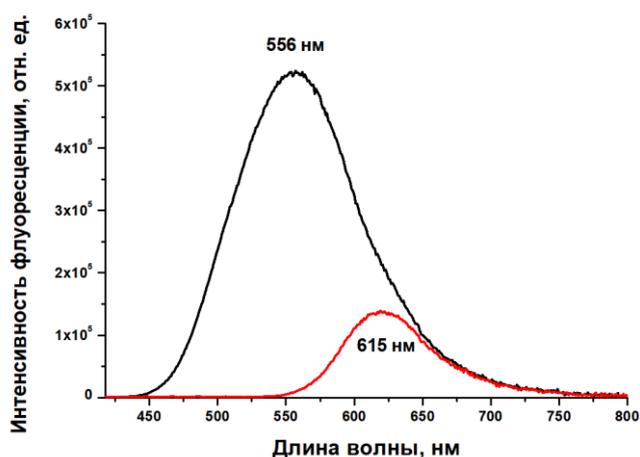
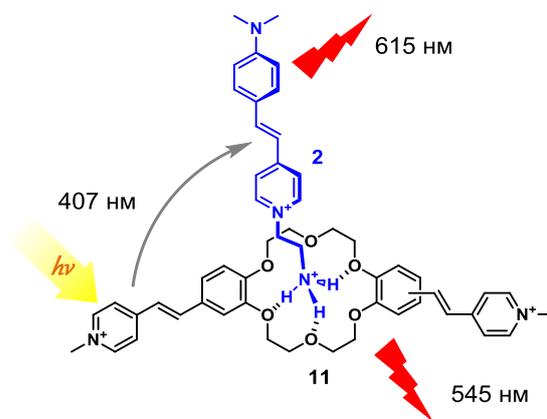
**Рисунок 19** – Схема переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **10** и моностирилового красителя **4**

**Рисунок 20** – Спектры флуоресценции комплекса красителей **10** и **4** ( $C_{10} = 2,5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_4 = 3,5 \cdot 10^{-5}$  М) (черный), свободного красителя **4** ( $C_4 = 3,5 \cdot 10^{-5}$  М) (красный) при  $\lambda_{\text{возб}} = 327$  нм в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С

Спектр флуоресценции комплекса содержит две полосы с максимумами флуоресценции:  $\lambda_{\text{fluo}}^1 = 403$  нм (соответствует флуоресценции бисстирилового красителя **10**) и  $\lambda_{\text{fluo}}^2 = 617$  нм (соответствует флуоресценции акцептора энергии – краситель **4**) (Рис. 20, черный спектр). Интенсивность флуоресценции протонированной формы красителя **10** в данном комплексе значительно меньше и проявляется в небольшом плече около 555 нм. Интенсивность флуоресценции свободного моностирилового красителя **4** (Рис. 20, красный спектр) превышает данный показатель для комплекса **4** и **10** (Рис. 20, черный спектр). Поэтому

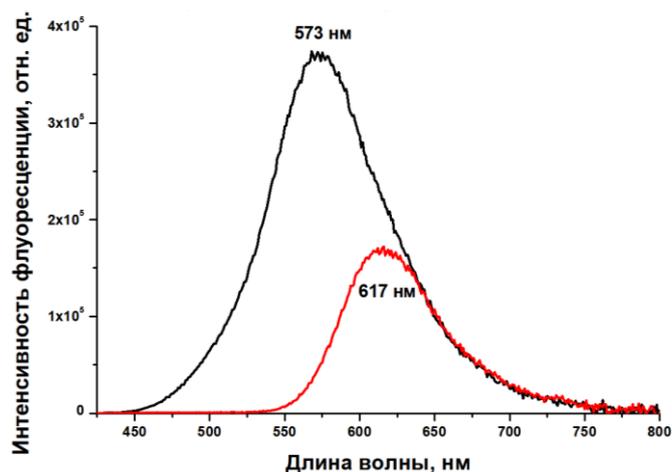
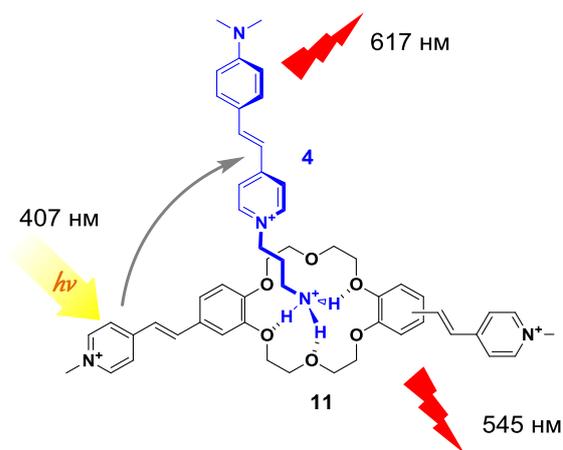
появление флуоресцентного отклика красителя **4** при возбуждении комплекса в максимуме поглощения красителя **10**, по-видимому, объясняется лишь поглощением моностириловой компоненты при 327 нм. Таким образом, в данном комплексе перенос энергии не наблюдается.

Комплексы бисстирилового красителя **11** с моностириловыми красителями **2** и **4**. При облучении комплексов в максимуме поглощения донора энергии – при 407 нм наблюдается появление уширенного флуоресцентного сигнала с максимумом  $\lambda_{\text{флюо}} = 556$  нм в случае комплекса с красителем **2** и  $\lambda_{\text{флюо}} = 573$  нм для комплекса с красителем **4** (Рис. 21-24).



**Рисунок 21** – Схема переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **11** и моностирилового красителя **2**

**Рисунок 22** – Спектры флуоресценции комплекса красителей **2** и **11** ( $C_2 = C_{11} = 3 \cdot 10^{-5}$  М) (черный), свободного красителя **2** ( $C_2 = 3 \cdot 10^{-5}$  М) (красный) при  $\lambda_{\text{возб}} = 407$  нм в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С



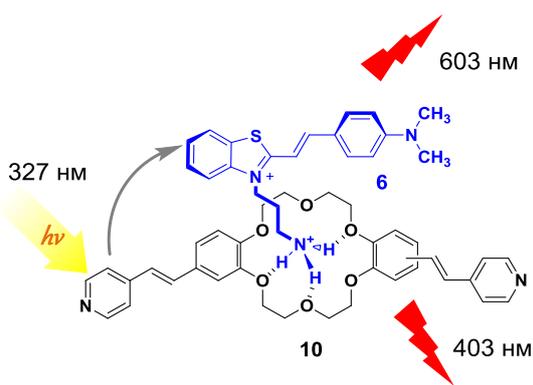
**Рисунок 23** – Схема переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **11** и моностирилового красителя **4**

**Рисунок 24** – Спектры флуоресценции комплекса красителей **4** и **11** ( $C_{11} = 2,5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_4 = 3,5 \cdot 10^{-5}$  М) (черный), свободного красителя **4** ( $C_4 = 3,5 \cdot 10^{-5}$  М) (красный) при  $\lambda_{\text{возб}} = 407$  нм в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С

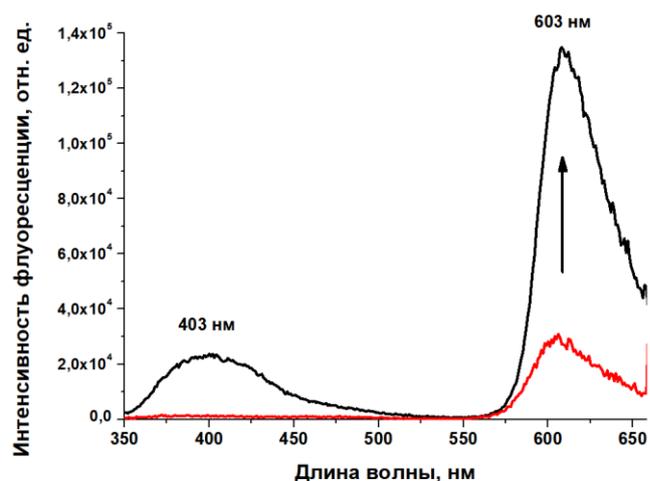
По-видимому, данные спектры являются суммой двух полос флуоресценции: красителя-донора **11**, максимум флуоресценции которого находится в области 545 нм, и соответствующего моностирилового красителя. Кроме того, свободные моностириловые красители также, хотя и незначительно, поглощают при 407 нм. Спектры флуоресценции соединений **2** и **4**, полученные при возбуждении  $\lambda_{\text{возб}} = 407$  нм, показаны на рисунках 22 и 24 красным цветом. Очевидно, что при образовании комплексов с красителем **11** увеличение интенсивности флуоресценции акцепторов энергии – моностириловых красителей – не наблюдается. Следовательно, в данных комплексах перенос энергии не реализуется.

Таким образом, по спектральным характеристикам во всех описанных выше системах возможен фотоиндуцированный перенос энергии, так как спектр флуоресценции донора имеет перекрывание со спектром поглощения акцептора, а расстояние между донорной и акцепторной компонентами в комплексах не препятствует предполагаемому обмену энергией. Однако в данных комплексах перенос энергии зафиксирован не был.

Комплексы бисстириловых красителей **10** и **11** с моностириловым красителем **6**. При облучении ансамбля, состоящего из соединений **10** и **6** (Рис. 25), светом 327 нм наблюдается появление двух флуоресцентных сигналов при  $\lambda_{\text{флюо}}^1 = 403$  нм (соответствует флуоресценции самого бисстирилового красителя **10**) и  $\lambda_{\text{флюо}}^2 = 603$  нм (соответствует флуоресценции акцептора энергии – красителя **6**) (Рис. 26, черный спектр).



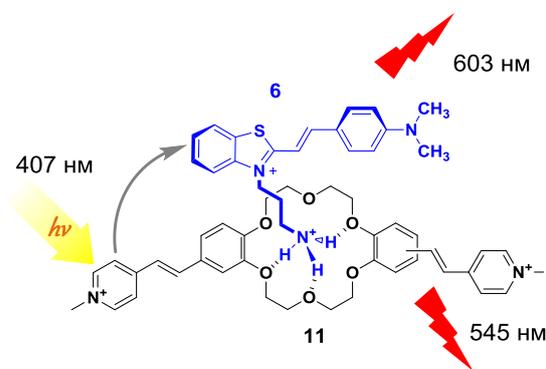
**Рисунок 25** – Схема переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **10** и моностирилового красителя **6**



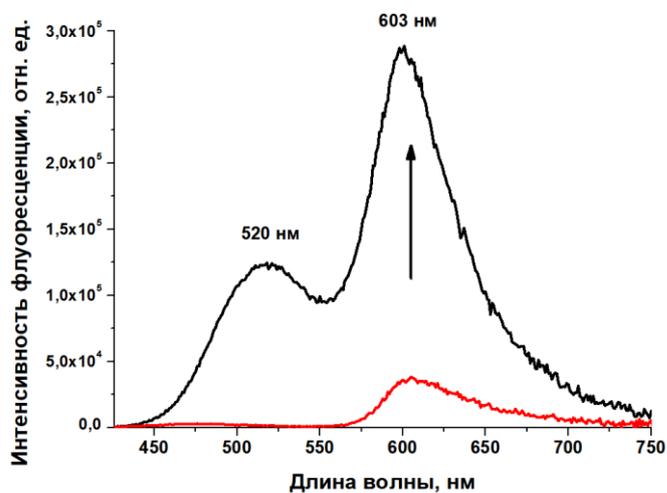
**Рисунок 26** – Спектры флуоресценции комплекса красителей **6** и **10** ( $C_{10} = 2,5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$  М) (черный), свободного красителя **6** ( $C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$  М) (красный) при  $\lambda_{\text{возб}} = 327$  нм в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С

Как видно из представленных спектров, флуоресценция красителя **6** в комплексе более интенсивная по сравнению с флуоресценцией свободного красителя при возбуждении светом той же длины волны. Таким образом, в данном ансамбле протекает фотоиндуцированный перенос энергии от донора энергии – красителя **10** к акцептору энергии – красителю **6**. Однако, наряду с флуоресценцией моностирилового красителя, видна также флуоресценция красителя-донора, что означает, что перенос энергии не полный.

Аналогичным образом перенос энергии с донора, красителя **11**, на акцептор – моностириловый краситель **6**, приводит к разгоранию флуоресценции последнего по сравнению с флуоресценцией данного соединения в свободном виде (Рис. 27-28). Так, при возбуждении комплекса светом в максимуме поглощения донора энергии при 407 нм, наблюдается два максимума флуоресценции:  $\lambda^1_{\text{fluo}} = 520$  нм (соответствует флуоресценции самого бисстирилового красителя **11**) и  $\lambda^2_{\text{fluo}} = 603$  нм (соответствует флуоресценции акцептора энергии – краситель **6**) (Рис. 28). И в этом случае наблюдается остаточная флуоресценция донора энергии, что свидетельствует о неполном переносе энергии.



**Рисунок 27** – Схема переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **11** и моностирилового красителя **6**



**Рисунок 28** – Спектры флуоресценции комплекса красителей **6** и **11** ( $C_{11} = 2,5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$  М) (черный), свободного красителя **6** ( $C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$  М) (красный) при  $\lambda_{\text{возб}} = 407$  нм в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С

Следует также отметить, что при изучении процесса переноса энергии для более полного связывания моностирилового красителя в комплексе с бисстириловым красителем был использован избыток моностириловой компоненты. Из-за значительного перекрытия спектров поглощения акцептора

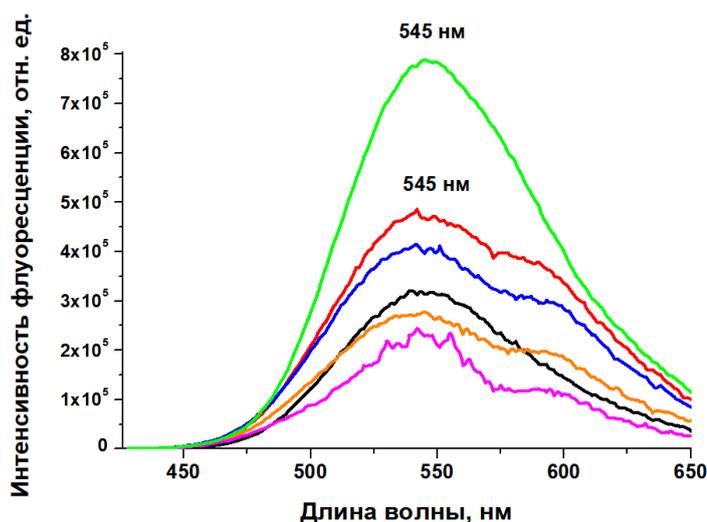
со спектром флуоресценции донора (Рис. 15а-г) в растворе происходит поглощение флуоресценции присутствующими компонентами (эффект внутреннего фильтра), вследствие чего спектры флуоресценции комплексов оказываются искаженными. Так, на рисунке 28 флуоресценция бисстирилового красителя претерпевает гипсохромный сдвиг на 25 нм. Вследствие этого наблюдаемые интенсивности флуоресценции были скорректированы с учетом эффекта внутреннего фильтра по формуле:

$$I_{\text{корр}}^{\text{фл}} = 10^{0.7071D^{\lambda}} \cdot I^{\text{фл}},$$

где  $D^{\lambda}$  – оптическая плотность раствора в кювете (1 мм) на длине волны  $\lambda$ ;  $I^{\text{фл}}$  – наблюдаемая интенсивность флуоресценции, 0.7071 – коэффициент, равный половине длины оптического пути в кювете, находящейся под углом  $45^{\circ}$  относительно направления регистрации флуоресценции.

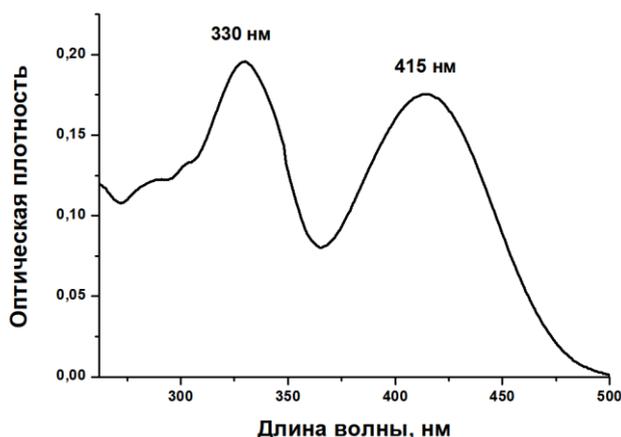
Для нахождения флуоресценции комплекса из скорректированной флуоресценции смеси компонентов вычитали измеренную в отдельном эксперименте и аналогичным образом скорректированную интенсивность излучения избытка свободного акцептора  $I_{\text{акц.корр.}}^{\text{фл}}$ :

$$I_{\text{компл.}}^{\text{фл}} = I_{\text{корр}}^{\text{фл}} - I_{\text{акц.корр.}}^{\text{фл}} \text{ (Рис. 29).}$$

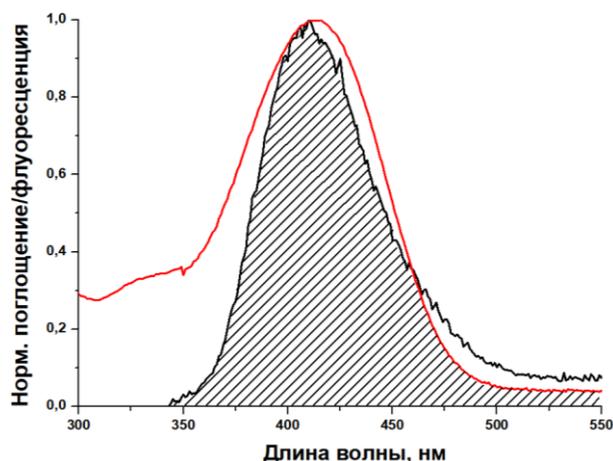


**Рисунок 29** – Скорректированные спектры флуоресценции свободного красителя **11** ( $C_{11} = 2,5 \cdot 10^{-5}$  М) (зеленый), а также его комплекса с красителем **6** при разном мольном соотношении: 1:2 (черный), 1:3 (красный), 1:4 (синий), 1:5 (оранжевый), 1:10 (маджента) ( $C_{11} = 2,5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_6 = 5 \cdot 10^{-5} - 2,5 \cdot 10^{-4}$  М) при  $\lambda_{\text{возб}} = 407$  нм, в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при  $20^{\circ}\text{C}$

Комплексы бисстирилового красителя **12** с моностириловым красителем **6**. Электронный спектр поглощения красителя **12** в хлористом метиле характеризуется двумя длинноволновыми полосами с максимумами при 330 нм и 415 нм, которые соответствуют полосам поглощения незаряженного и заряженного стирилпиридиниевых фрагментов (Рис. 30).

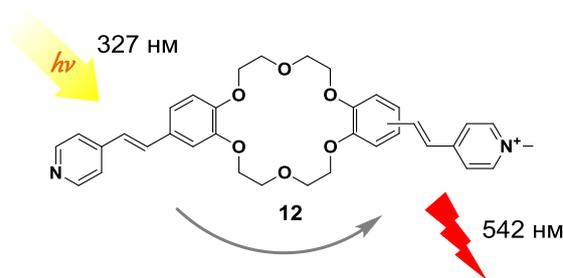


**Рисунок 30** – Спектр поглощения соединения **12** ( $C_{12} = 1 \cdot 10^{-5}$  М) в  $CH_2Cl_2$  при 20 °С

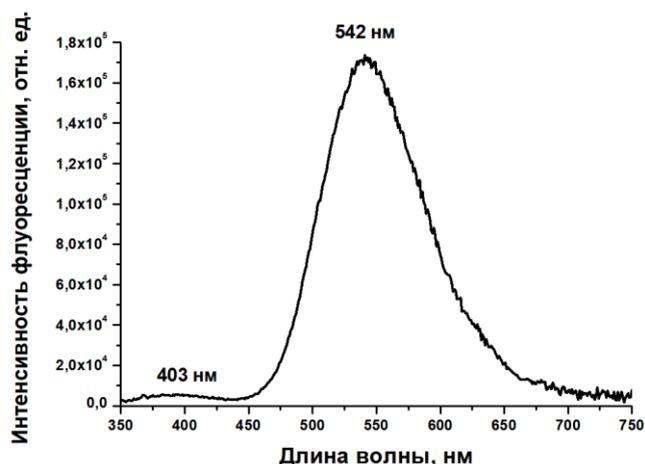


**Рисунок 31** – Нормализованные спектры поглощения бисстирилового красителя **11** (красный) и флуоресценции бисстирилового красителя **10** (черный) в  $CH_2Cl_2$  при 20 °С

Кроме того, в несимметричном красителе **12** также наблюдается перекрывание спектров поглощения положительно заряженного фрагмента и флуоресценции нейтрального стирилового остатка (Рис. 31), а хромофоры расположены на близком расстоянии друг от друга. Следовательно, в данном соединении возможен перенос энергии, представленный на рисунке 32.



**Рисунок 32** – Схема переноса энергии в бисстириловом красителе **12**

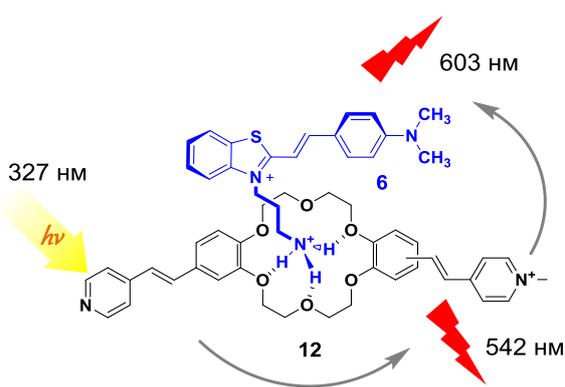


**Рисунок 33** – Спектр флуоресценции свободного красителя **12** ( $C_{12} = 1 \cdot 10^{-5}$  М) в  $CH_2Cl_2$  при  $\lambda_{возб} = 327$  нм

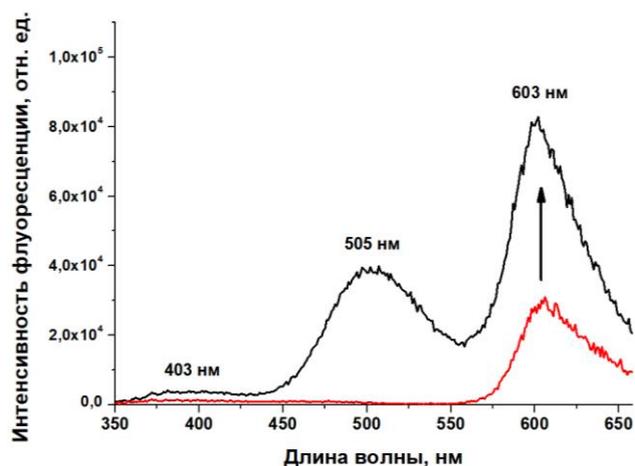
При возбуждении красителя **12** в области поглощения незаряженной части красителя 327 нм, наблюдается флуоресценция заряженного стирилового фрагмента, т.е. в данной системе перенос энергии происходит с высокой эффективностью (Рис. 33).

В связи с этим можно предположить, что в комплексе несимметричного красителя **12** с бензотиазолевым производным **6** возможно протекание каскадного переноса энергии: с незаряженной части бисстирилового красителя **12** на заряженный хромофор, а затем на моностириловый краситель **6** (Рис. 34).

Как видно из рисунка 35, при возбуждении комплекса в области поглощения незаряженной компоненты наблюдаются два максимума флуоресценции, соответствующие заряженной части молекулы **12**, а также моностириловому красителю **6**, флуоресценция незаряженной части красителя **12** практически отсутствует.



**Рисунок 34** – Схема каскадного переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **12** и моностирилового красителя **6**



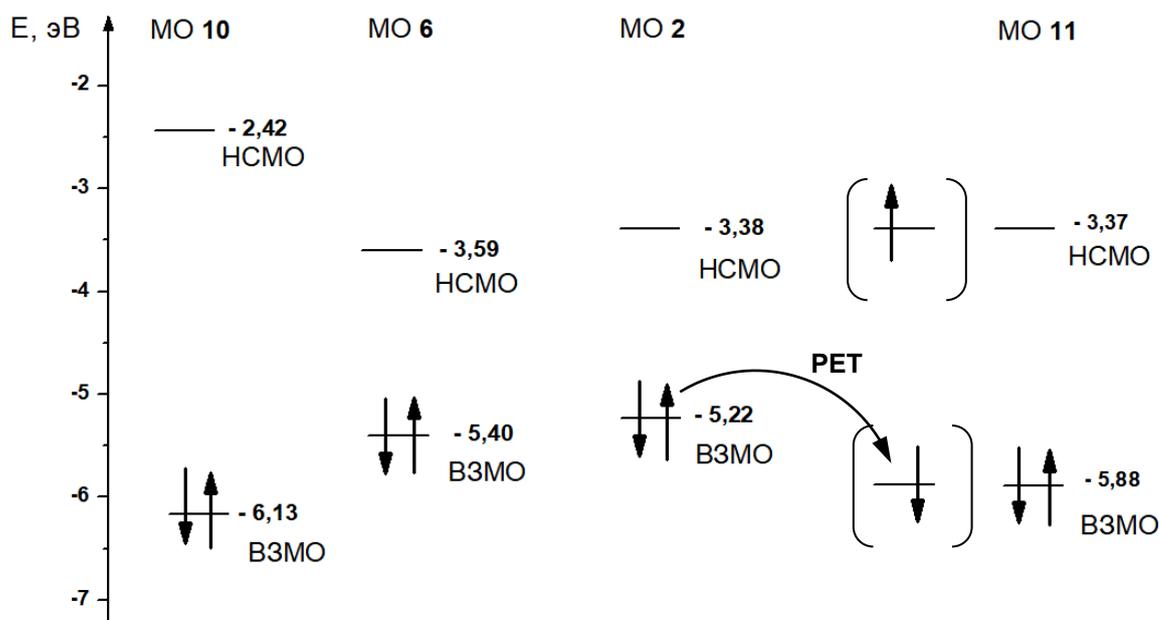
**Рисунок 35** – Спектры флуоресценции комплекса красителей **6** и **12** ( $C_{12} = 2,5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$  М) (черный), свободного красителя **6** ( $C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$  М) (красный) при  $\lambda_{\text{возб}} = 327$  нм в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20 °С

Флуоресценция свободного моностирилового красителя **6** имеет значительно меньшую интенсивность по сравнению с флуоресценцией в комплексе с красителем **12** (Рис. 35, красный спектр). На основании полученных результатов можно сделать вывод, что в данной системе осуществляется каскадный перенос. В данном случае наблюдается остаточная флуоресценция донора энергии, что свидетельствует о неполном переносе энергии.

Таким образом, процесс переноса энергии в супрамолекулярных ансамблях, включающих пиридиниевые моностириловые красители **2** и **4**, оказался неэффективным, тогда как в комплексах с бензотиазоловым стириловым производным **6** перенос энергии реализуется, однако, не полностью. Оценить эффективность процесса переноса энергии не представляется возможным из-за сложного состава смеси.

Как было показано ранее на эффективность переноса энергии в значительной мере влияет взаимное расположение диполей донора и акцептора: хромофоры должны быть расположены как можно более параллельно друг к другу. Однако, согласно данным оптимизации комплексов пиридиниевых красителей **2** и **4**, моностириловая компонента расположена перпендикулярно по отношению к бисстириловому красителю (Рис. 16). По-видимому, данный фактор является причиной отсутствия переноса энергии в ансамблях пиридиниевых красителей.

С помощью метода циклической вольтамперометрии были определены<sup>1</sup> потенциалы окисления и восстановления красителей. Полученные данные использовали для расчета положения энергетических уровней высшей занятой молекулярной орбитали (ВЗМО) и низшей свободной молекулярной орбитали (НСМО) красителей **10**, **11**, **2** и **6** (Рис. 36).



**Рисунок 36** – Распределение граничных молекулярных орбиталей **10**, **11**, **2** и **6** по уровням энергии. Орбитали в скобках относятся к возбужденному состоянию хромофора **11**

<sup>1</sup> Исследование выполнено к.х.н. Перегудовой С.М., ИНЭОС РАН.

При осуществлении переноса энергии по механизму Фёрстера возбужденный донор энергии (краситель **10** или **11**) в результате кулоновского взаимодействия передает энергию на акцептор (красители **2**, **4**, **6**). При этом возбужденный электрон донора возвращается в основное состояние одновременно с возбуждением акцептора. Заключительной стадией процесса является релаксация акцептора с испусканием флуоресценции.

Взаимное расположение уровней ВЗМО и НСМО в красителях подтверждает возможность переноса энергии как между нейтральным и заряженным фрагментами в соединении **12**, так и в комплексах стироловых красителей. Однако, наряду с этим возможно протекание конкурирующего процесса – фотоиндуцированного переноса электрона (Photoinduced electron transfer, PET). Рассмотрим механизм данного процесса на примере комплекса красителей **11** и **2**. При возбуждении красителя **11** его электрон с ВЗМО переходит на НСМО, орбитали красителя в возбужденном состоянии показаны в скобках (Рис. 36). В результате подходящего расположения ВЗМО донора и акцептора возможно осуществление переноса электрона с ВЗМО красителя **2** на ВЗМО бисстирилового красителя. Данный процесс приводит к образованию катион- и анион-радикала. Последующая релаксация ион-радикальной пары происходит безызлучательно: возможен перенос электрона с НСМО флуорофора **11** на более низкую по энергии ВЗМО катион-радикала **2**. Кроме того, с увеличением разницы между ВЗМО донора и акцептора электрона эффективность PET возрастает [137-138]. На основании этого можно предположить, что в супрамолекулярных ансамблях, включающих моностириловый краситель **6**, конкурирующий процесс переноса электрона является менее эффективным, чем в комплексах пиридиниевых стироловых производных **2** и **4**.

Таким образом, с использованием комплементарных компонент возможно создавать супрамолекулярные комплексы красителей, в которых реализуется процесс переноса энергии. Показано, что преимуществом подобных комплексов является возможность изменения компонент без использования синтетических методов. Варьирование компонент помогает подобрать условия для полной реализации желаемых характеристик. В нашем случае переход от моностирилового красителя на основе пиридина к красителю на основе бензотиазола позволил увеличить эффективность переноса энергии. Модификация структуры бисстириловой компоненты привела к возможности реализации каскадного переноса энергии.

### 3.3. Супрамолекулярные ансамбли несимметричного бисстирилового производного с молекулами-контейнерами

При подготовке данного раздела использованы собственные публикации автора [139].

Молекулы-контейнеры – циклодекстрины и кукурбитурилы – привлекают внимание исследователей с целью разработки средств направленной доставки лекарственных препаратов. Такие молекулы обеспечивают пролонгированное действие лекарственных средств, улучшают их растворимость, защищают от биодegradации и снижают токсический эффект [140-145]. В связи с этим изучение закономерностей связывания органических молекул с циклодекстринами и кукурбитурилами является актуальной задачей.

Кукурбит[*n*]урилы (**CB[*n*]**) – макроциклические кавитанды, состоящие из нескольких ( $n = 5 - 10$ ) гликольурильных фрагментов состава  $(C_6H_6N_4O_2)_n$ , соединенных между собой метиленовыми мостиками (Рис. 37).

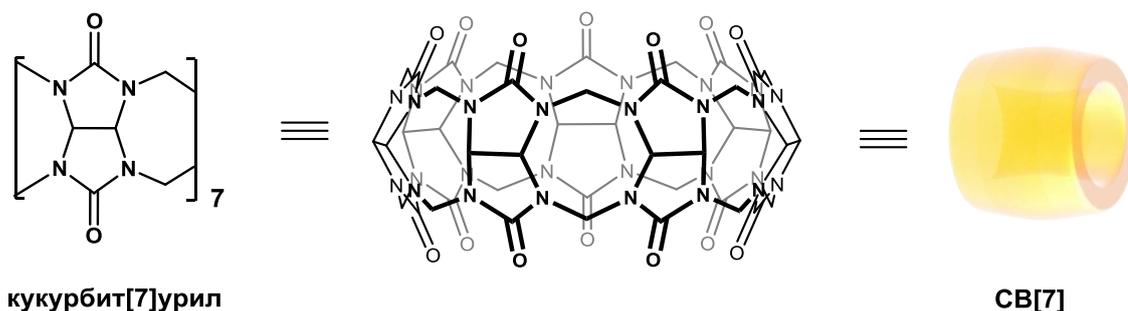


Рисунок 37 – Строение кукурбит[7]урила

Циклодекстрины (**CD**) – циклические олигомеры, мономерами которых являются  $\alpha$ -D-глюкопиранозные остатки, объединенные в макроциклы  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями (Рис. 38). В зависимости от количества остатков глюкозы, содержащихся в одной молекуле, различают  $\alpha$ -циклодекстрин, состоящий из 6 глюкопиранозных звеньев,  $\beta$ -циклодекстрин, содержащий 7 глюкопиранозных остатков, и  $\gamma$ -циклодекстрин, включающий 8 звеньев. Практическое применение получили циклодекстрины с замещенными гидроксильными группами. Так, например, 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин (**HP- $\beta$ -CD**) имеет лучшую растворимость и обладает дополнительными сайтами связывания молекул-гостей (Рис. 38).

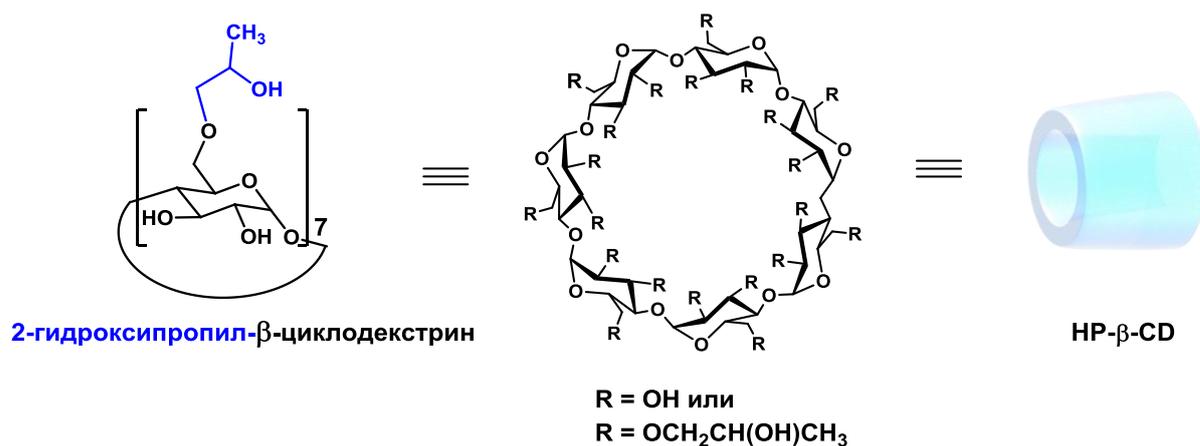


Рисунок 38 – Строение 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина

Кукурбитурилы, благодаря высокополярным карбонильным группам, склонны к связыванию катионных молекул, в то время как циклодекстрины, наоборот, образуют комплексы с нейтральными органическими молекулами. Создание системы, включающей два типа молекул-хозяев с противоположными комплексообразующими свойствами, является малоизученной областью супрамолекулярной химии. В качестве молекулы-гостя в данной работе использовался несимметричный бисстириловый краситель **12**, содержащий две независимые хромофорные системы: нейтральную и положительно-заряженную, связанные между собой через краун-эфирный фрагмент. Такое соединение способно связываться с каждой из макромолекул или двумя одновременно (Рис. 39).

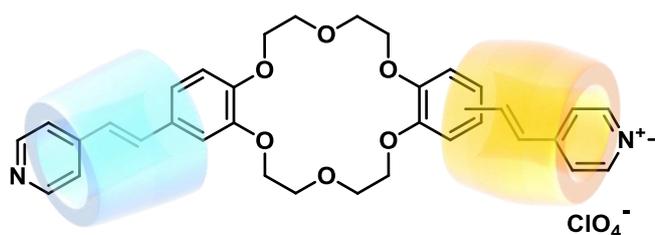


Рисунок 39 – Строение супрамолекулярного ансамбля несимметричного красителя **12** с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином и кукурбит[7]урилом

В качестве молекул-хозяев были выбраны **HP-β-CD** и **CB[7]**, соединения, хорошо растворимые в водных средах и обладающие оптимальными размерами полости для связывания стирилпиридиновых фрагментов [146-148]. Вначале были изучены свойства двухкомпонентных комплексов лиганд-**HP-β-CD** и лиганд-**CB[7]**, в конце данного раздела представлены исследования тройного комплекса **HP-β-CD**-лиганд-**CB[7]**. Для изучения комплексообразования применялась

комбинация методов ЯМР и оптической спектроскопии, а также масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением.

### 3.3.1. Изучение комплексообразования бисстирилового красителя **12** с 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрином

Электронный спектр поглощения красителя **12** в натрий-фосфатном буфере (рН = 7.0) характеризуется двумя длинноволновыми полосами с максимумами при 335 и 385 нм, которые соответствуют полосам поглощения незаряженного стирил-пиридиниевого фрагмента и заряженной хромофорной части (Рис. 40, черный спектр). При взаимодействии несимметричного красителя **12** с **HP- $\beta$ -CD** максимум поглощения красителя, соответствующий незаряженному хромофору, претерпевает небольшой батохромный сдвиг:  $\Delta\lambda_{\text{max}} = 8$  нм (Рис. 40). Образование комплекса происходит за счет гидрофобных взаимодействий лиганда с полостью циклодекстрина. Инкапсулирование понижает полярность окружения лиганда, что сопровождается длинноволновым сдвигом максимума поглощения за счет проявления отрицательного сольватохромного эффекта. Поскольку молекула циклодекстрина способна координировать незаряженные частицы, можно предположить, что координация **HP- $\beta$ -CD** происходит с незаряженной частью молекулы **12** (Схема 19).

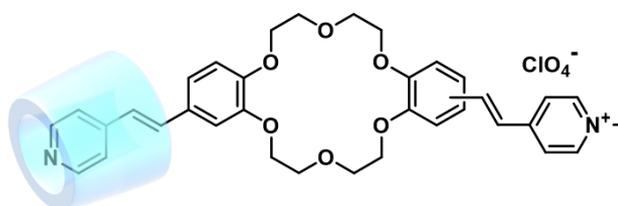
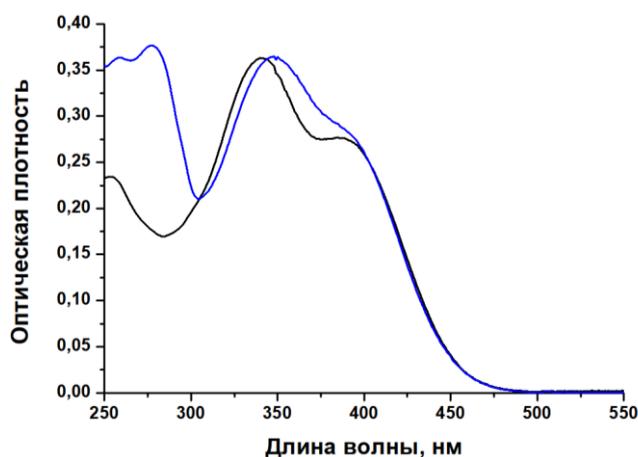
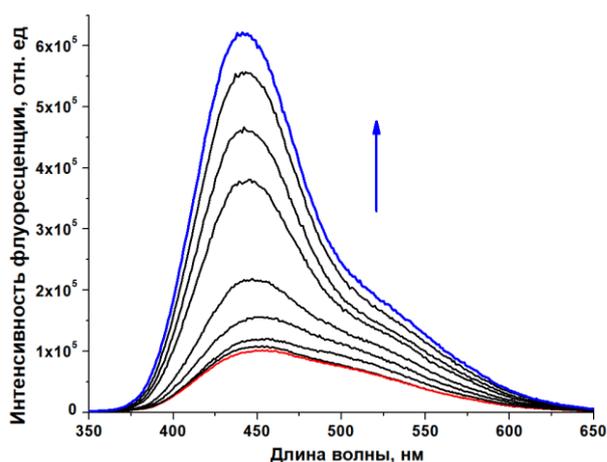


Схема 19

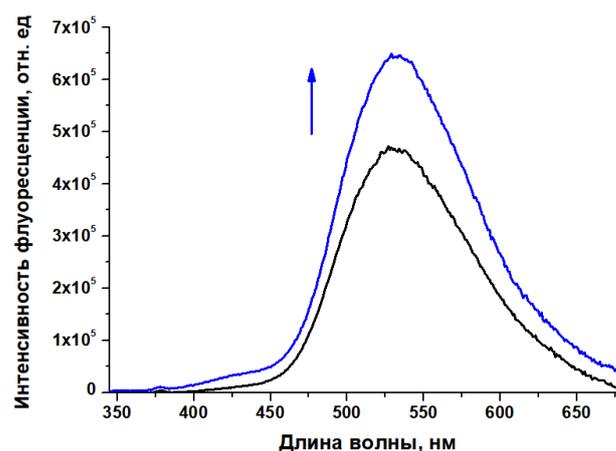


**Рисунок 40** – Спектры поглощения свободного лиганда **12** (черный) и в присутствии  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М **HP- $\beta$ -CD** (синий) в натрий-фосфатном буфере (рН = 7.0), во всех случаях  $C_{12} = 2.0 \cdot 10^{-5}$  М

Как правило, изменения в спектрах флуоресценции лиганда при добавлении циклодекстрина более выражены по сравнению со спектрами поглощения. Более ранние исследования комплексообразования симметричного незаряженного красителя **10** на предмет связывания с **HP- $\beta$ -CD** показали разгорание флуоресценции красителя в 5 раз при образовании комплексов включения (Рис. 41) [149]. Однако в несимметричном красителе **12** реализуется процесс переноса энергии с незаряженной части красителя на заряженную. Поэтому при возбуждении комплекса в максимуме поглощения незаряженного хромофора наблюдается лишь одна полоса флуоресценции заряженной части красителя, которая при добавлении даже большого избытка циклодекстрина разгорается лишь в 1.4 раза (Рис. 42). В случае возбуждения комплекса в максимуме поглощения заряженного хромофора (385 нм) наблюдаются аналогичные изменения – флуоресценция красителя разгорается в 1.2 раза.



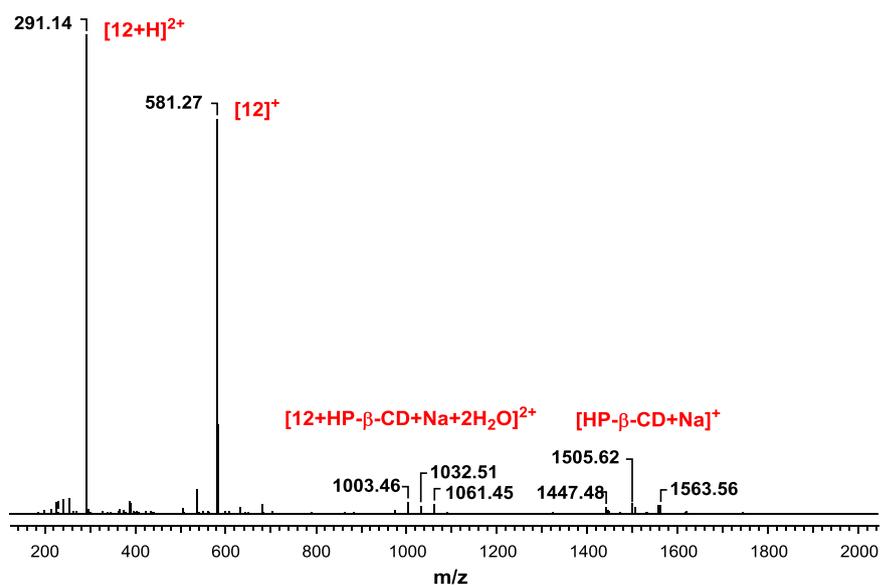
**Рисунок 41** – Спектрофлуориметрическое титрование красителя **10** **HP- $\beta$ -CD** в смеси вода:ДМСО (100:1) при  $\lambda_{\text{возб}} = 340$  нм при 25 °С,  $C_{10} = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} = 0 - 0.1$  М



**Рисунок 42** – Спектры флуоресценции свободного красителя **12** (черный) и в присутствии  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М **HP- $\beta$ -CD** (синий) в натрий-фосфатном буфере (pH = 7.0) при  $\lambda_{\text{возб}} = 335$  нм при 25 °С,  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-5}$  М

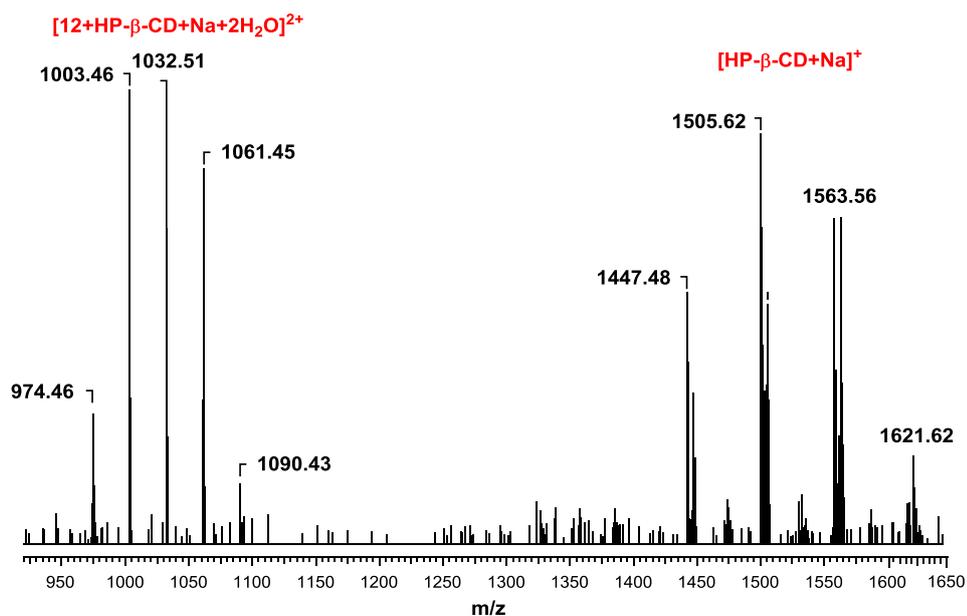
Образование комплексов **HP- $\beta$ -CD** с несимметричным красителем **12** было также подтверждено с помощью данных ИЭР масс-спектрометрии. В спектре красителя **12** в присутствии 5 экв. **HP- $\beta$ -CD** и 2 экв.  $\text{NaClO}_4$  были обнаружены два одиночных сигнала со значениями 291.14 и 581.27 m/z, а также два набора сигналов в области 1003.46-1061.45 и 1447.48-1563.56 m/z (Рис. 43). Основные сигналы при 291.14 и 581.27 m/z отвечают молекулярным ионам  $[\mathbf{12}+\text{H}]^{2+}$  и  $[\mathbf{12}]^+$ .

Здесь и далее добавление перхлората натрия проводилось для улучшения детектирования молекул-контейнеров и их комплексов.



**Рисунок 43** – Масс-спектр **12** ( $C_{12} = 2 \cdot 10^{-5}$  M) в присутствии **HP- $\beta$ -CD** ( $C_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} = 1 \cdot 10^{-4}$  M) и  $\text{NaClO}_4$  ( $C_{\text{NaClO}_4} = 4 \cdot 10^{-5}$  M) в воде

Группа сигналов при 1447.48-1621.62 m/z отвечает молекулярному иону  $[\text{HP-}\beta\text{-CD+Na}]^+$  с различной степенью замещения гидроксильных групп циклодекстрина. Набор сигналов, связанный с образованием комплекса между **12** и **HP- $\beta$ -CD** располагается в области 1003.46-1061.45 m/z и отвечает молекулярному иону  $[\mathbf{12+HP-}\beta\text{-CD+Na+2H}_2\text{O}]^{2+}$  (Рис. 44).



**Рисунок 44** – Фрагмент масс-спектра **12** ( $C_{12} = 2 \cdot 10^{-5}$  M) в присутствии **HP- $\beta$ -CD** ( $C_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} = 1 \cdot 10^{-4}$  M) и  $\text{NaClO}_4$  ( $C_{\text{NaClO}_4} = 4 \cdot 10^{-5}$  M) в воде

### 3.3.2. Изучение комплексообразования бисстирилового красителя **12** с кукурбит[7]урилом

Добавление аликвот раствора **СВ[7]** к раствору лиганда приводит к значительному батохромному сдвигу ( $\Delta\lambda_{\max} = 27$  нм) полосы поглощения, соответствующей заряженной части красителя, при этом максимум незаряженного хромофора практически не претерпевает изменений (Рис. 45). Эти данные свидетельствуют о том, что, прежде всего, координация **СВ[7]** происходит по заряженной части молекулы (Схема 20). Дальнейшее увеличение концентрации может привести к образованию нового комплекса, в котором вторая молекула **СВ[7]** связана с нейтральной частью красителя **12**.

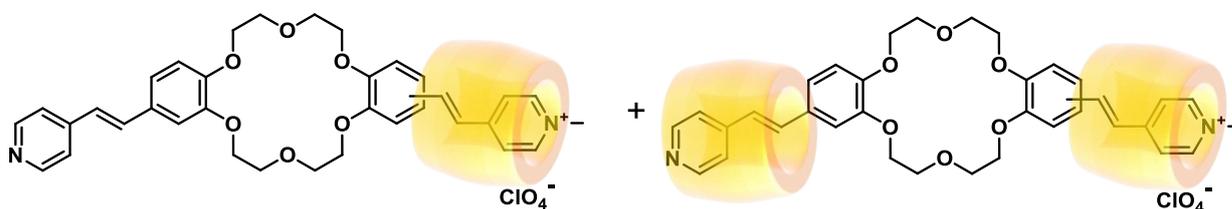


Схема 20

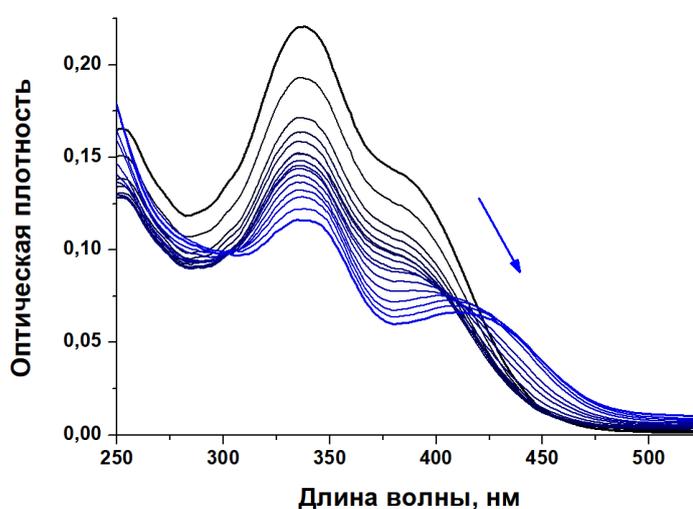
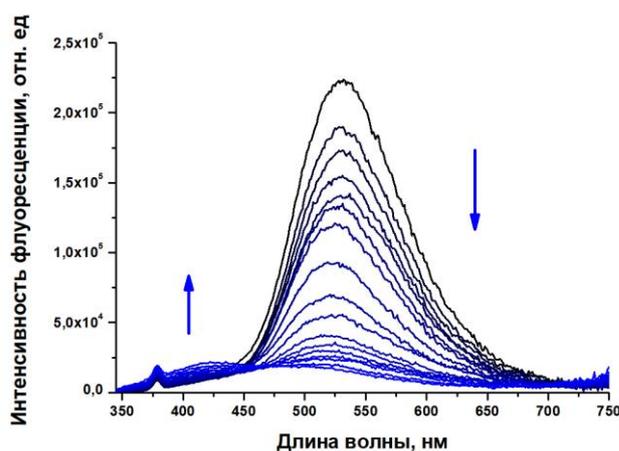


Рисунок 45 – Спектрофотометрическое титрование красителя **12** **СВ[7]** в борно-щелочном буфере (рН = 9.4) при 25 °С,  $C_{12} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{СВ[7]}} = 0 - 4.1 \cdot 10^{-4}$  М

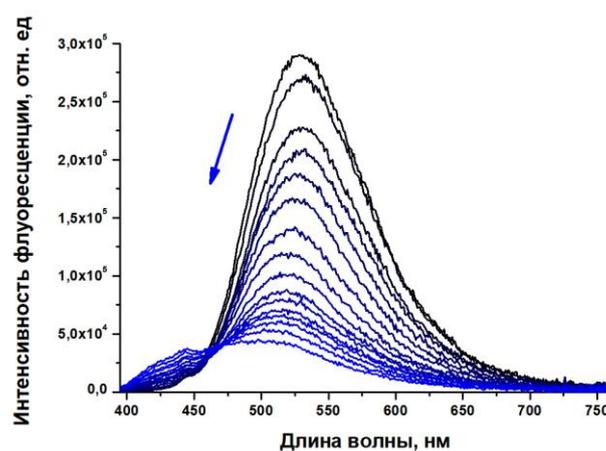
Образование комплекса происходит за счет ион-дипольных взаимодействий между кватернизованным азотом пиридинового фрагмента красителя и карбонильными группами кукурбитурила, а также благодаря гидрофобным взаимодействиям лиганда с полостью макроцикла. Таким образом, длинноволновый сдвиг полосы поглощения положительно заряженного хромофора

объясняется отрицательным сольватохромным эффектом при переходе красителя из полярного растворителя в менее полярную полость кукурбитурила.

Влияние СВ[7] на флуоресцентный отклик красителя **12** было изучено посредством спектрофлуориметрического титрования при  $\lambda_{\text{возб}} = 335$  нм и  $\lambda_{\text{возб}} = 385$  нм, соответствующих максимумам поглощения красителя (Рис. 46-47). Было обнаружено, что добавление аликвот СВ[7] к раствору красителя **12** приводит к сдвигу полосы флуоресценции на 30 нм в коротковолновую область, что связано с перемещением молекулы-гостя в неполярную полость макроцикла. Кроме того увеличение концентрации СВ[7] вызывает тушение полосы флуоресценции заряженного фрагмента при 530 нм и в случае  $\lambda_{\text{возб}} = 335$  нм приводит к появлению новой широкой полосы при 420 нм, соответствующей флуоресценции незаряженной части красителя.

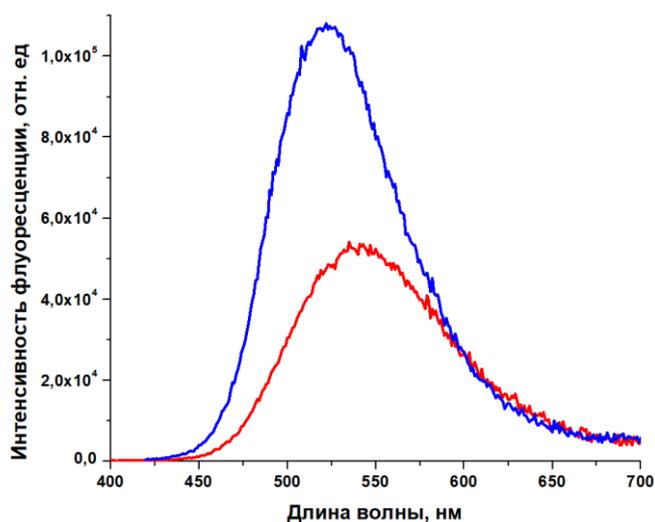


**Рисунок 46** – Спектрофлуориметрическое титрование красителя **12** СВ[7] в борнощелочном буфере при  $\lambda_{\text{возб}} = 335$  нм при 25 °С,  $C_{12} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{СВ}[7]} = 0 - 5.5 \cdot 10^{-4}$  М



**Рисунок 47** – Спектрофлуориметрическое титрование красителя **12** СВ[7] в борнощелочном буфере при  $\lambda_{\text{возб}} = 385$  нм при 25 °С,  $C_{12} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{СВ}[7]} = 0 - 5.5 \cdot 10^{-4}$  М

Ранее были исследованы комплексы симметричного заряженного красителя **11** с СВ[7] [149]. Присутствие в растворе красителя **11** избытка СВ[7] приводит к увеличению интенсивности флуоресценции лиганда в два раза (Рис. 48). По-видимому, наблюдаемые спектральные изменения обусловлены тем, что кукурбит[7]урил частично блокирует безызлучательные каналы релаксации возбужденного состояния красителя. В присутствии кукурбитурила полоса флуоресценции также сдвигается на 18 нм. Таким образом, комплексообразование красителя **12** с НР- $\beta$ -CD и СВ[7] отличается от комплексообразования структурно близких симметричных красителей **10** и **11**.



**Рисунок 48** – Спектр флуоресценции свободного бисстирилового красителя **11** (красный) и в присутствии  $1 \cdot 10^{-3}$  М **CB[7]** (синий) при  $\lambda_{\text{возб}} = 385$  нм в смеси вода:ДМСО (100:1); во всех случаях  $C_{11} = 1 \cdot 10^{-5}$  М

Для подтверждения образования комплекса красителя **12** с **CB[7]** и определения его структуры применялась ЯМР спектроскопия. Из-за недостаточной растворимости лиганда в воде комплексообразование было исследовано в смеси растворителей  $D_2O$ - $CD_3CN$  (3:1). Кроме  $^1H$  ЯМР-спектроскопии для соотнесения сигналов в молекуле свободного лиганда **12** и его комплекса с **CB[7]** были проведены двумерные эксперименты, позволяющие выявить гомоядерные  $^1H$ - $^1H$  (COSY, NOESY) взаимодействия. Полная расшифровка спектров представлена в Экспериментальной части.

На рисунке 49 представлены спектры ЯМР  $^1H$  красителя **12** и **CB[7]** в различных соотношениях. При увеличении концентрации макроцикла наблюдается сдвиг сигналов протонов пиридинового фрагмента и двойной связи заряженного хромофора красителя в сильные поля. Так, например, сигналы  $H(2',6')$  и  $H(3',5')$  сдвигаются на  $\Delta\delta = 0.68$  м.д. и  $0.88$  м.д. соответственно. А сигналы при двойной связи  $H(a',b')$  сдвигаются в сильные поля на  $\Delta\delta = 0.60$  м.д. и  $0.61$  м.д. соответственно. Это свидетельствует о капсулировании этих фрагментов полостью **CB[7]**.

В то же время сигналы протонов, соответствующих незаряженному фрагменту лиганда, претерпевают значительно меньшие сдвиги: при соотношении компонентов 1:5 для  $H(2,6)$   $\Delta\delta = 0.31$  м.д., а сигнал  $H(3,5)$  последовательно сдвигается сначала в слабые, а затем в сильные поля при увеличении концентрации макроцикла в системе.

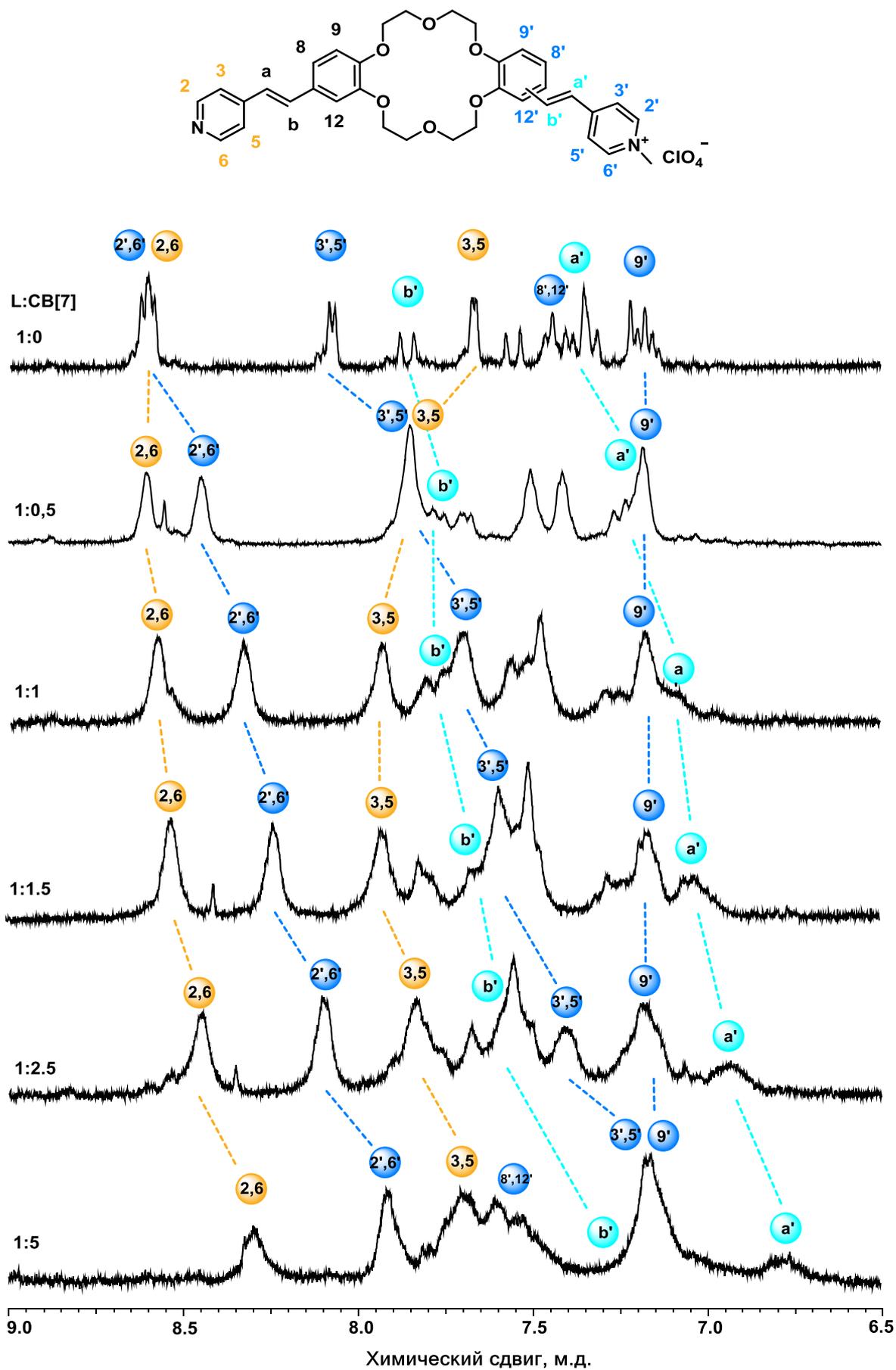


Рисунок 49 – Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР (ароматическая часть) в  $\text{D}_2\text{O}-\text{CD}_3\text{CN}$  (3:1) при различном соотношении 12:CB[7]

Сигналы ароматических Н(8',12') протонов сдвинуты в слабые поля ( $\Delta\delta = 0.15$  м.д.) вследствие эффекта дезэкранирования, что свидетельствует о расположении этих фрагментов с внешней стороны полости СВ[7]. Данный эффект ослабевает по мере увеличения расстояния между порталами кукурбит[7]урила и атомами водорода молекулы-гостя **12**. На ароматический протон Н(9'), расположенный дальше от полости СВ[7], а, следовательно, наименее подверженный эффекту дезэкранирования, макроцикл влияния не оказывает.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что молекула-контейнер преимущественно располагается вокруг заряженного пиридиниевого фрагмента, а также двойных связей. По мере увеличения концентрации кукурбитурила происходят дальнейшие изменения в ЯМР-спектрах. Наблюдаются сдвиги протонов незаряженной части красителя **12**, а также значительное уширение всех сигналов протонов. Данные изменения могут быть связаны с двумя процессами: протонированием незаряженного фрагмента лиганда (слабопольный сдвиг), а затем капсулирование этой части красителя кукурбитурилом (сильнопольный сдвиг). Причиной уширения сигналов может являться агрегация стироловых фрагментов в полости кукурбитурила. Такой процесс может происходить, если заряженный фрагмент одной молекулы **12** координирует с незаряженным фрагментом другой молекулы в полости СВ[7]. Предполагаемая структура представлена на схеме 21.

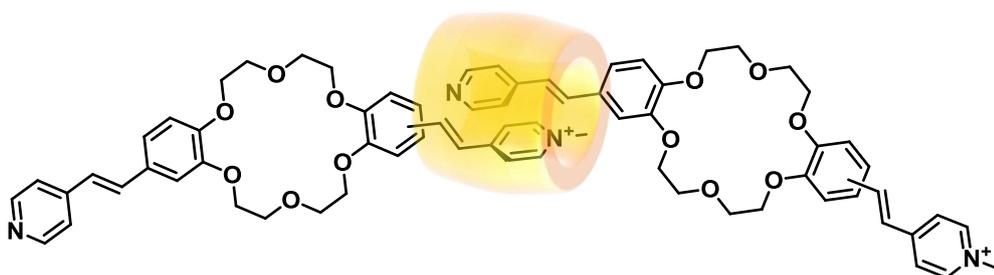
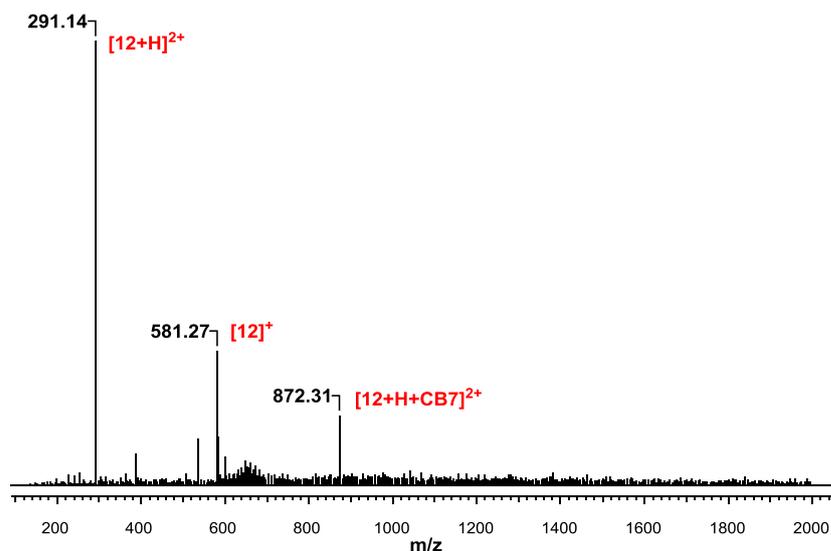


Схема 21

Дополнительным доказательством образования комплексов СВ[7] с несимметричным красителем **12** служат данные масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением. В ходе эксперимента варьировались концентрации «гостя» и «хозяина». В масс-спектре **12** в присутствии 0.5 экв. СВ[7] и 2 экв. NaClO<sub>4</sub> были обнаружены пики со значениями m/z равными 291.14, 581.27 и 872.31 (Рис. 50).

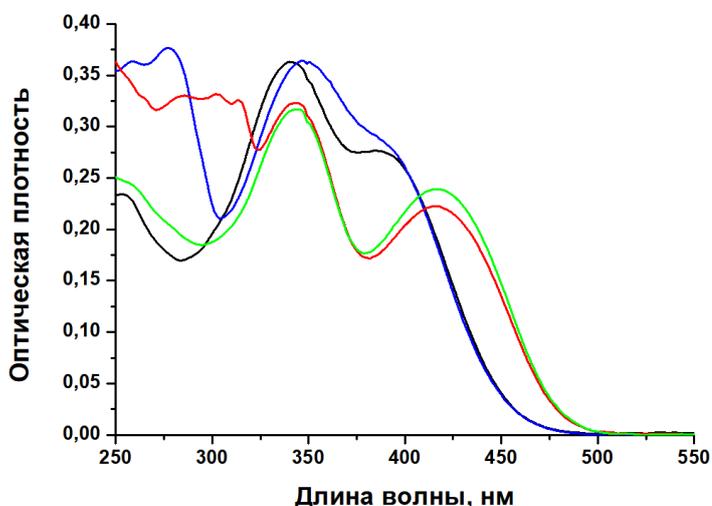


**Рисунок 50** – Масс-спектр **12** ( $C_{12} = 2 \cdot 10^{-5}$  М) в присутствии **CB[7]** ( $C_{CB[7]} = 1 \cdot 10^{-5}$  М) и  $\text{NaClO}_4$  ( $C_{\text{NaClO}_4} = 4 \cdot 10^{-5}$  М) в воде

Сигналы при 291.14 и 581.27 m/z отвечают молекулярным ионам  $[\mathbf{12}+\text{H}]^{2+}$  и  $[\mathbf{12}]^+$ , которые соответствуют протонированному и непротонированному свободному красителю. Сигнал при 872.31 m/z соответствует иону  $[\mathbf{12}+\text{H}+\text{CB7}]^{2+}$ , который связан с комплексом 1:1 протонированного красителя.

### 3.3.3. Изучение тройного комплекса **HP-β-CD-12-CB[7]**

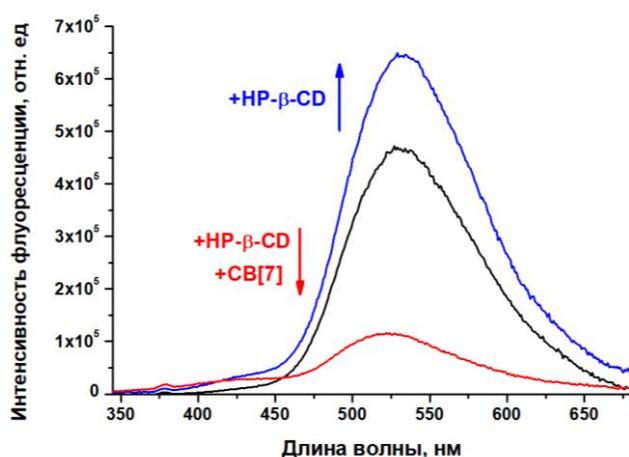
Перейдем к изучению тройного комплекса, включающего несимметричный краситель **12** и два типа молекул-контейнеров: 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин и кукурбит[7]урил. Получение комплекса осуществляли как добавлением **CB[7]** к комплексу красителя с **HP-β-CD**, так и добавлением **HP-β-CD** к комплексу красителя с **CB[7]** (Рис. 51).



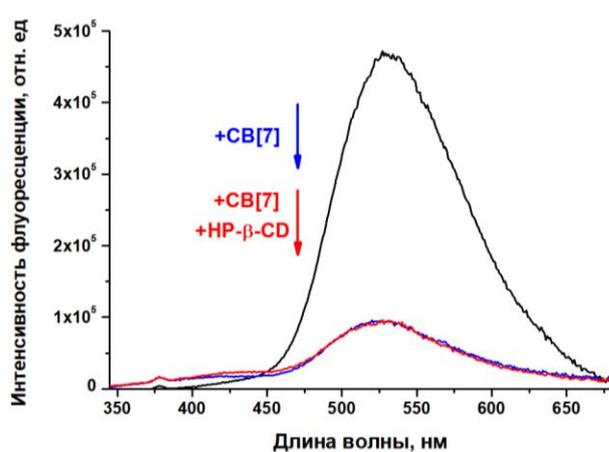
**Рисунок 51** – Спектры поглощения свободного лиганда **12** (черный), в присутствии  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М **HP-β-CD** (синий), в присутствии  $5 \cdot 10^{-4}$  М **CB[7]** (зеленый), в присутствии  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М **HP-β-CD** и  $5 \cdot 10^{-4}$  М **CB[7]** (красный) в натрий-фосфатном буфере, во всех случаях  $C_{12} = 2.0 \cdot 10^{-5}$  М

По полученным данным спектр поглощения тройного комплекса не зависит от последовательности добавления макроциклов. Кроме того, спектр соединения **12** в присутствии двух различных макроциклов практически совпадает со спектром комплекса красителя с **СВ[7]**.

Рассмотрим изменения в спектрах флуоресценции красителя при последовательном добавлении макроциклов. Добавление **СВ[7]** к комплексу лиганд-**НР-β-CD** (Рис. 52, синий спектр) приводит к тушению флуоресценции красителя, а также к небольшому сдвигу максимума флуоресценции в коротковолновую область (Рис. 52, красный спектр).



**Рисунок 52** – Спектры флуоресценции свободного красителя **12** (черный), в присутствии  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М **НР-β-CD** (синий), в присутствии  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М **НР-β-CD** и  $5 \cdot 10^{-4}$  М **СВ[7]** (красный) в натрий-фосфатном буфере при  $\lambda_{\text{возб}} = 335$  нм при  $25^\circ\text{C}$ ,  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-5}$  М



**Рисунок 53** – Спектры флуоресценции свободного красителя **12** (черный), в присутствии  $5 \cdot 10^{-4}$  М **СВ[7]** (синий), в присутствии  $5 \cdot 10^{-4}$  М **СВ[7]** и  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М **НР-β-CD** (красный) в натрий-фосфатном буфере при  $\lambda_{\text{возб}} = 335$  нм при  $25^\circ\text{C}$ ,  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-5}$  М

Аналогичные изменения флуоресценции красителя наблюдались при образовании комплекса лиганд-**СВ[7]** (Рис. 53, синий спектр). С другой стороны добавление избытка **НР-β-CD** к комплексу краситель-**СВ[7]** не приводит к изменениям в спектре флуоресценции комплекса **12-СВ[7]** (Рис. 53, красный).

Данные спектральные изменения могут свидетельствовать о протекании двух процессов. Возможно образование смешанного комплекса **НР-β-CD-12-СВ[7]** (Схема 22). Поскольку спектральные изменения при добавлении **НР-β-CD** невелики, то совпадение спектров поглощения и флуоресценции **НР-β-CD-12-СВ[7]** и **12-СВ[7]** является вполне объяснимым.

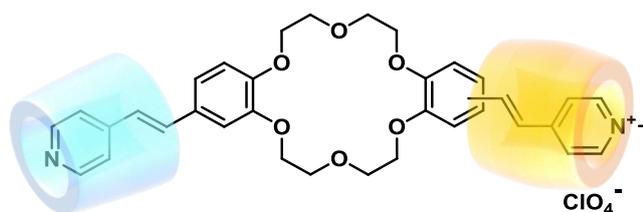


Схема 22

Другим возможным сценарием является образование агрегатов в присутствии СВ[7] (Схема 21). В пользу образования агрегатов свидетельствуют также данные флуоресцентных исследований **12** с кукурбит[7]урилом. Ранее было показано, что координация симметричного заряженного красителя **11** приводит к увеличению флуоресценции красителя [149], в то время как в случае красителя **12** наблюдается обратный процесс – тушение флуоресценции, что может быть связано с агрегацией красителя. Кроме того, согласно полученным ранее данным, константы комплексообразования незаряженного красителя **10** с СВ[7] выше констант связывания с НР-β-CD [149]. Что также может объяснять возможность координации обоих, как заряженного, так и незаряженного, фрагментов **12** с СВ[7].

Образование тройного комплекса, а также агрегатов красителя в полости СВ[7] было подтверждено с помощью метода масс-спектрометрии. В масс-спектре красителя **12** в присутствии 3 экв. НР-β-CD, 1.3 экв. СВ[7] и 1.3 экв. NaClO<sub>4</sub> были обнаружены четыре сигнала: 291.14, 581.27, 1696.62 и 1703.46 m/z (Рис. 54).

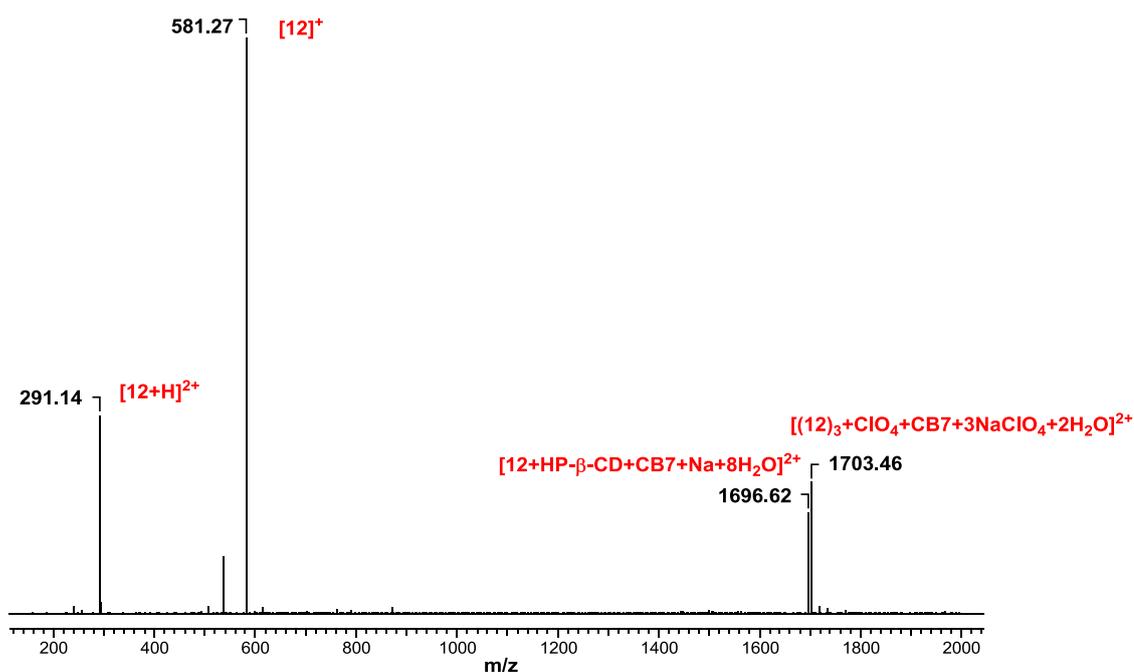


Рисунок 54 – Масс-спектр **12** ( $C_{12} = 3 \cdot 10^{-5}$  M) в присутствии НР-β-CD ( $C_{\text{НР-}\beta\text{-CD}} = 1 \cdot 10^{-4}$  M), СВ[7] ( $C_{\text{СВ[7]}} = 4 \cdot 10^{-5}$  M) и NaClO<sub>4</sub> ( $C_{\text{NaClO}_4} = 4 \cdot 10^{-5}$  M) в воде

Первые два были описаны ранее, сигнал при 1696.62 m/z соответствует иону  $[12+\text{HP-}\beta\text{-CD}+\text{CB7}+\text{Na}+8\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ , который отвечает тройному комплексу. В свою очередь сигнал 1703.46 m/z, по-видимому, соответствует агрегату трех молекул красителя и кукурбит[7]урилла.

Таким образом, в присутствии лиганда и двух различных макроциклических контейнеров **HP- $\beta$ -CD** и **CB[7]** возможно образование нескольких типов супрамолекулярных ансамблей: трехкомпонентного комплекса **HP- $\beta$ -CD-12-CB[7]**, агрегатов, формирующихся в полости **CB[7]**, а также комплекса **CB[7]-12-CB[7]**, в котором кукурбитурил инкапсулирует оба стироловых фрагмента. При этом тушение флуоресценции красителя свидетельствует о преимущественном образовании агрегатов лиганда. Для определения условий образования того или иного супрамолекулярного ансамбля необходимо дальнейшее изучение тройной системы.

### 3.4 Связывание моно- и бисстириловых краун-содержащих красителей с ДНК лосося

*При подготовке данного раздела использованы собственные публикации автора [127].*

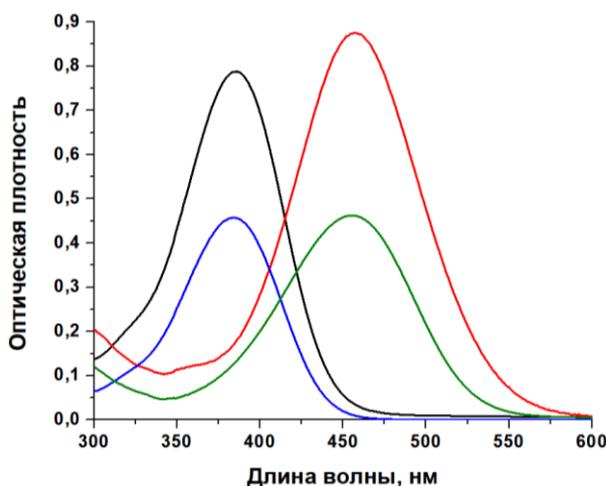
Изучение закономерностей взаимодействия органических молекул с биологическими объектами (нуклеиновыми кислотами, белками) представляет значительный интерес с точки зрения медицинской химии. Подобные исследования помогают понять механизм действия лекарственных препаратов, а также способствуют созданию широкого круга флуоресцентных маркеров для визуализации биологических молекул в методах флуоресцентной микроскопии, гель-электрофореза и цитометрии [97]. Кроме того, взаимодействие лиганд-ДНК часто влияет на процесс передачи генетической информации. Вследствие чего такие связывающие агенты являются перспективными кандидатами для создания на их основе различных медицинских препаратов [150-151].

На сегодняшний день стиримовые красители нашли широкое применение в качестве флуоресцентных меток для обнаружения ДНК при визуализации живых клеток [1-2]. Вследствие низкой интенсивности собственной флуоресценции в водных растворах при связывании с нуклеиновыми кислотами красители проявляют большое (иногда более чем в 100 раз) усиление флуоресцентного отклика. Таким образом, целью данного исследования является получение стиримовых красителей, а также изучение их взаимодействия с ДНК.

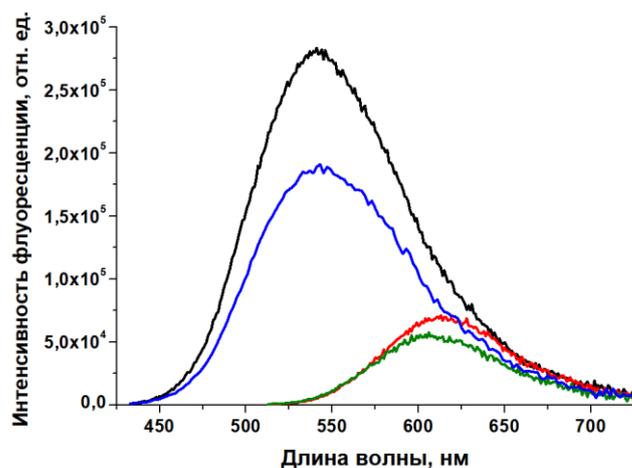
В данном разделе представлено исследование взаимодействия положительно заряженных моно- и бисстириловых красителей **8-9**, **11** и **16** с ДНК лосося. Выбор данного типа ДНК обусловлен коммерческой доступностью, а также распространенностью применения как в фотонике [152-154], так и для использования такого рода красителей при биологическом исследовании рыб. Для определения механизма связывания данных соединений были использованы методы абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии, кругового дихроизма. Кроме того, экспериментальные данные были подтверждены с помощью квантово-химических расчетов.

*Изучение комплексообразования методом оптической спектроскопии.*

Электронные спектры поглощения кислородных моно- **8** и бисстириловых **11** красителей в имидазольном буфере (рН = 7.2) характеризуются длинноволновой полосой с максимумом около 385 нм (Рис. 55, Таблица 2). В свою очередь, максимумы поглощения красителей **9** и **16** находятся в области 456 нм (Рис. 55, Таблица 2). Наблюдаемые спектры поглощения обусловлены внутри-молекулярным переносом заряда с донорной краун-эфирной части на акцепторный пиридиновый фрагмент. Сдвиг в сторону более длинных волн при переходе от соединений **11**, **8** к **9**, **16** связан с более донорными свойствами азакраун-эфирного фрагмента.



**Рисунок 55** – Спектры поглощения стириловых красителей **8-9**, **11** и **16** в 10 мМ имидазольном буфере (рН = 7.2), содержащем 2 об. % ацетонитрила, при 20 °С (**11**: черный; **16**: красный; **8**: синий; **9**: зеленый). Во всех случаях  $C = 2 \cdot 10^{-5}$  М



**Рисунок 56** – Спектры флуоресценции стириловых красителей **8-9**, **11** и **16** в 10 мМ имидазольном буфере (рН = 7.2) при 20 °С (**11**: черный; **16**: красный; **8**: синий; **9**: зеленый). Во всех случаях  $C = 1 \cdot 10^{-5}$  М.  $\lambda_{\text{возб}} = 423$  нм для **11** и **8**,  $\lambda_{\text{возб}} = 503$  нм в случае **9** и **16**

Исследуемые красители характеризуются значительным стоксовым сдвигом  $5585-7727 \text{ см}^{-1}$  (Таблица 2). Спектры флуоресценции красителей **11** и **8**, содержащих кислородный краун-эфир, расположены в более коротковолновой области ( $\lambda_{\text{max}}$  около 545 нм) (Рис. 56, Таблица 2), тогда как в случае красителей **9** и **16**, содержащих аза-краун-эфирный фрагмент, максимум флуоресценции находится в области 610 нм, а интенсивность излучения заметно меньше (Рис. 56, Таблица 2). Интенсивность флуоресценции красителей зависит от конкурирующих релаксационных процессов: *цис-транс*-изомеризации и образования «скрученных»

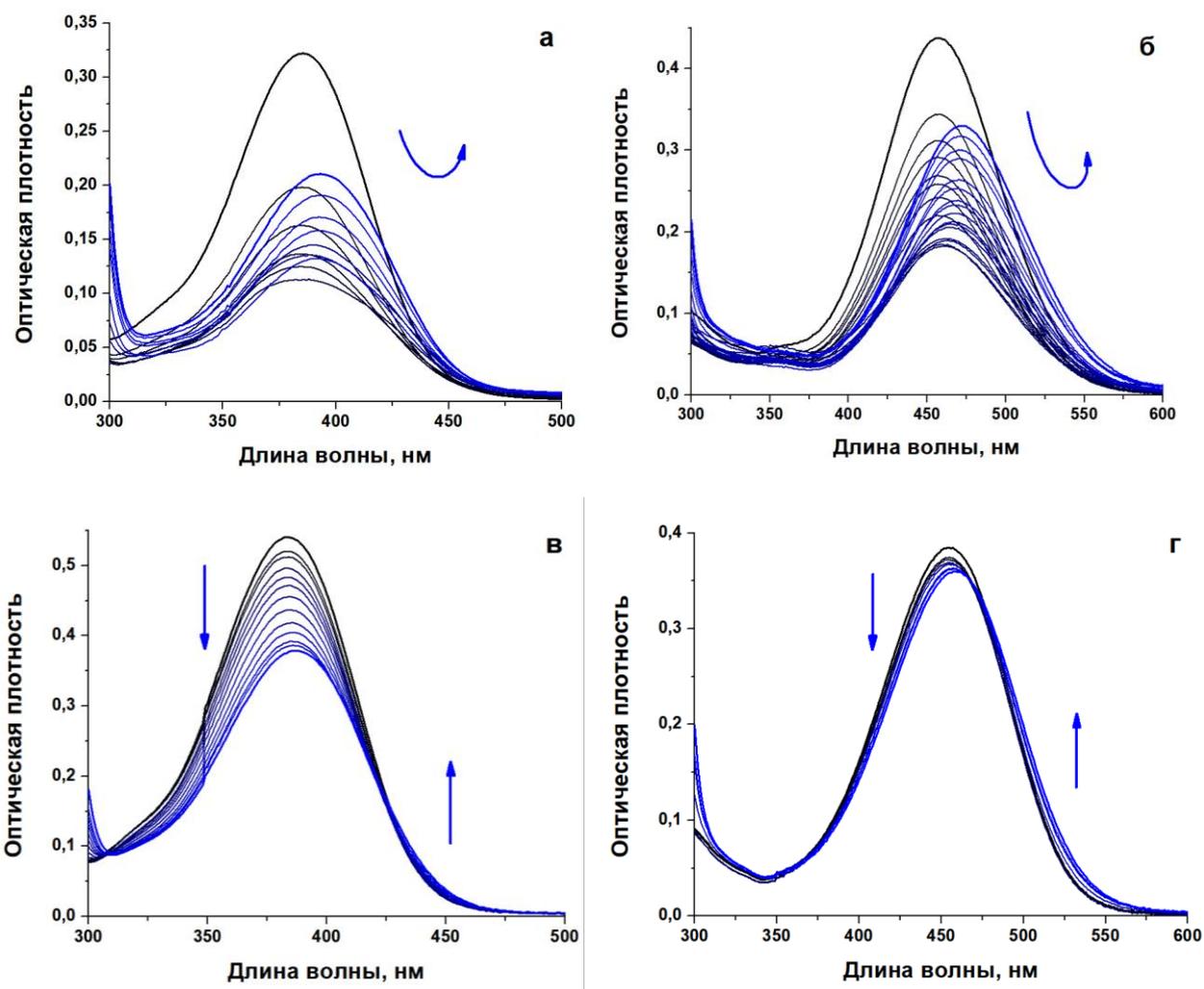
(TICT – Twisted Intramolecular Charge Transfer) состояний путем вращения вокруг одинарной связи. При возбуждении красителей **9** и **16** преобладает образование «скрученных» состояний с безызлучательной релаксацией [8], в то время как для красителей **8** и **11** релаксация возбужденного состояния лигандов включает как безызлучательное «твист» - состояние, так и *цис-транс*-изомеризацию [7].

**Таблица 2** – Спектрально-люминесцентные характеристики красителей **8-9**, **11** и **16** в свободной и связанной с ДНК форме в имидазольном буфере при pH = 7.2 при 20°C.  $C_{11} = C_{16} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_8 = C_9 = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{ДНК}} = 5 \cdot 10^{-5}$  М

Краситель	$\lambda_{\text{abs}}$ , нм		$\lambda_{\text{fl}}$ , нм		$I_{\text{max}}/I_0$	Стоксов сдвиг, $\text{cm}^{-1}$	
	свободный краситель	краситель в присутствии ДНК	свободный краситель	краситель в присутствии ДНК		свободный краситель	краситель в присутствии ДНК
<b>11</b>	385	393	541	526	2.5	7490	6434
<b>16</b>	457	472	614	607	13	5595	4712
<b>8</b>	384	388	546	527	5	7727	6798
<b>9</b>	455	461	610	603	33	5585	5108

Взаимодействие стироловых производных **8-9**, **11** и **16** с ДНК лосося было исследовано с помощью спектрофотометрического и спектрофлуориметрического титрований в имидазольном буферном растворе при pH = 7.2. Изменения в оптических спектрах анализировали при различных концентрациях ДНК в присутствии постоянной концентрации каждого красителя. В начале титрования добавление ДНК к раствору бисстириловых красителей **11** и **16** приводит к уменьшению интенсивности полосы поглощения красителей с небольшим батохромным смещением максимума поглощения (Рис. 57а, б). Дальнейшее увеличение концентрации ДНК приводит к повышению интенсивности полосы поглощения и ее батохромному сдвигу до 8 нм для **11** и 15 нм в случае красителя **16** (Рис.57а, б, Таблица 2). В то же время для моностириловых красителей **8** и **9** наблюдалось только уменьшение интенсивности поглощения и небольшой батохромный сдвиг максимума поглощения (Рис.57в, г, Таблица 2). Длинноволновый сдвиг в спектрах поглощения красителей объясняется отрицательным сольватохромным эффектом, так как при связывании с ДНК меняется полярность окружения лиганда. При этом энергетическая щель между

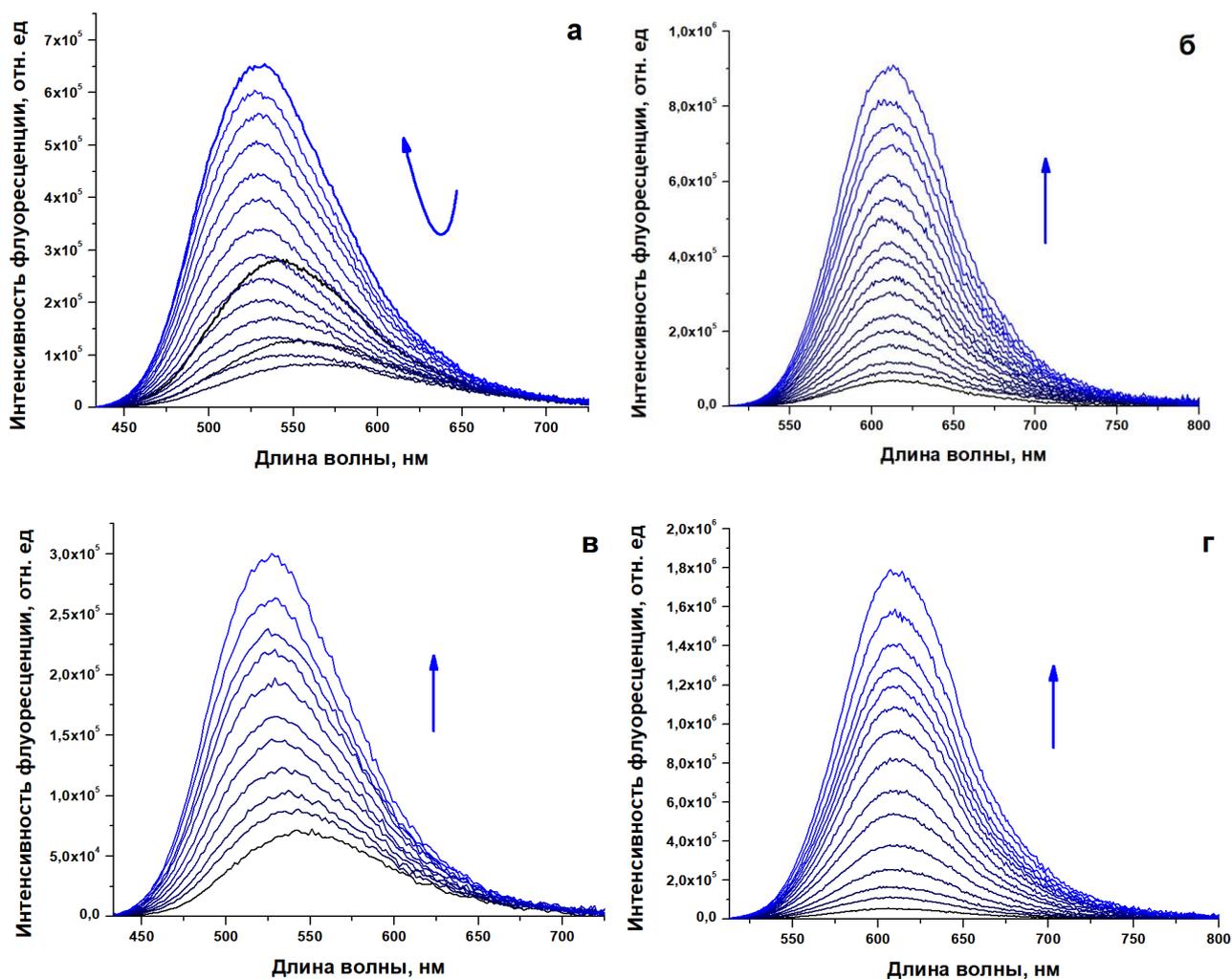
высшей занятой молекулярной орбиталью (ВЗМО) и низшей свободной молекулярной орбиталью (НСМО) красителя уменьшается, что приводит к батохромному сдвигу максимума поглощения красителей [155].



**Рисунок 57** – Спектрофотометрическое титрование **11** (а), **16** (б), **8** (в) и **9** (г) ДНК лосося в имидазольном буфере при pH = 7.2.  $C_{11} = C_{16} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_8 = C_9 = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{ДНК}} = 0 - 5 \cdot 10^{-5}$  М

В случае бензо-краун-эфирных производных **11** и **8** спектры флуоресценции регистрировались при возбуждении красителей светом 423 нм, а при титровании красителей **9** и **16**, содержащих аза-краун эфирный фрагмент,  $\lambda_{\text{возб}} = 503$  нм. Флуоресценция свободных красителей **8-9**, **11** и **16** довольно низкая в водных растворах. Однако при взаимодействии с ДНК красители проявляют ярко выраженное усиление флуоресценции. В случае красителей **11** и **8** добавление ДНК индуцирует значительный синий сдвиг максимумов излучения на 15 и 19 нм соответственно. При титровании бисстирилового производного **11** вначале происходит тушение флуоресценции в 4 раза, а при дальнейшем увеличении

концентрации ДНК наблюдается 10-кратное разгорание флуоресценции красителя. Производное **8** демонстрирует усиление интенсивности флуоресценции в 5 раз при добавлении ДНК (Рис.58а, в, Таблица 2). Бисстириловый краситель **16** и моностириловый краситель **9**, содержащие фрагмент аза-краун-эфира, при добавлении ДНК демонстрируют значительное разгорание флуоресценции в 13 и 33 раза, соответственно. В то же время гипсохромный сдвиг максимумов флуоресценции как для **16**, так и для **9** составлял всего 7 нм (Рис.58б, г, Таблица 2).



**Рисунок 58** – Спектрофлуориметрическое титрование красителей **11** (а,  $\lambda_{\text{возб}} = 423$  нм), **16** (б,  $\lambda_{\text{ex}} = 503$  нм), **8** (в,  $\lambda_{\text{ex}} = 423$  нм), **9** (г,  $\lambda_{\text{ex}} = 503$  нм) ДНК в имидазольном буфере при pH = 7.2. Концентрация лигандов во всех случаях  $C = 1 \cdot 10^{-5}$  М;  $C_{\text{ДНК}} = 0 - 3.41 \cdot 10^{-4}$  М

Как было упомянуто выше, заряженные стироловые красители практически не флуоресцируют, так как основными способами релаксации их возбужденного состояния является вращение вокруг одинарных связей и протекание различных фотохимических реакций. Однако в комплексе с ДНК подвижность молекул

красителя резко ограничена, что предотвращает безызлучательную релаксацию и приводит к увеличению интенсивности флуоресценции. Поэтому наблюдаемые изменения указывают на взаимодействие изученных красителей с ДНК.

Известно, что органические молекулы могут образовывать с ДНК комплексы различных типов: интеркалировать между парами азотистых оснований ДНК, залегать в бороздку ДНК или связываться снаружи спирали ДНК (внешняя укладка). Было также продемонстрировано, что катионные цианиновые красители способны образовывать агрегаты в присутствии ДНК [114,156-159].

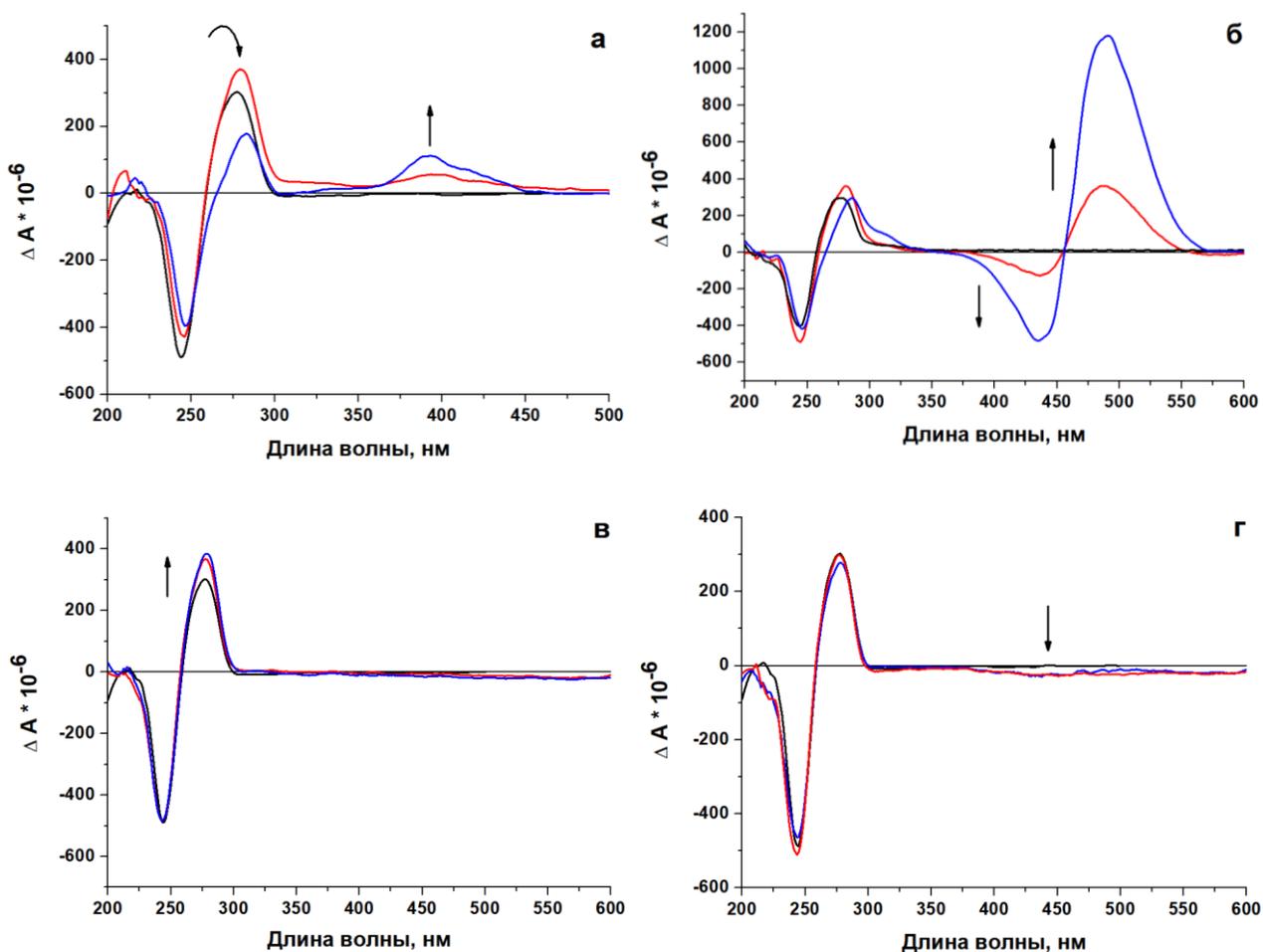
Спектральные изменения, наблюдаемые для мономерных красителей **8** и **9**, были аналогичны происходящим при взаимодействии монокатионных красителей 4-[(диметиламино)стирил]-N-метилпиридиния с ДНК тимуса теленка [160-161]. При этом наблюдалось заметное уменьшение поглощения красителя с небольшим батохромный сдвигом максимума. Добавление ДНК тимуса теленка к раствору красителя приводило к увеличению интенсивности флуоресценции наряду с небольшим гипсохромным сдвигом. Связывание красителя в борозде ДНК было подтверждено различными физико-химическими методами анализа. Исходя из этого, было предположено, что для моностириловых красителей **8** и **9** также реализуется связывание посредством укладки в бороздку ДНК.

Комплексообразование бисстириловых красителей **11** и **16** более сложное. Спектральные изменения свидетельствуют о протекании двух процессов при связывании данных соединений с ДНК. Было предположено, что при избытке лиганда в начале титрования происходит образование эксимеров красителей, подобные явления также были описаны в литературе [114,162]. Последующее увеличение концентрации ДНК вызывает разрушение агрегатов и образование комплексов краситель-ДНК путем связывания по малой бороздке, что сопровождается усилением флуоресценции.

*Изучение комплексообразования с помощью спектроскопии кругового дихроизма.*

Спектроскопия кругового дихроизма (КД) – значимый метод изучения связывания различных органических лигандов с хиральной молекулой ДНК. Молекулы красителей **8-9**, **11** и **16** являются ахиральными и не дают сигнала в спектрах КД. При комплексообразовании с ДНК возникает сигнал индуцированного кругового дихроизма (ИКД), связанный с длинноволновой полосой поглощения лигандов.

Моностириловые красители **8** и **9** характеризуются слабым отрицательным сигналом ИКД в присутствии ДНК (Рис. 59в, г). Согласно литературным данным [114,163-164], такое изменение в спектрах КД возможно при связывании данных красителей с малой бороздкой ДНК. Слабо выраженный эффект может быть объяснен отсутствием строгой ориентации красителей при связывании с макромолекулой.

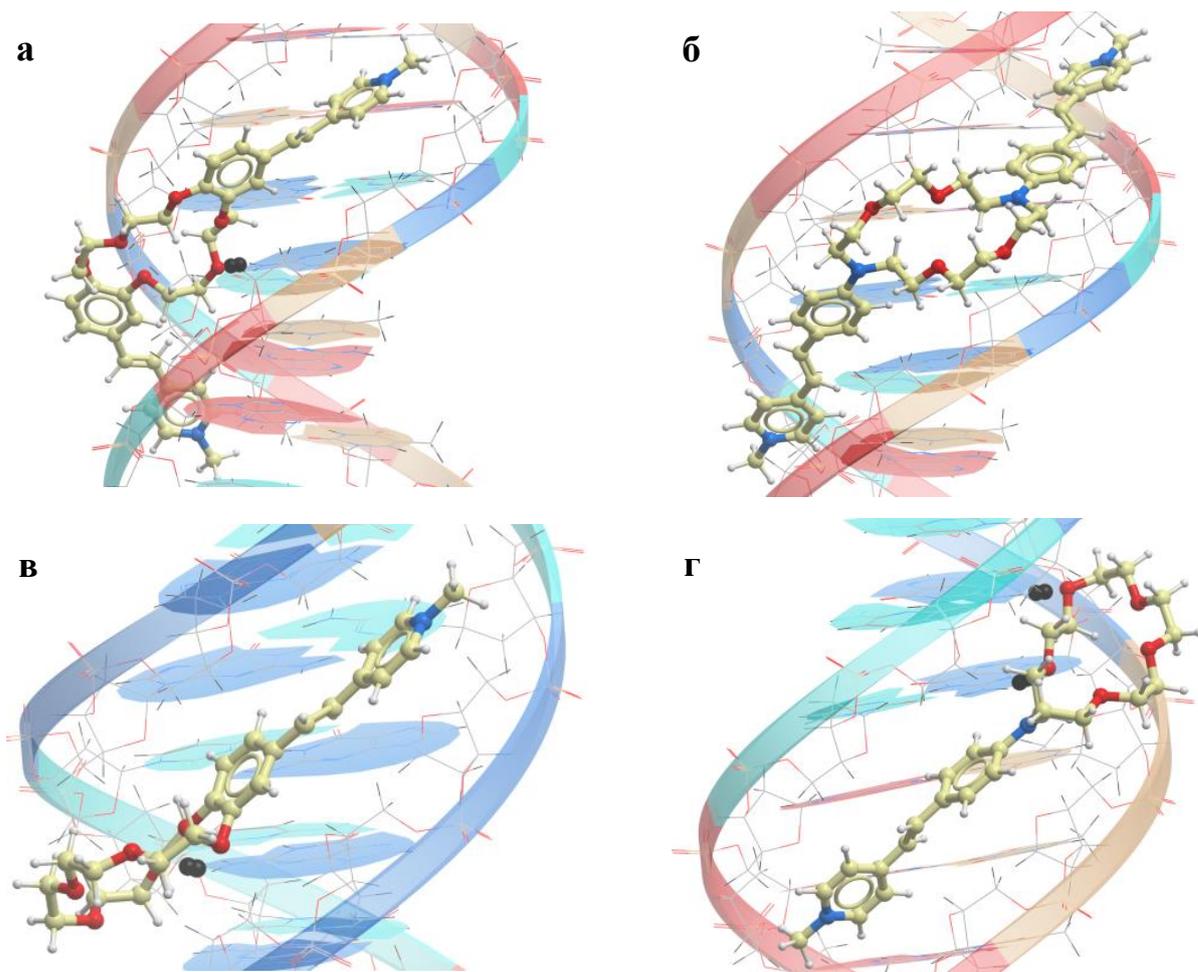


**Рисунок 59** – Спектры кругового дихроизма смесей ДНК лосося ( $C_{\text{ДНК}} = 1 \cdot 10^{-4}$  М) с лигандами **11**(а), **16** (б), **8** (в), **9** (г) в имидазольном буфере при рН = 7.2 при различных соотношениях  $C_{\text{лиг}}/C_{\text{ДНК}}$  ( $r$ ):  $r = 0$  (черный);  $r = 0.3$  (красный);  $r = 0.6$  (синий)

Бистирриловые красители **11** и **16** демонстрируют различные изменения в спектрах КД при титровании ДНК (Рис. 59а, б). Так, в спектре лиганда **11** наблюдается положительный сигнал ИКД, сопряженный с длинноволновой полосой поглощения лиганда (Рис. 59а). Для бистиррилового красителя **16** наблюдались интенсивные сигналы ИКД, имеющие точку перегиба в области поглощения комплекса ДНК-лиганд. Данный характер спектров красителей позволяет предположить агрегацию лигандов при низкой концентрации ДНК. В

литературе описаны примеры ДНК-индуцированной агрегации цианиновых красителей [114,155-159,165-166], кроме того данный процесс вызывает аналогичные изменения в спектрах КД [162,167].

*Молекулярное моделирование комплексов краситель-ДНК.* Для анализа возможных структур комплексов между ДНК и красителями были проведены квантово-химические расчеты<sup>2</sup>. Конформационный анализ показал, что все стироловые красители **8-9**, **11** и **16** локализуются в области малой бороздки ДНК (Рис. 60).



**Рисунок 60** – Наиболее выгодные конформации комплексов ДНК-лиганд, полученные методом молекулярного докинга при использовании программных пакетов Sybyl-X (Certara, USA) и Molsoft ICM-Pro 3.8.6.: **11**(а); **16** (б); **8** (в); **9** (г). Атомы С промаркированы желтым для красителей и серым для молекулы ДНК, О – красным, N – синим, Н – белым для красителей и черным для молекулы ДНК. Водородные связи обозначены черным цветом

<sup>2</sup> Молекулярное моделирование выполнено в сотрудничестве с к.х.н. Цветковым Б.В., зав. лаб. Молекулярного моделирования и биоинформатики ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург.

Более того, лиганды расположены на спирали ДНК таким образом, что краун-эфирные фрагменты находятся вблизи пар G-C (гуанин-цитозин), образуя с ними водородные связи. Оценка расстояния между парами оснований ДНК и атомами кислорода краун-эфирных фрагментов красителей представлена в таблице 3.

**Таблица 3** – Расстояние между аминогруппой гуанина и атомами кислорода краун-эфирного фрагмента.

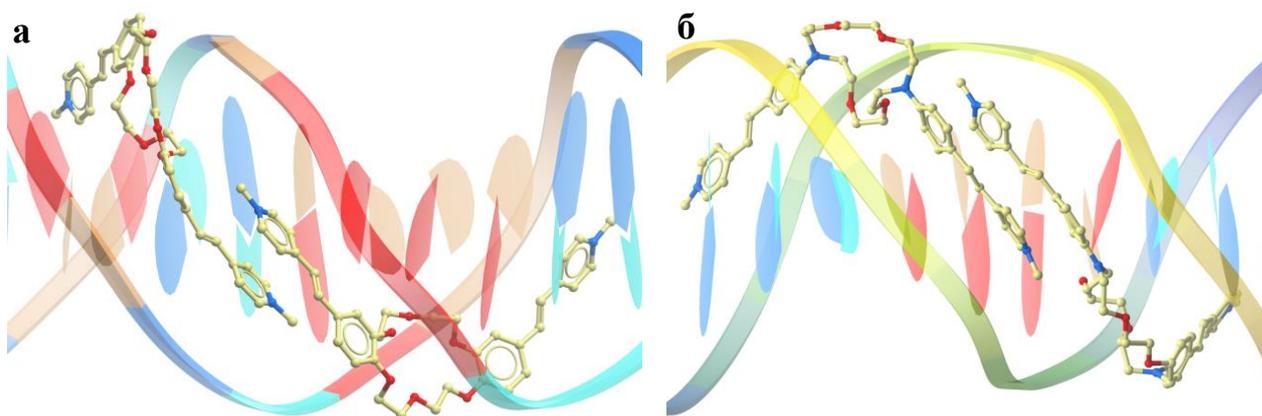
Краситель	Название нуклеотида/ номер нуклеотида	Расстояние, нм
<b>11</b>	A/G/15	1.5473
<b>8</b>	B/G/8	1.7958
<b>9</b>	A/G/16	2.1643
<b>9</b>	A/G/15	1.8830

На основании оптических данных было предположено, что при низкой концентрации ДНК происходит агрегация бисстириловых красителей. Известно, что образование димеров цианиновых красителей вызывает тушение флуоресценции [163]. Кроме того, было показано, что малая бороздка ДНК расширяется для размещения димера для цианиновых красителей [164]. При этом локальное изменение формы бороздки обеспечивает более низкую энергетическую потерю при связывании димера, по сравнению со связыванием второй молекулы красителя с отдельным дуплексом. Основываясь на этих литературных данных, можно предположить димерную агрегацию и в случае бисстириловых красителей **11** и **16**.

Оценка возможности димеризации красителей в малой бороздке ДНК проводилась с помощью молекулярного моделирования. Ширина и гибкость малой бороздки ограничивают краситель димерным состоянием определенного расположения. Из данных спектроскопии кругового дихроизма можно сделать вывод о различных типах организации красителей **11** и **16** в димерах, приводящих к несхожим спектральным изменениям в КД.

На основании результатов молекулярного моделирования был сделан вывод, что агрегация в таких системах возможна за счет укладки поликонъюгированных фрагментов, как показано на рисунке 61. При этом для

красителя **11** конформационная подвижность таких фрагментов значительно слабее за счет наличия в молекуле бензокраун-эфира. Малая гибкость данной группы приводит к уменьшению площади стэкинг-взаимодействия ароматических фрагментов (Рис. 61а). Напротив, в случае красителя **16** фенильные кольца имеют возможность, вращаясь вокруг одинарной связи, геометрически подстраиваться для усиления стэкинг-взаимодействия (Рис. 61б).



**Рисунок 61** – Расположение агрегированных красителей в молекуле ДНК для красителей **11** (а) и **16** (б)

Данные модельные структуры хорошо согласуются с описанными выше эффектами, наблюдаемыми в спектрах КД. Для красителя **11** положительный сигнал ИКД свидетельствует о том, что малая бороздка ДНК может связывать только один димер красителя. В случае красителя **16** сильный двухфазный сигнал в спектре КД возникает из-за экситонной связи между соседними хромофорами, что также свидетельствует о димерном типе связывания.

*Исследование комплексов краситель-ДНК с помощью высокочувствительной сканирующей калориметрии.* В лаборатории физической химии полимеров ИНЭОС РАН были определены параметры связывания красителей и ДНК при использовании метода высокочувствительной сканирующей калориметрии. Связывание малых молекул с двойной спиралью ДНК может значительно повышать конформационную стабильность спирали, что приводит к повышению температуры плавления ДНК [168-170]. Термодинамические параметры плавления для комплексов ДНК-краситель приведены в таблице 4. Плавление ДНК в контрольных экспериментах (без красителей) проявлялось в одном эндотермическом пике при 55.7 °С. Во всех случаях при добавлении лиганда

пик плавления ДНК смещается в сторону более высоких температур, причем наибольшая стабилизация наблюдается для бисстириловых красителей.

**Таблица 4** – Термодинамические параметры плавления ДНК в присутствии красителя<sup>а)</sup> и параметры связывания красителей с ДНК<sup>б)</sup>

Краситель	$T_m^{a)}$ (°C)	$\Delta_m H^{a)}$ (ккал/моль)	$10^{-3} \cdot k_b^{b)}$ (M <sup>-1</sup> )	$\Delta_b H^{b)}$ (ккал/моль)
<b>2</b>	75.2±0.5	5.07±0.19	43.0 ±1.0	0.55±0.02
<b>16</b>	76.0±0.6	5.59±0.14	124.0±1.0	0.26±0.02
<b>8</b>	63.1±0.1	7.29±0.12	0.75±0.01	-0.29±0.02
<b>9</b>	61.6±0.6	7.07±0.14	0.66±0.01	-0.26±0.05

<sup>а)</sup>  $T_m$  – температура плавления,  $\Delta_m H$  – энтальпия плавления на моль при концентрациях ДНК и красителя 1мМ пары оснований и 0.5 мМ соответственно. Температура плавления и энтальпия в контрольном эксперименте  $T_m = 55.7 \pm 0.6$  °C и  $\Delta_m H = 6.88 \pm 0.14$  ккал/моль соответственно.

<sup>б)</sup>  $k_b$  – константа связывания на моль лиганда при температуре 25 °C и  $\Delta_b H$  – энтальпия связывания на моль монофосфата.

Для расчета параметров связывания красителей с ДНК использовали модель Духопельникова [171]. Для бисстириловых красителей **11** и **16** константы связывания оказались наиболее высокими:  $k_b = (4,3 \pm 0,1) \cdot 10^4$  M<sup>-1</sup> и  $k_b = (1,24 \pm 0,01) \cdot 10^5$  M<sup>-1</sup> соответственно. Моностириловые красители **8** и **9**, напротив, связываются с ДНК гораздо слабее:  $k_b = (7,5 \pm 0,1) \cdot 10^2$  M<sup>-1</sup> и  $k_b = (6,6 \pm 0,1) \cdot 10^2$  M<sup>-1</sup> соответственно. Таким образом, можно сделать вывод, что существенный вклад в стабильность комплекса ДНК-лиганд вносят электростатические взаимодействия. Также важно отметить, что для всех красителей значения энтальпии связывания малы и в некоторых случаях положительны. Такие значения типичны для связывания с малой бороздкой ДНК [172].

Таким образом, с помощью целого ряда физико-химических методов был изучен механизм связывания краун-содержащих моно- и бисстириловых красителей с ДНК. На основании полученных результатов был сделан вывод, что данные красители связываются с малой бороздкой ДНК. Кроме того, при низких концентрациях ДНК за счет укладки моностириловых фрагментов друг на друга бисстириловые красители образуют димеры, обладающие низким уровнем флуоресценции и залегающие в малой бороздке. Структура таких агрегатов зависит

от конформационной подвижности красителя. Увеличение концентрации ДНК приводит к разрушению димеров, что способствует появлению интенсивной флуоресценции бисстирилового красителя в комплексе с ДНК. С помощью молекулярного моделирования было продемонстрировано, что краун-эфирные остатки также принимают участие в комплексообразовании путем образования водородных связей с парами G-C (гуанин-цитозин). В то время как большинство лигандов, связывающихся с малой бороздкой, проявляют селективность связывания в A-T богатых участках [173].

### **3.5 Управление взаимодействием краситель-ДНК посредством капсулирования в полость молекулы-контейнера**

*При подготовке данного раздела использованы собственные публикации автора [175].*

Актуальным направлением в разработке лекарственных препаратов является использование молекул-контейнеров для доставки биологически активных соединений к месту расположения пораженных органов. Одним из представителей таких контейнеров-доставщиков является молекула кукурбитурила, обеспечивающая растворимость лекарственных средств, а также защиту от биодegradации и снижение токсического эффекта [140-142]. Вместе с тем, важным аспектом доставки является процесс перехода активной терапевтической компоненты из контейнера в ДНК. Поэтому поиск условий для эффективной работы молекулы-доставщика лекарственного препарата является первостепенной задачей.

Трехкомпонентная система ДНК-лиганд-кукурбитурил может быть создана с помощью супрамолекулярных взаимодействий. Данный подход предполагает использование принципа двойного капсулирования: с одной стороны молекула бисхромофора будет взаимодействовать с двойной спиралью ДНК, при этом вторая ее часть будет погружена в полость молекулы-контейнера. Стабилизация биосупрамолекулярной системы будет осуществляться за счет слабых нековалентных взаимодействий (ион-дипольных, гидрофобных, водородных). Таким образом, систему можно будет легко собирать и разбирать под действием внешних факторов.

Подходящим лигандом для создания трехкомпонентной системы является положительно заряженный бисстириловый краситель, поскольку за счет наличия заряженных фрагментов он способен координироваться как с ДНК, так и с кукурбитурилом. Кроме того, выбор молекулы красителя в качестве лиганда обусловлен возможностью мониторинга наблюдаемых процессов с помощью оптической спектроскопии.

Как было показано в предыдущем разделе, при связывании ДНК лосося с бисстириловыми красителями наблюдалось образование димеров, залегающих в малой бороздке ДНК. Агрегация осложняет общую картину связывания и не позволяет получить точные количественные характеристики взаимодействия лиганд-ДНК. Другим побочным эффектом от агрегации стало тушение флуоресцентного сигнала лиганда в присутствии ДНК. Одним из вариантов борьбы с нежелательной

агрегацией является помещение лиганда в полость молекулы-контейнера. В литературе [176-178] было показано, что кукурбитурилы способны разрушать агрегаты, которые собираются из молекул цианиновых красителей или фталоцианинов в растворе.

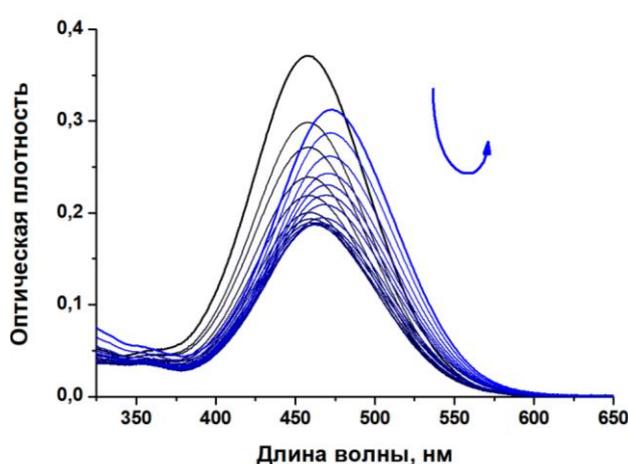
Для создания тройной системы в качестве лиганда был выбран бисстириловый краситель **16**, продемонстрировавший наиболее эффективное связывание с ДНК  $k_b = (1,24 \pm 0,01) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ . В качестве нуклеиновой кислоты была выбрана ДНК тимуса теленка, а в роли молекулы-контейнера выступал кукурбитурил с семью гликольурильными фрагментами, **СВ[7]**, так как такой размер полости является подходящим для связывания стирилпиридинов.

В рамках работы сначала были изучены бинарные комплексы: лиганд-ДНК и лиганд-**СВ[7]**. В конце данного раздела представлены исследования тройного комплекса ДНК-лиганд-**СВ[7]**. Для изучения комплексообразования применялась комбинация методов ЯМР и оптической спектроскопии, а также спектроскопии кругового дихроизма.

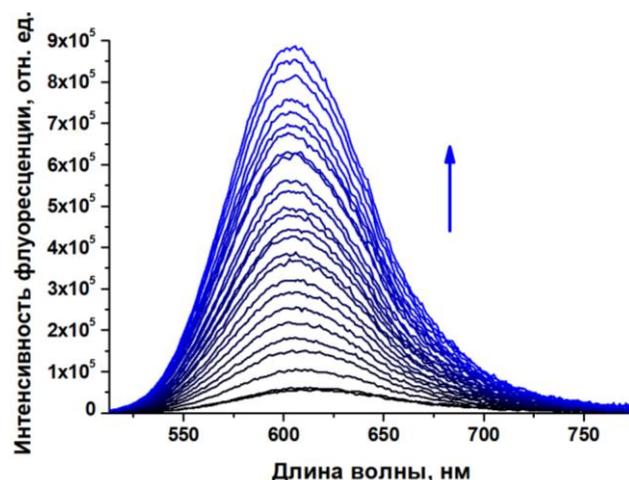
### **3.5.1. Изучение комплексообразования бисстирилового красителя 16 с ДНК тимуса теленка**

*Изучение комплексообразования методом оптической спектроскопии.* Взаимодействие бисстирилового производного **16** с ДНК тимуса теленка было исследовано с помощью спектрофотометрического и спектрофлуориметрического титрований в натрий-фосфатном буферном растворе при  $\text{pH} = 7.0$ . Изменения в оптических спектрах анализировали при различных концентрациях ДНК в присутствии постоянной концентрации красителя. Оказалось, что изменения в спектрах поглощения и флуоресценции красителя при добавлении ДНК тимуса теленка (Рис. 62-63) и ДНК лосося (Рис. 57б и 58б) аналогичны. Так добавление небольшого количества ДНК тимуса теленка к раствору соединения **16** приводит к уменьшению интенсивности полосы поглощения красителя с небольшим батохромным смещением максимума поглощения, а при избытке ДНК – к повышению интенсивности полосы поглощения и ее батохромному сдвигу на 15 нм (Рис. 62). При флуориметрическом титровании красителя раствором ДНК наблюдается разгорание флуоресценции в 16 раз (Рис. 63). Данные спектральные изменения указывают на то, что лиганд связывается с ДНК тимуса теленка

аналогичным способом, показанным в предыдущем разделе: при недостатке ДНК наблюдается образование димеров красителя, а при увеличении концентрации ДНК они разрушаются, что приводит к разгоранию флуоресценции.

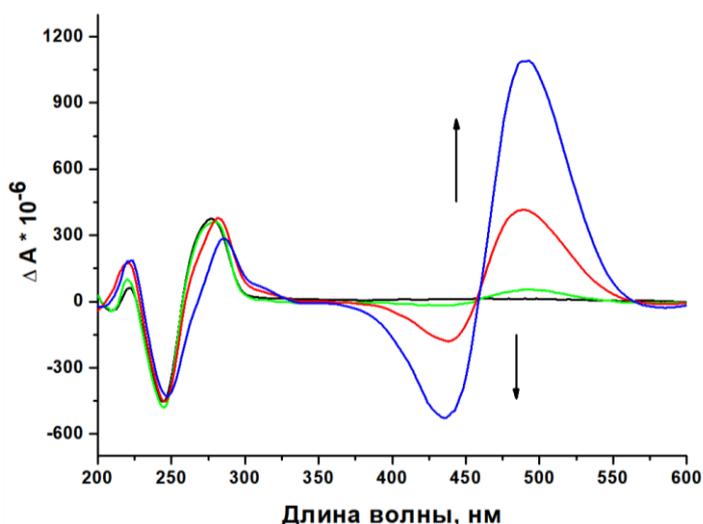


**Рисунок 62** – Спектрофотометрическое титрование соединения **16** раствором ДНК тимуса телянка в натрий-фосфатном буфере при pH = 7.0.  $C_{16} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{ДНК}} = 0 - 8.2 \cdot 10^{-4}$  М



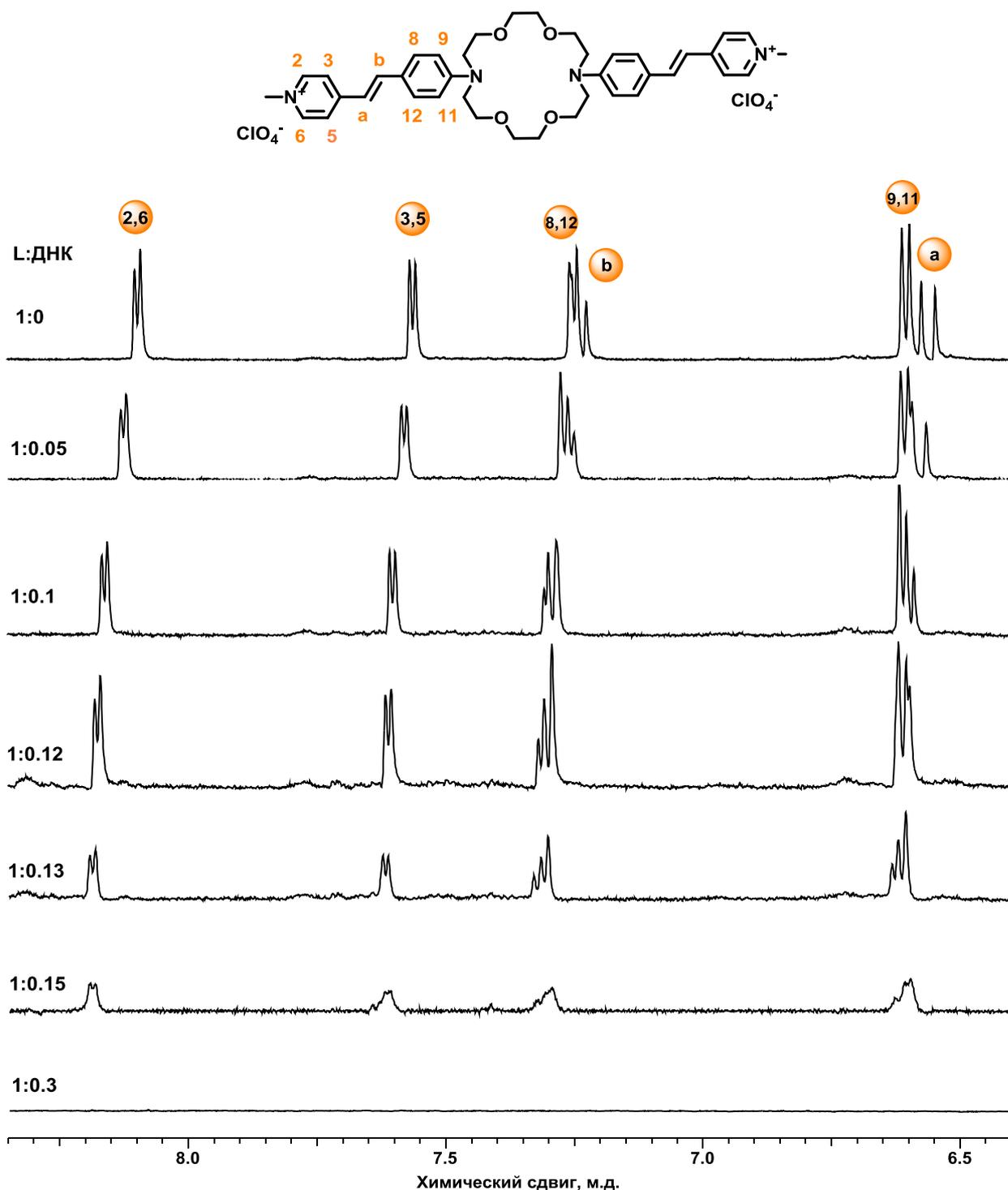
**Рисунок 63** – Спектрофлуориметрическое титрование соединения **16** раствором ДНК тимуса телянка при  $\lambda_{\text{возб}} = 503$  нм в натрий-фосфатном буфере при pH = 7.0.  $C_{16} = 1 \cdot 10^{-5}$  М;  $C_{\text{ДНК}} = 0 - 7.5 \cdot 10^{-4}$  М

*Изучение комплексообразования с помощью спектроскопии кругового дихроизма.*  
 Анализ взаимодействия красителя **16** с ДНК тимуса телянка с помощью спектроскопии кругового дихроизма также продемонстрировал наличие интенсивного бифазного сигнала (Рис. 64), свидетельствующего об образовании агрегатов лиганда в бороздке ДНК [114]. При увеличении соотношения  $C_{\text{лиг}}/C_{\text{ДНК}}$  ( $r$ ) наблюдается рост данного сигнала и увеличение количества агрегатов в растворе.



**Рисунок 64** – Спектры кругового дихроизма смесей ДНК тимуса телянка ( $C_{\text{ДНК}} = 1 \cdot 10^{-4}$  М) с лигандом **16** в натрий-фосфатном буфере при pH = 7.0 при различных соотношениях  $C_{\text{лиг}}/C_{\text{ДНК}}$  ( $r$ ):  $r = 0$  (черный);  $r = 0.1$  (зеленый);  $r = 0.3$  (красный);  $r = 0.6$  (синий)

Изучение комплексообразования методом спектроскопии ЯМР. Для изучения связывания лиганда **16** с ДНК методом спектроскопии ЯМР был использован додекамер Дикерсона 5'-d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub>: хорошо изученный самокомплементарный двухцепочечный олигомер, принимающий конформацию В-ДНК в водном растворе [179]. На рисунке 65 представлены спектры <sup>1</sup>H ЯМР красителя **16** и додекамера Дикерсона в различных соотношениях.

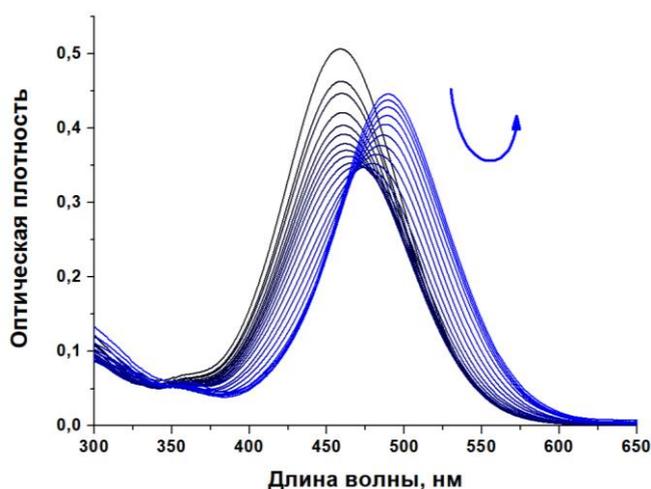


**Рисунок 65** – Спектры <sup>1</sup>H ЯМР (ароматическая часть) в натрий-фосфатном буфере: D<sub>2</sub>O 9:1 при различном соотношении лиганд **16**: додекамер Дикерсона

При увеличении концентрации олигомера наблюдался сдвиг сигналов всех ароматических протонов и протонов при двойной связи в область слабых полей. Наибольший сдвиг претерпевают протоны Н (2,6), Н (а) и Н (b) ( $\Delta\delta = 0.06 - 0.08$  м.д.). Одновременно с этим наблюдается постепенное уширение сигналов и уменьшение их интенсивности. При соотношении краситель:ДНК = 1:0.3 сигналы полностью исчезали. Данное изменение свидетельствует о связывании лиганда с макромолекулой [180].

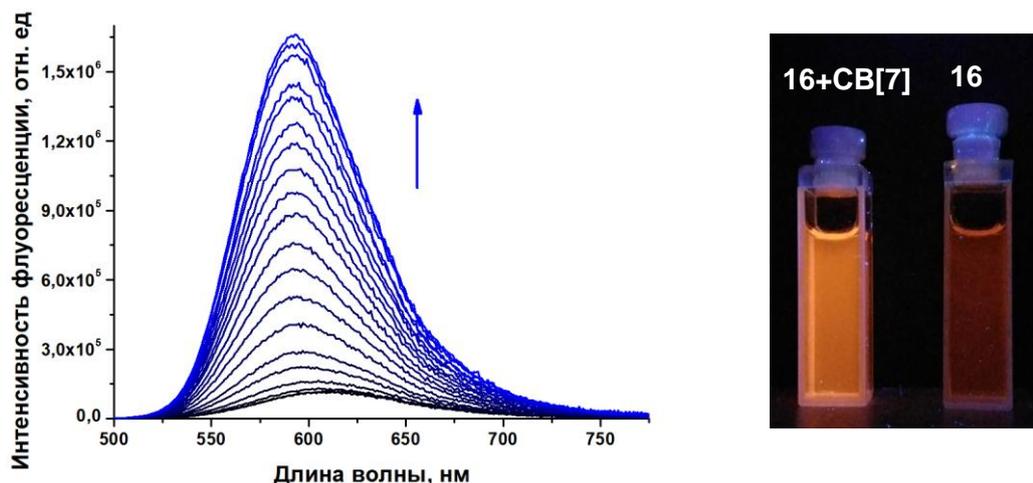
### 3.5.2. Изучение комплексообразования бисстирилового красителя 16 с кукурбит[7]урилом

*Изучение комплексообразования методом оптической спектроскопии.* Процесс комплексообразования лиганд-кукурбитурил был изучен в натрий-фосфатном буфере при рН=7.0 с помощью спектрофотометрического и флуориметрического титрований. Добавление аликвот раствора СВ[7] к раствору красителя приводило к значительному смещению полосы поглощения в длинноволновую область ( $\Delta\lambda_{\max} = 33$  нм), что свидетельствует об образовании комплекса включения (Рис. 66). Батохромный сдвиг длинноволновой полосы поглощения объясняется отрицательным сольватохромным эффектом при переходе лиганда из полярного окружения в неполярную полость кукурбитурила.



**Рисунок 66** – Спектрофотометрическое титрование красителя 16 раствором СВ[7] в натрий-фосфатном буфере при рН = 7.0.  $C_{16} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{СВ[7]}} = 0 - 2.9 \cdot 10^{-4}$  М

Флуориметрическое титрование красителя раствором СВ[7] приводит к смещению полосы флуоресценции на 21 нм и разгоранию флуоресценции лиганда в 15 раз (Рис. 67). Наблюдаемые спектральные изменения также подтверждают образование комплекса лиганд-кукурбит[7]урил.

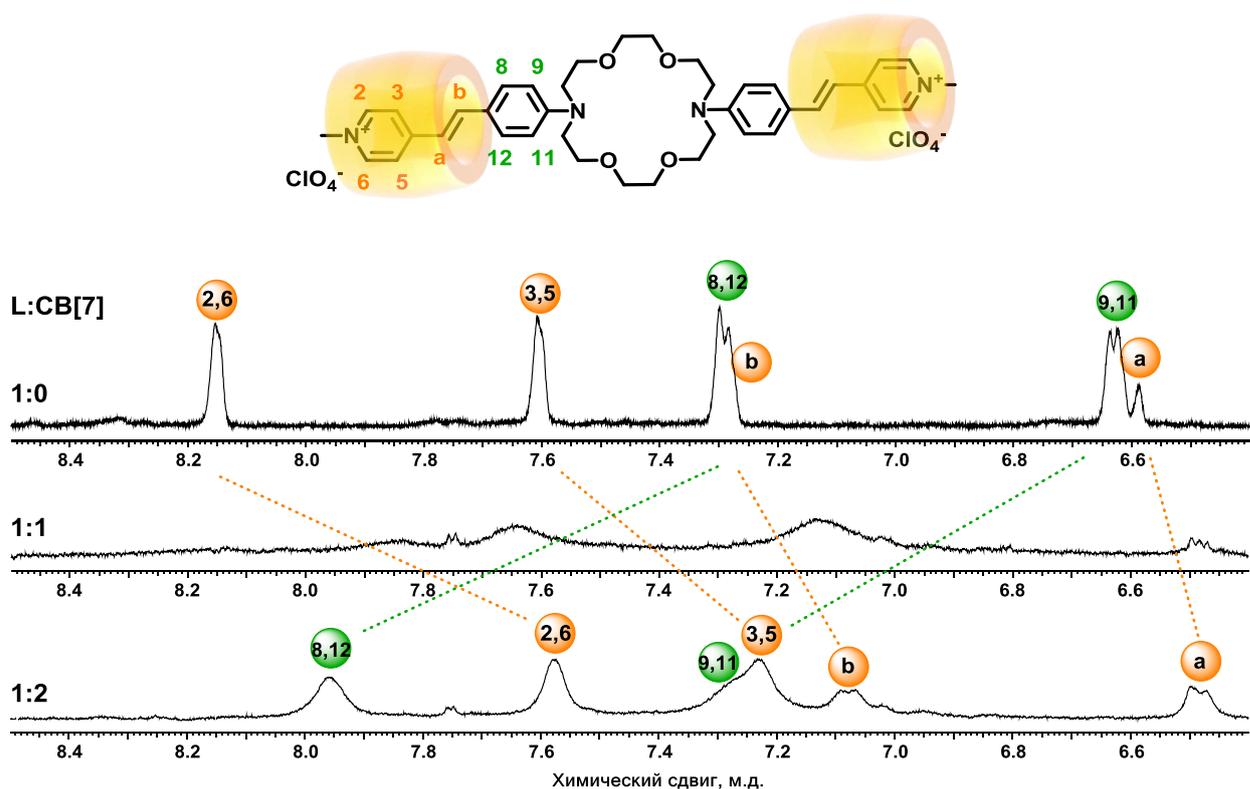


**Рисунок 67** – Спектрофлуориметрическое титрование красителя **16** раствором **CB[7]** при  $\lambda_{\text{возб}} = 458$  нм в натрий-фосфатном буфере при pH = 7.0.  $C_{16} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{CB[7]}} = 0 - 1.5 \cdot 10^{-4}$  М

*Изучение комплексообразования методом спектроскопии ЯМР.*

Комплексообразование красителя с **CB[7]** также исследовалось с помощью  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопии. Для соотнесения сигналов в молекуле свободного лиганда **16** и его комплекса с **CB[7]** были проведены двумерные эксперименты, позволяющие выявить гомоядерные  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (COSY, NOESY) взаимодействия. Полная расшифровка спектров представлена в Экспериментальной части. При соотношении лиганд:кукурбитурил 1:1 наблюдается сильное уширение сигналов протонов, что свидетельствует о динамическом процессе в растворе (Рис 68). Вероятно, в системе устанавливается равновесие: молекула кукурбитурила обратимо связывается то с одним положительно заряженным фрагментом красителя, то с другим.

При соотношении лиганд:кукурбитурил 1:2 в область экранирования полостью **CB[7]** попадают протоны пиридинового фрагмента Н(2,6), Н(3,5), а также протоны Н(а) и Н(б) двойной связи красителя. Для протонов Н(2,6) и Н(3,5) пиридинового фрагмента величина химического сдвига составляет 0.58 м.д. и 0.42 м.д. соответственно. Химические сдвиги сигналов протонов двойных связей Н(а) и Н(б) группы меньше, но также достаточно существенны и находятся в пределах 0.15-0.08 м.д. Протоны фенильного кольца Н(8,12) и Н(9,11) испытывают дезэкранирующее влияние полости **CB[7]** и их сигналы смещаются в слабые поля на 0.7 м.д. Наблюдаемая совокупность химических сдвигов характерна для образования комплекса лиганд-**CB[7]** с локализацией молекула контейнера на этиленпиридиновом фрагменте молекулы красителя.

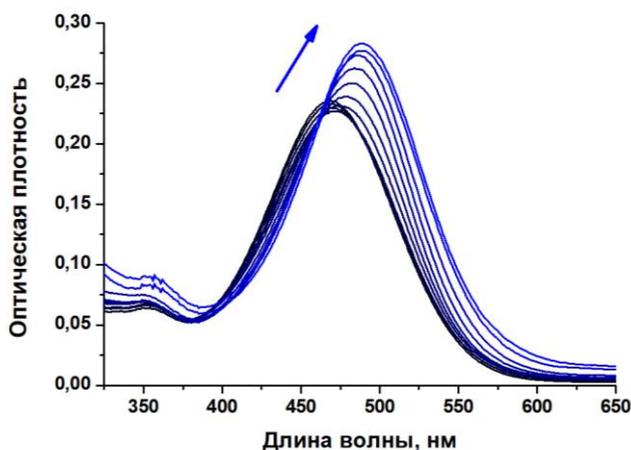


**Рисунок 68** – Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР (ароматическая часть) в  $\text{D}_2\text{O}$  при различном соотношении лиганд **16**:**CB[7]**

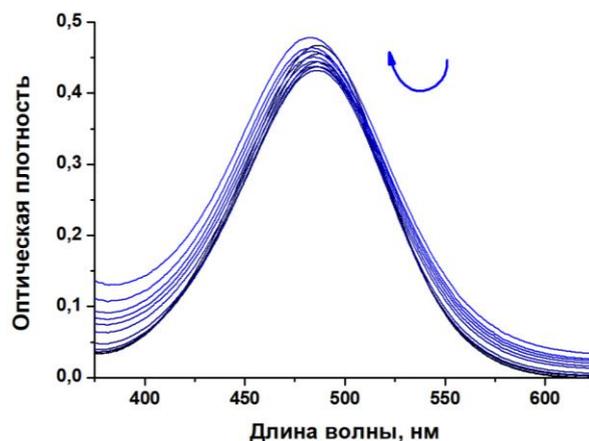
### 3.5.3. Изучение тройного комплекса бисстирилового красителя **16** с кукурбит[7]урилом и ДНК тимуса теленка

*Изучение комплексообразования методом оптической спектроскопии.* Для исследования тройного комплекса кукурбитурил-лиганд-ДНК были проведены спектрофотометрические титрования, выполненные при различной последовательности добавления компонент (Рис. 69-70).

Максимумы поглощения полностью связанного лиганда **16** в комплексах ДНК-лиганд и **CB[7]**-лиганд находятся в области 469 нм и 489 нм соответственно. При добавлении к раствору красителя в присутствии 16-кратного избытка ДНК тимуса теленка аликвот раствора **CB[7]** наблюдается bathochromic shift (Рис. 69). В случае дальнейшего увеличения концентрации макроцикла полоса поглощения достигнет  $\lambda_{\text{max}} = 489$  нм, что соответствует двойному комплексу **CB[7]**-лиганд. Наблюдаемый эффект можно объяснить предпочтительным связыванием красителя с **CB[7]**. Таким образом, систему краситель-ДНК можно разрушить при добавлении раствора **CB[7]**.



**Рисунок 69** – Спектрофотометрическое титрование краситель-ДНК раствором СВ[7] в натрий-фосфатном буфере при  $\text{pH} = 7.0$ .  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-6}$  М,  $C_{\text{ДНК}} = 9.6 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{СВ[7]}} = 0 - 4.4 \cdot 10^{-4}$  М

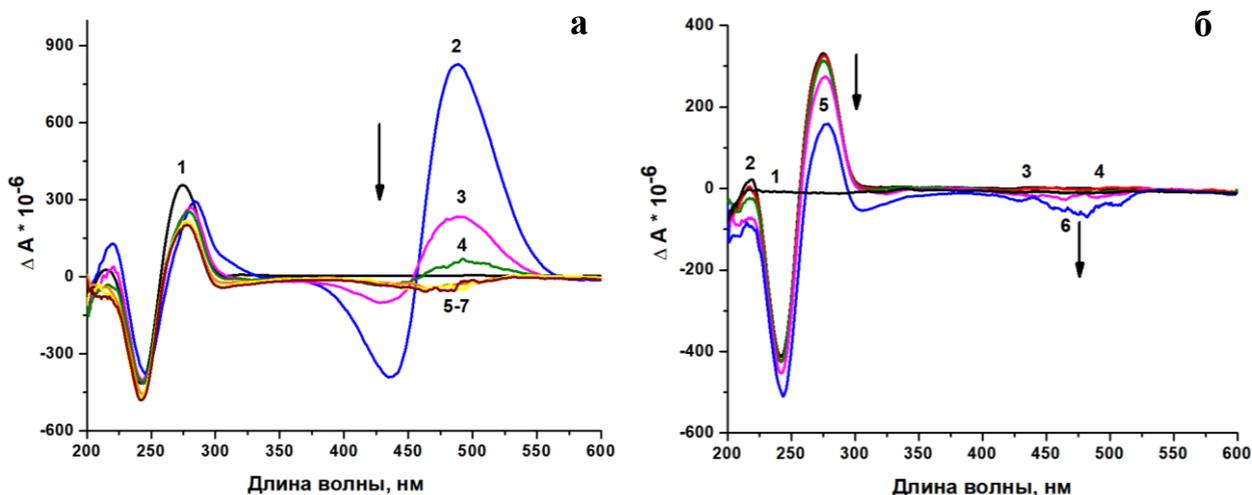


**Рисунок 70** – Спектрофотометрическое титрование комплекса краситель-СВ[7] раствором ДНК в натрий-фосфатном буфере при  $\text{pH} = 7.0$ .  $C_{16} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{СВ[7]}} = 1 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{\text{ДНК}} = 0 - 1.2 \cdot 10^{-3}$  М

В случае добавления аликвот ДНК к комплексу СВ[7]-лиганд происходит гипсохромный сдвиг полосы поглощения до  $\lambda_{\text{max}} = 482$  нм (Рис. 70). При этом даже добавление большого избытка ДНК не приводит к полному вытеснению кукурбитурила из комплекса с красителем. По-видимому, в данном случае наблюдается образование тройного комплекса.

*Изучение комплексообразования с помощью спектроскопии кругового дихроизма.* Для того чтобы оценить влияние инкапсулирования на модель связывания красителя с ДНК, была проведена серия экспериментов с использованием спектроскопии кругового дихроизма. Как было описано ранее, в спектрах КД системы лиганд-ДНК наблюдается появление интенсивного бифазного сигнала, свидетельствующего об образовании агрегатов красителя (Рис. 64). Наибольший отклик в КД соответствовал соотношению  $C_{16}/C_{\text{ДНК}} = 0.6$ . Такое соотношение лиганд:ДНК было зафиксировано в серии измерений с переменным содержанием кукурбитурила в растворе. По мере увеличения концентрации макроцикла наблюдалось уменьшение интенсивности бифазного сигнала (кривые 3 и 4 на Рис. 71а), который в итоге преобразовывался в малоинтенсивный отрицательный сигнал (кривые 5-7 на Рис. 71а). В следующем эксперименте постоянной величиной было соотношение  $C_{\text{СВ[7]}}/C_{16} = 10$ ; при этом значении согласно расчетам более 95% красителя находится в комплексе с СВ[7]. Как показано на рисунке 71б (кривая 1),

данный комплекс не дает сигнала в спектрах КД. По мере увеличения концентрации ДНК наблюдалось появление отрицательного ИКД сигнала, интенсивность которого достигала максимума при соотношении  $C_{16}/C_{\text{ДНК}} = 0.6$ . При этом появление бифазного сигнала не происходило (кривая 6 на Рис. 71б).

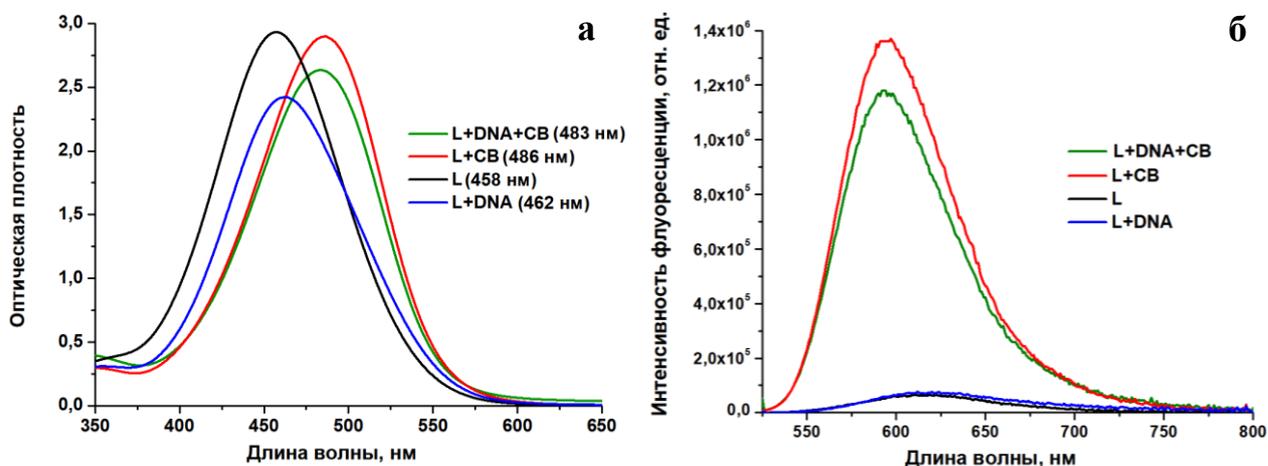


**Рисунок 71** – а) Спектры кругового дихроизма смесей ДНК ( $C_{\text{ДНК}} = 1 \cdot 10^{-4}$  М) с лигандом **16** и **СВ[7]** в натрий-фосфатном буфере при рН = 7.0 при различных соотношениях  $C_{16}/C_{\text{ДНК}}$  ( $r$ ):  $r = 0$ ,  $C_{\text{СВ[7]}} = 0$  (1);  $r = 0.6$ ,  $C_{\text{СВ[7]}} = 0$  (2);  $r = 0.6$ ,  $C_{\text{СВ[7]}}/C_{16} = 1$  (3);  $r = 0.6$ ,  $C_{\text{СВ[7]}}/C_{16} = 2$  (4);  $r = 0.6$ ,  $C_{\text{СВ[7]}}/C_{16} = 4$  (5);  $r = 0.6$ ,  $C_{\text{СВ[7]}}/C_{16} = 6$  (6);  $r = 0.6$ ,  $C_{\text{СВ[7]}}/C_{16} = 8$  (7); б) Спектры кругового дихроизма смесей ДНК ( $C_{\text{ДНК}} = 1 \cdot 10^{-4}$  М, во всех случаях кроме (1)) с лигандом **16** и **СВ[7]** в натрий-фосфатном буфере при рН = 7.0 (во всех случаях  $C_{\text{СВ[7]}}/C_{16} = 10$ ),  $C_{16}/C_{\text{ДНК}}$  ( $r$ ):  $C_{\text{ДНК}} = 0$ ,  $C_{\text{СВ[7]}} = 10^{-4}$  М,  $C_{16} = 10^{-5}$  М (1),  $r = 0$  (2);  $r = 0.1$  (3);  $r = 0.2$  (4);  $r = 0.4$  (5);  $r = 0.6$  (6)

Исчезновение бифазного сигнала в обоих случаях свидетельствует о разрушении агрегатов красителя в малой бороздке ДНК при связывании с кукурбитурилом. Интересно, что примеры подобных эффектов в литературе неизвестны.

На основании полученных данных было высказано предположение, что в растворе может существовать тройной комплекс ДНК-лиганд-СВ[7]. В таком комплексе один хромофорный фрагмент красителя должен быть вовлечен во взаимодействие с ДНК, а другой – погружен в полость кукурбитурила. Для подтверждения образования тройного комплекса были получены спектры поглощения и флуоресценции раствора, ранее анализированного с помощью метода КД. Как видно из рисунка 72а, спектр поглощения раствора с соотношением  $C_{16}/C_{\text{ДНК}} = 0.6$  в присутствии 10-кратного избытка СВ[7] (соответствующего максимальному отрицательному сигналу на предыдущих

спектрах КД) обладает характеристичной полосой, максимум которой занимает промежуточное положение между максимумами комплексов лиганд–ДНК и лиганд–СВ[7], что с большой долей вероятности может реализоваться именно в тройном комплексе.



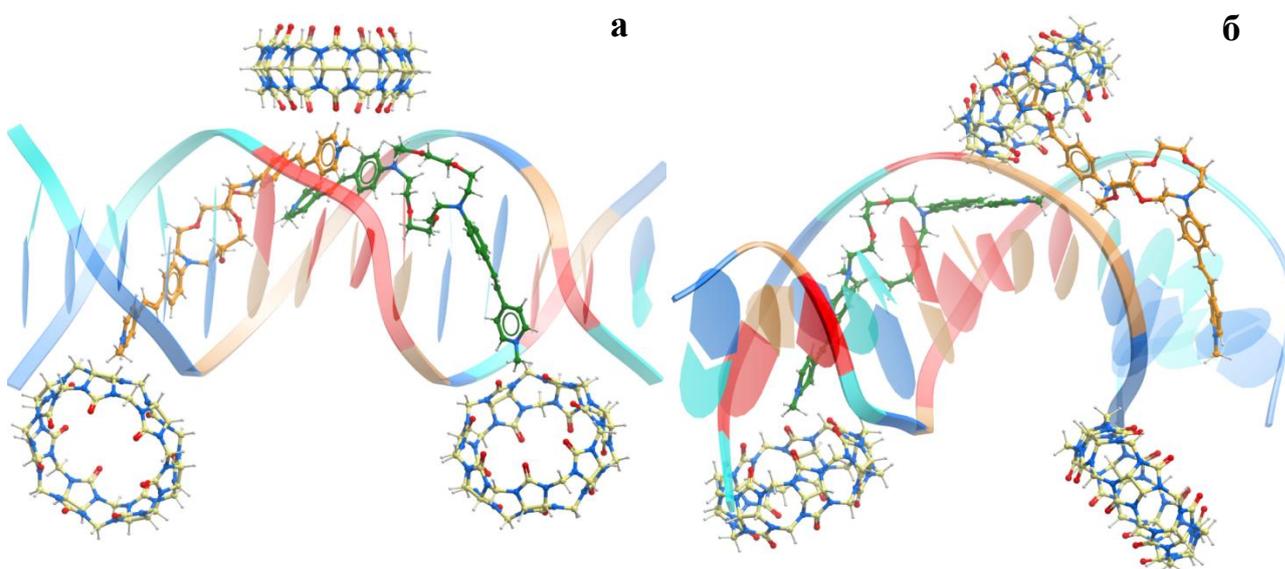
**Рисунок 72** – а) Спектры поглощения свободного соединения **16** и в присутствии ДНК и/или **СВ[7]**:  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-5}$  М (черный);  $C_{СВ[7]} = 6 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-5}$  М (красный);  $C_{ДНК} = 10^{-4}$  М,  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-5}$  М (синий);  $C_{СВ[7]} = 6 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{ДНК} = 10^{-4}$  М (зеленый); б) Спектры флуоресценции свободного соединения **16** и в присутствии ДНК и/или **СВ[7]** при  $\lambda_{возб} = 483$  нм:  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-5}$  М (черный);  $C_{СВ[7]} = 6 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-5}$  М (красный);  $C_{ДНК} = 10^{-4}$  М,  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-5}$  М (синий);  $C_{СВ[7]} = 6 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{16} = 6 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{ДНК} = 10^{-4}$  М (зеленый)

Далее были подробно изучены спектры флуоресценции данной системы. Изначально интенсивность флуоресценции красителя с соотношением  $r = 0.6$  примерно равна сигналу свободного красителя. Отсутствие разгорания флуоресцентного сигнала свидетельствует о формировании агрегатов в бороздке ДНК (Рис. 72б). При добавлении к этому раствору кукурбитурила, оптический сигнал резко возрастает. Очевидно, что данные спектральные изменения вызваны разрушением агрегатов с образованием тройного комплекса ДНК-лиганд-кукурбитурил.

*Молекулярное моделирование комплексов краситель-ДНК.* Кроме оптических исследований были проведены работы по молекулярному моделированию<sup>3</sup>, которые подтвердили экспериментально наблюдаемое разрушение агрегатов красителя с образованием тройного комплекса ДНК–лиганд–СВ[7] (Рис. 73).

<sup>3</sup> Молекулярное моделирование выполнено в сотрудничестве с к.х.н. Цветковым Б.В., зав. лаб. молекулярного моделирования и биоинформатики ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург.

В качестве начальных точек отсчета были выбраны три предполагаемых сайта связывания. И только в одном случае, а именно в области стэкинга хромофоров красителей, наблюдалось капсулирование одной половины красителя в полость кукурбитурила, при этом вторая его часть оставалась связанной с бороздкой ДНК. Кроме того, было показано, что взаимодействие кукурбитурила с пиридиновыми фрагментами красителя, не участвующими в димеризации, невозможно, т.к. энергия связывания лиганд-кукурбитурил сравнима по энергии с взаимодействием лиганд-ДНК.



**Рисунок 73** – Локализация ДНК, красителя **16** и **СВ[7]** на начальной (а) и конечной (б) стадиях молекулярного моделирования. Расчет выполнен при использовании программных пакетов Sybyl-X (Certara, USA) и Molsoft ICM-Pro 3.8.6

Таким образом, на основании наблюдаемых эффектов в спектрах поглощения, флуоресценции и кругового дихроизма был сделан вывод, что кукурбитурил способен вызывать разрушение агрегатов красителя в малой бороздке ДНК с образованием тройного комплекса **СВ[7]**–лиганд–ДНК. Экспериментально наблюдаемое явление подтверждено молекулярным моделированием данного процесса.

#### 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  были зарегистрированы на спектрометрах Avance 400, Avance 500 и Avance 600 фирмы Bruker с использованием ампул диаметром 5 мм. Химические сдвиги для ядер  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  определялись с точностью 0.01 м.д. относительно остаточных сигналов растворителя и пересчитаны к внутреннему стандарту (TMS). Значения констант спин-спинового взаимодействия определялись с точностью 0.1 Гц. В качестве растворителей использовались ДМСО- $d_6$ ,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , ацетон- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ . Для отнесения сигналов в спектрах ЯМР использовались двумерные методики HMQC, HMBS и COSY с импульсными поперечными градиентами. Для структурных отнесений были использованы фазочувствительные NOESY или ROESY 2D-методики.

Температуры плавления измеряли в капиллярах на приборе Mel-temp II и не корректировали.

Контроль за ходом реакций осуществляли методом ТСХ на пластинках DC-Alufolien Aluminiumoxid F254 производства фирмы «Sigma-Aldrich», DC-Alufolien Kieselgel 60 F254 и DC-Alufolien Aluminiumoxid 60 F254 neutral производства фирмы «Merck».

Для колоночной хроматографии применялся оксид алюминия (нейтральный) Aluminium oxid, neutral, Brockmann I, 50-200  $\mu\text{m}$ , 60 A производства фирмы «Acros», Silica gel 60, for chromatography, 63-100  $\mu\text{m}$  фирмы «Merck».

Элементный анализ проводился в Лаборатории микроанализа Института элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН.

Масс-спектры с ионизацией при электрораспылении (метод ИЭР) были получены на масс-спектрометре «Agilent 1100» серии LC/MSD с прямым вводом образца в область ионизации. Для снятия спектров использовались растворы исследуемых соединений в ацетонитриле и воде с концентрацией  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  М. Оптимальная скорость потока 400 мл/л. Потенциалы ионизации на входе и выходе были постоянны и составляли 3.5 кВ и 10 кВ, соответственно. Температура газовой фазы  $150^\circ\text{C}$ . Расчет изотопного состава комплексов производился с помощью Molecular Weight Calculator, Version 6.37 [Matthew Monroe, Molecular Weight Calculator, Version 6.37].

Электронные спектры поглощения измерялись на двухканальных спектрофотометрах Varian Cary 100 и Varian Cary 300. Спектры флуоресценции регистрировались на спектрофлуориметре FluoroLog-3-221 при температуре  $20 \pm 1$  °С в кварцевых кюветах ( $l = 10$  мм или 1 мм), в последнем случае кювета располагалась под углом  $45^\circ$  относительно направления возбуждения. Наблюдаемая флуоресценция детектировалась под прямым углом относительно пучка возбуждения. Измеренные спектры флуоресценции были скорректированы по отношению к чувствительности измеряющего фотоэлектронного умножителя (ФЭУ). Для снятия спектров поглощения и флуоресценции использовались спектроскопически чистые растворители фирм Aldrich и Acros. Приготовление растворов и все эксперименты с фоточувствительными соединениями проводились в темной комнате при красном свете.

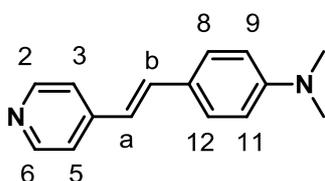
Спектры кругового дихроизма регистрировались с помощью автоматического регистрирующего дихрографа СКД-2 в кварцевых кюветах ( $l = 10$  мм).

4-(диметиламино)бензальдегид, 4-пиколин, метил-*n*-толуолсульфонат,  $\text{HClO}_4$ ,  $\text{NaClO}_4$ ,  $\text{KOH}$ , пиридин, *tert*-BuOK, уксусный ангидрид, хлорная кислота гидробромид 2-бромэтиламина, гидробромид 3-бромпропиламина, 2-метилбензотиазол, 4-пиридинкарбоксальдегид, тионилхлорид, диэтилфосфит, 4,4'-дибензальдегид-диаза-18-краун-6 эфир, 4'-формилбензо-18-краун-6 эфир, 4-бензальдегид-аза-18-краун-6 эфира, растворители (ацетонитрил, метанол, этанол, бензол, *n*-BuOH, тетрагидрофуран, ДМФА, диэтиловый эфир, этилацетат, хлороформ, хлористый метилен, толуол) коммерчески доступны и использовались без дополнительной очистки. Пирролидин и пиперидин при необходимости подвергались очистке путем перегонки под атмосферным давлением.

6,7,9,10,17,18,20,21-октагидробензо[b,k][1,4,7,10,13,16]гексаокса-циклооктадецин-2,14-дикарбоксальдегид (4',4''(3'')-диформилдибензо-18-краун-6 эфир) [160], 4-(гидроксиметил)пиридин (**14**) [181], 4-(гидроксиметил)пиридиния хлорид (**14'**) [181], 4-(хлорметил)пиридиния хлорид (**15**) [181] были получены по описанным в литературе методикам.

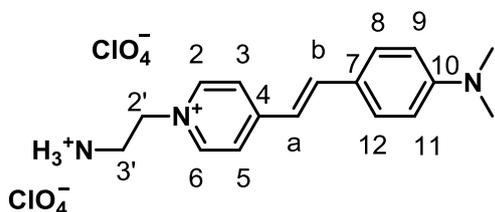
## 4.1. Синтетическая часть

### (*E*)-4-(4-(диметиламино)стирил)пиридин (1)



Смесь 4-(диметиламино)-бензальдегида (1,11 г, 7,43 ммоль), 4-пиколина (0,95 мл, 14,9 ммоль) и КОН (44 мг 7,90 ммоль) выдерживали в инертной атмосфере при 125 °С в течение 21 ч. К охлажденной до комнатной температуры реакционной смеси добавляли ледяную воду, при этом выпадал желтый осадок, который отфильтровывали, промывая водой и этилацетатом. Соединение **1** получено в виде ярко-желтого порошка с выходом 50% (0,82 г, 3,63 ммоль). Т.пл. 239 – 241 °С. Лит. [182]: 240 – 241 °С. <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д., *J* Гц): 2.11 (с, 6Н, 2СН<sub>3</sub>), 5.89 (д, 2Н, Н-9, Н-11, *J* = 8.6), 6.1 (д, 1Н, Н-*b*, *J*<sub>trans</sub> = 16.2), 6.58 (д, 1Н, Н-*a*, *J*<sub>trans</sub> = 16.5), 6.62 (д, 2Н, Н-3, Н-5, *J* = 6.0), 6.65 (д, 2Н, Н-8, Н-12, *J* = 8.6), 7.63 (д, 2Н, Н-2, Н-6, *J* = 6.0). Найдено (%) для C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>: С, 80.17; Н, 7.23; N, 12.45; вычислено (%): С, 80.32; Н, 7.19; N, 12.49.

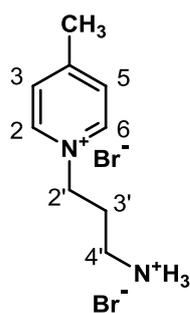
### (*E*)-4-(4-(диметиламино)стирил)-1-(2-амминоэтил)-пиридиния перхлорат (2)



Смесь, содержащую соединение **1** (0,45 г, 2 ммоль) и гидробромид 2-бромэтиламина (0,21 г, 1 ммоль), растворяли в 4 мл EtOH и выдерживали в инертной атмосфере при температуре 80 °С в течение 36 часов. Затем к реакционной смеси добавляли 20 мл дистиллированной воды и экстрагировали хлористым метиленом (3×20 мл). Водно-спиртовой раствор упаривали, остаток растворяли в минимальном количестве EtOH и переводили в перхлорат добавлением спиртового раствора NaClO<sub>4</sub>. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали холодным EtOH и высушивали на фильтре. Соединение **2** было получено в виде темно-бордового порошка с выходом 20% (0,10 г, 0,20 ммоль). Т.пл. 95-98 °С; <sup>1</sup>Н ЯМР (500 МГц, CD<sub>3</sub>CN, δ м.д., *J* Гц): 3.06 (с, 6Н, 2СН<sub>3</sub>), 3.57-3.50 (м, 2Н, Н-3'), 4.64 (т, 2Н, Н-2', *J* = 6.3), 6.80 (д, 2Н, Н-9, Н-11, *J* = 9.0), 7.08 (д, 1Н, Н-*a*, *J*<sub>trans</sub> = 16.0), 7.61 (д, 2Н, Н-8, Н-12, *J* = 9.0), 7.83 (д, 1Н, Н-*b*, *J*<sub>trans</sub> = 16.0), 7.90 (д, 2Н, Н-3, Н-5, *J* = 6.9), 8.36 (д, 2Н, Н-2, Н-6, *J* = 6.9). <sup>13</sup>С ЯМР (126 МГц, CD<sub>3</sub>CN, δ м.д.): 40.26 (2С, СН<sub>3</sub>), 40.77 (1С, С-3'), 56.56 (1С, С-2'), 113.00 (2С, С-9, С-11),

117.84 (1C, C-a), 123.42 (1C, C-7), 123.74 (2C, C-3, C-5), 131.68 (2C, C-8, C-12), 144.98 (2C, C-2, C-6), 144.45 (1C, C-b), 153.88 (1C, C-10), 156.88 (1C, C-4). Найдено (%) для  $C_{17}H_{23}Cl_2N_3O_8$ : C, 43.47; H, 4.87; N, 8.73; вычислено (%): C, 43.60; H, 4.95; N, 8.97. Масс-спектр (ИЭР) раствора **2** в MeCN,  $m/z$ : 268.09,  $[2-H]^+$ ; для  $C_{17}H_{22}N_3^+$  вычислено,  $m/z$ : 268.18.

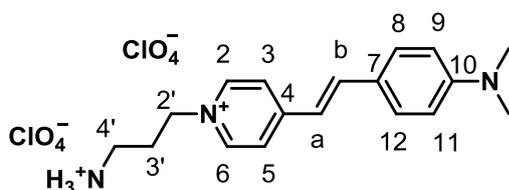
### 1-(3-аммонийпропил)-4-метилпиридин-1-ил бромид (**3**)



Смесь гидробромида 3-бромпропил-амина (0,70 г, 3 ммоль), и 4-пиколина (0,32 мл, 3 ммоль) выдерживали в инертной атмосфере при 125 °С в течение 1 часа. Полученный спек тщательно промывали бензолом, сушили, после чего остаток растворяли в минимальном количестве MeOH и по каплям добавляли ТГФ. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали ТГФ и сушили на

воздухе. Соединение **3** было получено в виде бежевого порошка с выходом 84% (0,79 г, 2,53 ммоль). Т.пл. 214 – 216 °С. Лит. [25]: 216 – 219 °С.  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.26-2.14 (м, 2H, H-3'), 2.62 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.89-2.79 (м, 2H, H-4'), 4.68- 4.60 (м, 2H, H-2'), 7.89 (уш. с, 3H, N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>), 8.04 (д, 2H, H-3, H-5,  $J = 6.0$ ), 8.97 (д, 2H, H-2, H-6,  $J = 6.0$ ). Найдено (%) для  $C_9H_{16}Br_2N_2$ : C, 34.47; H, 5.11; N, 8.89; вычислено (%): C, 34.64; H, 5.17; N, 8.98.

### (*E*)-4-(4-(диметиламино)стирил)-1-(3-амминопропил)-пиридиния перхлорат (**4**)

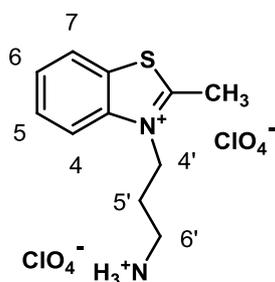


Смесь, содержащую соединение **3** (0,15 г, 0,48 ммоль) и 4-(диметиламино)бензальдегид (0,07 г, 0,48 ммоль), растворяли в *n*-бутаноле. К раствору добавляли каталитическое количество пиридина (0,22 мл, 0,003 ммоль) и выдерживали

в атмосфере аргона при кипении в течение 22,5 часов. После охлаждения до комнатной температуры к раствору добавляли диэтиловый эфир. Выпавший осадок отфильтровывали, тщательно промывая диэтиловым эфиром и бензолом. Затем остаток растворяли в минимальном количестве EtOH и переводили в перхлорат добавлением спиртового раствора NaClO<sub>4</sub>. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали холодным EtOH и высушивали на фильтре. Соединение **4** было получено в виде темно-бордового порошка с выходом 50% (0,11 г, 0,23 ммоль).

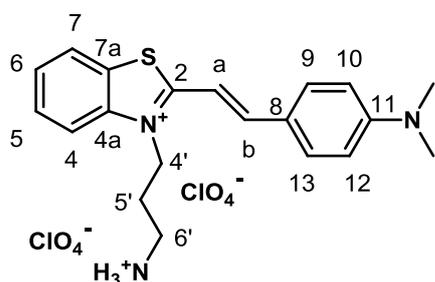
Т.пл. 194-197 °С;  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.34-2.20 (м, 2Н, Н-3'), 3.04-3.00 (м, 2Н, Н-4'), 3.05 (с, 6Н, 2 $\text{CH}_3$ ), 4.40 (т, 2Н, Н-2',  $J = 7.35$ ), 6.79 (д, 2Н, Н-9, Н-11,  $J = 7.9$ ), 7.07 (д, 1Н, Н-а,  $J_{trans} = 15.87$ ), 7.60 (д, 2Н, Н-8, Н-12,  $J = 7.9$ ), 7.79 (д, 1Н, Н-б,  $J_{trans} = 15.87$ ), 7.88 (д, 2Н, Н-3, Н-5,  $J = 6.1$ ), 8.34 (д, 2Н, Н-2, Н-6,  $J = 6.1$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta$  м.д.): 29.12 (1С, С-3'), 37.95 (1С, С-4'), 40.26 (2С,  $\text{CH}_3$ ), 57.58 (1С, С-2'), 112.94 (2С, С-9, С-11), 117.47 (1С, С-а), 123.33 (1С, С-7), 123.65 (2С, С-3, С-5), 131.44 (2С, С-8, С-12), 144.04 (2С, С-2, С-6), 144.19 (1С, С-б), 153.62 (1С, С-10), 156.09 (1С, С-4). Найдено (%) для  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_8$ : С, 42.13; Н, 4.80; N, 8.20; вычислено (%): С, 41.98; Н, 4.91; N, 8.21. Масс-спектр (ИЭР) раствора **4** в  $\text{MeCN}$ ,  $m/z$ : 282.42,  $[\mathbf{4-H}]^+$ , для  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_3^+$  вычислено,  $m/z$ : 282.20.

### 3-(3-аммонийпропил)-2-метилбензо[d]тиазол-3-ий перхлорат (**5**)



Смесь, содержащую гидробромид 3-бромпропиламина (0,15 г, 0,67 ммоль) и 2-метилбензотиазол (0,17 мл, 1,34 ммоль), растворяли в толуоле и выдерживали в инертной атмосфере при 110 °С в течение 3 часов. Выпавший осадок отфильтровывали, тщательно промывая бензолом. Затем остаток растворяли в минимальном количестве  $\text{EtOH}$  и переводили в перхлорат добавлением  $\text{HClO}_4$ . Выпавший осадок отфильтровывали и высушивали на фильтре. Соединение **5** было получено в виде светло бежевого порошка с выходом 37 % (0,1 г, 0,25 ммоль). Т. пл. 256 – 258 °С с разложением. Лит. [31]: 257 – 258 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.17-2.06 (м, 2Н, Н-5'), 3.09-2.99 (м, 2Н, Н-6'), 3.18 (с, 3Н,  $\text{CH}_3$ ), 4.76 (т, 2Н, Н-4',  $J = 8.0$ ), 7.77 (уш. с, 3Н,  $\text{N}^+\text{H}_3$ ), 7.83 (т, 1Н, Н-6,  $J = 7.7$ ), 7.93 (т, 1Н, Н-5,  $J = 7.9$ ), 8.34 (д, 1Н, Н-4,  $J = 8.5$ ), 8.46 (д, 1Н, Н-7,  $J = 8.1$ ). Найдено (%) для  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_8\text{S}$ : С, 32.01; Н, 3.92; N, 6.69; вычислено (%): С, 32.44; Н, 3.96; N, 6.88. Масс-спектр (ИЭР) раствора **5** в  $\text{MeCN}$ ,  $m/z$ : 207.3,  $[\mathbf{5-H}]^+$ , для  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{S}^+$  вычислено,  $m/z$ : 207.10.

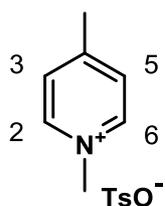
***E*-3-(3-аминопропил)-2-(4-(диметиламино)стирил)бензо[*d*]тиазол-3-ий перхлорат (6)**



**Метод 1.** Смесь, содержащую соединение **5** (40 мг, 0,10 ммоль) и 4-диметиламино бензальдегид (16 мг, 0,11 ммоль) растворяли в этиловом спирте и выдерживали в инертной атмосфере при 78 °С в течение 21 часа. После охлаждения до комнатной температуры к раствору добавляли диэтиловый эфир. Выпавший осадок отфильтровывали, тщательно промывая диэтиловым эфиром, бензолом и хлористым метиленом. Остаток перекристаллизовывали из MeOH, выпавший осадок отфильтровывали и высушивали на фильтре. Соединение **6** получено в виде фиолетового порошка с выходом 60 % (32 мг, 0,06 ммоль). Т.пл. 214-217 °С; <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CD<sub>3</sub>CN, δ м.д., *J* Гц): 2.30-2.21 (м, 2H, H-5'), 3.14 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.23-3.18 (м, 2H, H-6'), 4.65 (т, 2H, H-4', *J* = 7.9), 6.45 (уш. с, 3H, N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>), 6.84 (д, 2H, H-10, H-12, *J* = 8.5), 7.24 (д, 1H, H-a, *J*<sub>trans</sub> = 15.0), 7.67 (т, 1H, H-6, *J* = 7.6), 7.78 (т, 1H, H-5, *J* = 7.7), 7.83 (д, 2H, H-9, H-13, *J* = 8.4), 7.90 (д, 1H, H-4, *J* = 8.4), 8.02 (д, 1H, H-b, *J*<sub>trans</sub> = 15.0), 8.09 (д, 1H, H-7, *J* = 8.1). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CD<sub>3</sub>CN, δ м.д.): 26.41 (2C, C-5'), 38.28 (2C, C-6'), 40.46 (2C, 2CH<sub>3</sub>), 46.08 (2C, C-4'), 105.16 (1C, C-a), 113.13 (2C, C-10, C-12), 116.01 (1C, C-4), 122.22 (1C, C-8), 124.58 (1C, C-7), 128.15 (1C, C-7a), 128.71 (1C, C-6), 130.15 (1C, C-5), 134.11 (2C, C-9, C-13), 142.20 (1C, C-4a), 152.76 (1C, C-b), 155.43 (1C, C-11), 172.95(1C, C-2). Найдено (%) для C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S: C, 44.51; H, 4.59; N, 7.65; вычислено (%): C, 44.62; H, 4.68; N, 7.80. Масс-спектр (ИЭР) раствора **6** в MeCN, *m/z*: 338.21, [6-H]<sup>+</sup>, для C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>S<sup>+</sup> вычислено, *m/z*: 338.17.

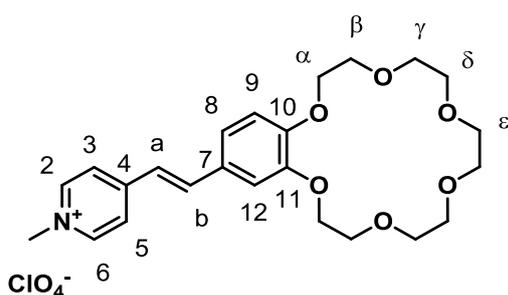
**Метод 2.** Смесь, содержащую соединение **5** (0,04 г, 0,11 ммоль) и 4-диметиламино бензальдегид (0,02, г 0,11 ммоль), растворяли в 1 мл уксусного ангидрида и выдерживали в инертной атмосфере при 140 °С в течение 20 минут. После охлаждения до комнатной температуры к раствору добавляли диэтиловый эфир. Выпавший осадок отфильтровывали, тщательно промывая диэтиловым эфиром и бензолом. Остаток перекристаллизовывали из EtOH, выпавший осадок отфильтровывали и высушивали на фильтре. Соединение **6** получено в виде фиолетового порошка с выходом 69 % (40 мг, 0,07 ммоль).

### Тозилат 1,4-диметилпиридиния (7)



Смесь 4-пиколина (5,26 мл, 54 ммоль) и метил-*n*-толилсульфоната (8,10 мл, 54 ммоль) выдерживали на силиконовой бане при 125 °С в течение 5,5 часов. Образовавшийся спёк растирали в 40 мл смеси этилацетат-этанол 50:1, отфильтровывали нерастворившийся осадок, высушивали и перекристаллизовывали из этанола. Отфильтровывали выпавший после охлаждения осадок и высушивали на воздухе. Соединение **7** получено в виде светло бежевых кристаллов с выходом 72% (8,06 г, 39 ммоль). Т.пл. 149 – 152 °С. <sup>1</sup>H ЯМР, (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д., *J* Гц): 3.36 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.25 (с, 3H, N<sup>+</sup>CH<sub>3</sub>), 7.94 (д, 2H, H-3, H-5, *J* = 6.3), 8.79 (д, 2H, H-2, H-6, *J* = 6.5). Найдено (%) для C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>S: C, 60.07; H, 6.21; N, 5.04; вычислено (%): C, 60.19; H, 6.13; N, 5.01.

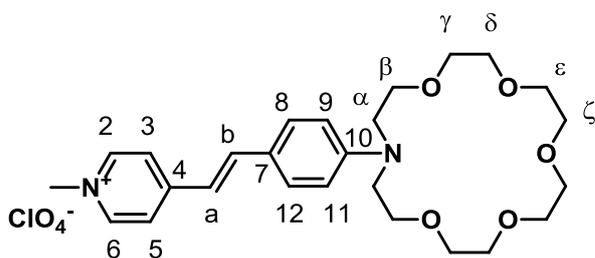
### (*E*)-4-(2-(2,3,5,6,8,9,11,12,14,15-декагидробензо[*b*][1,4,7,10,13,16]гексаоксациклооктадецин-18-ил)винил)-1-метилпиридиния перхлорат (8)



Смесь, содержащую 4'-формилбензо-18-краун-6 эфир (200 мг, 0,59 ммоль), соединение **7** (156 мг, 0,59 ммоль) и пирролидин (58 мкл, 0,70 ммоль), растворяли в сухом *n*-BuOH (3 мл) и выдерживали в инертной атмосфере при 120 °С в течение 1,5 часов. Затем растворитель упаривали, остаток промывали горячим бензолом (4×10 мл) и сушили на воздухе. Полученный порошок растворяли при нагревании в минимальном количестве MeOH и переводили в перхлорат добавлением 70% -ной хлорной кислоты (60 мкл, 0,70 ммоль). Раствор охлаждали до -10 °С, осадок отфильтровывали, промывая холодным MeOH, и сушили на воздухе. Соединение **8** было получено в виде ярко-желтого порошка с выходом 37% (116 мг, 0,22 ммоль). Т.пл. 170-172 °С с разложением; <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д., *J* Гц): 3.53 (с, 4H, H-ε), 3.59-3.55 (м, 4H, H-δ), 3.65-3.60 (м, 4H, H-γ), 3.82-3.75 (м, 4H, H-β), 4.19-4.13 (м, 4H, H-α), 4.23 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.06 (д, 1H, H-9, *J* = 8.4), 7.26 (дд, 1H, H-8, *J* = 8.4, *J* = 1.8), 7.36 (с, 1H, H-12), 7.37 (д, 1H, H-a, *J*<sub>trans</sub> = 16.2), 7.90 (д, 1H, H-b, *J*<sub>trans</sub> = 16.2), 8.09 (д, 2H, H-3, H-5, *J* = 6.9), 8.77 (д, 2H, H-2, H-6, *J* = 6.8). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д.): 46.81 (2C, CH<sub>3</sub>), 68.16 (2C, C-α), 68.59 (2C, C-β), 69.74 (2C, C-ε), 69.82 (2C, C-δ),

69.94 (2C, C- $\gamma$ ), 111.06 (1C, C-12), 112.71 (1C, C-9), 120.86 (1C, C-a), 122.93 (2C, C-3, C-5), 123.21 (1C, C-8), 127.99 (1C, C-7), 140.99 (1C, C-b), 144.86 (2C, C-2, C-6), 148.37 (1C, C-11), 150.56 (1C, C-10), 152.86 (1C, C-4). Найдено (%) для  $C_{24}H_{32}NClO_{10}$ : C, 54.39; H, 6.09; N, 2.64; вычислено (%): C, 54.41; H, 6.12; N, 2.65. Масс-спектр (ИЭР) раствора **8** в MeCN,  $m/z$ : 430.10,  $[8]^+$ , для  $C_{24}H_{32}NO_6^+$  вычислено,  $m/z$ : 430.22.

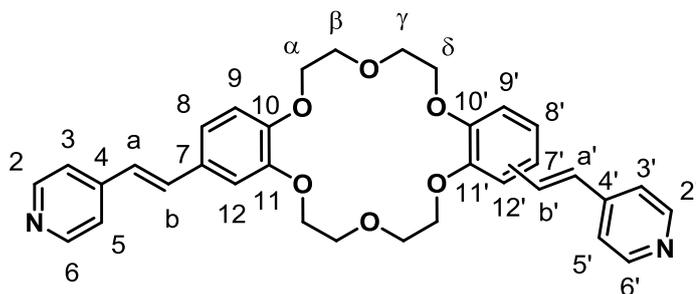
**(E)-4-(4-(1,4,7,10,13-пентаокса-16-азациклооктадекан-16-ил)стирил)-1-метил-пиридиния перхлорат (9)**



Смесь, содержащую 4-бензальдегид-аза-18-краун-6 эфир (100 мг, 0,27 ммоль), соединение **7** (72 мг, 0,27 ммоль) и пирролидин (33 мкл, 0,40 ммоль), растворяли в сухом *n*-BuOH (3 мл) и

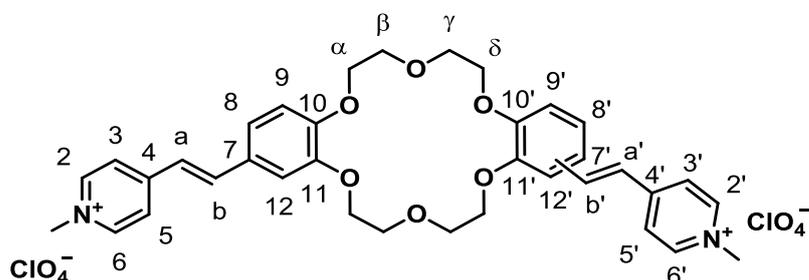
выдерживали в инертной атмосфере при 120 °С в течение 4 часов. Затем растворитель упаривали, остаток промывали диэтиловым эфиром, бензолом и сушили на воздухе. Полученный порошок растворяли при нагревании в минимальном количестве EtOH (5 мл) и переводили в перхлорат добавлением 70%-ной хлорной кислоты (34 мкл, 0,40 ммоль). Раствор охлаждали до -10 °С, осадок отфильтровывали, промывая диэтиловым эфиром, бензолом и сушили на воздухе. Соединение **9** было получено в виде красно-коричневого порошка с выходом 35% (53 мг, 0,10 ммоль). Т.пл. 112-115 °С с разложением;  $^1H$  ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.54-3.52 (м, 8H, , H- $\epsilon$ , H- $\zeta$ ), 3.56-3.54 (м, 8H, , H- $\gamma$ , H- $\delta$ ), 3.65-3.60 (м, 8H, H- $\alpha$ , H- $\beta$ ), 4.18 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.78 (д, 2H, H-9, H-11,  $J = 9.0$ ), 7.16 (д, 1H, H-a,  $J_{trans} = 16.1$ ), 7.57 (д, 2H, H-8, H-12,  $J = 8.7$ ), 7.90 (д, 1H, H-b,  $J_{trans} = 16.1$ ), 8.05 (д, 2H, H-3, H-5,  $J = 6.9$ ), 8.71 (д, 2H, H-2, H-6  $J = 6.9$ ).  $^{13}C$  NMR (126 МГц, ДМСО- $d_6$ ): 46.31 (1C, CH<sub>3</sub>), 50.68 (4C, C- $\alpha$ , H- $\beta$ ), 67.84 (4C, H- $\gamma$ , H- $\delta$ ), 69.95 (2C, H- $\epsilon$ ), 70.10 (2C, C- $\zeta$ ), 111.67 (1C, C-9, C-11), 117.02 (1C, C-a), 122.10 (2C, C-3, C-5), 122.33 (1C, C-7), 130.36 (2C, C-8, C-12), 141.78 (1C, C-b), 144.36 (2C, C-2, C-6), 149.89 (1C, C-10), 153.37 (1C, C-4). Найдено (%) для  $C_{26}H_{37}N_2ClO_9$ : C, 55.87; H, 6.52; N, 4.79; вычислено (%): C, 56.06; H, 6.70; N, 5.03. Масс-спектр (ИЭР) раствора **9** в MeCN,  $m/z$ : 457.27,  $[9]^+$ ; для  $C_{26}H_{37}N_2O_5^+$  вычислено,  $m/z$ : 457.27.

**2,14(13)-бис ((*E*)-2-(пиридин-4-ил) винил)-6,7,9,10,17,18,20,21-октагидродibenзо [b, k] [1,4,7,10,13,16] гексаоксациклооктадецин (10)**



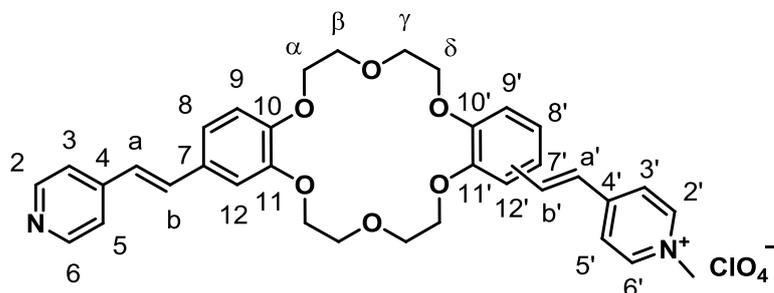
Смесь 4-пиколина (0,31 мл, 3,2 ммоль) и 4',4''(3'')-диформил-дibenзо-18-краун-6 эфира (375 мг, 0,90 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (15 мл) при нагревании, после чего при перемешивании в течение 30 мин добавляли *трет*-БуОК (354 мг, 3,20 ммоль). Реакционную смесь выдерживали при 100 °С в течение 20 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли холодную воду, и смесь перемешивали в течение 1 часа. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали водой, охлажденным EtOH (минимальным количеством) и сушили на воздухе, получая **10** в виде светло-желтого порошка с выходом 54% (0,28 г, 0,49 ммоль). Т.пл. 203–205 °С с разложением; <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д., J Гц): 3.91-3.83 (м, 8H, H-β, H-γ); 4.19-4.11 (м, 8H, H-α, H-δ), 6.98 (д, 2H, H-9, H-9', *J* = 8.4), 7.13 (д, 2H, H-a, H-a', *J*<sub>trans</sub> = 16.4), 7.15 (д, 2H, H-8, H-8', *J* = 8.2), 7.29 (уш. с, 2H, H-12, H-12'), 7.46 (д, 2H, H-b, H-b', *J*<sub>trans</sub> = 16.4), 7.50 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5', *J* = 6.3), 8.51 (д, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6', *J* = 6.1). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д.): 67.65 (4C, C-β, C-γ), 68.84 (4C, C-α, C-δ), 109.89 (2C, C-12, C-12'), 112.11 (2C, C-9, C-9'), 120.56 (4C, C-3, C-3', C-5, C-5'), 121.00 (2C, C-8, C-8'), 123.66 (2C, C-a, C-a'), 128.98 (2C, C-7, C-7'), 133.09 (2C, C-b, C-b'), 144.67 (2C, C-4, C-4'), 148.04 (4C, C-11, C-11'), 148.63 (2C, C-10, C-10'), 149.97 (4C, C-2, C-2', C-6, C-6'). Найдено (%) для C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 72.07; H, 4.94; N, 6.05; вычислено (%): C, 72.89; H, 5.04; N, 6.06. Масс-спектр (ИЭР) раствора **10** в MeCN, *m/z*: 589.20, [**10**+Na]<sup>+</sup>; для C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Na<sup>+</sup> вычислено, *m/z*: 589.23.

**4,4'-(1*E*,1'*E*)-2,2'-(6,7,9,10,17,18,20,21-октагидродибензо[*b,k*][1,4,7,10,13,16]гекса-оксациклооктадецин-2,14(13)-диил)бис(этен-2,1-диил)бис(1-метил-пиридиний) перхлорат (**11**)**



Смесь соединения **10** (30 мг, 0,05 ммоль) и метил-*n*-толуолсульфоната (22 мг, 0,12 ммоль) выдерживали в инертной атмосфере при температуре 140 °С в течение 3,5 часов. Реакционную смесь охлаждали, промывали хлороформом и бензолом. Остаток растворяли при нагревании в минимальном количестве метанола (5 мл). Затем к раствору добавляли 70% -ную хлорную кислоту (10 мкл, 0,12 ммоль), реакционную смесь охлаждали до -10 °С. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали хлороформом, холодным метанолом и сушили на воздухе. Соединение **11** получали в виде желтого порошка с выходом 90% (38 мг, 0,04 ммоль). Т.пл. 262–265 °С с разложением; <sup>1</sup>Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д., *J* Гц): 3.95-3.76 (м, 8Н, Н-β, Н-γ); 4.28-4.09 (м, 8Н, Н-α, Н-δ), 4.22 (с, 6Н, СН<sub>3</sub>), 7.06 (д, 2Н, Н-9, Н-9', *J* = 8.3), 7.27 (д, 2Н, Н-8, Н-8', *J* = 7.7), 7.44-7.33 (м, 4Н, Н-а, Н-а', Н-12, Н-12'), 7.93 (д, 2Н, Н-б, Н-б', *J*<sub>trans</sub> = 16.1), 8.11 (д, 4Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5', *J* = 6.7), 8.79 (д, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6', *J* = 6.7). <sup>13</sup>С ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д.): 46.82 (2С, СН<sub>3</sub>), 67.63 (4С, С-β, С-γ), 68.84 (4С, С-α, С-δ), 110.08 (2С, С-12, С-12'), 112.10 (2С, С-9, С-9'), 120.82 (2С, С-а, С-а'), 122.84 (4С, С-3, С-3', С-5, С-5'), 123.10 (2С, С-8, С-8'), 127.93 (2С, С-7, С-7'), 140.97 (2С, С-б, С-б'), 144.76 (4С, С-2, С-2', С-6, С-6'), 148.01 (2С, С-11, С-11'), 150.14 (2С, С-10, С-10'), 152.85 (2С, С-4, С-4'). Найдено (%) для С<sub>36</sub>Н<sub>40</sub>Н<sub>2</sub>О<sub>14</sub>Сl<sub>2</sub>: С, 54.35; Н, 5.07; N, 3.52; вычислено (%): С, 54.09; Н, 5.04; N, 3.37. Масс-спектр (ИЭР) раствора **11** в Н<sub>2</sub>О, *m/z*: 298.10, [**11**]<sup>2+</sup>; для С<sub>36</sub>Н<sub>40</sub>Н<sub>2</sub>О<sub>6</sub><sup>2+</sup> вычислено, *m/z*: 298.15.

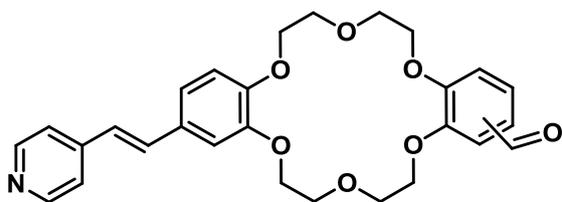
**1-метил-4-((*E*)-2-(14(13)-((*E*)-2-(пиридин-4-ил)винил)-6,7,9,10,17,18,20,21-октагидрибензо[*b,k*][1,4,7,10,13,16]гексаоксациклооктадецин-2-ил)винил)пиридин-1-ил перхлорат (**12**)**



Соединение **10** (180 мг, 0,32 ммоль) растворяли в MeCN (8 мл) и нагревали до 80 °С. К раствору в течении 2 часов прикапывали раствор метил-*n*-толуолсульфоната (47 мг, 0,25 ммоль) в MeCN (3 мл) при постоянном перемешивании. После окончания прикапывания смесь выдерживали 30 мин. при 80 °С. Реакционную массу охлаждали, растворитель выпаривали. Остаток хроматографировали на оксиде алюминия с использованием градиентного элюирования смесью CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – EtOH. Полученный остаток растворяли в минимальном количестве EtOH и добавляли концентрированный раствор NaClO<sub>4</sub> для замены противоиона на перхлорат. Выпавший осадок промывали холодным EtOH и CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, высушивали на воздухе. Соединение **12** получено в виде желтого порошка с выходом 17% (29 мг, 0,04 ммоль). Т.пл. 198–200 °С с разложением; <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CD<sub>3</sub>CN, δ м.д., *J* Гц): 4.02-3.95 (м, 8H, H-β, H-γ); 4.18 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.27-4.19 (м, 8H, H-α, H-δ), 6.99 (д, 1H, H-9, *J* = 8.4), 7.04 (дд, 1H, H-9', *J* = 8.3, *J* = 1.7), 7.08 (д, 1H, H-a, *J*<sub>trans</sub> = 16.4), 7.17 (дд, 1H, H-8, *J* = 8.3, *J* = 1.7), 7.31-7.23 (м, 3H, H-8', H-a', H-12), 7.34 (уш. с, 2H, H-12'), 7.39 (д, 1H, H-b, *J*<sub>trans</sub> = 16.4), 7.44 (д, 2H, H-3, H-5, *J* = 5.9), 7.74 (д, 1H, H-b', *J*<sub>trans</sub> = 16.2), 7.94 (д, 2H, H-3', H-5', *J* = 6.9), 8.41 (д, 2H, H-2', H-6', *J* = 6.9), 8.52 (д, 2H, H-2, H-6, *J* = 5.9). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CD<sub>3</sub>CN, δ м.д.): 48.05 (1C, CH<sub>3</sub>), 68.23 (4C, C-β, C-γ), 69.55 (4C, C-α, C-δ), 109.73 (1C, C-12), 110.37 (1C, C-12'), 112.18 (1C, C-9), 112.44 (1C, C-9'), 121.54 (2C, C-3, C-5), 121.95 (1C, C-a'), 122.19 (1C, C-8), 124.34 (2C, C-3', C-5'), 124.43 (1C, C-8'), 125.29 (1C, C-a), 129.48 (1C, C-7'), 130.84 (1C, C-7), 133.61 (1C, C-b), 142.02 (1C, C-b'), 145.54 (2C, C-2', C-6'), 145.96 (1C, C-4), 148.32 (1C, C-11), 148.60 (1C, C-10), 148.71 (1C, C-11'), 150.50 (1C, C-10'), 150.89 (2C, C-2, C-6), 154.68 (1C, C-

4'). Найдено (%) для  $C_{35}H_{37}N_2O_{10}Cl$ : С, 61.67; Н, 5.38; N, 4.10; вычислено (%): С, 61.72; Н, 5.48; N, 4.11. Масс-спектр (ИЭР) раствора **12** в MeCN,  $m/z$ : 581.27,  $[12]^+$ ; для  $C_{35}H_{37}N_2O_6^{2+}$  вычислено,  $m/z$ : 581.27.

(*E*)-14-(2-пиридин-4-ил)винил)- 6, 7, 9, 10, 17, 18, 20, 21-октагидрибензо [*b,k*] [1, 4, 7, 10, 13, 16] гексаоксациклооктадецин-1(2)-карбальдегид (**13**)

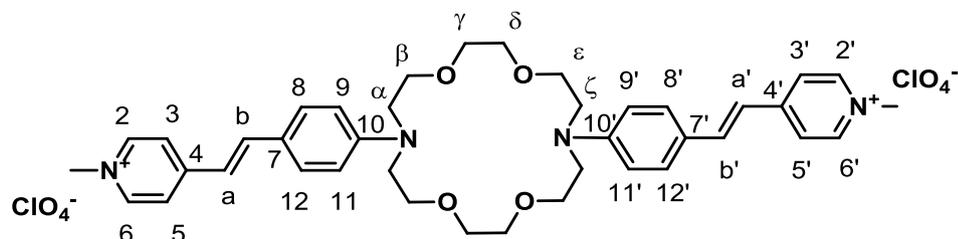


**Метод 1.** Смесь 4-пиколина (0,09 мл, 0,90 ммоль) и 4',4''(3'')-диформил-добензо-18-краун-6 эфира (375 мг, 0,90 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (15 мл) при нагревании, после чего при перемешивании в течение 30 мин добавляли *трет*-BuOK (100 мг, 0,90 ммоль). Реакционную смесь выдерживали при 100 °С в течение 20 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли холодную воду, и смесь перемешивали в течение 1 часа. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали водой, охлажденным EtOH (минимальным количеством) и сушили на воздухе. Целевой продукт **13** выделен не был, выделены исходный бисальдегид и бисстириловый краситель **10**.

**Метод 2.** Соединение **15** (0,1 г, 0,61 ммоль) суспензировали в 5 мл бензола, и затем обрабатывали водным раствором  $Na_2CO_3$  до щелочной реакции. В делительной воронке разделяли водную и органическую фазу. Бензольный экстракт сушили сульфатом магния. К металлическому натрию (0,02 г, 0,87 ммоль) в бензоле при перемешивании приливали диэтилфосфонат (0,15 мл, 0,82 ммоль). Смесь выдерживали в течение 1 часа до растворения натрия. Затем к смеси добавляли бензольный экстракт 4-хлорметилпиридина. Реакционную массу выдерживали 4 часа при температуре 80 °С, после чего отфильтровывали выпавший осадок, фильтрат упаривали в вакууме. Полученный продукт без предварительной очистки растворяли в 8 мл ТГФ. Добавляли 4',4''(3'')-диформил-добензо-18-краун-6 эфир (0,37 г, 0,87 ммоль) и *трет*-BuOK (0,05 г, 0,44 ммоль). Спустя 30 минут добавляли еще 0,05 г *трет*-BuOK. Реакционную массу выдерживали при перемешивании при комнатной температуре в течение 15 часов. Затем растворитель упаривали под вакуумом, остаток обрабатывали дистиллированной водой и экстрагировали хлористым метиленом (3×10 мл), органическую фракцию упаривали под вакуумом.

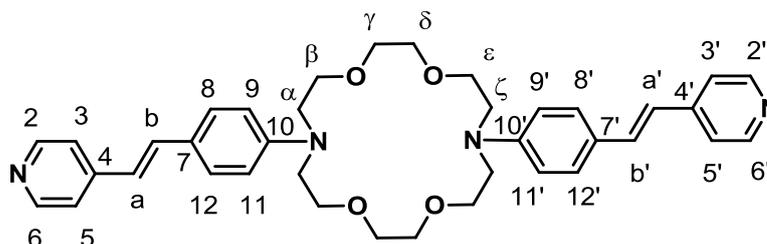
Остаток хроматографировали на оксиде алюминия с использованием градиентного элюирования смесью EtOAc – EtOH. Целевой продукт **13** выделен не был, выделены исходный бисальдегид и бисстириловый краситель **10**.

**4,4'-(1*E*,1'*E*)-2,2'-(4,4'-(1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(4,1-фенилен))бис(этен-2,1-диил)бис(1-метилпиридиний) перхлорат (**16**)**



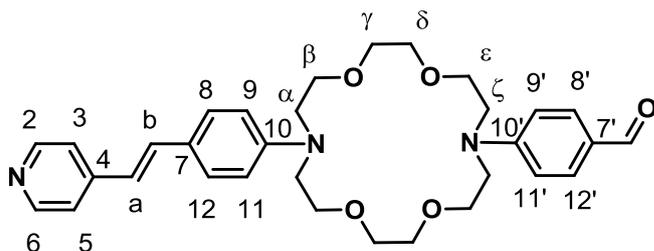
Смесь, содержащую 4,4'-дибензальдегид-диаза-18-краун-6 эфир (100 мг, 0,22 ммоль), соединение **7** (116 мг, 0,44 ммоль) и пиперидин (86 мкл, 0,87 ммоль), растворяли в сухом *n*-BuOH (10 мл) и выдерживали в инертной атмосфере при 120 °С в течение 4 часов. Затем растворитель упаривали, остаток промывали горячим бензолом (4×15 мл) и сушили на воздухе. Полученный порошок растворяли при нагревании в минимальном количестве EtOH (5 мл) и переводили в перхлорат добавлением 70% -ной хлорной кислоты (37 мкл, 0,43 ммоль). Раствор охлаждали до -10 °С, выпавший осадок отфильтровывали, промывали холодным EtOH и сушили на воздухе. Соединение **16** было получено в виде темно-красных кристаллов с выходом 73% (133 мг, 0,16 ммоль). Т.пл. 211-213 °С с разложением; <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д., *J* Гц): 3.61-3.55 (м, 8H, H-α, H-ζ), 3.78-3.61 (м, 16H, H-β, H-γ, H-δ, H-ε), 4.16 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 6.78 (д, 4H, H-9, H-9', H-11, H-11', *J* = 8.3), 7.13 (д, 2H, H-a, H-a', *J*<sub>trans</sub> = 16.2), 7.55 (д, 4H, H-8, H-8', H-12, H-12', *J* = 8.3), 7.87 (д, 2H, H-b, H-b', *J*<sub>trans</sub> = 16.2), 8.02 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5', *J* = 6.0), 8.67 (д, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6', *J* = 6.0). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ м.д.): 46.38 (2C, CH<sub>3</sub>), 50.59 (4C, C-α, C-ζ), 68.14 (4C, H-β, H-ε), 70.26 (4C, H-γ, H-δ), 111.67 (4C, C-9, C-9', C-11, C-11'), 117.05 (2C, C-a, C-a'), 122.13 (4C, C-3, C-3', C-5, C-5'), 122.41 (2C, C-7, C-7'), 130.43 (4C, C-8, C-8', C-12, C-12'), 141.78 (2C, C-b, C-b'), 144.35 (4C, C-2, C-2', C-6, C-6'), 149.89 (2C, C-10, C-10'), 153.37 (2C, C-4, C-4'). Найдено (%) для C<sub>40</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>12</sub>: C, 56.41; H, 5.94; N, 6.54; вычислено (%): C, 56.54; H, 5.93; N, 6.59. Масс-спектр (ИЭР) раствора **16** в H<sub>2</sub>O, *m/z*: 325.50, [**16**]<sup>2+</sup>, для C<sub>40</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub><sup>2+</sup> вычислено, *m/z*: 325.19.

**7,16-бис(4-((*E*)-2-(пиридин-4-ил)винил)фенил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диаза-циклооктадекан (17)**



Смесь, содержащую 4-пиколин (0,052 мл, 0,532 ммоль), 4,4'-добензальдегид-диаза-18-краун-6 эфир (0,050 г, 0,106 ммоль), уксусный ангидрид (1,875 мл, 19,9 ммоль) и уксусную кислоту (1,125 мл, 19,0 ммоль), выдерживали в инертной атмосфере при 135 °С в течение 17 ч. Затем к реакционной смеси добавляли 30 мл воды, полученный раствор нейтрализовывали  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  до  $\text{pH} = 7$  и экстрагировали хлористым метиленом (3×20 мл). Органическую фракцию упаривали под вакуумом. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием градиентной смеси PhH – MeCN. Фракцию, содержащую продукт, упаривали под вакуумом. Соединение **17** получено в виде темно-красного порошка с выходом 23% (15 мг, 0,02 ммоль). Т.пл. 189 – 191 °С с разложением;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ацетон- $d_6$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.62 – 3.72 (м, 24Н, Н- $\alpha$ , Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ , Н- $\delta$ , Н- $\epsilon$  Н- $\zeta$ ), 6.75 (д, 4Н, Н-9, Н-9', Н-11, Н-11',  $J = 8.9$ ), 6.92 (д, 2Н, Н-а, Н-а',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.84 (д, 4Н, Н-8, Н-8', Н-12, Н-12',  $J = 8.9$ ), 7.43 (м, 6Н, Н-б, Н-б', Н-3, Н-3', Н-5, Н-5'), 8.46 (д, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6',  $J = 6.0$ ). Найдено (%) для  $\text{C}_{38}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_4$ : С, 73.94; Н, 7.09; N, 8.95; вычислено (%): С, 73.52; Н, 7.14; N, 9.03. Масс-спектр (ИЭР) раствора **17** в MeCN,  $m/z$ : 621.99,  $[\mathbf{17}+\text{H}]^+$ ; для  $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_4^+$  вычислено,  $m/z$ : 621.34.

**(*E*)-4-(16-(4-(2-(пиридин-4-ил)винил)фенил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диаза-циклооктадекан-7-ил)бензальдегид (18)**



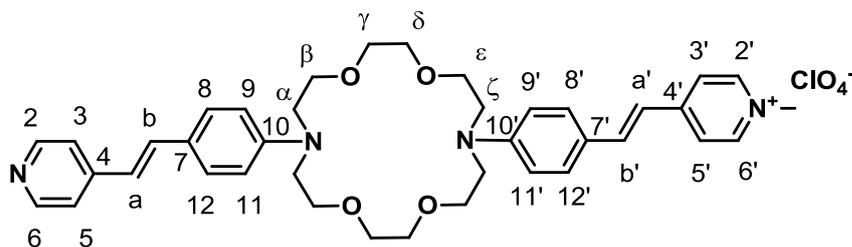
**Метод 1.** Смесь 4-пиколина ( $x$  моль), 4,4'-добензальдегид-диаза-18-краун-6 эфира (0,075 г, 0,160 ммоль) и уксусного ангидрида (3 мл, 31,8 ммоль). выдерживали в инертной

атмосфере при 130 °С в течение 7.5 ч или 11 ч. К реакционной смеси добавляли 30 мл

воды и оставляли на ночь. Полученный раствор нейтрализовывали  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  до  $\text{pH} = 7$ , экстрагировали хлористым метиленом, органическую фракцию упаривали под вакуумом. Остаток очищали колоночной хроматографией на оксиде алюминия, с использованием градиентной смеси  $\text{EtOAc} - \text{MeCN} - \text{EtOH}$ . Фракцию, содержащую продукт, упаривали под вакуумом. Соединение **18** получено в виде темно-желтого масла с выходом 19% (18 мг, 0,03 ммоль), при  $x = 0,035$  мл; 0,351 ммоль и времени реакции 7,5 часов или с выходом 30% (28 мг, 0,05 ммоль) при  $x = 0,078$  мл; 0,790 ммоль и времени реакции 11 часов.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ацетон- $d_6$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.56 – 3.75 (м, 24H, H- $\alpha$ , H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$ , H- $\epsilon$  H- $\zeta$ ), 6.74 (д, 2H, H-9, H-11,  $J = 8.6$ ), 6.82 (д, 2H, H-9', H-11',  $J = 9.3$ ), 6.94 (д, 1H, H-a,  $J_{trans} = 15.8$ ), 7.45 (д, 2H, H-8, H-12,  $J = 8.9$ ), 7.67 (д, 2H, H-8', H-12',  $J = 8.9$ ), 7.38 (д, 1H, H-b,  $J_{trans} = 15.8$ ), 7.42 (д, 2H, H-3, H-5,  $J = 6.0$ ), 8.45 (д, 2H, H-2, H-6,  $J = 6.0$ ), 9.68 (с, 1H,  $\text{HC}=\text{O}$ ). Найдено (%) для  $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_5$ : C, 70.54; H, 7.19; N, 7.75; вычислено (%): C, 70.44; H, 7.20; N, 7.70. Масс-спектр (ИЭР) раствора **18** в  $\text{MeCN}$ ,  $m/z$ : 546.71,  $[\mathbf{18}+\text{H}]^+$ ; для  $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_5^+$  вычислено,  $m/z$ : 546.30.

**Метод 2.** Соединение **15** (0,203 г, 1,24 ммоль) суспензировали в 6 мл бензола, и затем обрабатывали водным раствором  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  до щелочной реакции. В делительной воронке разделяли водную и органическую фазу. Бензольный экстракт сушили сульфатом магния. К металлическому натрию (0,03 г, 1,3 ммоль) в бензоле при перемешивании приливали диэтилфосфонат (0,31 мл, 1,67 ммоль). Смесь выдерживали в течение 1 часа до растворения натрия. Затем к смеси добавляли бензольный экстракт 4-хлорметилпиридина. Реакционную массу выдерживали 3 часа при температуре 80 °С, после чего отфильтровывали выпавший осадок, фильтрат упаривали в вакууме. Полученный продукт без предварительной очистки растворяли в 5 мл ТГФ. Добавляли 4,4'-добензальдегид-диаза-18-краун-6 эфир (0,115 г, 0,24 ммоль) и *трет*-БуОК (0,06 г, 0,54 ммоль). Реакционную массу выдерживали при перемешивании при комнатной температуре в течение 22 часов. Затем растворитель упаривали под вакуумом, остаток обрабатывали дистиллированной водой и экстрагировали хлористым метиленом (3×10 мл), органическую фракцию упаривали под вакуумом. Остаток хроматографировали на силикагеле с использованием градиентного элюирования смесью  $\text{EtOAc} - \text{MeCN} - \text{EtOH}$ . Соединение **18** получено в виде темно-желтого масла с выходом 36% (47 мг, 0,09 ммоль).

**1-метил-4-((*E*)-4-(16-(4-(*E*)-2-(пиридин-4-ил)винил)фенил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)стирил)пиридин-1-ил перхлорат (**19**)**



Смесь, содержащую соединение **18** (17 мг, 0,04 ммоль), тозилат 1,4-диметилпиридиния **7** (33 мг, 0,12 ммоль), пирролидин (15 мкл, 0,18 ммоль), растворяли в 2 мл *n*-BuOH и выдерживали в инертной атмосфере при 120 °С в течение 8 ч. Затем растворитель упаривали под вакуумом, а остаток промывали горячим бензолом. Полученный остаток растворяли в минимальном количестве EtOH и добавляли концентрированный раствор NaClO<sub>4</sub> для замены противоиона на перхлорат. Выпавший осадок отфильтровывали и хроматографировали на оксиде алюминия с использованием градиентного элюирования смесью CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – EtOH. Соединение **19** получено в виде темно-красного порошка с выходом 15% (4 мг, 0,01 ммоль). Т.пл. 186 – 189 °С; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>CN, δ м.д., *J* Гц): 3.40 – 3.71 (м, 24H, H-α, H-β, H-γ, H-δ, H-ε H-ζ), 4.06 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.68 (д, 2H, H-9', H-11', *J* = 8.9), 6.75 (д, 2H, H-9, H-11, *J* = 9.0), 6.82 (д, 1H, H-a, *J*<sub>trans</sub> = 16.4), 6.94 (д, 1H, H-a', *J*<sub>trans</sub> = 16.1), 7.28 (д, 1H, H-b, *J*<sub>trans</sub> = 16.4), 7.32 – 7.40 (м, 4H, H-3, H-5, H-8', H-12'), 7.48 (д, 2H, H-8, H-12, *J* = 9.0 Hz), 7.65 (д, 1H, H-b', *J*<sub>trans</sub> = 16.1), 7.76 (д, 2H, H-3', H-5', *J* = 6.8), 8.23 (д, 2H, H-2', H-6', *J* = 6.8), 8.45 (д, 2H, H-2, H-6, *J* = 5.7). Найдено (%) для C<sub>39</sub>H<sub>47</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>Cl: C, 63.64; H, 6.50; N, 7.57; вычислено (%): C, 63.71; H, 6.44; N, 7.62. Масс-спектр (ИЭР) раствора **19** в MeCN, *m/z*: 318.71, [**19**+H<sup>+</sup>]<sup>2+</sup>; для C<sub>39</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub><sup>2+</sup> вычислено, *m/z*: 318.19.

## 4.2. Спектрофотометрическое определение констант устойчивости комплексов

С целью определения констант устойчивости комплексов краситель – перхлорат аммония был использован метод прямого спектрофотометрического титрования при  $20 \pm 1$  °С [183-184]. По общей методике в кварцевой кювете ( $l = 10$  мм) готовили раствор красителя в соответствующем растворителе с концентрацией  $\sim 10^{-5}$  М путем разбавления исходного ацетонитрильного раствора лиганда ( $C \sim 10^{-3}$  М) и записывали спектр поглощения. Затем к раствору красителя порциями с известной концентрацией добавляли раствор титранта ( $\text{NH}_4\text{ClO}_4$ ). После каждой добавки записывали спектр поглощения. Титрование считалось оконченным, если спектр поглощения анализируемого вещества переставал меняться при добавлении очередной порции титранта.

В присутствии титранта в растворе устанавливается равновесие, характеризуемое константой, и поглощение раствора определяется равновесными концентрациями участвующих в комплексообразовании частиц. В расчетах учитывалась возможность образования комплексов по следующей схеме (L – лиганд):



Обработку результатов спектрофотометрического титрования и расчет констант устойчивости комплексов проводили, используя численные методы, в результате которых итерационными приближениями удается получить необходимые параметры с заданной точностью. Такими возможностями обладает пакет программ SPECFIT/32® (Spectrum Software Associates, PMB 361, 197M Boston Post Road, West Marlborough, MA 01752, U.S.A.), с помощью которого были получены значения суммарных констант устойчивости и их электронные спектры поглощения (зависимость  $\epsilon$  от  $\lambda$ ).

### 4.3. Исследование взаимодействия лигандов с ДНК

Исследования проводили с двумя типами ДНК – лососевых рыб и тимуса теленка.

Препарат ДНК лососевых рыб (Sigma, Lot #SLBF9870V) был использован без дополнительной очистки. ДНК диализовали против  $10 \cdot 10^{-3}$  М имидазольного буфера с рН 7.0. Концентрацию раствора после диализа определяли по экстинкции ДНК при 260 нм и нормировали на моль пар оснований (650 Да).

ДНК тимуса теленка (Sigma, St. Luois, MO, USA) I типа, полимеризованная натриевая соль, была использована без дополнительной очистки. Для приготовления буферных растворов и спектральных измерений применялась очищенная вода с удельным сопротивлением  $\geq 18$  М $\Omega$  см $^{-1}$ . ЭДТА-бифосфатный буфер ( $6.0 \cdot 10^{-3}$  М Na $_2$ HPO $_4$ ,  $2.0 \cdot 10^{-3}$  М NaH $_2$ PO $_4$ ,  $1.0 \cdot 10^{-3}$  М Na $_2$ EDTA; общая концентрация ионов Na $^+$   $16.0 \cdot 10^{-3}$  М; рН 7.0) использовался для титрования ДНК. Фосфатный буфер ( $5.8 \cdot 10^{-3}$  М Na $_2$ HPO $_4$ ,  $4.2 \cdot 10^{-3}$  М NaH $_2$ PO $_4$ ; общая концентрация ионов Na $^+$   $15.8 \cdot 10^{-3}$  М; рН 7.0) использовался для изучения тройного комплекса ДНК-краситель-кукурбит[7]урил.

ДНК тимуса теленка растворяли в буферном растворе до получения концентрации 1-2 мг·л $^{-1}$  и оставляли при 4 °С на ночь. Затем раствор фильтровали через PVDF мембранный фильтр (размер пор 0.45 мкм) для удаления нерастворившегося остатка. Точные концентрации растворов ДНК были определены также путем измерения поглощения раствора ДНК в буфере, полученного при разбавлении исходного раствора ДНК (1:20), учитывая, что  $\epsilon_{260} = 12824$  см $^{-1}$  М $^{-1}$  пар оснований [185-188].

#### 4.3.1. Исследования взаимодействий ДНК-лиганд методами оптической спектроскопии

Спектрофотометрические измерения проводились в термостатируемых кварцевых кюветах ( $l = 10$  мм) при  $20 \pm 1$  °С. Растворы для анализа готовились непосредственно перед измерениями из стоковых растворов лигандов в ацетонитриле. Во избежание нежелательных эффектов от присутствия органического растворителя аликвоты стоковых растворов лигандов переносили в темные баночки и упаривали. Остаток растворяли в буфере. Чтобы избежать разбавления в процессе титрования, раствор ДНК (титрант) содержал лиганд в той

же самой концентрации, что и анализируемый раствор. Аликвоты анализируемого раствора помещались в кварцевые кюветы, титрование проводилось с шагом 0.5-2 эквивалента. Время выдерживания образца после каждой добавки, необходимое для установления равновесия, определялось экспериментально по отсутствию временных изменений в спектре поглощения. Титрование завершали, если в спектрах не наблюдалось изменений после добавления как минимум трех аликвот титранта по 2 эквивалента каждая. Для проверки воспроизводимости все спектрофотометрические титрования повторялись три раза.

Флуориметрическое титрование проводилось согласно методике, описанной выше для спектрофотометрического титрования. Длина волны возбуждения соответствовала максимуму поглощения соответствующего красителя.

Приготовление растворов и все эксперименты с фоточувствительными соединениями проводились в темной комнате при красном свете.

#### 4.4. Изучение комплексообразования с помощью спектроскопии ЯМР

Методом спектроскопии ЯМР было изучено комплексообразование бисстириловых красителей **10** и **11** с моностириловыми производными **2**, **4** и **6**, содержащими алкиламмонийный остаток. В качестве растворителя использовался ацетонитрил- $d_3$ , а также его смесь с хлористым метиленом- $d_2$  в соотношении 1:2. Ниже представлены  $^1\text{H}$  ЯМР-спектры свободных лигандов и их комплексов.

**Соединение 10.**  $C_{10} = 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.95-3.80 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ); 4.24-4.13 (м, 8H, H- $\alpha$ , H- $\delta$ ), 6.95 (д, 2H, H-9, H-9',  $J = 8.3$ ), 7.06 (д, 2H, H-a, H-a',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.13 (д, 2H, H-8, H-8',  $J = 8.4$ ), 7.23 (уш. с, 2H, H-12, H-12'), 7.38 (д, 2H, H-b, H-b',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.43 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5',  $J = 6.1$ ), 8.51 (д, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6',  $J = 6.1$ ).

**Соединение 11.**  $C_{11} = 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.97-3.89 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ); 4.17 (с, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 4.25-4.18 (м, 8H, H- $\alpha$ , H- $\delta$ ), 7.02 (д, 2H, H-9, H-9',  $J = 8.4$ ), 7.24 (д, 2H, H-a, H-a',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.26 (д, 2H, H-8, H-8',  $J = 8.4$ ), 7.31 (уш. с., 2H, H-12, H-12'), 7.74 (д, 2H, H-b, H-b',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.92 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5',  $J = 6.8$ ), 8.39 (д, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6',  $J = 6.8$ ).

**Соединение 2.**  $C_2 = 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.05 (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 3.44 (т, 2H, H-3'  $J = 5.8$ ), 4.62 (т, 2H, H-2',  $J = 6.1$ ), 6.79 (д, 2H, H-9, H-11,

$J = 9.0$ ), 7.07 (д, 1Н, Н-а,  $J_{trans} = 16.0$ ), 7.60 (д, 2Н, Н-8, Н-12,  $J = 9.0$ ), 7.81 (д, 1Н, Н-б,  $J_{trans} = 16.0$ ), 7.88 (д, 2Н, Н-3, Н-5,  $J = 6.9$ ), 8.39 (д, 2Н, Н-2, Н-6,  $J = 6.9$ ).

**ЯМР комплекса (10)·(2).**  $C_{10} = 3 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_2 = 7.5 \cdot 10^{-4}$  М. В описании спектра сигналы соединения **2** обозначены звездочкой.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.04\* (с, 6Н,  $2\text{CH}_3$ ), 3.36\* (т, 2Н, Н-3'  $J = 5.9$ ), 4.00-3.86 (м, 8Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ ); 4.26-4.10 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\delta$ ), 4.60\* (т, 2Н, Н-2',  $J = 5.9$ ), 6.76\* (д, 2Н, Н-9, Н-11,  $J = 9.0$ ), 6.98 (дд, 2Н, Н-9, Н-9',  $J = 8.3$ ,  $J = 1.8$ ), 7.03\* (д, 1Н, Н-а,  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.09 (д, 2Н, Н-а, Н-а',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.17 (д, 2Н, Н-8, Н-8',  $J = 8.3$ ), 7.25 (уш. с, 2Н, Н-12, Н-12'), 7.43 (д, 2Н, Н-б, Н-б',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.52 (д, 4Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5',  $J = 6.1$ ), 7.57\* (д, 2Н, Н-8, Н-12,  $J = 9.0$ ), 7.76\* (д, 2Н, Н-б, Н-б',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.84\* (д, 2Н, Н-3, Н-5,  $J = 6.9$ ), 8.44\* (д, 2Н, Н-2, Н-6,  $J = 6.9$ ), 8.51 (д, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6',  $J = 6.1$ ).

**ЯМР комплекса (11)·(2).**  $C_{11} = 3 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_2 = 1.9 \cdot 10^{-3}$  М. В описании спектра сигналы соединения **2** обозначены звездочкой.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.05\* (с, 6Н,  $2\text{CH}_3$ ), 3.53\* (т, 2Н, Н-3'  $J = 6.2$ ), 4.02-3.95 (м, 8Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ ); 4.18 (с, 6Н,  $\text{CH}_3$ ), 4.28-4.20 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\delta$ ), 4.71\* (т, 2Н, Н-2',  $J = 6.2$ ), 6.79\* (д, 2Н, Н-9, Н-11,  $J = 8.9$ ), 7.05 (д, 2Н, Н-9, Н-9',  $J = 8.5$ ), 7.07\* (д, 1Н, Н-а,  $J_{trans} = 15.9$ ), 7.27 (д, 2Н, Н-а, Н-а',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.29 (дд, 2Н, Н-8, Н-8',  $J = 8.8$ ,  $J = 1.6$ ), 7.34 (уш. с, 2Н, Н-12, Н-12'), 7.60\* (д, 2Н, Н-8, Н-12,  $J = 8.9$ ), 7.74 (д, 2Н, Н-б, Н-б',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.81\* (д, 2Н, Н-б, Н-б',  $J_{trans} = 15.9$ ), 7.89\* (д, 2Н, Н-3, Н-5,  $J = 6.9$ ), 7.94 (д, 4Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5',  $J = 6.7$ ), 8.41 (д, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6',  $J = 6.7$ ), 8.43\* (д, 2Н, Н-2, Н-6,  $J = 6.9$ ).

**Соединение 10.**  $C_{10} = 5 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.97-3.85 (м, 8Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ ); 4.25-4.10 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\delta$ ), 6.91-6.85 (м, 2Н, Н-9, Н-9'), 6.95 (д, 2Н, Н-а, Н-а',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.15-7.06 (м, 4Н, Н-8, Н-8', Н-12, Н-12'), 7.29 (д, 2Н, Н-б, Н-б',  $J_{trans} = 16.3$ ), 7.37 (уш. с, 4Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5'), 8.49 (уш. с, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6').

**Соединение 11.**  $C_{11} = 5 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.00-3.80 (м, 8Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ ); 4.19 (с, 6Н,  $\text{CH}_3$ ), 4.25-4.10 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\delta$ ), 6.95 (д, 2Н, Н-9, Н-9',  $J = 7.9$ ), 7.27-7.11 (м, 6Н, Н-а, Н-а', Н-8, Н-8', Н-12, Н-12'), 7.69 (д, 2Н, Н-б, Н-б',  $J_{trans} = 16.5$ ), 7.90 (уш. с, 4Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5'), 8.36 (д, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6',  $J = 6.6$ ).

**Соединение 4.**  $C_4 = 5 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.39-2.30 (м, 2H, H-3'), 3.06 (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 3.15-3.10 (м, 2H, H-4'), 4.46-4.40 (м, 2H, H-2'), 6.74 (д, 2H, H-9, H-11,  $J = 8.8$ ), 6.97 (д, 1H, H-a,  $J_{trans} = 15.9$ ), 7.56 (д, 2H, H-8, H-12,  $J = 8.8$ ), 7.72 (д, 1H, H-b,  $J_{trans} = 15.9$ ), 7.82 (д, 2H, H-3, H-5,  $J = 6.8$ ), 8.35 (д, 2H, H-2, H-6,  $J = 6.8$ ).

**Соединение 6.**  $C_6 = 5 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.39-2.28 (м, 2H, H-5'), 3.14 (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 3.38-3.29 (м, 2H, H-6'), 4.71-4.62 (м, 2H, H-4'), 6.79 (д, 2H, H-10, H-12,  $J = 8.9$ ), 6.93 (уш. с, 3H,  $\text{N}^+\text{H}_3$ ), 7.27 (д, 1H, H-a,  $J_{trans} = 15.0$ ), 7.63 (т, 1H, H-6,  $J = 7.7$ ), 7.75 (т, 1H, H-5,  $J = 7.7$ ), 7.83 (д, 2H, H-9, H-13,  $J = 8.9$ ), 7.95-7.87 (м, 2H, H-4, H-b), 7.99 (д, 1H, H-7,  $J = 8.0$ ).

**ЯМР комплекса (10)·(4).**  $C_{10} = 3 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_4 = 1.5 \cdot 10^{-3}$  М. В описании спектра сигналы соединения 4 обозначены звездочкой.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.18-2.12\* (м, 2H, H-3'), 3.04-2.96\* (м, 2H, H-4'), 3.06\* (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 4.05-3.88 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ); 4.37-4.13\* (м, 10H, H- $\alpha$ , H- $\delta$ , H-2'), 6.70\* (д, 2H, H-9, H-11,  $J = 8.9$ ), 6.86\* (д, 1H, H-a,  $J_{trans} = 16.4$ ), 6.95 (уш. с, 2H, H-9, H-9'), 6.99 (д, 2H, H-a, H-a',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.19-7.10 (м, 4H, H-8, H-8', H-12, H-12'), 7.29 (д, 2H, H-b, H-b',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.37 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5',  $J = 5.8$ ), 7.47\* (д, 2H, H-8, H-12,  $J = 8.9$ ), 7.62\* (д, 2H, H-b, H-b',  $J_{trans} = 15.8$ ), 7.70\* (д, 2H, H-3, H-5,  $J = 7.0$ ), 8.21\* (уш. с, 2H, H-2, H-6), 8.49 (уш. с, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6').

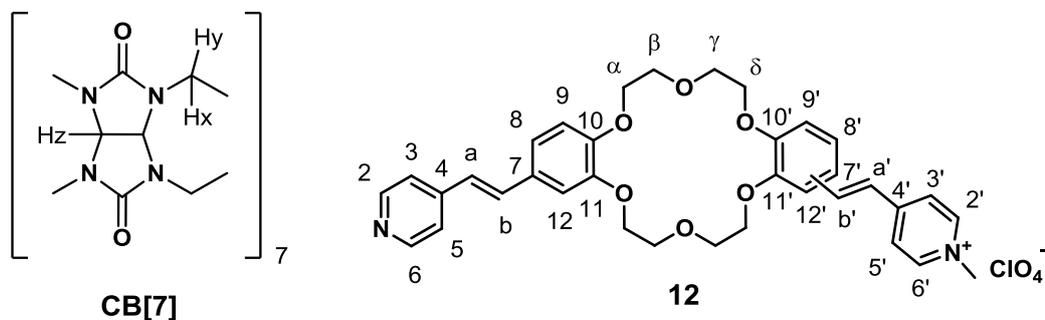
**ЯМР комплекса (11)·(4).**  $C_{11} = 3 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_4 = 3 \cdot 10^{-3}$  М. В описании спектра сигналы соединения 4 обозначены звездочкой.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.18-2.10\* (м, 2H, H-3'), 3.04-2.97\* (м, 2H, H-4'), 3.06\* (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 4.05-3.89 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ); 4.16 (с, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 4.38-4.20\* (м, 10H, H- $\alpha$ , H- $\delta$ , H-2'), 6.73\* (д, 2H, H-9, H-11,  $J = 8.9$ ), 6.91\* (д, 1H, H-a,  $J_{trans} = 16.0$ ), 7.01 (д, 2H, H-9, H-9',  $J = 7.9$ ), 7.20 (д, 2H, H-a, H-a',  $J_{trans} = 16.2$ ), 7.31-7.25 (м, 4H, H-8, H-8', H-12, H-12'), 7.50\* (д, 2H, H-8, H-12,  $J = 8.8$ ), 7.63\* (д, 2H, H-b, H-b',  $J_{trans} = 16.0$ ), 7.69 (д, 2H, H-b, H-b',  $J_{trans} = 16.2$ ), 7.76\* (д, 2H, H-3, H-5,  $J = 6.7$ ), 7.92 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5',  $J = 5.9$ ), 8.27\* (д, 2H, H-2, H-6,  $J = 6.7$ ), 8.33 (уш. с, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6').

**ЯМР комплекса (10)·(6).**  $C_{10} = 3 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_6 = 6 \cdot 10^{-4}$  М. В описании спектра сигналы соединения 6 обозначены звездочкой.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.31-2.24\* (м, 2H, H-5'), 3.11-3.07\* (м, 2H, H-6'), 3.11\* (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 4.01-3.80 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ); 4.30-4.09 (м, 8H, H- $\alpha$ , H- $\delta$ ), 4.54-4.43\* (м, 2H, H-

4'), 6.73\* (д, 2Н, Н-10, Н-12,  $J = 8.7$ ), 6.88 (д, 2Н, Н-9, Н-9',  $J = 8.3$ ), 6.96 (д, 2Н, Н-а, Н-а',  $J_{trans} = 16.3$ ), 7.04\* (д, 1Н, Н-а,  $J_{trans} = 15.1$ ), 7.09 (д, 2Н, Н-8, Н-8',  $J = 8.3$ ), 7.13 (уш. с, 2Н, Н-12, Н-12'), 7.28 (д, 2Н, Н-б, Н-б',  $J_{trans} = 16.3$ ), 7.39 (д, 4Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5',  $J = 5.8$ ), 7.61-7.49\* (м, 4Н, Н-6, Н-5), 7.65\* (уш. с, 2Н, Н-9, Н-13), 7.76-7.67\* (м, 2Н, Н-4, Н-б), 7.89\* (д, 1Н, Н-7,  $J = 8.0$ ), 8.51 (д, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6',  $J = 5.9$ ).

**ЯМР комплекса (11)·(6).**  $C_{11} = 3 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_6 = 3 \cdot 10^{-3}$  М. В описании спектра сигналы соединения **6** обозначены звездочкой.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2:\text{CD}_3\text{CN}$  (2:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 2.20-2.06\* (м, 2Н, Н-5'), 3.13\* (с, 6Н,  $2\text{CH}_3$ ), 3.27-3.18\* (м, 2Н, Н-6'), 4.00-3.78 (м, 8Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ ); 4.21 (с, 6Н,  $\text{CH}_3$ ), 4.30-4.09 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\delta$ ), 4.68-4.59\* (м, 2Н, Н-4'), 6.76\* (д, 2Н, Н-10, Н-12,  $J = 8.7$ ), 6.94 (уш. с, 2Н, Н-9, Н-9'), 7.28-7.01 (м, 6Н, Н-а, Н-а', Н-8, Н-8', Н-12, Н-12'), 7.22\* (д, 1Н, Н-а,  $J_{trans} = 15.0$ ), 7.63-7.59\* (м, 1Н, Н-6), 7.74-7.67\* (м, 4Н, Н-б, Н-б', Н-5), 7.80\* (д, 2Н, Н-9, Н-13,  $J = 8.7$ ), 7.91-7.84\* (м, 2Н, Н-4, Н-б), 7.98-7.92\* (м, 5Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5', Н-7), 8.39 (д, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6',  $J = 6.2$ ).

Методом спектроскопии ЯМР было изучено комплексообразование бисстириловых красителей **12** и **16** с СВ[7]. При соотнесении сигналов спектров ЯМР была использована нумерация атомов, представленная на рисунках ниже.



**СВ[7].**  $C_{\text{СВ[7]}} = 1 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$  (3:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.32 (д, 14Н, Н(y),  $J = 15.3$ ), 5.59 (с, 14Н, Н(z)), 5.99 (д, 14Н, Н(x),  $J = 15.3$ ).

**Соединение 12.**  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$  (3:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.17-4.01 (м, 8Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ ); 4.35 (с, 3Н,  $\text{CH}_3$ ), 4.43-4.30 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\delta$ ), 7.24-7.13 (м, 3Н, Н-9, Н-9', Н-а), 7.49-7.29 (м, 5Н, Н-8, Н-12, Н-а', Н-8', Н-12'), 7.56 (д, 1Н, Н-б,  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.67 (д, 2Н, Н-3, Н-5,  $J = 5.5$ ), 7.86 (д, 1Н, Н-б',  $J_{trans} = 16.0$ ), 8.08 (д, 2Н, Н-3', Н-5',  $J = 6.6$ ), 8.64-8.56 (м, 4Н, Н-2', Н-6', Н-2, Н-6).

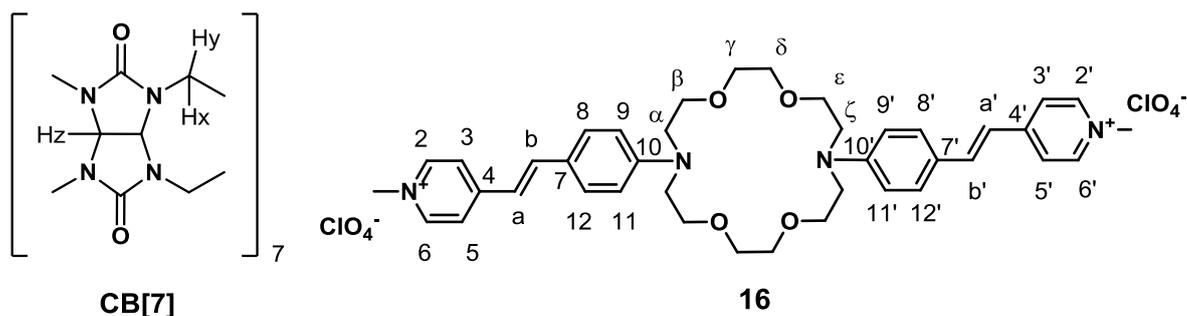
**ЯМР комплекса (12)·СВ[7].**  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{СВ[7]} = 1 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$  (3:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.18-4.06 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 4.44-4.26 (м, 25H, H( $\gamma$ ),  $\text{CH}_3$ , H- $\alpha$ , H- $\delta$ ), 5.59 (с, 14H, H(z)), 5.99 (д, 14H, H(x),  $J = 15.3$ ), 7.29-7.11 (м, 4H, H-9, H-9', H-a, H-a'), 7.45-7.35 (м, 2H, H-8, H-12), 7.56-7.46 (м, 2H, H-8', H-12'), 7.79 (д, 1H, H-b,  $J_{trans} = 15.9$ ), 7.77 (д, 1H, H-b',  $J_{trans} = 15.5$ ), 7.94-7.80 (м, 4H, H-3, H-5, H-3', H-5'), 8.45 (уш. с, 2H, H-2', H-6'), 8.60 (уш. с, 2H, H-2, H-6).

**ЯМР комплекса (12)·СВ[7].**  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{СВ[7]} = 2 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$  (3:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.19-4.06 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 4.42-4.24 (м, 25H, H( $\gamma$ ),  $\text{CH}_3$ , H- $\alpha$ , H- $\delta$ ), 5.59 (с, 14H, H(z)), 5.89 (д, 14H, H(x),  $J = 15.2$ ), 7.21-7.04 (м, 3H, H-a', H-9, H-9'), 7.27 (д, 1H, H-a,  $J_{trans} = 16.0$ ), 7.60-7.39 (м, 4H, H-8, H-12, H-8', H-12'), 7.86-7.64 (м, 4H, H-3', H-5', H-b, H-b'), 7.93 (уш. с, 2H, H-3, H-5), 8.33 (уш. с, 2H, H-2', H-6'), 8.58 (уш. с, 2H, H-2, H-6).

**ЯМР комплекса (12)·СВ[7].**  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{СВ[7]} = 3 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$  (3:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.19-4.06 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 4.42-4.22 (м, 25H, H( $\gamma$ ),  $\text{CH}_3$ , H- $\alpha$ , H- $\delta$ ), 5.58 (с, 14H, H(z)), 5.87 (д, 14H, H(x),  $J = 15.6$ ), 7.05 (д, 1H, H-a',  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.34-7.10 (м, 3H, H-9, H-9', H-a), 7.72-7.42 (м, 7H, H-8, H-12, H-8', H-12', H-3', H-5', H-b'), 7.81 (д, 1H, H-b,  $J_{trans} = 16.4$ ), 7.93 (уш. с, 2H, H-3, H-5), 8.24 (уш. с, 2H, H-2', H-6'), 8.54 (уш. с, 2H, H-2, H-6).

**ЯМР комплекса (12)·СВ[7].**  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{СВ[7]} = 5 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$  (3:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.19-4.06 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 4.42-4.22 (м, 25H, H( $\gamma$ ),  $\text{CH}_3$ , H- $\alpha$ , H- $\delta$ ), 5.58 (с, 14H, H(z)), 5.87 (д, 14H, H(x),  $J = 15.6$ ), 6.93 (уш. с, 1H, H-a'), 7.29-7.08 (м, 3H, H-9, H-9', H-a), 7.40 (уш. с, 2H, H-3', H-5'), 7.92-7.46 (м, 8H, H-8, H-12, H-8', H-12', H-b, H-b', H-3, H-5), 8.10 (уш. с, 2H, H-2', H-6'), 8.54 (уш. с, 2H, H-2, H-6).

**ЯМР комплекса (12)·СВ[7].**  $C_{12} = 2 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{СВ[7]} = 1 \cdot 10^{-2}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$  (3:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.20-4.05 (м, 8H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 4.42-4.22 (м, 25H, H( $\gamma$ ),  $\text{CH}_3$ , H- $\alpha$ , H- $\delta$ ), 5.56 (с, 14H, H(z)), 5.85 (д, 14H, H(x),  $J = 15.2$ ), 6.78 (уш. с, 1H, H-a'), 7.28-7.03 (м, 6H, H-9, H-9', H-a, H-3', H-5', H-b'), 7.83-7.40 (м, 7H, H-8, H-12, H-8', H-12', H-b, H-3, H-5), 7.92 (уш. с, 2H, H-2', H-6'), 8.30 (уш. с, 2H, H-2, H-6).



**CB[7].**  $C_{CB[7]} = 1 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 4.14 (д, 14Н, Н(y),  $J = 15.4$ ), 5.44 (с, 14Н, Н(z)), 5.69 (д, 14Н, Н(x),  $J = 15.4$ ).

**Соединение 16.**  $C_{16} = 1.8 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.50-3.44 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\zeta$ ), 3.73-3.67 (м, 16Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ , Н- $\delta$ , Н- $\epsilon$ ), 3.90 (с, 6Н, 2 $\text{CH}_3$ ), 6.70-6.61 (м, 6Н, Н-9, Н-9', Н-11, Н-11', Н-а, Н-а'), 7.36-7.29 (м, 6Н, Н-8, Н-8', Н-12, Н-12', Н-б, Н-б'), 7.64 (уш. с, 4Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5'), 8.19 (уш. с, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6').

**ЯМР комплекса (16)·CB[7].**  $C_{16} = 1.8 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{CB[7]} = 1.8 \cdot 10^{-3}$  М. Наблюдается уширение всех сигналов, невозможно охарактеризовать.

**ЯМР комплекса (16)·2CB[7].**  $C_{16} = 1.8 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{CB[7]} = 3.6 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.85-3.79 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\zeta$ ), 4.00-3.87 (м, 16Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ , Н- $\delta$ , Н- $\epsilon$ ), 4.23-4.08 (м, 20Н, Н(y), 2 $\text{CH}_3$ ), 5.44 (с, 14Н, Н(z)), 5.68 (д, 14Н, Н(x),  $J = 15.0$ ), 6.52 (уш. с, 2Н, Н-а, Н-а'), 7.12 (уш. с, 2Н, Н-б, Н-б'), 7.39-7.20 (м, 8Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5', Н-9, Н-9', Н-11, Н-11'), 7.61 (уш. с, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6'), 8.00 (уш. с, 4Н, Н-8, Н-8', Н-12, Н-12').

Методом спектроскопии ЯМР было изучено комплексообразование бисстирилового красителя **16** с додекамером Дикерсона 5'-d(CGCGAATTTCGCG)<sub>2</sub>. В качестве растворителя использовалась смесь натрий-фосфатного буфера с  $\text{D}_2\text{O}$  в соотношении 9:1. Ниже представлены  $^1\text{H}$  ЯМР-спектры свободного лиганда и в присутствии додекамера Дикерсона.

**Соединение 16.**  $C_{16} = 1 \cdot 10^{-3}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц, buffer: $\text{D}_2\text{O}$  (9:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.39-3.32 (м, 8Н, Н- $\alpha$ , Н- $\zeta$ ), 3.60-3.54 (м, 16Н, Н- $\beta$ , Н- $\gamma$ , Н- $\delta$ , Н- $\epsilon$ ), 3.75 (с, 6Н, 2 $\text{CH}_3$ ), 6.51 (д, 2Н, Н-а, Н-а',  $J_{trans} = 16.3$ ), 6.56 (д, 4Н, Н-9, Н-9', Н-11, Н-11',  $J = 8.9$ ), 7.22-7.14 (м, 6Н, Н-8, Н-8', Н-12, Н-12', Н-б, Н-б'), 7.52 (д, 4Н, Н-3, Н-3', Н-5, Н-5',  $J = 6.6$ ), 8.05 (д, 4Н, Н-2, Н-2', Н-6, Н-6',  $J = 6.6$ ).

**ЯМР комплекса (16)·додекамер Дикерсона (ДД).**  $C_{16} = 9.5 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{ДД} = 4.8 \cdot 10^{-5}$  М.  $^1\text{H}$  ЯМР (600 МГц, buffer: $\text{D}_2\text{O}$  (9:1),  $\delta$  м.д.,  $J$  Гц): 3.39-3.33 (м, 8Н, Н- $\alpha$ ,

H-ζ), 3.61-3.55 (м, 16H, H-β, H-γ, H-δ, H-ε), 3.78 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 6.54 (д, 2H, H-a, H-a',  $J_{trans} = 16.2$ ), 6.57 (д, 4H, H-9, H-9', H-11, H-11',  $J = 8.5$ ), 7.24-7.18 (м, 6H, H-8, H-8', H-12, H-12', H-b, H-b'), 7.53 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5',  $J = 6.6$ ), 8.08 (д, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6',  $J = 6.3$ ).

**ЯМР комплекса (16)·додекамер Дикерсона (ДД).**  $C_{16} = 9.1 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{ДД} = 9.1 \cdot 10^{-5}$  М. <sup>1</sup>H ЯМР (600 МГц, buffer:D<sub>2</sub>O (9:1), δ м.д., J Гц): 3.39-3.32 (м, 8H, H-α, H-ζ), 3.61-3.54 (м, 16H, H-β, H-γ, H-δ, H-ε), 3.82 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 6.59-6.51 (м, 6H, H-9, H-9', H-11, H-11', H-a, H-a'), 7.28-7.21 (м, 6H, H-8, H-8', H-12, H-12', H-b, H-b'), 7.56 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5',  $J = 6.5$ ), 8.11 (д, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6',  $J = 6.5$ ).

**ЯМР комплекса (16)·додекамер Дикерсона (ДД).**  $C_{16} = 9 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{ДД} = 1.1 \cdot 10^{-4}$  М. <sup>1</sup>H ЯМР (600 МГц, buffer:D<sub>2</sub>O (9:1), δ м.д., J Гц): 3.39-3.32 (м, 8H, H-α, H-ζ), 3.62-3.54 (м, 16H, H-β, H-γ, H-δ, H-ε), 3.84 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 6.60-6.51 (м, 6H, H-9, H-9', H-11, H-11', H-a, H-a'), 7.29-7.21 (м, 6H, H-8, H-8', H-12, H-12', H-b, H-b'), 7.56 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5',  $J = 6.4$ ), 8.13 (д, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6',  $J = 6.4$ ).

**ЯМР комплекса (16)·додекамер Дикерсона (ДД).**  $C_{16} = 8.8 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{ДД} = 1.2 \cdot 10^{-4}$  М. <sup>1</sup>H ЯМР (600 МГц, buffer:D<sub>2</sub>O (9:1), δ м.д., J Гц): 3.39-3.32 (м, 8H, H-α, H-ζ), 3.61-3.54 (м, 16H, H-β, H-γ, H-δ, H-ε), 3.85 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 6.61-6.52 (м, 6H, H-9, H-9', H-11, H-11', H-a, H-a'), 7.30-7.22 (м, 6H, H-8, H-8', H-12, H-12', H-b, H-b'), 7.57 (д, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5',  $J = 6.2$ ), 8.14 (д, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6',  $J = 6.2$ ).

**ЯМР комплекса (16)·додекамер Дикерсона (ДД).**  $C_{16} = 8.7 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{ДД} = 1.3 \cdot 10^{-4}$  М. <sup>1</sup>H ЯМР (600 МГц, buffer:D<sub>2</sub>O (9:1), δ м.д., J Гц): 3.39-3.32 (м, 8H, H-α, H-ζ), 3.61-3.54 (м, 16H, H-β, H-γ, H-δ, H-ε), 3.85 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 6.61-6.52 (м, 6H, H-9, H-9', H-11, H-11', H-a, H-a'), 7.31-7.21 (м, 6H, H-8, H-8', H-12, H-12', H-b, H-b'), 7.57 (уш. с, 4H, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.14 (уш. с, 4H, H-2, H-2', H-6, H-6').

**ЯМР комплекса (16)·додекамер Дикерсона (ДД).**  $C_{16} = 7.7 \cdot 10^{-4}$  М,  $C_{ДД} = 2.3 \cdot 10^{-4}$  М. Наблюдается уширение всех сигналов, невозможно охарактеризовать.

## 5. ВЫВОДЫ

1. Получен и охарактеризован ряд неизвестных ранее моно- и бисстириловых красителей пиридинового ряда, содержащих оксо- и азакраун-эфирные фрагменты.

2. Предложен супрамолекулярный комплекс моностирилового красителя и краун-содержащего несимметричного бисстирилового красителя, в котором наблюдается каскадный перенос энергии.

3. Для бисстирилового красителя, содержащего заряженный и незаряженный пиридиновые фрагменты, продемонстрирована способность к одновременному связыванию с молекулами циклодекстрина и кукурбитурила, а также образование агрегатов путем инкапсулирования заряженного и незаряженного фрагментов в полости кукурбитурила.

4. Показано, что синтезированные моно- и бисстириловые красители демонстрируют способность к связыванию с ДНК. В случае бисстириловых красителей процесс координации включает при больших избытках красителя его агрегацию в ДНК, а при равных концентрациях – укладывание лиганда в малую бороздку ДНК. Красители при связывании с ДНК демонстрируют разгорание флуоресценции, что свидетельствует о перспективности предложенных структур в качестве флуоресцентных маркеров для ДНК.

5. Установлено, что бисстириловый краситель, содержащий азакраун-эфирный фрагмент, способен к образованию тройных комплексов ДНК-краситель-кукурбитурил. В присутствии кукурбитурила не наблюдается агрегация красителя в бороздке ДНК.

## 6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang M. Q., Liu S., Tang C. P., Raza A., Li S., Gao L. X., Sun J., Guo S. P. Flexible amine-functionalized triphenylamine derivative as a fluorescent “light-up” probe for G-quadruplex DNA // *Dyes Pigm.* – 2017. – Vol. 136. – P. 78-84.
2. Lee J. S., Kim Y. K., Vendrell M., Chang, Y. T. Diversity-oriented fluorescence library approach for the discovery of sensors and probes // *Mol. BioSyst.* – 2009. – Vol. 5. – №. 5. – P. 411-421.
3. Mishra A., Behera R.K., Behera P.K., Mishra B.K., Behera G.B. Cyanines during the 1990s: a review // *Chem. Rev.* – 2000. – Vol. 100. – P. 1973-2011.
4. Deligeorgiev T., Vasilev A., Kaloyanova S., Vaquero J.J. Styryl dyes – synthesis and applications during the last 15 years // *Coloration Technology.* – 2010. – Vol. 126. – P. 55-80.
5. Seferoğlu Z. Recent synthetic methods for the preparation of charged and uncharged styryl-based NLO chromophores: a review // *Org. Prep. Proced. Int.* – 2017. – Vol. 49. – №. 4. – P. 293-337.
6. Xia W.-S., Schmehl R. H., Li C.-J. A highly selective fluorescent chemosensor for  $K^+$  from a bis-15-crown-5 derivative // *J. Am. Chem. Soc.* – 1999. – Vol. 121. – P. 5599-5600.
7. Tulyakova E.V., Fedorova O.A., Fedorov Yu.V., Jonusauskas G., Anisimov A.V. Effect of arrangement of the styryl fragment on the optical properties and complexation of mono- and bis(styryl)-substituted N-methylpyridinium perchlorates containing benzo-15-crown-5 ether moieties // *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* – 2007. – Vol. 56. – P. 2166-2174.
8. Tulyakova E.V., Fedorova O.A., Fedorov Yu.V., Jonusauskas G., Anisimov A.V. Spectroscopic study of mono- and bis(styryl) dyes of the pyridinium series containing azathiacrown ether residue // *J. Phys. Org. Chem.* – 2008. – Vol. 21. – P. 372-380.
9. Tulyakova E., Delbaere S., Fedorov Yu., Jonusauskas G., Moiseeva A., Fedorova O. Multimodal metal cation sensing with bis(macrocyclic) dye // *Chem. Eur. J.* – 2011. – Vol. 17. – P. 10752-10762.
10. Berdnikova D.V., Fedorov Yu.V., Fedorova O.A. Azadithiacrown ether based ditopic receptors capable of simultaneous multi-ionic recognition of  $Ag^+$  and  $Hg^{2+}$  // *Dyes Pigm.* – 2013. – Vol. 96. – P. 287-295.

11. Bourson J., Valeur B. Ion-responsive fluorescent compounds. Cation-steered intramolecular charge transfer in a crowned merocyanine // *J. Phys. Chem.* – 1989. – Vol. 93. – P. 3871-3876.
12. Cazaux L., Faher M., Lopez A., Picard C., Tisnes P. Styrylbenzodiazinones. 3. Chromo- and fluoroionophores derived from monoaza-15-crown-5. Photophysical and complexing properties // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 1994. – Vol. 77. – P. 217-225.
13. Cazaux L., Lopez A., Picard C., Tisnes P. Styrylbenzodiazinones. 1. Synthesis, structure and photophysical properties // *Can. J. Chem.* - 1993. – Vol. 71. – P. 2007-2015.
14. Cazaux L., Faher M., Picard C., Tisnès P. Styrylbenzodiazinones 2. Chromo-et fluoroionophores dérivés du monoaza-15-couronne-5. Synthèse et structure // *Can. J. Chem.* – 1993. – Vol. 71. – № 8. – P. 1236-1246.
15. Bricks Y.L., Slominskii J.L., Kudinova M.F., Tolmachev A.I., Rurack K., Resch-Genger U., Rettig W. Synthesis and photophysical properties of a series of cation-sensitive polymethine and styryl dyes // *Photochem. Photobiol. A.* – 2000. – Vol. 132. – P. 193-208.
16. Valeur B., Leray I. Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition // *Coord. Chem. Rev.* – 2000. – Vol. 205. – P. 3-40.
17. Fedorova O.A., Andryukhina E.N., Gromov S.P. Facile synthesis of novel 2-styrylbenzothiazoles containing crown ether moieties // *Synthesis.* – 2003. – Vol. 2003. – № 3. – P. 371-375.
18. Fedorova O.A., Andryukhina E.N., Mashura M.M., Gromov S.P. Facile synthesis of the novel styrene ligands containing 15-crown-5-ether moiety // *Arkivoc.* – 2005. – Vol. XV. – P. 12-24.
19. Strouse G.F., Schoonover J.R., Duesing R., Boyde S., Jons W.E.J., Meyer T.J. Influence of electronic delocalization in metal-to-ligand charge transfer excited states // *Inorg. Chem.* – 1995. – Vol. 34. – № 2. – P. 473-487.
20. Kocian O., Mortimer R.J., Beer P.D. Synthesis of unsymmetrical 4,4'-disubstituted 2,2'-bipyridines containing benzo crown ether and ferrocene moieties // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* – 1990. – № 11. – P. 3203-3205.
21. Mishra A., Behara K., Behara P.K., Mishra B.K., Behara G.B. Cyanines during the 1990s: A Review // *Chem. Rev.* - 2000. – Vol. 100. – P. 1973-2011.

22. Thomas K.J., Thomas K.G., Kumar T.K.M., Das S., George M.V. Cation binding and photophysical properties of a monoaza-15-crown-5 ether linked cyanine dyes // Proc. Ind. Acad. Sci.(Chem. Sci.). – 1994. – Vol. 106. – P. 1375-1382.
23. Matveeva N., Deligeorgiev T., Mitewa M., Simova S. Styryl dyes containing an aza-15-crown-5 macroheterocycle moiety // Dyes Pigm. – 1992. – Vol. 20. – P. 271-278.
24. Gromov S., Fedorova O., Alfimov M. Photochromic Ionophores: Synthesis, Photoinduced Isomerization and Cycloaddition of Crown Ether Styryl Dyes // Mol. Cryst. Liq. Cryst. – 1994. – Vol. 246. – №. 1. – P. 183-186.
25. Gromov S.P., Vedernikov A.I., Lobova N.A., Kuz'mina L.G., Dmitrieva S.N., Strelenko Y.A., Howard J.A. Synthesis, structure, and properties of supramolecular photoswitches based on ammonioalkyl derivatives of crown ether styryl dyes // J. Org. Chem. – 2014. – Vol. 79. – №. 23. – P. 11416-11430.
26. Gromov S.P., Ushakov E.N., Fedorova O.A., Buevich A.V., Alfimov M.V. Crown ether styryl dyes // Russ. Chem. Bull. – 1996. – Vol. 45. – №. 3. – P. 654-661.
27. Gromov S.P., Fedorova O.A., Vedernikov A.I., Fedorov Y.V., Alfimov, M.V. Crown ether styryl dyes // Russ. Chem. Bull. – 1997. – Vol. 46. – №. 5. – P. 967-974.
28. Gromov S.P., Golosov A.A., Fedorova O.A., Levin D.E, Alfimov M.V. Crown-containing styryl dyes. XIII: the nature of the heterocyclic moiety, complexation, and electronic absorption and fluorescence spectra of *trans*-and *cis*-isomers of photochromic 15-crown-5-ethers // Russ. Chem. Bull. – 1995. – Vol. 44. – P. 124-130.
29. Fedorova O.A., Fedorov Y.V., Vedernikov A.I., Gromov S.P., Yescheulova O.V., Alfimov M.V., Woerner M., Bossmann S., Braun A., Saltiel J. Thiacycrocrown ether substituted styryl dyes: synthesis, complex formation and multiphotochromic properties // J. Phys. Chem. A. – 2002. – Vol. 106. – №. 25. – P. 6213-6222.
30. Sui Z., Hanan N.J., Phimphivong S., Wysocki Jr R.J., Saavedra S.S. Synthesis, characterization and sol-gel entrapment of a crown ether- styryl fluoroionophore // Luminescence. – 2009. – Vol. 24. – №. 4. – P. 236-242.
31. Ushakov E.N., Vedernikov A.I., Lobova N.A., Dmitrieva S.N., Kuz'mina L.G., Moiseeva A.A., Howard J.A.K., Alfimov M.V., Gromov, S.P. Supramolecular Dimerization and [2+ 2] Photocycloaddition Reactions of Crown Ether Styryl Dyes Containing a Tethered Ammonium Group: Structure-Property Relationships // J. Phys. Chem. A. – 2015. – Vol. 119. – №. 52. – P. 13025-13037.

32. Gromov S.P., Fedorova O.A., Ushakov E.N., Buevich A.V., Baskin I.I., Pershina Y.V., Eliasson B., Edlund U., Alfimov M.V. Photoswitchable molecular pincers: synthesis, self-assembly into sandwich complexes and ion-selective intramolecular [2+2]-photocycloaddition of an unsaturated bis-15-crown-5 ether // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* – 1999. – P. 1323-1329.
33. Gromov S.P., Ushakov E.N., Fedorova O.A., Baskin I.I., Buevich A.V., Andryukhina E.N., Alfimov M.V., Johnels D., Edlund U.G., Whitesell J.K., Fox M.A. Novel photoswitchable receptors: synthesis and cation-induced self-assembly into dimeric complexes leading to stereospecific [2+ 2]-photocycloaddition of styryl dyes containing a 15-crown-5 ether unit // *J. Org. Chem.* – 2003. – Vol. 68. – №. 16. – P. 6115-6125.
34. Vedernikov A.I., Gromov S.P., Lobova N.A., Kuz'mina L.G., Strelenko Yu.A., Howard J.A.K., Alfimov M.V. Stereospecific solid-state [2+2] autophotocycloaddition of a styryl dye containing a 18-crown-6 fragment // *Russ. Chem. Bull.* – 2005. – Vol. 54. – №. 8. – P. 1954-1966.
35. Vedernikov A.I., Lobova N.A., Ushakov E.N., Alfimov M.V., Gromov S.P. Diammonium cation-induced self-assembly into a pseudocyclic complex leading to the stereospecific [2+2]-photocycloaddition of a crown-containing bis(styryl) dye // *Mendeleev Commun.* – 2005. – Vol. 15. – №. 5. – P. 173-175.
36. Vedernikov A.I., Ushakov E.N., Lobova N.A., Kiselev A.A., Alfimov M.V., Gromov S.P. Photosensitive molecular tweezers 3. Synthesis and homoditopic complex formation of a bisstyryl dye containing two crown-ether fragments with diammonium salts // *Russ. Chem. Bull.* – 2005. – Vol. 54. – №. 3. – P. 666-672.
37. Berdnikova D.V., Fedorov Yu.V., Fedorova O.A. Supramolecular tuning of energy transfer efficiency and direction in a bis (styryl) dye–crown ether conjugate // *Dyes Pigm.* – 2018. – Vol. 151. – P. 227-232.
38. Fedorov Y.V., Fedorova O.A., Andryukhina E.N., Shepel N.E., Mashura M.M., Gromov S.P., Kuzmina L.G., Churakov A.V., Howard J.A.K., Marmois E., Oberle' J., Jonusauskas G., Alfimov M.V. Supramolecular assemblies of crown- containing 4-styrylpyridine in the presence of metal cations // *J. Phys. Org. Chem.* – 2005. – Vol. 18. – №. 10. – P. 1032-1041.
39. Gromov S.P., Dmitrieva S.N., Vedernikov A.I., Kurchavov N.A., Kuz'mina L.G., Sazonov S.K., Strelenko Yu.A., Alfimov M.V., Howard J.A.K., Ushakov E.N. Synthesis,

- structure, and characterization of chromo (fluoro) ionophores with cation-triggered emission based on N-methylaza-crown-ether styryl dyes // *J. Org. Chem.* – 2013. – Vol. 78. – №. 19. – P. 9834-9847.
40. Shao S., Gobeze H.B., Karr P.A., D'Souza F. “Two-Point” Self-Assembly and Photoinduced Electron Transfer in meso-Donor-Carrying Bis (styryl crown ether)-BODIPY–Bis (alkylammonium) fullerene Donor–Acceptor Conjugates // *Chem. Asian J.* – 2017. – Vol. 12. – №. 17. – P. 2258-2270.
41. Stone J., Mack J., Nyokong T., Kimura M., Kobayashi N. Photophysical properties of a novel styryl-BODIPY with a fused crown ether moiety // *J. Porphyr. Phthalocyanines.* – 2018. – Vol. 22. – P. 1-9.
42. May A.K., Stone J., Ngoy B. P., Mack J., Nyokong T., Kimura M., Kobayashi N. Photophysical and optical limiting properties of a novel distyryl-BODIPY with fused crown ether moieties // *J. Porphyr. Phthalocyanines.* – 2017. – Vol. 21. – №. 12. – P. 832-843.
43. Förster T. Zwischenmolekulare energiewanderung und fluoreszenz // *Ann. Phys.* – 1948. – Vol. 437. – №. 1-2. – P. 55-75.
44. Stryer L., Haugland R.P. Energy transfer: a spectroscopic ruler // *Proc. Natl. Acad.* – 1967. – Vol. 58. – №. 2. – P. 719.
45. Sapsford K.E., Berti L., Medintz I.L. Materials for fluorescence resonance energy transfer analysis: beyond traditional donor–acceptor combinations // *Ang. Chem. Int. Ed.* – 2006. – Vol. 45. – №. 28. – P. 4562-4589.
46. Kobayashi H., Ogawa M., Alford R., Choyke P.L., Urano Y. New strategies for fluorescent probe design in medical diagnostic imaging // *Chem. rev.* – 2009. – Vol. 110. – №. 5. – P. 2620-2640.
47. Balzani V., Credi A., Venturi M. Photochemical conversion of solar energy // *ChemSusChem.* – 2008. – Vol. 1. – №. 1-2. – P. 26-58.
48. Barber J. Photosynthetic energy conversion: natural and artificial // *Chem. Soc. Rev.* – 2009. – Vol. 38. – №. 1. – P. 185-196.
49. Hedley G.J., Ruseckas A., Samuel I.D.W. Light harvesting for organic photovoltaics // *Chem. rev.* – 2016. – Vol. 117. – №. 2. – P. 796-837.
50. Hildebrandt N., Spillmann C.M., Algar W.R., Pons T., Stewart M.H., Oh E., Susumu K., Díaz S.A., Delehanty J.B., Medintz I.L. Energy transfer with semiconductor quantum

- dot bioconjugates: a versatile platform for biosensing, energy harvesting, and other developing applications // *Chem. rev.* – 2016. – Vol. 117. – №. 2. – P. 536-711.
51. Rowland C.E., Delehanty J.B., Dwyer C.L., Medintz I.L. Growing applications for bioassembled Förster resonance energy transfer cascades // *Mater. Today.* – 2017. – Vol. 20. – №. 3. – P. 131-141.
52. Forster T. 10th Spiers Memorial Lecture. Transfer mechanisms of electronic excitation // *Diss. Faraday Soc.* – 1959. – Vol. 27. – P. 7-17.
53. Clegg R. M. Förster resonance energy transfer—FRET what is it, why do it, and how it's done // *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology.* – 2009. – Vol. 33. – P. 1-57.
54. Yin J., Hu Y., Yoon J. Fluorescent probes and bioimaging: alkali metals, alkaline earth metals and pH // *Chem. Soc. Rev.* – 2015. – Vol. 44. – №. 14. – P. 4619-4644.
55. Guo S., Ma L., Zhao J., Küçüköz B., Karatay A., Hayvali M., Yaglioglu H.G., Elmali A. BODIPY triads triplet photosensitizers enhanced with intramolecular resonance energy transfer (RET): broadband visible light absorption and application in photooxidation // *Chem. Sci.* – 2014. – Vol. 5. – №. 2. – P. 489-500.
56. Loudet A.; Burgess K. BODIPY Dyes and Their Derivatives: Syntheses and Spectroscopic Properties // *Chem. Rev.* – 2007 – Vol. 107. – P. 4891-4932.
57. Lu H., Mack J., Yang Y., Shen Z. Structural modification strategies for the rational design of red/NIR region BODIPYs // *Chem. Soc. Rev.* – 2014. – Vol. 43. – №. 13. – P. 4778-4823.
58. Dost Z., Atilgan S., Akkaya E.U. Distyryl-boradiazaindacenes: facile synthesis of novel near IR emitting fluorophores // *Tetrahedron.* – 2006. – Vol. 62. – №. 36. – P. 8484-8488.
59. Deniz E., Isbasar C., Bozdemir Ö.A., Yildirim L.T., Siemiarczuk A., Akkaya E. Bidirectional switching of near IR emitting boradiazaindacene fluorophores // *Org. Lett.* – 2008. – Vol. 10. – №. 16. – P. 3401-3403.
60. Uppal T., Bhupathiraju N.V.S.D.K., Vicente M.G.H. Synthesis and cellular properties of Near-IR BODIPY-PEG and carbohydrate conjugates // *Tetrahedron.* – 2013. – Vol. 69. – №. 23. – P. 4687-4693.
61. Xiong H., Kos P., Yan Y., Zhou K., Miller J. B., Elkassih S., Siegwart D.J. Activatable water-soluble probes enhance tumor imaging by responding to dysregulated

- pH and exhibiting high tumor-to-liver fluorescence emission contrast // *Bioconjugate chemistry*. – 2016. – Vol. 27. – №. 7. – P. 1737-1744.
62. Ke M.-R., Yeung S.-L., Ng D.K.P., Fong W.-P., Lo P.-C. Preparation and in vitro photodynamic activities of folate-conjugated distyryl boron dipyrromethene based photosensitizers // *J. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 56. – №. 21. – P. 8475-8483.
63. Zhang, Q.; Cai, Y.; Wang, X.- J.; Xu, J.-L.; Ye, Z.; Wang, S.; Seeberger, P. H.; Yin, J. Targeted photodynamic killing of breast cancer cells employing heptamannosylated  $\beta$ -cyclodextrin-mediated nanoparticle formation of an adamantane-functionalized BODIPY photosensitizer // *J. ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2016. – Vol. 8. – №. 49. – P. 33405-33411.
64. Bura T., Retailleau P., Ziessel R. Efficient Synthesis of Panchromatic Dyes for Energy Concentration // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2010. – Vol. 49 – P. 6659-6663.
65. Guliyev R., Coskun A., Akkaya E.U. Design strategies for ratiometric chemosensors: modulation of excitation energy transfer at the energy donor site // *J. Am. Chem. Soc.* – 2009. – Vol. 131. – №. 25. – P. 9007-9013.
66. Diring S., Puntoriero F., Nastasi F., Campagna S., Ziessel R. Star-shaped multichromophoric arrays from bodipy dyes grafted on truxene core // *J. Am. Chem. Soc.* – 2009. – Vol. 131. – P. 6108-6110.
67. Meares A., Satraitis A., Ptaszek M. BODIPY–bacteriochlorin energy transfer arrays: toward near-IR emitters with broadly tunable, multiple absorption bands // *J. Org. Chem.* – 2017. – Vol. 82. – №. 24. – P. 13068-13075.
68. Shao J., Sun H., Guo H., Ji S., Zhao J., Wu W., Yuan X., Zhang C., James T.D. A highly selective red-emitting FRET fluorescent molecular probe derived from BODIPY for the detection of cysteine and homocysteine: an experimental and theoretical study. // *Chem. Sci.* – 2012. – Vol. 3. – P. 1049–1061.
69. Di Donato M., Iagatti A., Lapini A., Foggi P., Cicchi S., Lascialfari L., Fedeli S., Caprasecca S., Mennucci B. Combined experimental and theoretical study of efficient and ultrafast energy transfer in a molecular dyad // *J. Phys. Chem. C*. – 2014. – Vol. 118. – №. 41. – P. 23476-23486.
70. Kadokawa J., Suenaga M., Kaneko Y. Intramolecular Fluorescence Resonance-energy-transfer of Fluorescein Derivative; Phenyl and Styryl p-Disubstituted Fluorescein // *Chem. Lett.* – 2008. – Vol. 37. – №. 12. – P. 1232-1233.

71. Delbaere S., Tulyakova E.V., Marmois E., Jonusauskas G., Gulakova E.N., Fedorov Y.V., Fedorova O.A. Metal-ion induced FRET in macrocyclic dynamic tweezers // *Tetrahedron*. – 2013. – Vol. 69. – №. 38. – P. 8178-8185.
72. Ikeda S., Kubota T., Kino K., Okamoto A. Sequence dependence of fluorescence emission and quenching of doubly thiazole orange labeled DNA: effective design of a hybridization-sensitive probe // *Bioconjugate Chem.* – 2008. – Vol. 19. – №. 8. – P. 1719-1725.
73. Ikeda S., Kubota T., Yuki M., Okamoto A. Exciton-Controlled Hybridization-Sensitive Fluorescent Probes: Multicolor Detection of Nucleic Acids // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2009. – Vol. 48. – P. 6480-6484.
74. Gramlich P.M., Wirges C.T., Manetto A., Carell T. Postsynthetic DNA Modification through the Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition Reaction // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2008. – Vol. 47. – P. 8350-8358.
75. El-Sagheer A.H., Brown T. Click chemistry with DNA // *Chem. Soc. Rev.* – 2010. – Vol. 39. – №. 4. – P. 1388-1405.
76. Rubner M.M., Holzhauser C., Bohländer P.R., Wagenknecht H.A. A «Clickable» Styryl Dye for Fluorescent DNA Labeling by Excitonic and Energy Transfer Interactions // *Chem. Eur. J.* – 2012. – Vol. 18. – P.1299-1302.
77. Medintz I.L., Clapp A.R., Mattoussi H., Goldman E.R., Fisher B., Mauro J.M. Self-assembled nanoscale biosensors based on quantum dot fret donors // *Nat. Mater.* – 2003. – Vol. 2. – P. 630-638.
78. Sapsford K.E., Berti L., Medintz I.L. Materials for fluorescence resonance energy transfer analysis: Beyond traditional donor-acceptor combinations // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2006. – Vol. 45. – P. 4562–4589.
79. Giacalone F., Segura J.L., Martín N., Ramey J., Guldi D.M. Probing Molecular Wires: Synthesis, Structural, and Electronic Study of Donor–Acceptor Assemblies Exhibiting Long-Range Electron Transfer // *Chem. Eur. J.* – 2005. – Vol. 11. – №. 16. – P. 4819-4834.
80. Abbel R., Grenier C., Pouderoijen M.J., Stouwdam J.W., Leclure P.E.L.G., Sijbesma R.P., Meijer E.W., Schenning A.P.H.J. White-light emitting hydrogen-bonded supramolecular copolymers based on  $\pi$ -conjugated oligomers // *J. Am. Chem. Soc.*, – 2008. – Vol. 131. – №. 2. – P. 833-843.

81. Lou X. Y., Song N., Yang Y. W. Fluorescence resonance energy transfer systems in supramolecular macrocyclic chemistry // *Molecules*. – 2017. – Vol. 22. – №. 10. – P. 1640.
82. Wang J.Y., Han J.M., Yan J., Ma Y.; Pei J. A mechanically interlocked [3]rotaxane as a light-harvesting antenna: Synthesis, characterization, and intramolecular energy transfer // *Chem. Eur. J.* – 2009. – Vol. 15. – P. 3585-3594.
83. Bojtár M., Szakács Z., Hessz D., Bazsó F.L., Kállay M., Kubinyi M., Bitter I. Supramolecular fret modulation by pseudorotaxane formation of a ditopic stilbazolium dye and carboxylato-pillar[5]arene // *Dyes Pigm.* – 2016. – Vol. 133. – P. 415-423.
84. Bojtár M., Szakács Z., Hessz D., Kubinyi M., Bitter I. Optical spectroscopic studies on the complexation of stilbazolium dyes with a water soluble pillar[5]arene. // *RSC Adv.* – 2015. – Vol. 5. – P. 26504-26508.
85. Xu M., Wu S., Zeng F., Yu C. Cyclodextrin Supramolecular Complex as a Water-Soluble Ratiometric Sensor for Ferric Ion Sensing // *Langmuir*. – 2009. – Vol. 26. – №. 6. – P. 4529-4534.
86. Zhang Y.M., Han M., Chen H.Z., Zhang Y., Liu Y. Reversible molecular switch of acridine red by triarylpyridine-modified cyclodextrin // *Org. Lett.* – 2012. – Vol. 15. – №. 1. – P. 124-127.
87. Faiz J.A., Williams R.M., Silva M.J.J.P., De Cola L., Pikramenou Z. A Unidirectional Energy Transfer Cascade Process in a Ruthenium Junction Self-Assembled by  $\alpha$ - and  $\beta$ -Cyclodextrins // *J. Am. Chem. Soc.* – 2006. – Vol. 128. – P. 4520-4521.
88. Suresh M., Mandal A.K., Suresh E., Das A. First demonstration of two-step FRET in a synthetic supramolecular assembly // *Chem. Sci.* – 2013. – Vol. 4. – P. 2380-2386.
89. Dickerson R.E. [5] DNA structure from A to Z // *Methods in enzymology*. – Academic Press, 1992. – Vol. 211. – P. 67-111.
90. Ulyanov N.B., James T.L. Statistical analysis of DNA duplex structural features // *Methods Enzymol.* – 1995. – Vol. 261. – P. 90-120.
91. Demeunynck M., Bailly C., Wilson W.D. Small molecule DNA and RNA binders. – John Wiley & Sons, 2006. – Vol. 2.
92. Thurston, D. E. Nucleic acid targeting: therapeutic strategies for the 21st century // *Br. J. Cancer*. – 1999. – Vol. 80. – P. 65-85.

93. Hurley L.H. DNA and its associated processes as targets for cancer therapy // *Nat. Rev. Cancer.* – 2002. – Vol. 2. – P. 188-200.
94. Foye W.O. *Cancer chemotherapeutic agents.* – ACS, Washington, DC. – 1995. – P. 698.
95. Neidle S., Thurston D.E. DNA Sequences as Targets for New Anticancer Agents // *New Targets for Cancer Chemotherapy*, CRC Press Ltd. – 1994. – P. 159-175.
96. Propst C.L., Perun T.L. *Nucleic acid targeted drug design.* – Dekker, New York. – 1902. – P. 619.
97. Preto P. A contribution to the theory of biological staining based on the principles for structural organization of biological macromolecules // *Biotech Histochem.* – 2001. – Vol. 76. – P. 137-161.
98. Warpehoski M.A. Sequence selectivity of DNA covalent modification // *Chem. Res. Toxicol.* – 1988. – Vol. 1. – № 6. – P. 315-333.
99. Yarmoluk S.M., Kovalska V.B., Volkova K.D. Optimized Dyes for Protein and Nucleic Acid Detection // *Springer Ser. Fluoresc.* – 2011. – Vol.10ю – P.161-200.
100. Lerman L.S. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines // *J. Mol. Biol.* – 1961. – Vol. 3. – P. 18- 30.
101. Lerman L.S. The structure of the DNA–acridine complex // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1963. – Vol. 49. – P. 94-102.
102. Blackburn G.M., Gait M.J., Loakes D., Williams D.M. *Nucleic Acids in Chemistry and Biology: Edition 3.* – RSC Publishing. – 2006. – P. 348.
103. Ihmels H., Otto D. Intercalation of Organic Dye Molecules into Double-Stranded DNA – General Principles and Recent Developments // *Top Curr. Chem.* – 2005. – Vol. 258. – P. 161-204.
104. Khan G.S., Shah A., Rehman Z., Barker D. Chemistry of DNA minor groove binding agents // *J. Photochem. Photobiol. B.: Biology* – 2012. – Vol. 115. – P. 105-118.
105. Mukherjee A., Sasikala W.D. Drug–DNA Intercalation: From Discovery to the Molecular Mechanism // *Adv. Prot. Chem. Struct. Biol.* – 2013. – Vol. 92. – P. 1-62.
106. Denny W.A. Acridine derivatives as chemotherapeutic agents // *Curr. Med. Chem.* – 2002. – Vol. 9. – P. 1655-1665.

107. Lenglet G., David-Cordonnier M.-H. DNA-destabilizing agents as an alternative approach for targeting DNA: Mechanisms of action and cellular consequences // *J. Nucleic Acids*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1-17.
108. Cai X., Gray P. J. Jr., Von Hoff D.D. DNA minor groove binders: Back in the groove // *Cancer Treatment Reviews*. – 2009. – Vol. 35. – P. 437-450.
109. Akbay N., Losytskyy M.Y., Kovalska V.B., Balanda A.O., Yarmoluk S.M. The mechanism of benzothiazole styrylcyanine dyes binding with dsDNA: studies by spectral-luminescent methods // *J. Fluoresc.* – 2007. – Vol. 18. – P. 139-147.
110. Kovalska V.B., Kryvorotenko D.V., Balanda A.O., Losytskyy M.Yu., Tokar V.P., Yarmoluk S.M. Fluorescent homodimer styrylcyanines: synthesis and spectral-luminescent studies in nucleic acids and protein complexes // *Dyes Pigm.* – 2005. – Vol. 67. – P. 47-54.
111. Kovalska V.B., Kocheshev I.O., Kryvorotenko D.V., Balanda A. , Yarmoluk S.M. Studies on the spectral-luminescent properties of the novel homodimer styryl dyes in complexes with DNA // *J. Fluoresc.* – 2005. – Vol. 15. – P. 215-219.
112. Tokar V.P., Losytskyy M.Yu., Kovalska V.B., Kryvorotenko D.V., Balanda A.O., Prokopets V.M., Galak M.P., Dmytruk I.M., Yashchuk V.M., Yarmoluk S.M. Fluorescence of styryl dyes-DNA complexes induced by single- and two-photon excitation // *J. Fluoresc.* – 2006. – Vol. 16. – P. 783-791.
113. Berdnikova D.V., Fedorova O.A., Tulyakova E.V., Li H., Kölsch S., Ihmels H. Interaction of crown ether-annelated styryl dyes with double-stranded DNA // *Photochem. Photobiol.* – 2015. – Vol. 91. – P. 723-731.
114. Berdnikova D.V., Sosnin N.I., Fedorova O.A., Ihmels, H. Governing the DNA-binding mode of styryl dyes by the length of their alkyl substituents – from intercalation to major groove binding // *Org. Biomol. Chem.* – 2018. – Vol. 16. – P. 545-554.
115. Zhang J., Zhang X., Meng X., Li L., Yao J., Liu W., Liu Y. The synthesis and fluorescence of a new biphenyl ethylene derivative sensitive to DNA induced by single- and two-photon excitation // *Synth. Met.* – 2013. – Vol. 185-186. – P. 120-125.
116. Lu Y.-J., Hu D.-P., Zhang K., Wong W.-L., Chow C.-F. New pyridinium-based fluorescent dyes: A comparison of symmetry and side-group effects on G-Quadruplex DNA binding selectivity and application in live cell imaging // *Biosens. Bioelectron.* – 2016. – Vol. 81. – P. 373-381.

117. Allain C., Schmidt F., Lartia R., Bordeau G., Fiorini-Debuisschert C., Charra F., Tauc P., Teulade-Fichou M.-P. Vinyl-pyridinium triphenylamines: novel far-red emitters with high photostability and two-photon absorption properties for staining DNA // *ChemBioChem.* – 2007. – Vol. 8. – P. 424-433.
118. Gao C., Liu S., Zhang X., Liu Y., Qiao C., Liu Z. Two-photon fluorescence and fluorescence imaging of two styryl heterocyclic dyes combined with DNA // *Spectrochim. Acta A.* – 2016. – Vol. 156. – P. 1-8.
119. Tanious F.A., Veal J.M., Buczak H., Ratmeyer L.S., Wilson W.D. DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) binds differently to DNA and RNA: minor-groove binding at AT sites and intercalation at AU sites // *Biochemistry.* – 1992. – Vol. 31. – P. 3103-3112.
120. Le T.A., Truong H.H., Thi T.P.N., Thi N.D., To H.T., Thi H.P., Thi N.D. Synthesis and biological activity of ( $\gamma$ -arylpyridino)-dibenzoaza-14-crown-4 ethers // *Mend. Comm.* – 2015. – Vol. 3. – P. 224-225.
121. Keypour H., Mahmoudabadi M., Shooshtari A., Hosseinzadeh L., Mohsenzadeh F., Gable R.W. Synthesis of Mn(II) and Zn(II) complexes with new macrocyclic Schiff-base ligands containing piperazine moiety: Spectroscopic, structural, cytotoxic and antibacterial properties // *Polyhedron.* – 2017. – Vol. 127. – P. 345-354.
122. Marin C., Inclan M., Ramirez-Macias I., Albelda M.T., Canas R., Clares M.P., Sanchez-Moreno M. In vitro antileishmanial activity of aza-scorpian macrocycles. Inhibition of the antioxidant enzyme iron superoxide dismutase // *RSC Adv.* – 2016. – Vol. 6. – P. 17446-17455.
123. Rohr K., Vogel S. Polyaza crown ethers as non- nucleosidic building blocks in DNA conjugates: synthesis and remarkable stabilization of dsDNA // *ChemBioChem.* – 2006. – Vol. 7. – №. 3. – P. 463-470.
124. Moroshkina E.B., Zagoruiko N.V., Glibin E.N. Interaction of DNA with benzocrown derivatives of actinocin // *Mol. Biol.* – 2001. – Vol. 35. – №. 1. – P. 98-105.
125. Moroshkina E.B., Zagoruiko N.E., Ovchinnikov D.V., Plekhanova N.G., Glibin E.N. Dependence of mode of DNA binding to benzocrown derivatives of actinocin on the size and distance from the chromophore of crown fragments // *Mol. Biol.* – 2002. – Vol. 36. – №. 4. – P. 589-593.
126. Lebedeva (Ruleva) A.Yu, Leontyev T.N., Oshchepkov M.S., Shepel N.E., Peregudova S.M., Fedorov Y.V., Fedorova O.A. Investigation of the photoinduced

- energy transfer in the supramolecular complexes of styryl dyes // *Russ. Chem. Bull.* – 2016. – Vol. 65. – № 10. – P. 2381- 2387.
127. Lebedeva (Ruleva) A.Yu., Fedorova O.A., Tsvetkov V.B., Grinberg V.Y., Grinberg N.V., Burova T.V., Dubovik A.S., Babievsky K.K., Fedorov Y.V. Novel 18-crown-6-ether containing mono- and bisstyryl dyes derived from pyridine moiety as fluorescent dyes for non-covalent interaction with DNA // *Dyes Pigm.* – 2018. – Vol. 157. – P. 80-92.
128. Pepitone M.F., Jernigan G.G., Melinger J.S., Kim O.-K. Synthesis and characterization of donor-acceptor chromophores for unidirectional electron transfer // *Org. Lett.* – 2007. – Vol. 9. – № 5. – P. 801-804.
129. Horner L., Hoffmann H., Wippel H. G. Phosphororganische verbindungen, XII. Phosphinoxyde als olefinierungsreagenzien // *Chem. Ber.* – 1958. – Vol. 91. – № 1. – P. 61-63.
130. Wadsworth W.S., Emmons W.D. The utility of phosphonate carbanions in olefin synthesis // *J. Am. Chem. Soc.* – 1961. – Vol. 83. – № 7. – P. 1733-1738.
131. Kurti L., Czako B. Strategic applications of named reactions in organic synthesis. – Elsevier, 2005.
132. Boroujeni K.P. Polystyrene-supported,  $\text{ai(otf)}_3$ -catalyzed chemoselective synthesis of acylals from aldehydes // *Synth. Comm.* – 2011. – Vol. 41. – P. 277-284.
133. Meshram G.A., Patil V.D. Chemoselective Synthesis of 1,1-Diacetates from Aldehydes Using Anhydrous Cobalt(II) Bromide Under Solvent-Free Conditions // *Synth. Comm.* – 2010. – Vol. 40. – P. 442-449.
134. Лебедева (Рулева) А.Ю., Бердникова Д.В., Ощепков М.С., Цветкова О.И., Федорова О.А. Фотоиндуцированный перенос энергии в самоорганизующихся системах на основе стироловых красителей // *Успехи в химии и химической технологии.* – 2013. – Т. 27. – № 4. – С. 13-16.
135. Ustimova M.A., Lebedeva (Ruleva) A.Yu, Fedorov Y.V., Berdnikova D.V., Fedorova O.A. FRET-based metal ion sensing by crown-containing bisstyryl dye // *New J. Chem.* – 2018. – Vol. 42. – P. 7908-7913.
136. Späth A., König B. Molecular recognition of organic ammonium ions in solution using synthetic receptors // *Beilstein J. Org. Chem.* – 2010. – Vol. 6. – P. 32

137. Weller A. Electron-transfer and complex formation in the excited state // *Pure Appl. Chem.* – 1968. – Vol. 16. – P. 115-124.
138. Rehm D., Weller A. Kinetics of fluorescence quenching by electron and hydrogen-atom transfer // *Isr. J. Chem.* – 1970. – Vol. 8. – P. 259-265.
139. Лебедева (Рулева) А.Ю., Ткаченко С.В., Черникова Е.Ю., Федоров Ю.В., Федорова О.А. Исследование спектральных и комплексообразующих свойств краунсодержащего бисстирилового красителя с молекулами-контейнерами // *Успехи в химии и химической технологии.* – 2016. – Т. 30. – № 11. – С. 36-38.
140. Wheate N.J. Improving platinum(II)-based anticancer drug delivery using cucurbit[n]urils // *J. Inorg. Biochem.* – 2008. – Vol. 102. – P. 2060-2066.
141. Zhao Y., Buck D.P., Morris D.L., Pourgholami M.H., Day A.I., Collins J.G. Solubilisation and cytotoxicity of albendazole encapsulated in cucurbit[n]uril // *Org. Biomol. Chem.* – 2008. – Vol. 6. – P. 4509-4515.
142. Appel E.A., Rowland M.J., Loh X.J., Heywood R.M., Watts C., Scherman O.A. Enhanced stability and activity of temozolomide in primary GBM cells with cucurbit[n]uril // *Chem. Commun.* – 2012. – Vol. 48. – P. 9843-9845.
143. Park C., Kim H., Kim S., Kim C. Enzyme Responsive Nanocontainers with Cyclodextrin Gatekeepers and Synergistic Effects in Release of Guests. // *J. Am. Chem. Soc.* – 2009. – Vol. 131. – P. 16614-16615.
144. Zimmer S., Grebe A., Bakke S. S., Bode N., Halvorsen B., Ulas T., Skjelland M., Nardo D.D., Labzin L.I., Kerksiek A., Hempel C., Heneka M.T., Hawxhurst V., Fitzgerald M.L., Trebicka J., Björkhem I., Gustafsson J.-Å., Westerterp M., Tall A. R., Wright S.D., Espevik T., Schultze J.L., Nickenig G., Lütjohann D., Latz E. Cyclodextrin promotes atherosclerosis regression via macrophage reprogramming // *Sci. Transl. Med.* – 2016. – Vol. 8. – №. 333. – P. 333-350.
145. Coisne C., Tilloy S., Monflier E., Wils D., Fenart L., Gosselet F. Cyclodextrins as emerging therapeutic tools in the treatment of cholesterol-associated vascular and neurodegenerative diseases // *Molecules.* – 2016. – Vol. 21. – №. 12. – P. 1748.
146. Purkayastha P., Das D., Jaffer S.S. Differential encapsulation of trans-2-[4-(dimethylamino)styryl] benzothiazole in cyclodextrin hosts: Application towards nanotubular suprastructure formation // *J. Mol. Struct.* – 2008. – Vol. 892. – P. 461-465.

147. Purkayastha P. Cu<sup>2+</sup> induced charge transfer switch by choosing the right cyclodextrin environment. // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2010. – Vol. 212. – P. 43-48.
148. Fedorova O.A., Chernikova E.Y., Fedorov Y.V., Gulakova E.N., Peregudov A.S., Lyssenko K.A., Jonusauskas G., Isaacs L. Cucurbit[7]uril complexes of crown-ether derived styryl and (bis)styryl dyes // *J. Phys. Chem B.* – 2009. – Vol. 113. – P. 10149-10158.
149. Fedorova O.A., Chernikova E.Y., Tkachenko S.V., Grachev A.I., Godovikov I.A., Fedorov Y.V. Self-sorting processes in a stimuli-responsive supramolecular systems based on cucurbituril, cyclodextrin and bisstyryl guests // *J. Incl. Phenom. Macro.* – 2019. – in press, doi: 10.1007/s10847-019-00900-2.
150. Hendry L.B., Mahesh V.B., Bransome Jr.E.D., Ewing D.E. Small molecule intercalation with double stranded DNA: Implications for normal gene regulation and for predicting the biological efficacy and genotoxicity of drugs and other chemicals // *Mutat. Res.* – 2007. – Vol. 623. – P. 53-71.
151. Baraldi P. G., Bovero A., Fruttarolo F., Preti D., Tabrizi M. A., Pavani M. G., Romagnoli R. DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial agents // *Med. Res. Rev.* – 2004. – Vol. 24. – P. 475-528.
152. Hagen J.A., Li W., Steckl A., Grote J. Enhanced emission efficiency in organic light-emitting diodes using deoxyribonucleic acid complex as an electron blocking layer // *Appl. Phys. Lett.* – 2006. – Vol. 88. – №. 17. – P. 171109.
153. Singh B., Sariciftci N.S., Grote J.G., Hopkins F.K. Bio-organic-semiconductorfield-effect-transistor based on deoxyribonucleic acid gate dielectric. // *J. Appl. Phys.* – 2006. – Vol. 100. – P. 024514.
154. Yoshida J., Watanuki A., Takano H., Kobayashi S., Ikeda H., Ogata N. Optically controlled photonic switches based on spiropyran-doped marine-biopolymer DNA-lipid complex films // *Org. Phot. Mat. and Dev. VIII.* – International Society for Optics and Photonics, 2006. – Vol. 6117. – P. 61170L.
155. Sahoo D., Bhattacharya P., Chakravorti S. Quest for mode of binding of 2-(4-(Dimethylamino)styryl)-1-methylpyridinium iodide with calf thymus DNA // *J. Phys. Chem. B.* – 2010. – Vol. 114. – P. 2044-2050.

156. Garoff R.A., Litzinger E.A., Connor R.E., Fishman I., Armitage B.A. Helical aggregation of cyanine dyes on DNA templates: effect of dye structure on formation of homo- and heteroaggregates // *Langmuir* – 2002. – Vol. 18 – P. 6330-6337.
157. Hannah K.C., Armitage B.A. DNA-templated assembly of helical cyanine dye aggregates: a supramolecular chain polymerization // *Acc. Chem. Res.* – 2004. – Vol. 37 – P. 845-853.
158. Armitage B.A. Cyanine dye–DNA interactions: intercalation, groove binding, and aggregation // *DNA binders and related subjects.* – Springer, Berlin, Heidelberg, 2005. – P. 55-76.
159. Ogul'chansky T.Y., Yashchuk V.M., Losytsky M.Y., Kocheshev I.O., Yarmoluk S.M. Interaction of cyanine dyes with nucleic acids. XVII. Towards an aggregation of cyanine dyes in solutions as a factor facilitating nucleic acid detection // *Spectrochimica Acta Part A* – 2000. – Vol. 56. – №. 4. – P. 805-814.
160. Tashmukhamedova A.K., Stempnevskaya I.A., Morozova I.Y., Sirotenko E.G. Preparation of chloromethyl derivatives of dibenzo-18-crown-6 and synthesis based on them // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 1989. – Vol. 25 – P. 389-393.
161. Xie X., Choi B., Largy E., Guillot R., Granzhan A., Teulade-Fichou M.P. Asymmetric distyrylpyridinium dyes as red-emitting fluorescent probes for quadruplex DNA // *Chem. Eur. J.* – 2013. – Vol. 19 – P. 1214-1226.
162. Kawabe Y., Kato S. Spectroscopic study of cyanine dyes interacting with the biopolymer, DNA // *Dyes Pigm.* – 2012. – Vol. 95. – №. 3. – P. 614-618.
163. Seifert J.L., Connor R.E., Kushon S.A., Wang M., Armitage B.A. Spontaneous assembly of helical cyanine dye aggregates on DNA nanotemplates. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1999. – Vol. 121. – P. 2987-2995.
164. Wang M., Silva G.L., Armitage B.A. DNA-templated formation of a helical cyanine dye J-aggregate. // *J. Am. Chem. Soc.* – 2000. – Vol. 122. – P. 9977-9986.
165. Ogul'chansky T.Y., Losytsky M.Y., Kovalska V.B., Lukashov S.S., Yashchuk V.M., Yarmoluk S.M. Interaction of cyanine dyes with nucleic acids. XVIII. Formation of the carbocyanine dye J-aggregates in nucleic acid grooves // *Spectrochim Acta, Part A.* 2001. – Vol. 57. – P. 2705-2715.
166. Ogul'chansky T.Y., Losytsky M.Y., Kovalska V.B., Yashchuk V.M., Yarmoluk S.M. Interaction of cyanine dyes with nucleic acids. XXIV. Aggregation of monomethine

- cyanine dyes in presence of DNA and its manifestation in absorption and fluorescence spectra // *Spectrochim Acta, Part A.* – 2001. – Vol. 57. – P. 1525-1532.
167. Hannah K.C., Armitage B.A. DNA-templated assembly of helical cyanine dye aggregates: a supramolecular chain polymerization. // *Acc. Chem. Res.* – 2004. – Vol. 37 – P. 845-853.
168. Sturtevant J.M. Biochemical applications of differential scanning calorimetry // *Annu. Rev. Phys. Chem.* – 1987. – Vol. 38. – P. 463-488.
169. Chaires J.B. Energetics of drug-DNA interactions // *Biopolymers.* – 1997. – Vol. 44. – P. 201-215.
170. Leng F., Priebe W., Chaires J.B. Ultratight DNA binding of a new bisintercalating anthracycline antibiotic // *Biochemistry* – 1998. – Vol. 37. – P. 1743-1753.
171. Dukhopelnikov E.V., Bereznyak E.G., Khrebtova A.S., Lantushenko A.O., Zinchenko A.V. Determination of ligand to DNA binding parameters from two-dimensional DSC curves. // *J. Therm. Anal. Calorim.* – 2013. – Vol. 111. – P. 1817-1827.
172. Chaires J.B. Calorimetry and thermodynamics in drug design // *Annu. Rev. Biophys.* – 2008. – Vol. 37. – P. 135-151.
173. Kumar C., Turner R., Asuncion E. Groove binding of a styrylcyanine dye to the DNA double helix: the salt effect // *J. Photochem. Photobiol. Chem.* – 1993. – Vol. 74. – P. 231-238.
174. Леонтьев Т.Н., Лебедева (Рулева) А.Ю., Федорова О.А. Синтез и изучение спектральных свойств стироловых красителей на основе бензотиазола и пиридина // *Успехи в химии и химической технологии.* – 2015. – Т. 29. – № 7. – С. 114-116.
175. Лебедева (Рулева) А.Ю., Черникова Е.Ю., Федорова О.А. Конкурентное взаимодействие бисстириловых красителей с кукурбит[7]урилом и двухцепочечной ДНК // *Успехи в химии и химической технологии.* – 2017. – Т. 31. – № 12. – С. 60-62.
176. Gadde S., Batchelor E.K., Weiss J.P., Ling Y., Kaifer A.E. Control of H- and J-aggregate formation via host-guest complexation using cucurbituril hosts // *J. Am. Chem. Soc.* – 2008. – Vol. 130. – P. 17114-17119.
177. Gadde S., Batchelor E.K., Kaifer A.E. Controlling the formation of cyanine dye H- and J-aggregates with cucurbituril hosts in the presence of anionic polyelectrolytes // *Chem. Eur. J.* – 2009. – Vol. 15. – P. 6025-6031.

178. Pais V.F., Carvalho E.F.A., Tome J.P.C., Pischel U. Supramolecular control of phthalocyanine dye aggregation // *Supramol. Chem.* – 2014. – Vol. 26(9). – P. 642 – 647.
179. Peñalver P., Marcelo F., Jiménez-Barbero J., Vicent C. Carbohydrate recognition at the minor-groove of the self-complementary duplex d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub> by a synthetic glycol-oligoamide // *Chem. Eur. J.* – 2011. – Vol. 17. – №. 16. – P. 4561-4570.
180. Souard F., Muñoz E., Peñalver P., Badía C., del Villar-Guerra R., Asensio J.L., Jiménez-Barbero J., Vicent, C. Sugar–oligoamides: bound-state conformation and DNA minor-groove-binding description by TR-NOESY and differential-frequency saturation-transfer-difference experiments // *Chem. Eur. J.* – 2008. – Vol. 14. – №. 8. – P. 2435-2442.
181. Mosher H., Tessieri J. Heterocyclic Basic Compounds. XIV. 4-Phenyl-4-(3-pyridyl)-6-dimethylamino-3-hexanone. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1951. – Vol. 73. – P. 4925–4927.
182. Gilman H., Karmas G. Some styrylpyridines and-quinolines // *J. Am. Chem. Soc.* – 1945. – Vol. 67. – №. 2. – P. 342.
183. Connors K. A. Binding constants: the measurement of molecular complex stability // New York: John Wiley and Sons. – 1987. – P. 411.
184. Beck M. T., Nagypál I. Chemistry o complex equilibria // New York: John Wiley and Sons. – 1990. – P. 402.
185. Ren J., Chaires J. B. Sequence and structural selectivity of nucleic acid binding ligands // *Biochemistry.* – 1999. – Vol. 38. – P. 16067-16075.
186. Chaires J. B. Competition dialysis: an assay to measure the structural selectivity of drug-nucleic acid interactions // *Curr. Med. Chem. –Anti-Cancer Agents.* – 2005. – Vol. 5. – P. 339-352.
187. Chaires J. B. Structural selectivity of drug-nucleic acid interactions probed by competition dialysis // *Top. Curr. Chem.* – 2005. – Vol. 253. – P. 33-53.
188. McConnaughie A. W., Jenkins T. C. Novel acridine-triazenes as prototype combilexins: synthesis, DNA binding, and biological activity // *J. Med. Chem.* – 1995. – Vol. 38. – P. 3488-3501.