

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2019

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

Научные руководители:

Федорова Ольга Анатольевна

доктор химических наук, профессор,
заведующая лабораторией Фотоактивных
супрамолекулярных систем ИНЭОС РАН

Федоров Юрий Викторович

доктор химических наук, ведущий научный
сотрудник лаборатории Фотоактивных
супрамолекулярных систем ИНЭОС РАН

Официальные оппоненты:

Ширинян Валерик Зармикович

доктор химических наук, ведущий научный
сотрудник лаборатории гетероциклических
соединений Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН

Муравьев Антон Андреевич

кандидат химических наук, научный сотрудник
лаборатории химии каликсаренов Института
органической и физической химии им. А.Е.
Арбузова Федерального исследовательского
центра «Казанский научный центр РАН»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт физической химии
и электрохимии им. А.Н.Фрумкина Российской
академии наук

Защита состоится «18» июня 2019 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета Д 002.250.01 по присуждению ученой степени кандидата химических наук при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН по адресу: 119991, ГСП-1, г. Москва, В-334, ул. Вавилова, 28.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИНЭОС РАН.

Автореферат диссертации разослан « » 2019.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 002.250.01
кандидат химических наук

Ольшевская В.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 практически важных 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 для создания тройной системы на основе ДНК, красителя и кукурбитурила.

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 заболевания. В литературе существуют примеры использования стириловых красителей в качестве таких флуоресцентных маркеров. 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 возможность высвобождения 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 бисхромо-форных стироловых производных, а также изучение супрамолекулярных ансамблей данных соединений. Благодаря наличию двух стироловых фрагментов, а также краун-эфирной группы, данные соединения являются подходящими 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 варьирование моностириловой компоненты, связывающейся с краун-эфирной частью, может привести к значительному улучшению характеристик переноса энергии в супрамолекулярном комплексе.

Найдены условия образования смешанного трехкомпонентного комплекса, включающего несимметричный бисстириловый краун-содержащий краситель, кукурбит[7]урил и β -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, РНФ № 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 обсуждение 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» (MAM-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.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

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.

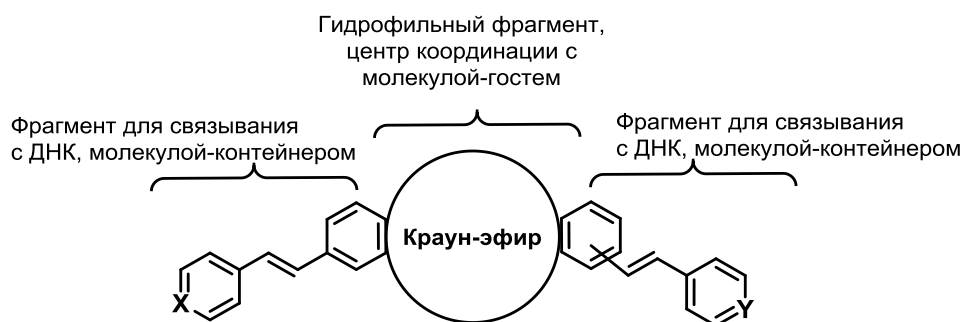


Рисунок 1 – Назначение структурных фрагментов краун-содержащего бисстирилового красителя

В данной 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.

1. Синтез моно- и бисстириловых производных

1.1. Синтез моностириловых производных

Краситель **2** получен в результате двухстадийного синтеза (Схема 1). Вначале проводили конденсацию 4-(диметиламино)бенальдегида с 4-пиколином в основных условиях с получением красителя **1**. 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.

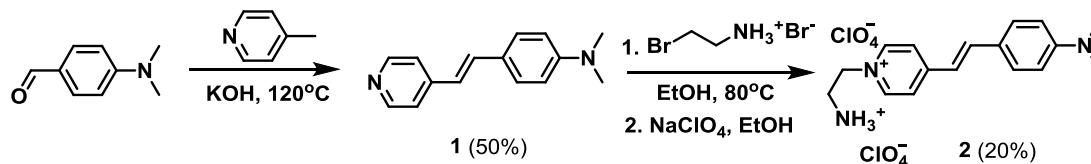


Схема 1

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

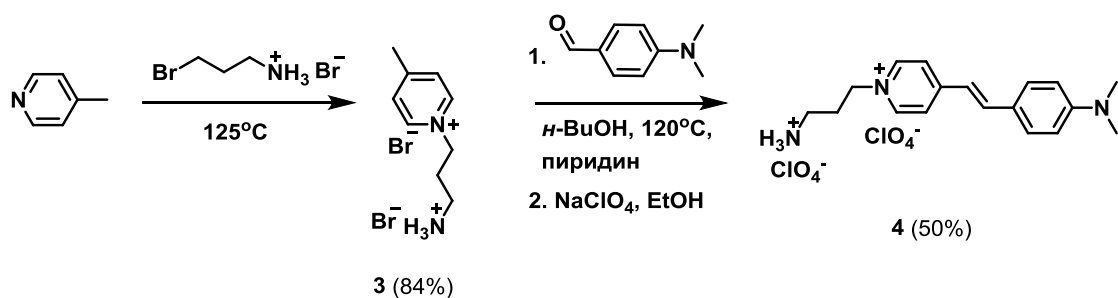


Схема 2

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, а затем конденсировали полученную четвертичную соль **5** с 4-(диметиламино)бензальдегидом в этаноле или уксусном ангидриде при кипячении.

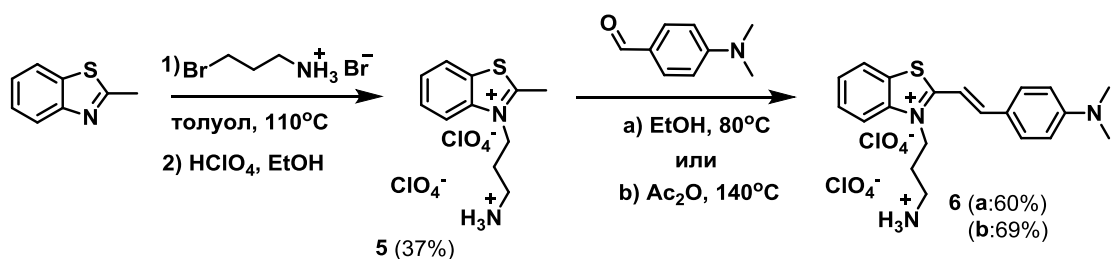


Схема 3

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, что приводило к получению тозилата 1,4-диметилпиридиния, а затем конденсировали полученную четвертичную соль **7** с соответствующим формильным производным кислородного или диазакраун-эфира в присутствии основания (Схема 4).

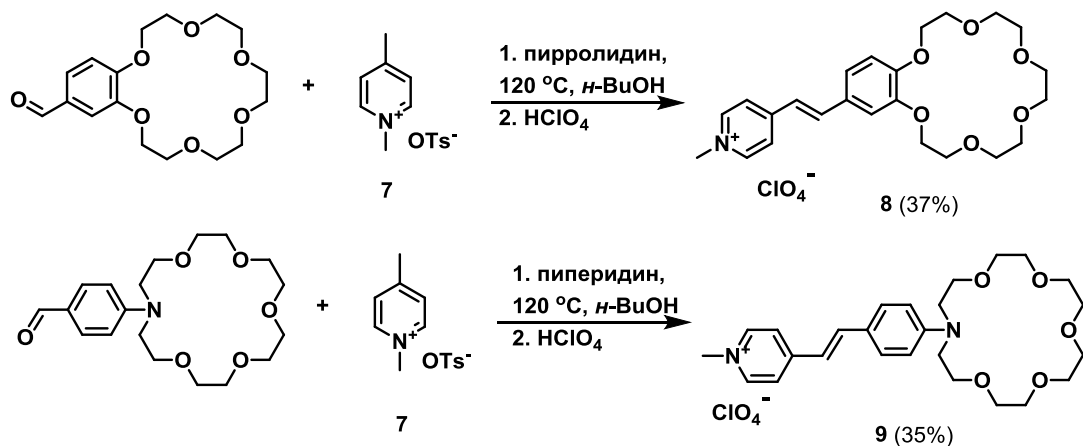


Схема 4

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 5). Кватернизация соединения **10** избытком метил-*n*-толилсульфоната приводила к образованию 18-краун-6-содержащего бисстирилового красителя **11**.

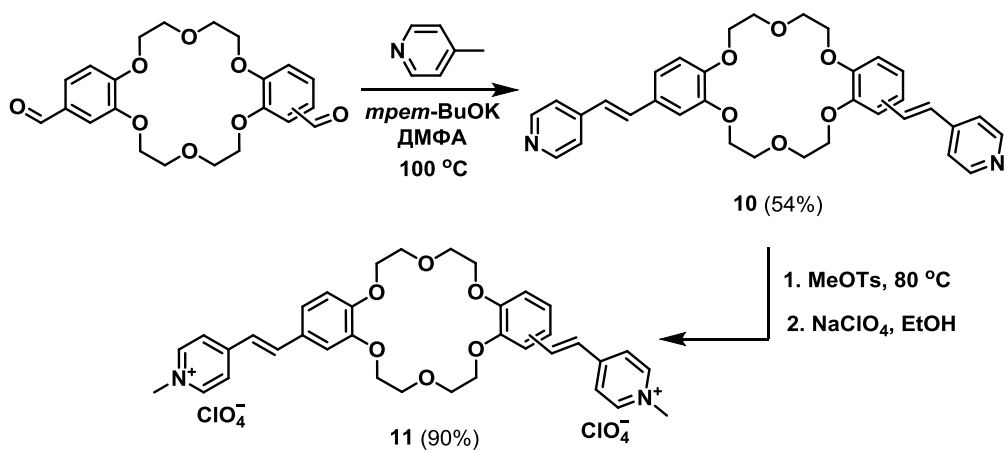


Схема 5

Для получения несимметричного бисстирилового красителя **12** проводили аналогичную реакцию кватернизации соединения **10** при недостатке метил-*n*-толилсульфоната: **10**:MeOTs = 1:0.8 (Схема 6). В результате реакции образовалась смесь моно- и бис-кватернизованных продуктов. Таким образом, даже при проведении реакции в недостатке кватернизирующего агента выход симметричного красителя **11** больше по сравнению с монокватернизованным красителем **12**.

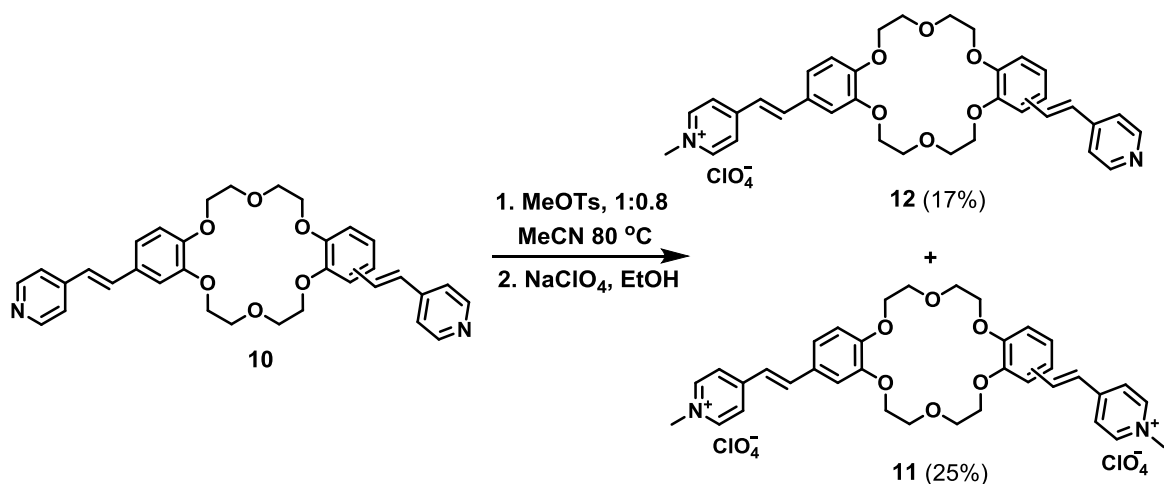


Схема 6

Выделение целевого продукта **12** проводилось с помощью колоночной хроматографии. Согласно данным ¹H ЯМР бисстириловый краситель **12** получен в виде *E,E*-изомера.

Для получения несимметричного красителя **12** была предложена последовательная конденсация исходного диформилдибензо-18-краун-6-эфира с двумя различными гетероциклическими фрагментами. Однако было обнаружено, что при конденсации формильного производного с 4-пиколином даже при эквивалентном соотношении исходных реагентов (1:1) преимущественно образуется бисстириловый краситель **10**. Выделить моностириловый краситель в данной реакции не удалось.

Другим подходом для получения 18-краун-6-содержащего моностирилового красителя является метод Хорнера-Эммонса-Уодсворта. Для этого вначале проводили восстановление 4-пиридинкарбоксальдегида с помощью борогидрида натрия (Схема 7). Полученный 4-(гидроксиметил)пиридин **14** обрабатывали соляной кислотой и вводили в последующую реакцию с тионилхлоридом с образованием хлорида 4-(хлорметил)пиридиния **15**.

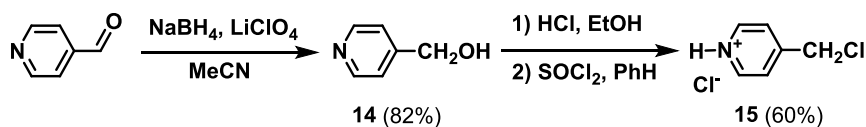


Схема 7

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''')-диформилдibenзо-18-краун-6 эфиром в условиях реакции Виттига-Хорнера, реакцию проводили при избытке бисформильного производного (Схема 8).

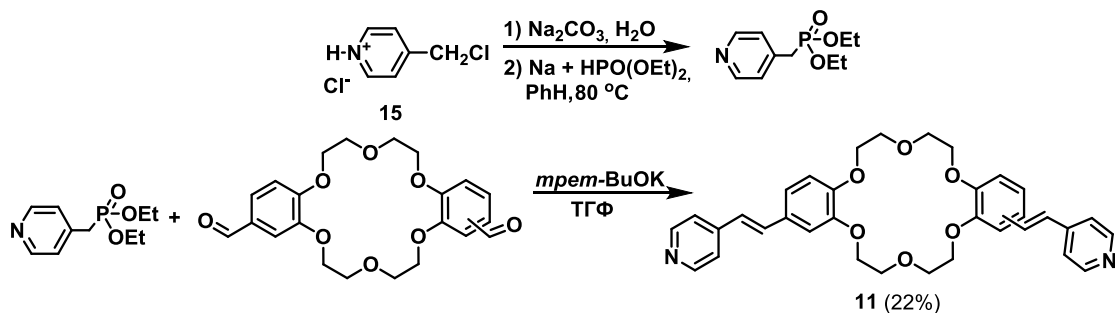


Схема 8

В результате конденсации моностириловый краситель 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 6).

В полученных красителях **10-12** стириловые 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''-диформил-дibenзо-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.

1.3. 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 тозилата 1,4-диметилпиридиния с бисформильным производным краун эфира в основных условиях (Схема 9).

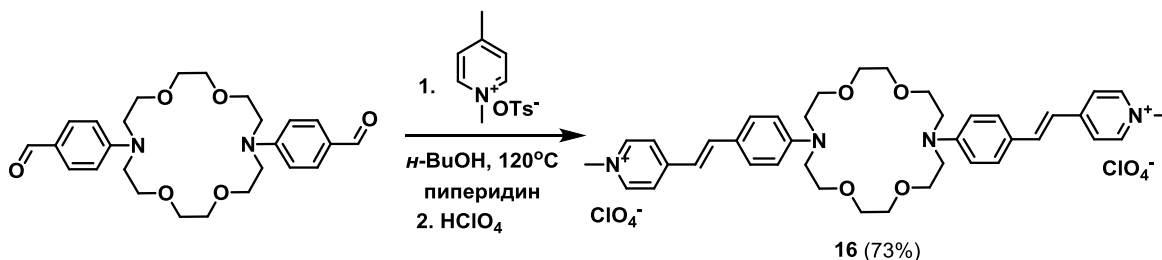


Схема 9

Конденсация бисформильного производного диаза-18-краун-6 эфира с 4-пиколином в присутствии уксусного ангидрида приводит к получению только моностирилового красителя **18**, тогда как образования бисстирилового красителя **17** не наблюдалось даже при использовании в реакции значительных избытков 4-пиколина (Схема 10).

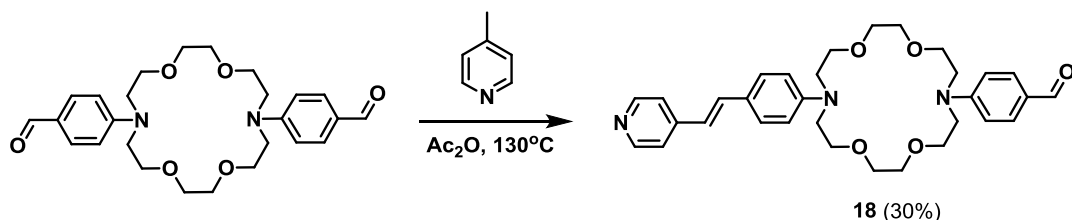


Схема 10

Проведение данной реакции в среде уксусного ангидрида с уксусной кислотой (2:1), напротив, способствует образованию бисстирилового красителя **17** (Схема 11).

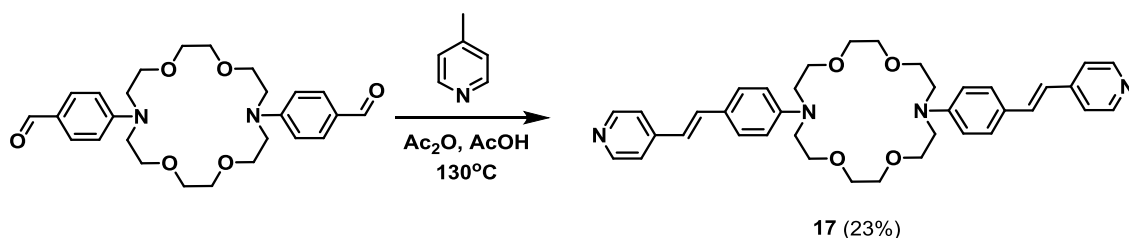


Схема 11

По-видимому, при взаимодействии формильного производного с уксусным ангидридом происходит образование геминального диацетата (Схема 12). При последующей обработке реакционной массы водой происходит гидролиз с образованием исходного бисальдегида или моностирилзамещенного красителя **18**.

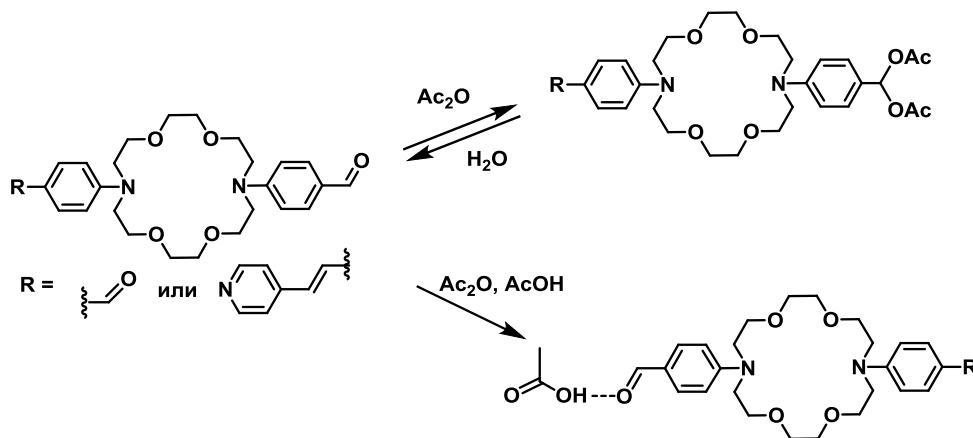


Схема 12

Присутствие же в реакционной массе уксусной кислоты может приводить к образованию водородной связи между альдегидной группой краун-эфирного производного и карбоксильной группой (Схема 12). Данный процесс препятствует взаимодействию альдегидной группы с уксусным ангидридом, а также способствует активации формильного заместителя, что приводит к образованию бисстирилового красителя **17**.

Моностириловый краситель **18** также был получен по реакции Хорнера-Эммонса-Уодсворта. Для этого полученный ранее гетероциклический фосфонат вступал в реакцию конденсации с бисформильным производным краун-эфира (Схема 13).

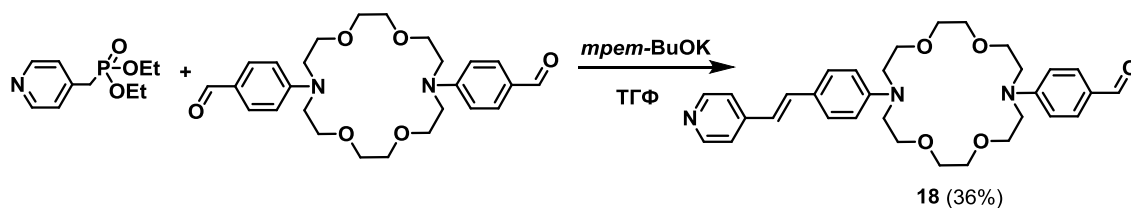


Схема 13

С целью получения несимметричного бисстирилового красителя **19** проводили конденсацию полученного моностирилового красителя **18** с тозилатом 1,4-диметилпиридиния. Синтез проводили в *n*-BuOH, в присутствии пирролидина, в результате целевой краситель был получен с выходом 15% (Схема 14).

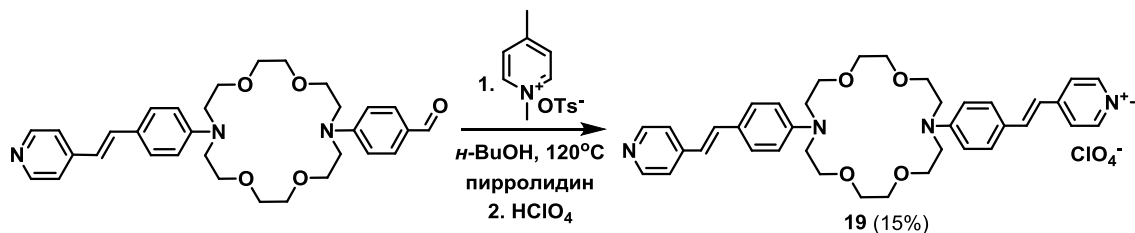


Схема 14

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.

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

Аммонийные группы способны координироваться с краун-эфирами за счет образования водородных связей между атомами кислорода макроцикла и атомами водорода аммонийной группы. В настоящей работе это свойство было использовано для связывания бисстириловых и моностириловых красителей в единый комплекс (Рис. 2). Таким образом, при использовании комплексообразования можно создать ансамбль компонент, между которыми возможно протекание переноса энергии.

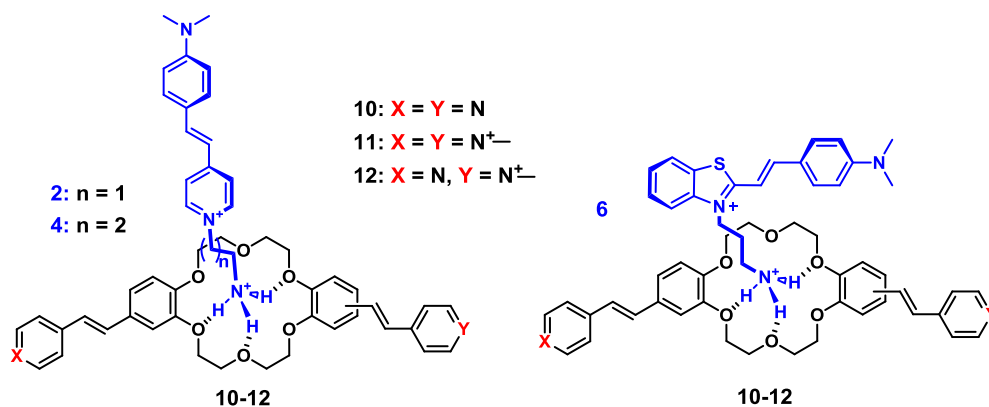


Рисунок 2 – Схема образования супрамолекулярных ансамблей стириловых красителей

Для определения константы устойчивости таких комплексов было проведено спектрофотометрическое титрование бисстириловых красителей **10** и **11** перхлоратом аммония. Для определения условий, соответствующих наиболее эффективному комплексообразованию, титрование красителя **11** проводилось в двух различных растворителях: полярном ацетонитриле и неполярном дихлорметане. Координация аммонийных производных вызывает смещение полосы поглощения красителя в область коротких длин волн.

Обработка данных спектрофотометрического титрования с помощью программы SpecFit/32 показала наличие в растворе комплексов состава 1:1 [**11**·(NH₄⁺)] 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, наиболее устойчивый комплекс образуется в неполярном растворителе (CH_2Cl_2).

В случае незаряженного бисстирилового красителя **10** увеличение концентрации перхлората аммония также приводит к небольшому гипсохромному сдвигу максимума полосы поглощения красителя, одновременно с этим появляется еще один пик, соответствующий протонированной форме красителя **10**. Обработка данных титрования с помощью программы SpecFit/32 показала наличие в растворе комплексов состава 1:1 – $[\mathbf{10} \cdot (\text{NH}_4^+)]$ с константой устойчивости $\log K_{11} = 6.6 \pm 0.5$.

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 (Рис. 3а-б).

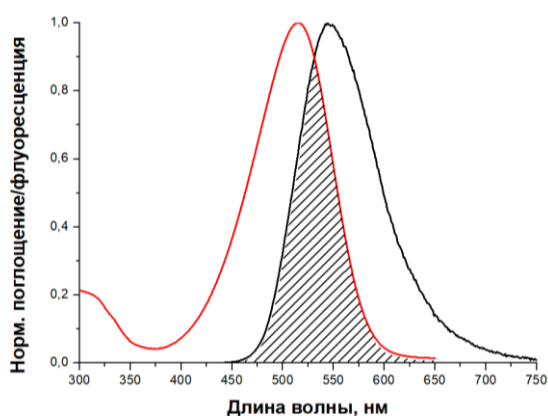


Рисунок 3а – Нормализованные спектры поглощения моностирилового красителя **2** (красный) и флуоресценции бисстирилового красителя **11** (черный) в CH_2Cl_2 при 20 °С

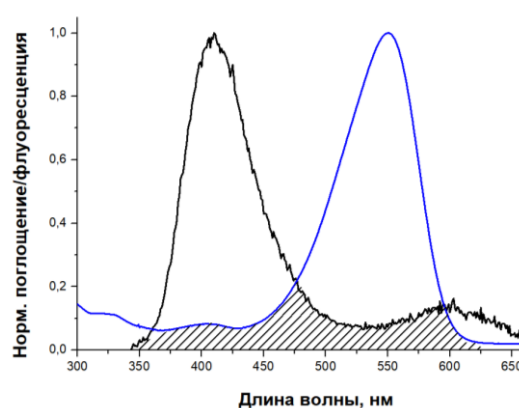


Рисунок 3б – Нормализованные спектры поглощения моностирилового красителя **6** (синий) и флуоресценции бисстирилового красителя **10** (черный) в CH_2Cl_2 при 20 °С

Еще одним условием для реализации переноса энергии является близкое расположение донора и акцептора, что обеспечивается за счет организации компонент в один супрамолекулярный ансамбль. Согласно данным, полученным при оптимизации комплексов с помощью программы МОРАС (метод РМ7), расстояние между донором и акцептором во всех случаях не превышает 1 нм.

Таким образом, по спектральным характеристикам во всех описанных выше системах возможен фотоиндуцированный перенос энергии, а расстояние между донорной и акцепторной компонентами в комплексах не препятствует предполагаемому переносу энергии. Однако процесс переноса энергии в супрамолекулярных ансамблях, включающих моностириловые красители **2** и **4**, оказался малоэффективным.

В комплексах бисстириловых красителей **10** и **11** с моностириловым красителем **6** (Рис. 4), напротив, был обнаружен процесс фотоиндуцированного переноса энергии. При облучении ансамбля, состоящего из соединений **10** и **6**, светом 327 нм наблюдается появление двух флуоресцентных сигналов при $\lambda_{\text{флю}}^1 = 403$ нм (соответствует флуоресценции самого бисстирилового красителя **10**) и $\lambda_{\text{флю}}^2 = 603$ нм (соответствует флуоресценции акцептора энергии – красителя **6**) (Рис. 5). 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 свидетельствует о неполном переносе энергии.

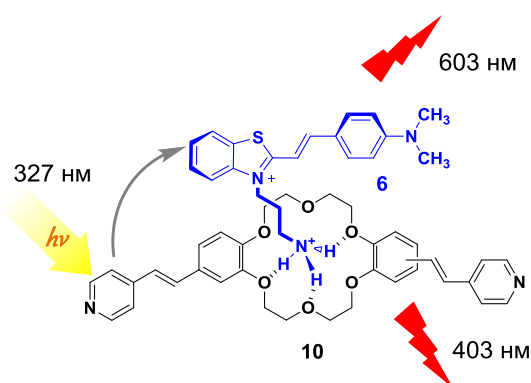


Рисунок 4 – Схема переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **10** и моностирилового красителя **6**

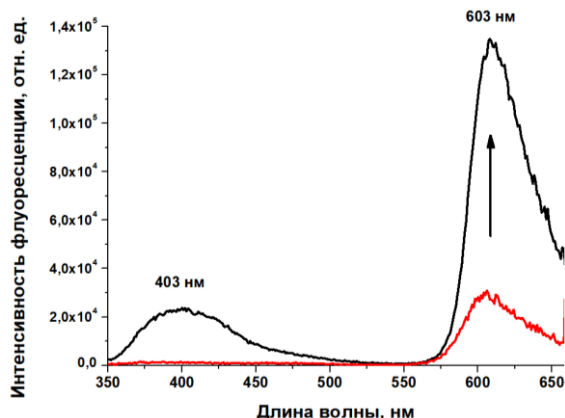


Рисунок 5 – Спектры флуоресценции комплекса красителей **6** и **10** ($C_{10} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ М, $C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$ М) (черный), свободного красителя **6** ($C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$ М) (красный) при $\lambda_{\text{возб}} = 327$ нм в CH_2Cl_2 при 20 °С

Процесс переноса энергии также наблюдается в ансамбле красителей **11** (донор энергии) и **6** (акцептор энергии).

В свободном несимметричном красителе **12** при возбуждении незаряженной части красителя светом 327 нм наблюдается флуоресценция заряженного стирилового фрагмента, что свидетельствует о переносе энергии с незаряженной части на заряженную с высокой эффективностью. В связи с этим можно предположить, что в комплексе **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. 6).

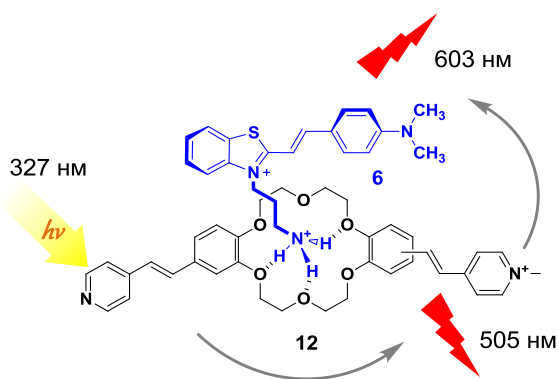


Рисунок 6 – Схема каскадного переноса энергии в супрамолекулярном ансамбле бисстирилового красителя **12** и моностирилового красителя **6**

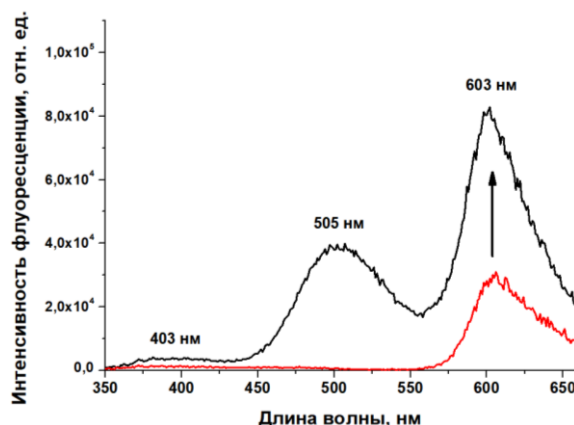


Рисунок 7 – Спектры флуоресценции комплекса красителей **6** и **12** ($C_{12} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ М, $C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$ М) (черный), свободного красителя **6** ($C_6 = 1 \cdot 10^{-4}$ М) (красный) при $\lambda_{\text{возб}} = 327$ нм в CH_2Cl_2 при 20 °С

Как видно из рисунка 7, 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. Следовательно, энергия поглощенного фотона переносится как на заряженную часть молекулы, так и на центральный моностириловый краситель. Последний может получить энергию как от незаряженного фрагмента, так и в результате каскадного переноса энергии. Предположение о реализации каскадного переноса энергии основывается на фактах эффективного переноса энергии в несимметричном красителе **12** и между заряженным бисстириловым красителем **11** и **6**. Следует также отметить, что флуоресценция свободного моностирилового красителя **6** имеет значительно меньшую интенсивность по сравнению с флуоресценцией в комплексе с красителем **12** (Рис. 7, красный спектр).

Квантово-химический анализ комплексов был осуществлен с использованием программы МОРАС (метод РМ7). Установлено, что протеканию переноса энергии в супрамолекулярных ансамблях, включающих пиридиниевые моностириловые красители **2** и **4**, может препятствовать неподходящее (не параллельное) расположение пиридиниевых красителей **2** и **4** по отношению к бисстириловому красителю.

Взаимное расположение уровней ВЗМО и НСМО красителей **10**, **11**, **2** и **6** подтверждает возможность переноса энергии как между нейтральными и заряженными фрагментами в соединении **12**, так и в комплексах стироловых красителей. Согласно расположению уровней ВЗМО и НСМО в супрамолекулярных ансамблях, включающих моностириловый краситель **6**, протекание конкурирующего процесса – фотоиндуцированного переноса электрона – имеет меньшую вероятность, чем в случае ансамблей, содержащих пиридиниевые моностириловые красители **2** и **4**.

Таким образом, с использованием комплементарных компонент возможно создавать супрамолекулярные комплексы красителей, в которых реализуется процесс переноса энергии. Преимуществом подобных комплексов является возможность изменения компонент без использования синтетических методов. Варьирование компонент помогает подобрать условия для осуществления переноса энергии, в том числе и каскадного.

3. Супрамолекулярные ансамбли несимметричного бисстирилового производного с молекулами-контейнерами

Кукурбитурилы склонны к связыванию катионных молекул, циклодекстрины же, напротив, образуют комплексы с нейтральными органическими молекулами. В качестве молекулы-гостя в данной работе использовался несимметричный бисстириловый краситель **12**, содержащий две независимые хромофорные системы: нейтральную и положительно-заряженную, поэтому данное соединение способно связываться с каждой из макромолекул или двумя одновременно (Рис. 8).

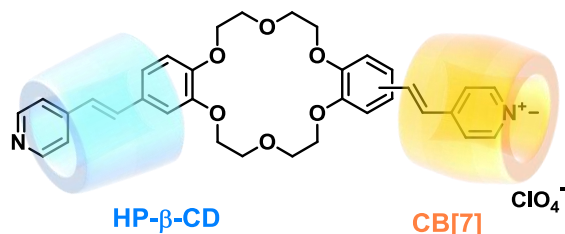


Рисунок 8 – Строение супрамолекулярного ансамбля **HP-β-CD-12-CB[7]**

В качестве молекул-хозяев были выбраны 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин (**HP-β-CD**) и кукурбит[7]урил (**CB[7]**), соединения, хорошо растворимые в водных средах и обладающие оптимальными размерами полости для связывания стирилпиридиновых фрагментов.

3.1. Комплексообразование бисстирилового красителя **12** с **HP-β-CD**

При взаимодействии несимметричного красителя **12** с **HP-β-CD** максимум поглощения красителя, соответствующий незаряженному хромофору, претерпевает небольшой bathochromный сдвиг: $\Delta\lambda_{\text{max}} = 8$ нм. 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.

Более ранние исследования комплексообразования симметричного незаряженного красителя **10** с **HP-β-CD** показали разгорание флуоресценции красителя в 5 раз при образовании комплексов включения. 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.

Образование комплексов **HP-β-CD** – **12** было также подтверждено с помощью данных ИЭР масс-спектрометрии. В спектре красителя **12** в присутствии 5 экв. **HP-β-CD** и 2 экв. NaClO_4 был обнаружен набор сигналов в области 1003.46-1061.45 m/z, соответствующий молекулярному иону комплекса $[\mathbf{12}+\text{HP-}\beta\text{-CD}+\text{Na}+2\text{H}_2\text{O}]^{2+}$. Группа сигналов при 1447.48-1621.62 m/z отвечает молекулярному иону $[\text{HP-}\beta\text{-CD}+\text{Na}]^+$ (Рис. 9).

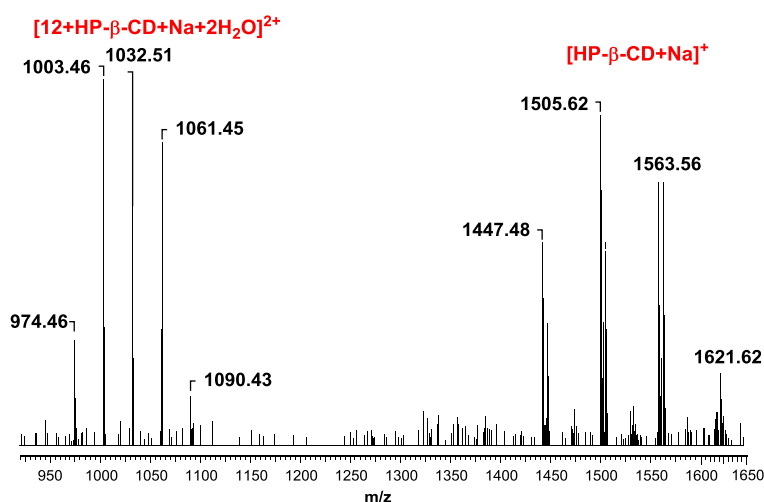


Рисунок 9 – Фрагмент масс-спектра **12** в присутствии **HP-β-CD** и NaClO_4 в воде

3.2. Комплексообразование бисстирилового красителя **12** с кукурбит[7]урилом

Добавление алиquot раствора **CB[7]** к раствору лиганда приводит к значительному bathochromному сдвигу ($\Delta\lambda_{\text{max}} = 27$ нм) полосы поглощения, соответствующей заряженной части красителя, при этом максимум незаряженного хромофора практически не претерпевает изменений (Рис. 10). Эти данные свидетельствуют о том, что координация **CB[7]** происходит по заряженной части молекулы. 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.

Было обнаружено, что добавление алиquot **CB[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 (Рис. 11). Кроме того

увеличение концентрации СВ[7] вызывает уменьшение интенсивности полосы флуоресценции заряженного фрагмента при 530 нм и приводит к появлению новой широкой полосы при 420 нм, соответствующей флуоресценции незаряженной части красителя. Тушение флуоресценции в случае красителя **12** может быть связано с агрегацией красителя при связывании с СВ[7].

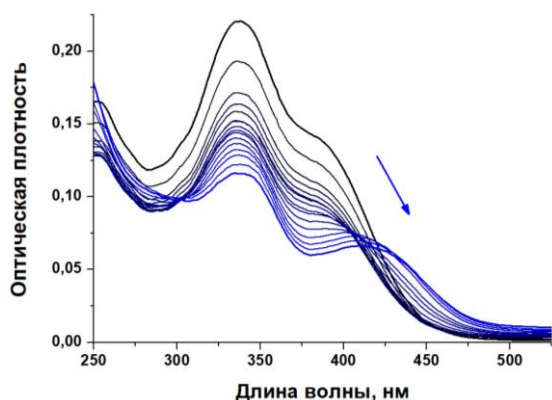


Рисунок 10 – Спектрофотометрическое титрование **12** СВ[7] в боратном буфере (рН = 9.4) при 25 °С, $C_{12} = 1 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{СВ[7]}} = 0 - 4.1 \cdot 10^{-4}$ М

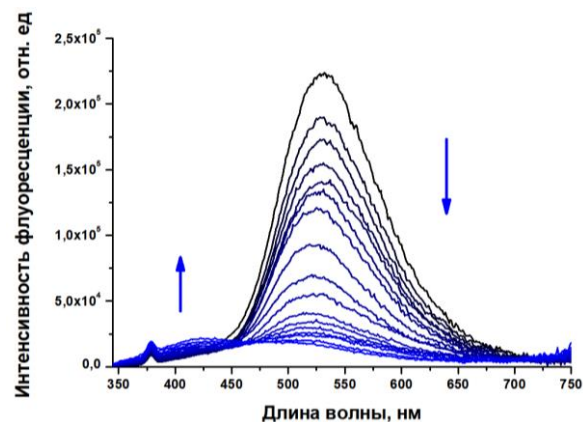


Рисунок 11 – Спектрофлуориметрическое титрование красителя **12** СВ[7] в боратном буфере (рН = 9.4) при $\lambda_{\text{возб}} = 335$ нм при 25 °С, $C_{12} = 1 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{СВ[7]}} = 0 - 5.5 \cdot 10^{-4}$ М

Для подтверждения образования комплекса красителя **12** с СВ[7] и определения его структуры применялась ЯМР спектроскопия. При увеличении концентрации макроцикла наблюдается сдвиг сигналов протонов пиридинового фрагмента и двойной связи заряженного хромофора красителя в сильные поля. В то же время сигналы протонов, соответствующих незаряженному фрагменту лиганда, претерпевают значительно меньшие сдвиги. Это свидетельствует о преимущественном расположении молекулы-контейнера на заряженном пиридиновом фрагменте. При значительном избытке кукурбитурила 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, а затем инкапсулированием этой части красителя кукурбитурилом. 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].

Дополнительным доказательством образования комплексов СВ[7] с несимметричным красителем **12** служат данные масс-спектрометрии. В масс-спектре **12** в присутствии СВ[7] и NaClO_4 был обнаружен пик с m/z 872.31, соответствующий иону комплекса протонированного красителя $[\text{12}+\text{H}+\text{СВ7}]^{2+}$.

3.3. Изучение тройного комплекса НР-β-CD-12-СВ[7]

Получение тройного комплекса осуществляли как добавлением СВ[7] к комплексу красителя с НР-β-CD, так и добавлением НР-β-CD к комплексу краситель-СВ[7]. При этом 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].

Добавление СВ[7] к комплексу лиганд-НР-β-CD приводит к тушению флуоресценции красителя, а также к небольшому сдвигу максимума флуоресценции в коротковолновую

область. Аналогичные изменения флуоресценции красителя наблюдались при образовании комплекса лиганд-СВ[7]. С другой стороны добавление избытка **НР-β-CD** к комплексу краситель-СВ[7] не приводит к изменениям в спектре флуоресценции комплекса **12-СВ[7]**.

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

Другим возможным сценарием является образование агрегатов красителя в присутствии СВ[7]. В пользу данного предположения свидетельствуют также данные флуоресцентных исследований **12** с кукурбит[7]урилом. Кроме того, согласно полученным ранее данным, константы комплексообразования незаряженного красителя **10** с СВ[7] выше констант связывания с **НР-β-CD**. Что также может объяснять возможность координации обоих, как заряженного, так и незаряженного, стироловых 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 **НР-β-CD**, СВ[7] и NaClO₄ был обнаружен сигнал при 1696.62 m/z, соответствующий иону $[12+НР-β-CD+СВ7+Na+8H_2O]^{2+}$, который отвечает тройному комплексу (Рис. 12). Кроме того сигнал 1703.46 m/z, по-видимому, соответствует агрегату трех молекул красителя и кукурбит[7]урилу.

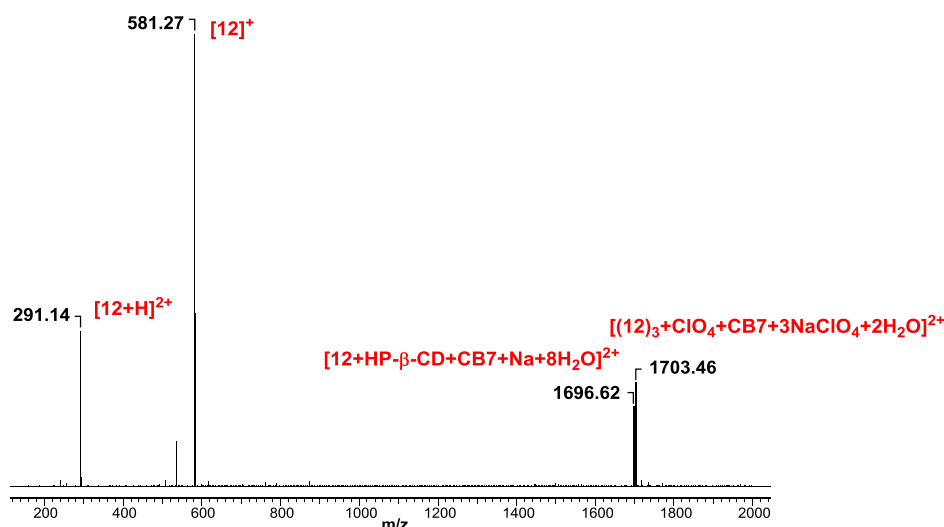


Рисунок 12 – Масс-спектр **12** в присутствии **НР-β-CD**, СВ[7] и NaClO₄ в воде

Таким образом, в присутствии лиганда и двух различных макроциклических контейнеров **НР-β-CD** и СВ[7] возможно образование нескольких типов супрамолекулярных ансамблей: трехкомпонентного комплекса **НР-β-CD-12-СВ[7]**, агрегатов, формирующихся в полости СВ[7], а также комплекса СВ[7]-12-СВ[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.

4. Связывание моно- и бисстириловых краун-содержащих красителей с ДНК лосося

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. В начале титрования добавление ДНК к

раствору бисстириловых красителей **11** и **16** приводит к уменьшению интенсивности полосы поглощения красителей с небольшим bathochromным смещением максимума поглощения. Дальнейшее увеличение концентрации ДНК приводит к повышению интенсивности полосы поглощения и ее bathochromному сдвигу до 8 нм для **11** и 15 нм в случае красителя **16** (Рис.13а, Таблица 1). В то же время для моностириловых красителей **8** и **9** наблюдалось только уменьшение интенсивности поглощения и небольшой bathochromный сдвиг максимума поглощения (Рис.13б, Таблица 1). Длинноволновый сдвиг в спектрах поглощения красителей объясняется отрицательным сольватохромным эффектом, так как при связывании с ДНК меняется полярность окружения лиганда.

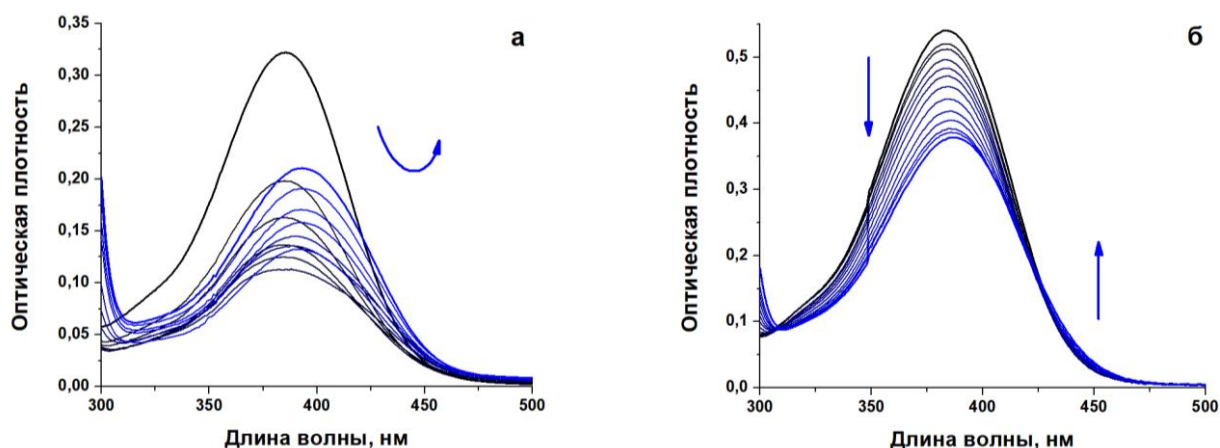


Рисунок 13 – Спектрофотометрическое титрование **11** (а), **8** (б) ДНК лосося в имидазольном буфере при pH = 7.2. $C_{11} = 1 \cdot 10^{-5}$ М, $C_8 = 2 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{ДНК}} = 0 - 5 \cdot 10^{-5}$ М

Таблица 1 – 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	λ_{abs} , нм		λ_{fl} , нм		I_{max}/I_0	Стоксов сдвиг, см ⁻¹	
	свободный краситель	краситель в присутствии ДНК	свободный краситель	краситель в присутствии ДНК		свободный краситель	краситель в присутствии ДНК
11	385	393	541	526	2.5	7490	6434
16	457	472	614	607	13	5595	4712
8	384	388	546	527	5	7727	6798
9	455	461	610	603	33	5585	5108

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 (Таблица 1). 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.14а, б, Таблица 1).

Известно, что органические молекулы могут образовывать с ДНК комплексы различных типов: интеркалировать между парами азотистых оснований ДНК, залезать в бороздку ДНК или связываться снаружи спирали ДНК. Кроме того в литературе известны примеры образования агрегатов катионных цианиновых и стироловых красителей в присутствии ДНК.

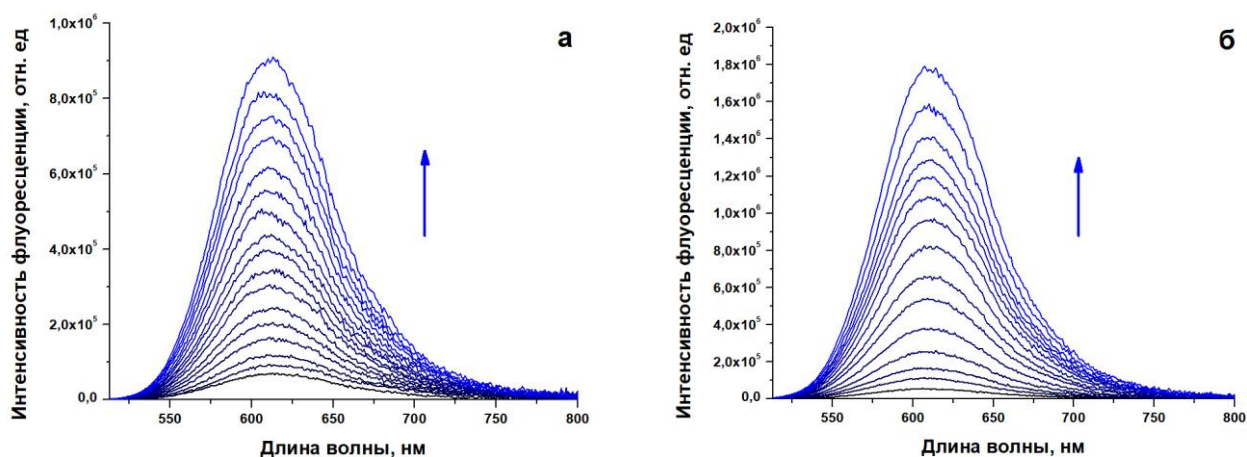


Рисунок 14 – Спектрофлуориметрическое титрование красителей **16** (а), **9** (б) при ДНК $\lambda_{ex} = 503$ нм в имидазольном буфере при pH = 7.2. Концентрация лигандов во всех случаях $C = 1 \cdot 10^{-5}$ М; $C_{ДНК} = 0 - 3.41 \cdot 10^{-4}$ М

Спектральные изменения, наблюдаемые при добавлении ДНК к моностириловым красителям **8** и **9**, свидетельствуют о связывании посредством укладывания в бороздку ДНК. Комплексообразование бисстириловых красителей **11** и **16** более сложное. Характер изменений спектров флуоресценции и поглощения красителей свидетельствует о протекании двух процессов при связывании данных соединений с ДНК. Было предположено, что при избытке лиганда в начале титрования происходит образование агрегатов красителей, подобные явления также были описаны в литературе. Последующее увеличение концентрации ДНК вызывает разрушение агрегатов и образование комплексов краситель-ДНК путем связывания по малой бороздке, что сопровождается усилением флуоресценции.

Комплексообразование красителей с ДНК было также изучено с помощью спектроскопии кругового дихроизма (КД). Наличие интенсивного бифазного сигнала, имеющего точку перегиба в области поглощения комплекса ДНК-лиганд, в спектрах бисстириловых красителей является признаком образования агрегатов в бороздке ДНК (Рис. 15а). Моностириловые красители **8** и **9** характеризуются слабым отрицательным сигналом индуцированного КД в присутствии ДНК (Рис. 15б). Согласно литературным данным такое изменение в спектрах возможно при связывании данных красителей с малой бороздкой ДНК.

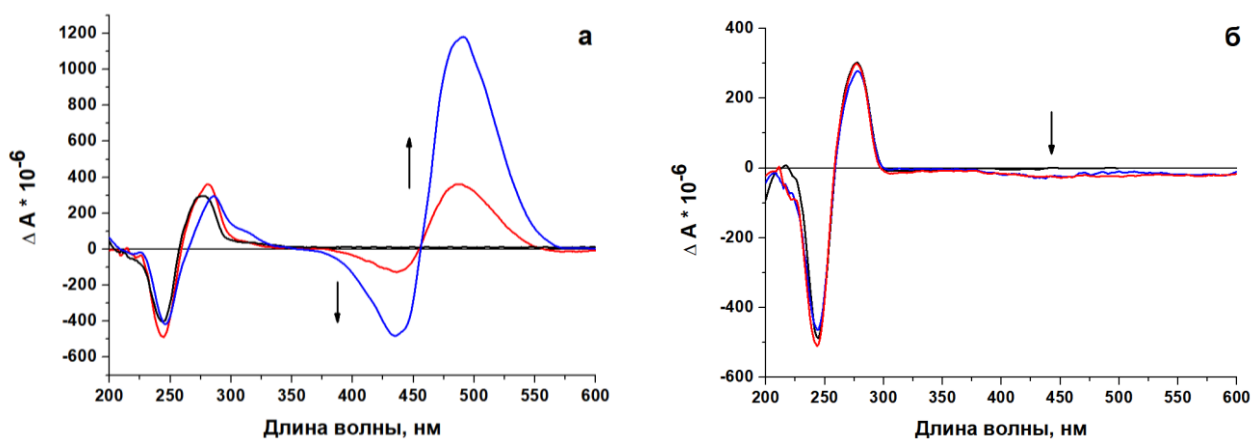


Рисунок 15 – Спектры кругового дихроизма смесей ДНК лосося ($C_{ДНК} = 1 \cdot 10^{-4}$ М) с лигандами **16** (а), **9** (б) в имидазольном буфере при pH = 7.2 при различных соотношениях $C_{лиг} / C_{ДНК}$ (r): $r = 0$ (черный); $r = 0.3$ (красный); $r = 0.6$ (синий)

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

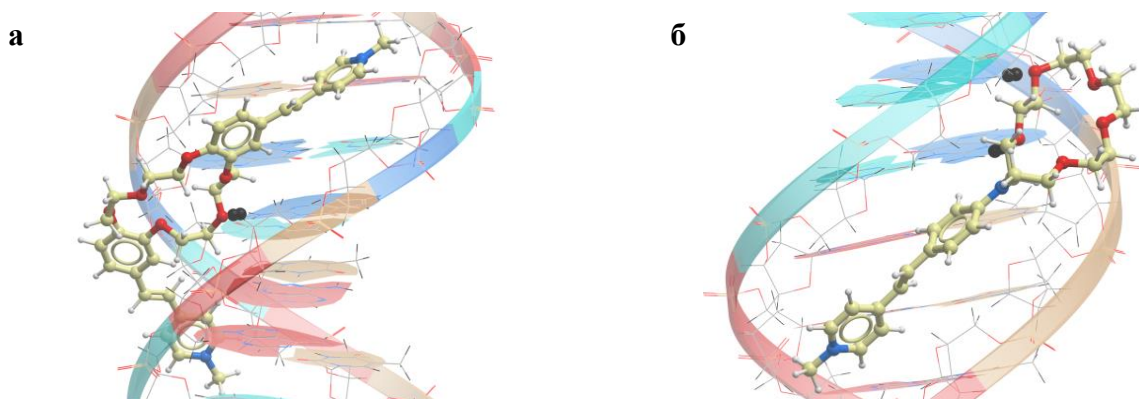


Рисунок 16 – Наиболее выгодные конформации комплексов ДНК-лиганд, полученные методом молекулярного докинга при использовании программных пакетов Sybyl-X (Certara, USA) и Molsoft ICM-Pro 3.8.6.: **11**(а); **9** (б). Водородные связи обозначены черным цветом

Кроме того, была показана возможность образования димеров бисстироловых красителей при низких концентрациях ДНК. Агрегация в таких системах возможна за счет укладки поликонъюгированных хвостов, как показано на рисунке 17.

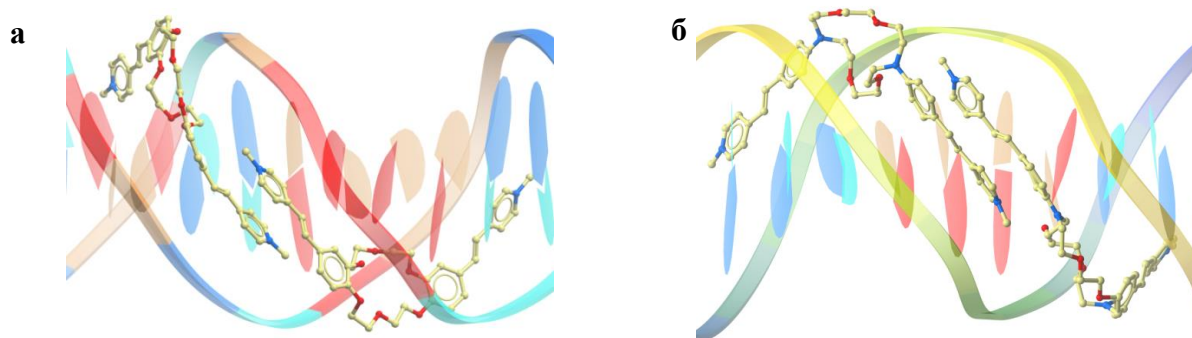


Рисунок 17 – Расположение агрегированных красителей в молекуле ДНК для красителей **11** (а) и **16** (б)

Лабораторией физической химии полимеров ИНЭОС РАН были определены параметры связывания красителей и ДНК при использовании метода высокочувствительной сканирующей калориметрии. Для бисстироловых красителей **11** и **16** константы связывания оказались наиболее высокими: $k_b = (4.3 \pm 0.1) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ и $k_b = (1.24 \pm 0.01) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ соответственно. Моностироловые красители **8** и **9**, напротив, связываются с ДНК гораздо слабее: $k_b = (7.5 \pm 0.1) \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}$ и $k_b = (6.6 \pm 0.1) \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}$ соответственно. 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.

Таким образом, на основании полученных результатов был сделан вывод, что данные красители связываются с малой бороздкой ДНК. Данные результаты были подтверждены методом молекулярного моделирования. При низких концентрациях ДНК бисстироловые красители образуют агрегаты, залегающие в малой бороздке. Увеличение концентрации ДНК приводит к разрушению димеров, что способствует появлению интенсивной флуоресценции бисстироловых красителей в комплексе с ДНК.

5. Управление взаимодействием краситель-ДНК посредством капсулирования в полость молекулы-контейнера

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. 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.

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 телят, а в роли молекулы-контейнера выступал кукурбитурил с семью гликольурильными фрагментами – СВ[7].

Взаимодействие бисстирилового производного **16** с ДНК тимуса телят было исследовано с помощью спектрофотометрического и спектрофлуориметрического титрований, КД, а также с помощью спектроскопии ЯМР. Спектральные изменения указывают на то, что лиганд связывается с ДНК тимуса телят 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.

Для изучения связывания лиганда **16** с ДНК методом спектроскопии ЯМР был использован додекамер Дикерсона 5'-d(CGCGAATTCGCG)2: самокомплементарный двухцепочечный олигомер, принимающий конформацию В-ДНК в водном растворе. При увеличении концентрации олигомера наблюдался сдвиг сигналов всех ароматических протонов и протонов при двойной связи в область слабых полей, одновременно с этим наблюдается постепенное уширение сигналов и уменьшение их интенсивности (Рис. 18). Данное изменение свидетельствует о связывании лиганда с макромолекулой.

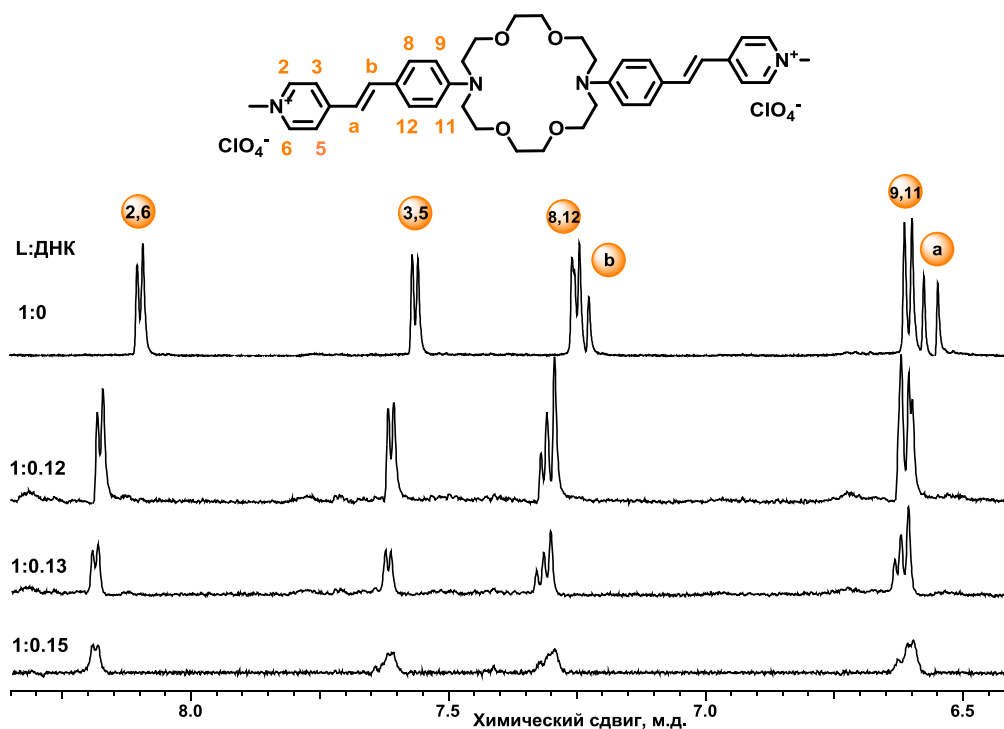


Рисунок 18 – Спектры ^1H ЯМР (ароматическая часть) в натрий-фосфатном буфере: D_2O 9:1 при различном соотношении лиганд **16**: додекамер Дикерсона

Процесс комплексообразования лиганд-**СВ[7]** был изучен с помощью оптической и ЯМР-спектроскопии. Флуориметрическое титрование красителя раствором **СВ[7]** приводит к смещению полосы флуоресценции на 21 нм и разгоранию флуоресценции лиганда в 15 раз, что свидетельствует об образовании комплекса включения (Рис. 19). Согласно данным ^1H ЯМР спектроскопии молекула-контейнер локализуется на этиленпиридиновом фрагменте красителя.

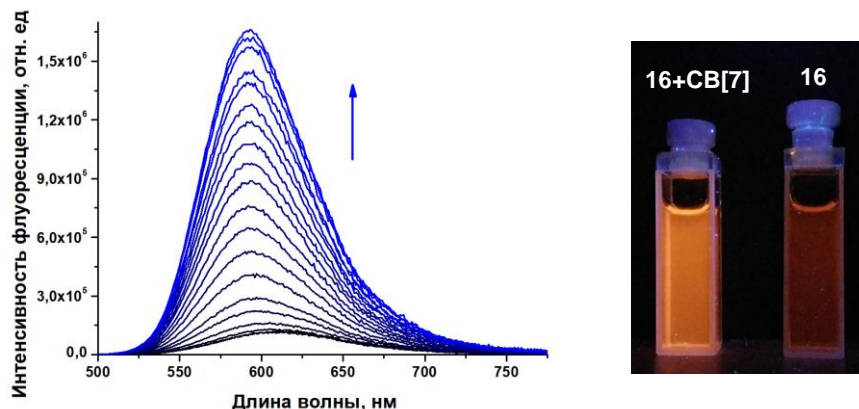


Рисунок 19 – Спектрофлуориметрическое титрование красителя **16** раствором **СВ[7]** при $\lambda_{\text{возб}} = 458$ нм в натрий-фосфатном буфере при $\text{pH} = 7.0$. $C_{16} = 1 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{СВ[7]}} = 0 - 1.5 \cdot 10^{-4}$ М

Для того чтобы оценить влияние инкапсулирования на модель связывания красителя с ДНК, была проведена серия экспериментов с использованием спектроскопии КД. Показано, что по мере увеличения концентрации **СВ[7]** наблюдалось уменьшение интенсивности (вплоть до полного исчезновения) бифазного сигнала, свидетельствующего об образовании агрегатов красителя. Спектры поглощения и флуоресценции раствора, анализированного с помощью метода КД, подтвердили образование тройного комплекса **СВ[7]**–лиганд–ДНК.

Экспериментально наблюдаемое явление согласуется с молекулярным моделированием данного процесса (Рис. 20).

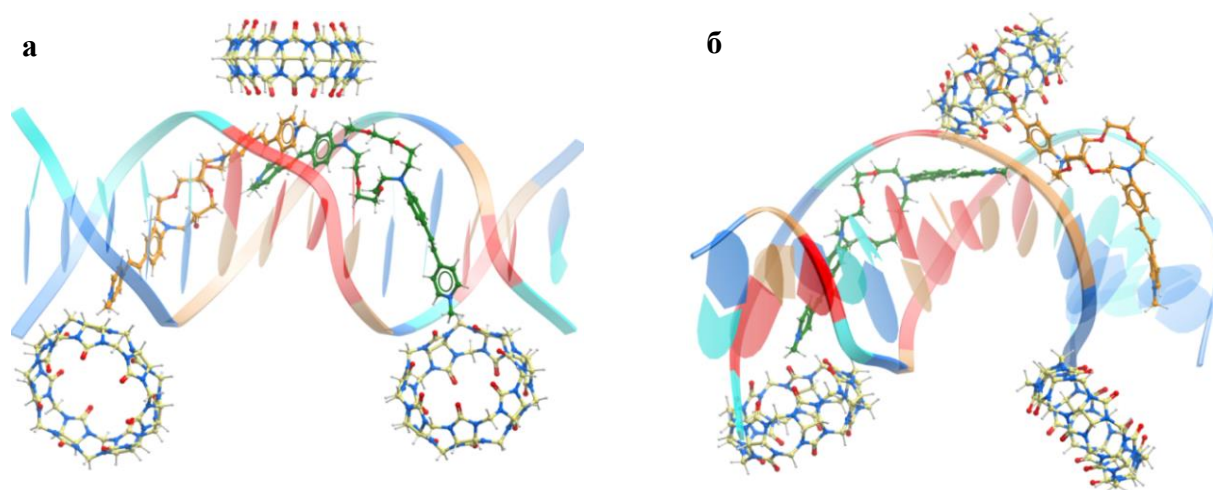


Рисунок 20 – Локализация ДНК, красителя **16** и **СВ[7]** на начальной (а) и конечной (б) стадиях молекулярного моделирования. Расчет выполнен при использовании программных пакетов Sybyl-X (Certara, USA) и Molsoft ICM-Pro 3.8.6

Комплексное исследование тройной системы **16-СВ[7]-ДНК** продемонстрировало активную роль **СВ[7]**: он помогает предотвратить агрегацию красителя в бороздке ДНК, способен образовывать тройные комплексы **16-СВ[7]-ДНК**, а при определенных условиях высвобождать краситель из бороздки ДНК.

ВЫВОДЫ

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

2. Получены супрамолекулярные комплексы моностирилового бензотиазолевого красителя с краун-содержащими бисстириловыми красителями, в которых наблюдается фотоиндуцированный перенос энергии, в том числе каскадный.

3. Для бисстирилового красителя, содержащего заряженный и незаряженный пиридиновые фрагменты, продемонстрирована способность к одновременному связыванию с молекулами циклодекстрина и кукурбитурила. Обнаружено образование агрегатов красителей 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 агрегации красителя в бороздке ДНК.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Статьи:

1. 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.
2. 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.
3. Лебедева (Рулева) А. Ю., Леонтьев Т. Н., Ощепков М. С., Шепель Н. Э., Перегудова С. М., Федоров Ю. В., Федорова О. А. Изучение фотоиндуцированного переноса энергии в супрамолекулярных ансамблях стироловых красителей // *Изв. АН. Сер. хим.* – 2016. – № 10. – С. 2381- 2387.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.

Тезисы конференций:

1. Рулева А.Ю., Черникова Е.Ю., Цветков В.Б., Федоров Ю.В., Федорова О.А. Управление взаимодействием краситель-ДНК посредством капсулирования в полость молекулы-контейнера //

- Открытый конкурс-конференция научно-исследовательских работ по химии элементо-органических соединений и полимеров ИНЭОС OPEN CUP, Москва, 2018, С. 288-289.
2. Черникова Е.Ю., Рулева А.Ю., Цветков В.Б., Федоров Ю.В., Федорова О.А. Инкапсулирование как способ управления взаимодействием лиганд–ДНК // VII Международная конференция по физической химии краун-соединений, порфиринов и фталоцианинов, Туапсе, 2018, С. 81.
 3. Лебедева (Рулева) А.Ю., Черникова Е.Ю., Федорова О.А. Конкурентное взаимодействие бисстириловых красителей с кукурбит[7]урилом и двухцепочечной ДНК // XIII Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии «UCChT-2017», Москва, 2017, С.60-62.
 4. Лебедева (Рулева) А.Ю., Черникова Е.Ю., Бердникова Д.В., Федорова О.А. Конкурентное взаимодействие бисстириловых красителей с кукурбит[7]урилом и двухцепочечной ДНК // V Международная конференция «Супрамолекулярные системы на поверхности раздела», Туапсе, 2017, С. 40.
 5. Lebedeva (Ruleva) A.Yu., Tkachenko S.V., Chernikova E.Yu., Fedorova O.A. Competitive interaction between bis(styryl) dyes derivatized with crown-ether, double-stranded DNA and cucurbit[7]uril // 8th International IUPAC Symposium «Macro- and Supramolecular Architectures and Materials» (MAM-17), Sochi, Russia, 2017, P. 55.
 6. Лебедева (Рулева) А.Ю., Ткаченко С.В., Черникова Е.Ю., Федоров Ю.В., Федорова О.А. Исследование спектральных и комплексообразующих свойств краун-содержащего бисстирилового красителя с молекулами-контейнерами // XII Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии «UCChT-2016», Москва, 2016, С.36-38.
 7. Лебедева (Рулева) А.Ю., Ткаченко С.В., Черникова Е.Ю., Федоров Ю.В., Федорова О.А. Исследование образования супрамолекулярных комплексов бисстириловых красителей с молекулами-контейнерами // VI Международная конференция по физической химии краун-соединений, порфиринов и фталоцианинов, Туапсе, 2016, С. 39.
 8. Lebedeva (Ruleva) A.Yu., Tkachenko S.V., Chernikova E.Yu., Fedorova O.A. Photo-responsive pseudorotaxanes based on cucurbituril-cyclodextrine host combination // VIIIth International Symposium «Design and Synthesis of Supramolecular Architectures» IInd Youth School on Supramolecular and Coordination Chemistry, Kazan, 2016, P. 71.
 9. Лебедева (Рулева) А.Ю., Ткаченко С.В., Черникова Е.Ю., Федорова О.А. Синтез новых бисстириловых красителей и изучение их супрамолекулярных ансамблей с молекулами-контейнерами // Зимняя конференция молодых ученых по органической химии (WSOC-2016), Красновидово, 2016, С. 154.
 10. Леонтьев Т.Н., Лебедева (Рулева) А.Ю., Федорова О.А. Синтез и изучение спектральных свойств стирриловых красителей на основе бензотиазола и пиридина // XI Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии «UCChT-2015», Москва, 2015, С.114-116.
 11. Лебедева (Рулева) А.Ю., Ткаченко С.В., Черникова Е.Ю., Федорова О.А. Синтез краунсодержащих бисстириловых красителей и исследование их супрамолекулярных комплексов с молекулами-контейнерами // Международный Конгресс «KOST-2015», Москва, 2015, С. 241.
 12. Лебедева (Рулева) А.Ю., Ткаченко С.В., Черникова Е.Ю., Федорова О.А. Супрамолекулярные комплексы бисстириловых красителей // IV Международная конференция «Супрамолекулярные системы на поверхности раздела», Туапсе, 2015, С. 47.
 13. Лебедева (Рулева) А.Ю. Синтез, комплексообразование и исследование переноса энергии в комплексах моно- и бисстириловых красителей // X Региональная студенческая научная конференция с международным участием «Фундаментальные науки – специалисту нового века», Иваново, 2014, С. 127.
 14. Лебедева (Рулева) А.Ю., Бердникова Д.В. Синтез, комплексообразование моно- и бисстириловых красителей и исследование переноса энергии в комплексах данных соединений // XXI Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов», Москва, 2014.
 15. Лебедева (Рулева) А.Ю., Бердникова Д.В., Ощепков М.С., Цветкова О.И., Федорова О.А. Фотоиндуцированный перенос энергии в самоорганизующихся системах на основе стирриловых красителей // IX Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии «UCChT-2013», Москва, 2013, С.13-16.