

## ФОТОХРОМНЫЕ ЛИГАНДЫ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ КАТИОНОВ МЕТАЛЛОВ И КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Беликов Н.Е.<sup>1</sup>, Демина О.В.<sup>1</sup>, Левина И.И.<sup>1</sup>, Лукин А.Ю.<sup>2</sup>, Сафинова А.Я.<sup>2</sup>,  
Петровская Л.Е.<sup>3</sup>, Варфоломеев С.Д.<sup>1</sup>, Ходонов А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН  
ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119334, РФ; e-mail: khodonov@gmail.com

<sup>2</sup> МИРЭА – Российский технологический университет  
просп. Вернадского, 78, г. Москва, 119454, РФ

<sup>3</sup> Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН  
ул. Миклухо-Маклая, 16/10, г. Москва, 117997, РФ

Поступила в редакцию 21.06.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0492

**Аннотация.** В настоящей работе рассмотрены проведенные авторами исследования, направленные на разработку новых гибридных структур и способов получения семейства фотохромных меток, способных к фотоуправляемому взаимодействию с неорганическими компонентами, а также результаты изучения их фотохромного поведения и селективности процессов комплексообразования. В работе особое внимание посвящено выбору нужного состава и строения молекул меток и реализации на практике лабораторной технологии синтеза набора целевых соединений с заданными оптическими параметрами. Полученные данные открывают перспективы для использования нового поколения фотохромов, на основе функционализированных спиропиранов, в качестве новых гибридных материалов для создания на их базе: детекторов металлов, компонентов фотохромных систем и прототипов smart-устройств молекулярной электроники.

**Ключевые слова:** фотохромные метки, спиропираны, квантовые точки, катионы металлов, комплексообразование

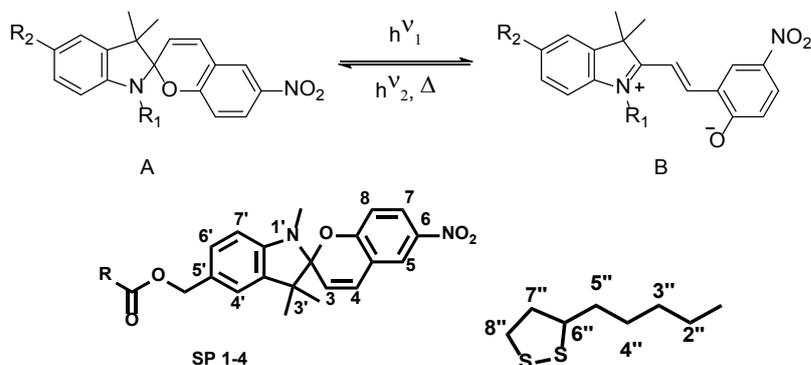
### ВВЕДЕНИЕ

При создании молекул фотохромных меток с заданными спектральными и фотохимическими параметрами на основе фотохромов ряда спиропирана необходимо наличие электроноакцепторного заместителя по 6-положению, чаще всего нитро-группы, при сохранении места введения молекулярного адреса по 5'-положению молекулы [1-6]. В последние годы, с использованием современных синтетических методов, были широко развернуты исследования по поиску эффективных вариантов введения заместителей различной природы по индолениновому фрагменту молекулы спиропирана с целью получения новых структур фотохромов, содержащих молекулярные адреса различной природы и назначения. Оптическими свойствами таких гибридных систем можно обратимо управлять, воздействуя на них светом с контролируемой длиной волны и / или дополнительными стимулами.

Цель настоящей работы состояла: 1) в дизайне целевых структур молекул, 2) в разработке способов получения новых гибридных фотохромных меток **SP 1 – SP 4**, 3) в изучении их фотохромного поведения и процесса комплексообразования с неорганическими компонентами.

Хорошо известно, что в молекулах спиропиранов при освещении светом с длиной волны  $\leq 300 - 350$  нм происходит раскрытие пиранового цикла с образованием окрашенной мероцианиновой формы (B). Данный процесс обратим: обратный переход в спироформу (A) происходит или путем самопроизвольной циклизации в темноте, или при освещении мероцианиновой формы видимым светом.

В химии производных спиропиранов нами ранее был разработан оригинальный путь введения заместителей разнообразного строения при помощи селективного формилирования по Даффу с последующей модификации



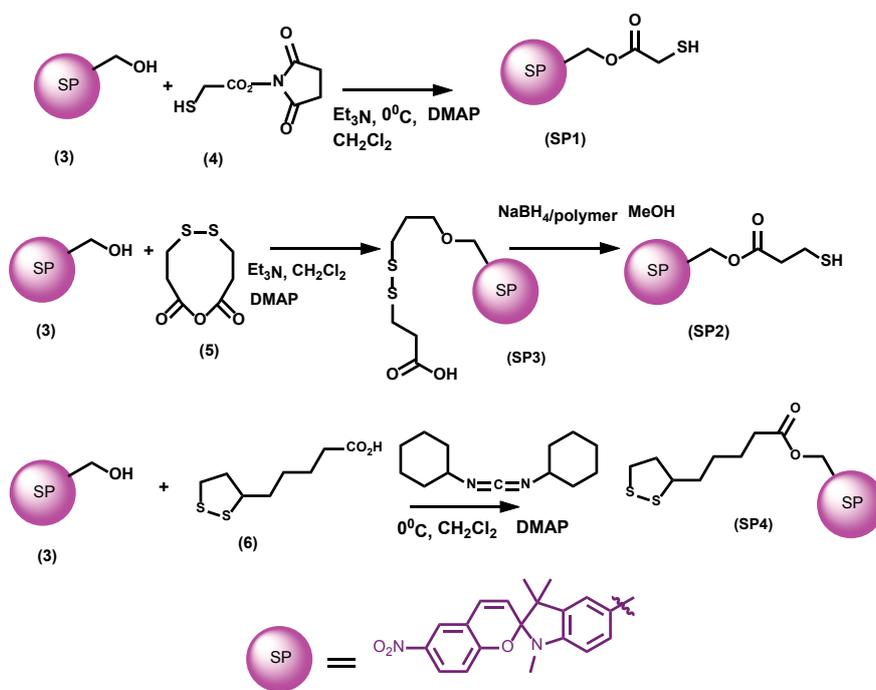
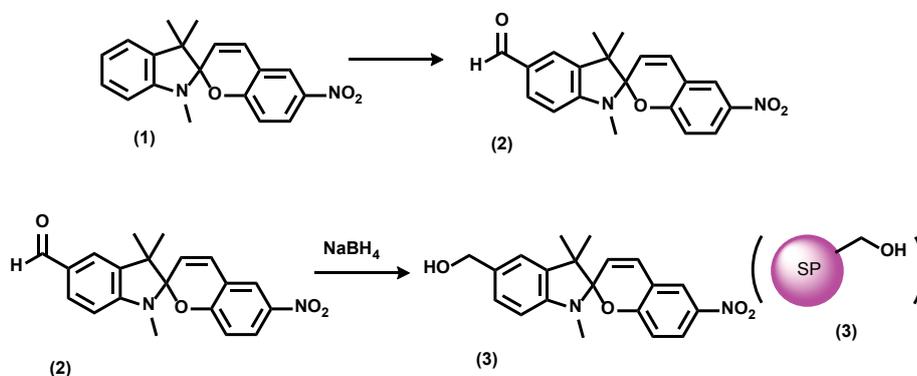
**Рисунок 1.** Структуры целевых фотохромных лигандов **SP 1 – SP 4**, где R =HS-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-; n = 1 (**SP 1**), n = 2 (**SP 2**), HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SS(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- (**SP 3**); (**SP 4**).

формильной функции в 5-м положении молекулы. Исходное соединение 6-нитроспиропиран (рис. 2, 1), было селективно формилировано по С5'-положению индолинового фрагмента в условиях реакции Даффа при помощи запатентованного нами ранее метода (рис. 2), [7,8], давая первый ключевой промежуточный продукт - 6-нитро-5'-формилспиропиран (рис. 2, 2), с выходом 86%. Этот высокоэффективный оригинальный вариант одностадийной прямой модификации молекулы фотохрома выгодно отличался от уже известных ранее реакций электрофильного замещения в ряду производных спиропиранов, проходящих по 5'-му положению индолинового фрагмента. Второй ключевой интермедиат - 5'-гидроксиметил-6-нитроспиропиран (рис. 2, 3) был получен с выходом 46% по ранее разработанному нами методу восстановлением 6-нитро-5'-формилспиропирана (рис. 2, 2) боргидридом натрия (рис. 2) [9,10].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе нами были исследованы несколько вариантов введения по 5'-положению молекулы фотохрома фрагментов разной длины и полярности, содержащих терминальную меркаптогруппу, которая проявляет ионофорные или хелатофорные свойства по отношению к целому ряду неорганических мишеней: катионов металлов и/или квантовых точек.

Ранее нами уже были описаны производные 6-нитро-замещенных спиробензопиранов, содержащие молекулярные адреса, присоединенные по 5' положению индолиновой части молекулы фотохрома и пути их получения. Эти производные содержали: 1) фрагменты пропеновой кислоты и ее N-2-меркаптоэтиламида [2] для модификации квантовых точек; 2) реакционно-способные спейсеры с терминальной тройной связью, предназначенные для модификации компонентов и фрагментов нуклеиновых кислот по реакции



Соногаширы [9] 5'-малеинимидные фрагменты, предназначенные для модификации белков, содержащих остатки цистеина [10].

Для получения необходимых производных фотохромов ряда спиропирана (**SP 1 – SP 4**) нами был разработан ряд методов, представленных на рисунках 2, 3.

Ранее были описаны гибридные фотоактивные системы, представляющие собой комплексы катионов металлов или наносистемы на основе квантовых точек с фотохромными лигандами, с терминальной якорной серу-содержащей группой, расположенной в разных положениях молекулы фотохрома в качестве ионофорного фрагмента молекулы. Например, описана фотохромная система на основе квантовых точек QD CdSe–ZnS и CdS и фотохромного лиганда 2-[3',3'-диметил-6-нитроспиро(2H-1-бензопиран-2,2'-индолин)-1'-ил]этилового эфира 5-(1,2-дителиолан-3-ил)пентановой кислоты, в которой бидентантный серу-содержащий фрагмент этилового эфира 5-(1,2-дителиолан-3-ил)пентаноата был введен в положение N1 индолинового фрагмента молекулы спиропирана [11,12]. Топография подобных фотоактивных систем на основе спиропирановых лигандов, содержащих спейсеры с терминальными серу-содержащими группами по положению N1, имеет пространственные ограничения, допускающие реализацию лишь перпендикулярной взаимной ориентации фрагментов молекулярного адреса и 6-нитро группы, как в спиро- (A), так и в фотоиндуцированной мероцианиновой формах (B) фотохрома, что отрицательно сказывается на квантовом выходе реакции раскрытия пиранового цикла и времени жизни фотоиндуцированной мероцианиновой формы (B). Также подходы к их получению требуют применения сложных и многостадийных методов формирования молекулы целевых спиропиранов.

В данной работе в качестве терминальных реакционноспособных групп нами были предложены монодентантные серу-содержащие лиганды - остатки тиогликолевой и 3-меркаптопропионовой кислот и бидентантный серу-содержащий фрагмент 5-(1,2-дителиолан-3-ил)пентаноата (липоевой кислоты 6), которые вводили в положение C5'-индолиновой части молекулы фотохрома через образование сложно-эфирной связи с гидроксильной функцией спирта (3). Выбор указанного набора серу-содержащих лигандов был необходим для последующей модификации неорганических мишеней с целью получения на их основе гибридных фотоактивных систем, представляющих собой комплексы фотохрома с катионами металлов или наносистемы на основе конъюгатов квантовых точек с фотохромными лигандами.

Ацилирование спирта (3) проводили с помощью классической стратегии – активацией карбоксильной функции серу содержащего лиганда под действием ангидридов, активированных эфиров или конденсирующих агентов (DCCD) в присутствии катализатора 4-диметиламинопиридина. Необходимый реагент для проведения процесса ацилирования спирта (3) – ангидрид 3,3'-дителио-3,3'-дипропионовой кислоты (5) был получен с выходом 65%, как было описано в работе [13].

Целевые фотохромы (**SP 1-4**) были получены с выходами от 43% до 72%, в препаративных количествах, структура всех соединений была охарактеризована набором современных физико-химических методов анализа.

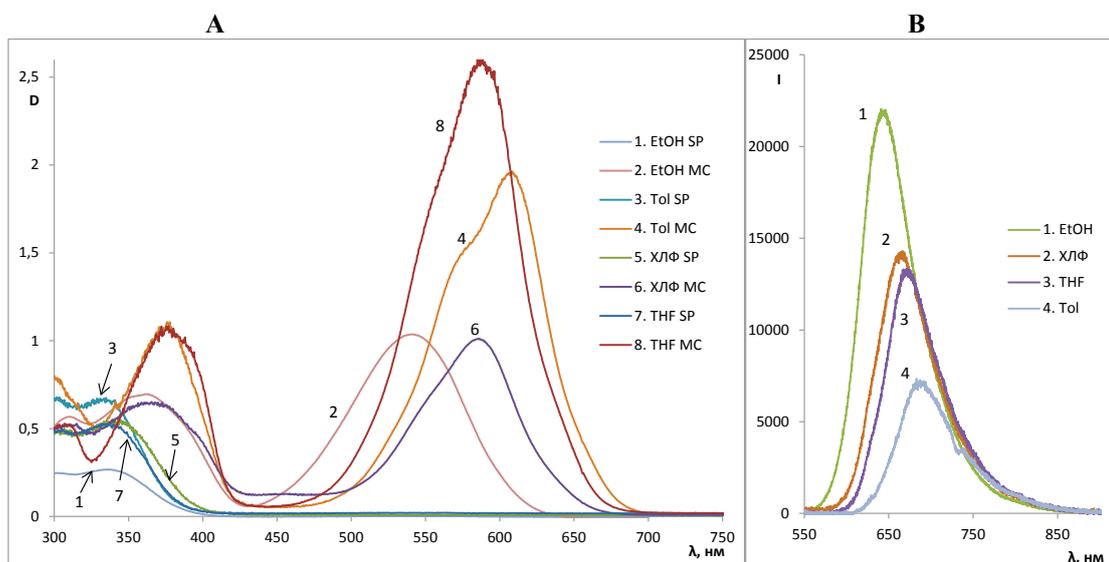
Методы синтеза гибридных фотоактивных систем на основе производных спиропиранов **SP 1 – SP 4** были нами запатентованы [14].

Определенные по стандартным методикам при 25 °С спектрально-абсорбционные и спектрально-флуоресцентные характеристики спиро- (A) и мероцианиновых форм (B) производных спиропиранов **SP 1 – SP 4** приведены в таблице 1, и на рисунках. 4-6.

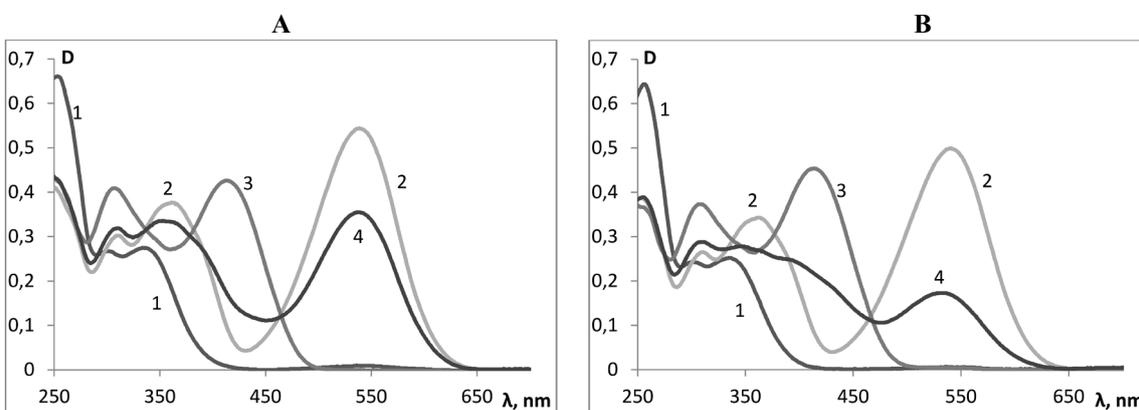
В спектрах поглощения фотоиндуцированных окрашенных мероцианиновых форм (B) всех соединений **SP 1–4** наблюдается явление сольватохромизма. В качестве примера на рисунке 2 показаны спектры поглощения растворов соединения **SP 4** в этаноле, толуоле, ТГФ и хлороформе до УФ облучения (спиро-формы – кривые 1, 3, 5 и 7 соответственно) и после УФ облучения (мероцианиновые формы – кривые 2, 4, 6, 8 соответственно). Спектр поглощения фотоиндуцированных мероцианиновых форм соединения **SP 4** в толуоле содержит полосу с характерным максимумом 606 нм и плечом в области 580 нм. В полярном этаноле (кривая 2) спектр фотоиндуцированной мероцианиновой формы соединения **SP 4** характеризуется единственной полосой поглощения  $\lambda_B = 541$  нм, которая смещена в коротковолновую область относительно соответствующей полосы в толуольном растворе  $\lambda_B = 606$  нм (кривая 4). Максимумы  $\lambda_A$  в спектрах поглощения спиро-форм (A) соединений **SP 1–4** расположены в интервале 330–342 нм и мало зависят от природы растворителя. Все соединения характеризуются высокими значениями эффективности фотоокрашивания  $\Delta D_B^{\text{фот}}$  в диапазоне 0,82 – 5,3.

Далее нами был исследован процесс комплексообразования производных спиропиранов **SP 1 – SP 4** с неорганическими компонентами: 1) катионами металлов и 2) квантовыми точками QD CdSe.

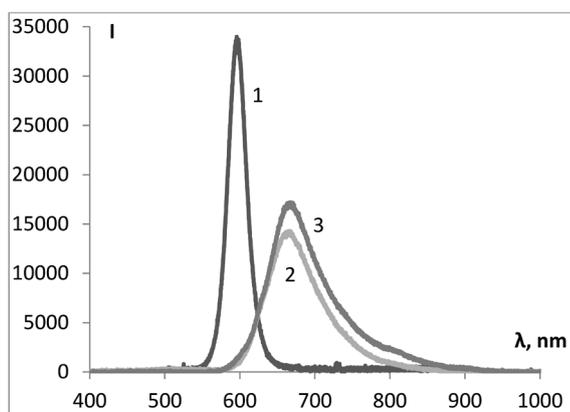
Комплексы фотохромных лигандов **SP 1 – SP 4** с катионами металлов получали в этаноле добавлением от 1 до 100 экв. нитратов одно-, двух- и трехвалентных металлов, как описано в экспериментальной части. Об образовании комплекса свидетельствовал гипсохромный сдвиг основной полосы поглощения фотоиндуцированной мероцианиновой формы  $\Delta\lambda_B = \lambda_{B(\text{свободный лиганд})} - \lambda_{B(\text{комплекс})}$ . Наиболее значительные величины  $\Delta\lambda_B$  наблюдали для комплексов с трехвалентными катионами металлов. Все полученные соединения **SP 1–4** образовывали фотоуправляемые системы с катионами металлов с определенной селективностью. Совпадение максимумов полос поглощения фотоиндуцированной мероцианиновой формы с максимумом этой формы в растворе, содержащем ионы металла, свидетельствует об отсутствии в растворе комплексов с этим катионом.



**Рисунок 4.** А – Спектры поглощения растворов спиро- и мероцианиновой форм **SP 4** в этаноле, толуоле, ТГФ и хлороформе (слева); В – спектры флуоресценции растворов мероцианиновой формы **SP 4** в тех же растворителях (справа). ( $C 10^{-5} \div 5 \times 10^{-5}$  моль/л).

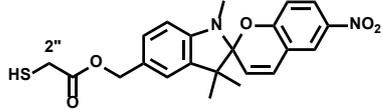
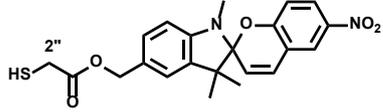
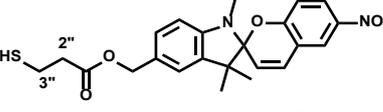
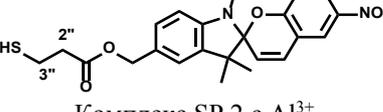
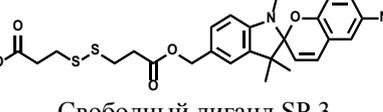
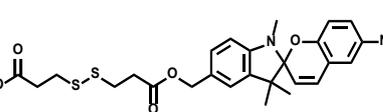
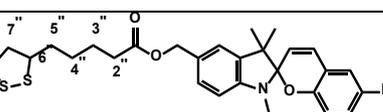
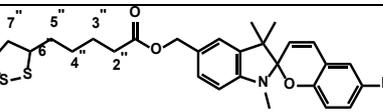


**Рисунок 5.** А – Спектры поглощения растворов в этаноле спиропирана **SP 3**: спиро-формы (кр. 1), мероцианиновой формы (кр. 2), комплекса мероцианиновой формы с  $Al(NO_3)_3$  (кр. 3), комплекса мероцианиновой формы с  $La(NO_3)_3$  (кр. 4); В – Спектры поглощения растворов в этаноле спиропирана **SP 4**: спиро-формы (кр. 1), мероцианиновой формы (кр. 2), комплекса мероцианиновой формы с  $Al(NO_3)_3$  (кр. 3), комплекса мероцианиновой формы с  $La(NO_3)_3$  (кр. 4).



**Рисунок 6.** Спектры флуоресценции в хлороформе раствора препарата QD CdSe (3,7 нм, кр. 1), раствора мероцианиновой формы спиропирана **SP 4** (кр. 2) и конъюгата **SP 4** с QD CdSe (кр. 3).

**Таблица 1.** Спектральные характеристики производных спиропиранов **SP 1 – 4** и их комплексов с квантовыми точками и катионами металлов

Структура	Растворитель	$\lambda_A$ , нм	$\lambda_B$ , нм	$\Delta D_B^{\text{фот}}$	$\lambda_{\text{фл}}$ , нм
 Свободный лиганд SP 1	Этанол	303 <b>330</b> пл 390пл	295 340пл 390пл, <b>538</b>	0,82	635
 Комплекс SP 1 с $Al^{3+}$	Этанол	303 <b>330</b> пл 390пл	296 330пл <b>409</b>	0,73	
 Свободный лиганд SP 2	Этанол	256 303 <b>335</b> пл	256, 307, 346, 390пл, <b>538</b>	0,93	638
 Комплекс SP 2 с $Al^{3+}$	Этанол	302, <b>335</b>	308, <b>414</b>	1,23	
 Свободный лиганд SP 3	Этанол	302, <b>335</b>	362, <b>540</b>	1,78	640
 Комплекс SP 3 с $Al^{3+}$ Комплекс SP 3 с $La^{3+}$	Этанол	302, <b>335</b> 302, <b>335</b>	308, <b>414</b> 308, <b>347</b> , <b>530</b>	1,91 1,07	~540пл, 640 630
 Свободный лиганд SP 4	Этанол	<b>336</b>	<b>541</b>	1,95	642
	Толуол	<b>334</b>	580пл, <b>606</b>	3,63	686
	$CHCl_3$	<b>342</b>	<b>587</b>	0,95	663
	ТГФ	<b>336</b>	<b>586</b>	5,30	672
 Комплекс SP 4 с $Al^{3+}$ Комплекс SP 4 с $La^{3+}$ Комплекс SP 4 с QD CdSe	Этанол	301, <b>336</b>	307, <b>414</b>	1,59	~540пл, 640
	Этанол	301, <b>336</b>	310, <b>350</b> , <b>538</b>	0,94	640
	$CHCl_3$				598→670
Препарат QD CdSe 3,7 нм	$CHCl_3$	<b>585</b>			598

$\lambda_A$ ,  $\lambda_B$  – максимумы полос в спектрах поглощения соответственно спиро-формы (А) и фотоиндуцированной мероцианиновой формы (В) производных спиропирана;

$\lambda_{\text{фл}}$  – максимумы полос в спектрах флуоресценции.

$\Delta D_B^{\text{фот}}$  – эффективность фотоокрашивания определяют как максимальное фотоиндуцированное изменение оптической плотности в максимуме полосы поглощения фотоиндуцированной формы В в состоянии фоторавновесия при одинаковой величине оптической плотности ( $D \approx 0,8$ ) в максимуме полосы поглощения исходной формы А. QD - квантовые точки.

Обнаружено, что изменения максимума полосы поглощения при  $\lambda_B = 530\text{--}540$  нм мероцианиновой формы спиропирановых лигандов при взаимодействии с нитратами лития, натрия, калия, магния, кальция, бария, кобальта, никеля не превышают 3–5 нм и не представляют практического интереса. В качестве примеров в

таблице 1 и на рисунке 5А, 5В приведены спектральные характеристики фотоактивных комплексов, включающих лиганды **SP 1–4** с ионами  $Al^{3+}$  и  $La^{3+}$ .

Хорошо известно, что квантовые точки (QD) являются превосходными FRET-донорами благодаря своему высокому квантовому выходу флуоресценции [2,15-17]. Соединения **SP 1–4** при помощи спейсера с меркаптогруппой могут ковалентно связываться с поверхностью нанокристалла QD CdSe, спектр флуоресценции, которых перекрывается со спектром поглощения мероцианиновой формы спиропирана.

Возможность применения производных спиропиранов с серусодержащими терминальными группами в качестве фотоактивных лигандов для образования гибридных структур с QD была успешно продемонстрирована на следующем примере, в котором в качестве фотохромного лиганда был взят **SP 4**. Вначале были исследованы оптические характеристики препарата QD CdSe с диаметром 3,7 нм. Квантовые точки CdSe диаметром 3,7 нм в растворе хлороформа поглощали в видимой области, с максимумом поглощения 585 нм. Флуоресценцию нанокристаллов CdSe возбуждали при облучении их раствора УФ светом ксеноновой лампы LC-8 фирмы "Hamamatsu" через светофильтр УФС-2 (280-350 нм). Максимум флуоресценции раствора препарата QD CdSe (3,7 нм) в хлороформе приходился на 598 нм, ширина полосы на полувысоте пика составила 30 нм (рис. 6). Было обнаружено, что модификация поверхности QD CdSe фотохромными метками (**SP 1–4**) вызывает тушение их собственной флуоресценции QD (при 598 нм) и индукцию флуоресценции мероцианиновой формы спиропиранового фрагмента лиганда (при 670 нм) при освещении образца в этих условиях. Когда спиропиран находится в спиро-форме, CdSe интенсивно флуоресцирует при 598 нм. При переходе спиропиранового лиганда в фотоиндуцированную окрашенную мероцианиновую форму под действием УФ-облучения исходная флуоресценция нанокристалла CdSe гасится за счет явления FRET. В этих гибридных системах спиро-форма спиропиранового фрагмента лиганда может быть превращена в мероцианиновую форму при облучении светом с длиной волны 300-350 нм ( $\lambda_1$ ), причем оптимальная длина волны – это 342 нм ( $\lambda_{\text{макс}}$  спиро-формы **SP 4**). Наоборот, видимый свет с длиной волны больше, чем 520 нм ( $\lambda_2$ ) вызывает обратный переход мероцианиновой формы в спиро-форму, причем оптимальная длина волны составляет 587 нм ( $\lambda_{\text{макс}}$  мероцианиновой формы **SP 4**). В то же время, возбуждение флуоресценции нанокристаллов QD CdSe можно проводить, выбрав длину волны в диапазоне от 420 до 470 нм ( $\lambda_{\text{ex}}$ ), то есть флуоресценцию QD CdSe можно индуцировать без одновременного запуска перехода мероцианиновой формы в спиро-форму или наоборот.

Таким образом, за счет явления резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET) происходит тушение флуоресценции QD, обусловленное переносом энергии от QD к мероцианиновой форме фотохромного лиганда. При переходе спиропирана из мероцианиновой формы в спиро-форму, резонансный перенос энергии (FRET) не наблюдается, так как спектр поглощения спиро-формы не перекрывается со спектром флуоресценции нанокристаллов CdSe. В этом случае тушение флуоресценции QD CdSe не наблюдается. Также было показано, что данный процесс может быть реализован в управляемом циклическом режиме с достаточно большим количеством повторений цикла – индукция - гашение флуоресценции образца. Полученные нами результаты показали, что гибридную конструкцию типа “QD CdSe / спиропиран” можно использовать для изучения резонансного переноса энергии флуоресценции, а направленное изменение спектральных свойств спиропирана в процессе фотохромного цикла позволяет управлять флуоресценцией всей системы.

Результаты спектрально-кинетических исследований (**SP 1–4**) показали, что полученные гибридные конструкции “QD CdSe / спиропиран” позволяют обратимо управлять флуоресценцией нанокристаллов CdSe посредством обратимой модуляции абсорбционных свойств фотохромного лиганда, с возможностью использования этого типа гибридных материалов как прототипов smart-устройств в нанофотонике, в частности в качестве молекулярных оптических переключателей.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ЯМР-спектры растворов в дейтерохлороформе регистрировали на спектрометре Bruker Avance III-500 (Германия):  $^1H$ -ЯМР-спектры с рабочей частотой 500 МГц,  $^{13}C$ -ЯМР-спектры с рабочей частотой 126 МГц. Химические сдвиги приведены в миллионных долях (м.д.) относительно внутреннего стандарта: дейтерохлороформа ( $\delta$  ( $^1H$ -ЯМР) – 7,25 м.д. и ( $^{13}C$ -ЯМР) – 77,2 м.д.).

[6-Нитро-1',3',3'-триметилспиро[2Н-1-бензопиран-2,2'-индолин]-5'-ил]метилловый эфир 2-меркаптоуксусной кислоты (**SP 1**) (рис. 1)

К охлажденному до  $-5$  °С раствору 300 мг (1,59 ммоль) N-гидроксисукцинимидного эфира тиогликолевой кислоты (4) и 352 мг (1 ммоль) 5'-гидроксиметил-6-нитро-1',3',3'-триметилспиро[2Н-1-бензопиран-2,2'-индолина] (3) в 30 мл абсолютного дихлорометана при перемешивании в атмосфере аргона добавляли 0,44 мл (3,18 ммоль) триэтиламина и затем - 20 мг (0,159 ммоль) 4-(диметиламино)пиридина (DMAP). Реакционную смесь оставляли при перемешивании при 20 °С в течение 3 дней, затем добавляли 100 мл дихлорометана, промывали 1М раствором соляной кислоты до pH 4-5, водой до pH 7, органический экстракт сушили над сульфатом натрия и затем растворитель удаляли. Для выделения целевого продукта использовали флеш-хроматографию на силикагеле, элюент - смесь дихлорометана с 95% этанолом с градиентом последнего от 0% до 40%.

Выход продукта реакции **SP 1** 218 мг (51%), в виде масла,  $R_f$  0,58, система петролейный эфир (т. кип. 40-70 °С) - этилацетат 8:2, по объему, пластинка "Kieselgel 60F<sub>254</sub>", детекция пятен воздействием на проявленную пластинку УФ-света.

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 1,18 (3H, с, 3'a- $\text{CH}_3$ ), 1,28 (3H, с, 3'b- $\text{CH}_3$ ), 2,71 (2H, т, J 7,1, 2''- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2,72 (3H, с, 1'- $\text{CH}_3$ ), 5,01 (2H, с, 5'- $\text{CH}_2$ ), 5,84 (1H, д, J 10,4, 3-H), 6,51 (1H, д, J 7,8, 7'-H), 6,76 (1H, д, J 8,6, 8-H), 6,92 (1H, д, J 10,4, 4-H), 7,11 (1H, с, 4'-H), 7,18 (1H, д, J 7,8, 6'-H), 7,99 (1H, д, J 2,4, 5-H), 8,01 (1H, дд, J 8,8/2,8, 7-H).

Масс-спектр [ $m/z$ ]: 426,1 ( $\text{M}^+$ ).

Найдено (%): С 62,05; Н 5,29; N 6,52.  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ . Вычислено (%): С, 61,96; Н, 5,20; N, 6,57.

6-Карбокси-1-{6-нитро-1',3',3'-триметилспиро[(2H-1-бензопиран-2,2'-индолин)-5'-ил]метоксикарбонил} - 3,4-дитиагексан (**SP 3**) (Схема 2)

К раствору, содержащему 218 мг (1,13 ммоль) ангидрида 3,3'-дитио-3,3'-дипропионовой кислоты (5), 200 мг (0,568 ммоль) 5'-гидроксиметил-6-нитро-1',3',3'-триметилспиро[2H-1-бензопиран-2,2'-индолина] (3) и 7 мг (0,057 ммоль) 4-(диметиламино)пиридина (DMAP) в 30 мл абсолютного дихлорометана, при перемешивании в атмосфере аргона по каплям добавляли раствор 0,16 мл (1,13 ммоль) триэтиламина в 2 мл абсолютного дихлорометана и перемешивали при 20 °С в течение 48 ч, затем реакционную массу промывали 3% раствором соляной кислоты до pH 4-5, водой до pH 7, органический слой сушили над сульфатом натрия и растворитель удаляли. Целевой продукт **SP 3** выделяли при помощи колоночной хроматографии на силикагеле, элюент - смесь петролейного эфира (т. кип. 40-70 °С) с этилацетатом с градиентом последнего от 0% до 100%.

Выход продукта реакции 133 мг (43%) в виде масла,  $R_f$  0,28, система - петролейный эфир (т. кип. 40-70 °С) - этилацетат 4:6 по объему, пластинка "Kieselgel 60F<sub>254</sub>", детекция пятен воздействием на проявленную пластинку УФ-света.

Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 1,18 (3H, с, 3'a- $\text{CH}_3$ ), 1,29 (3H, с, 3'b- $\text{CH}_3$ ), 2,74 (3H, с, 1'- $\text{CH}_3$ ), 2,77 (4H, тд, J 7,1/2,6, 2'',2'''- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2,90 (2H, т, J 7,1, 2''- $\text{CH}_2$ ), 2,95 (2H, т, J 7,1, 3''- $\text{CH}_2$ ), 5,09 (2H, с, 5'- $\text{CH}_2$ ), 5,84 (1H, д, J 10,3, 3-H), 6,51 (1H, д, J 7,9, 7'-H), 6,76 (1H, д, J 8,6, 8-H), 6,92 (1H, д, J 10,3, 4-H), 7,08 (1H, д, J 1,4, 4'-H), 7,20 (1H, дд, J 7,9/1,5, 6'-H), 7,99 (1H, д, J 2,4, 5-H), 8,01 (1H, дд, J 8,8/2,7, 7-H).

[6-Нитро-1',3',3'-триметилспиро[2H-1-бензопиран-2,2'-индолин]-5'-ил]метилловый эфир 3-меркаптопропионовой кислоты (**SP 2**) (рис. 3)

133 мг (0,024 ммоль) 6-карбокси-1-{6-нитро-1',3',3'-триметилспиро[(2H-1-бензопиран- 2,2'-индолин)-5'-ил]метоксикарбонил}-3,4-дитиагексана **SP 3** растворяли в 10 мл этанола, добавляли 12 мг борогидрида на полимерной подложке (Amberlite A-26 ВН<sub>4</sub> форма, Fluka) и встряхивали на шейкере IKA Vortex Genius-3 4 ч, после чего восстановитель отделяли декантированием, промывали 5 мл этанола, этанол упаривали. Целевой продукт **SP 2** выделяли при помощи колоночной хроматографии на силикагеле, элюент - смесь петролейного эфира (т. кип. 40-70 °С) с этилацетатом с градиентом последнего от 0% до 100%.

Выход продукта реакции 76 мг (71%), в виде масла,  $R_f$  0,87, система петролейный эфир (т. кип. 40-70 °С) - этилацетат 4:6 по объему, пластинка "Kieselgel 60F<sub>254</sub>", детекция пятен воздействием на проявленную пластинку УФ-света.

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 1,18 (3H, с, 3'a- $\text{CH}_3$ ), 1,29 (3H, с, 3'b- $\text{CH}_3$ ), 2,72 (3H, с, 1'- $\text{CH}_3$ ), 2,81 (2H, т, J 7,1, 2''- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,77 (2H, т, J 6,0, 3''- $\text{CH}_2$ ), 4,64 (2H, с, 5'- $\text{CH}_2$ ), 5,85 (1H, д, J 10,3, 3-H), 6,52 (1H, д, J 7,9, 7'-H), 6,75 (1H, д, J 8,7, 8-H), 6,92 (1H, д, J 10,3, 4-H), 7,12 (1H, д, J 1,3, 4'-H), 7,19 (1H, дд, J 7,9/1,5, 6'-H), 7,99 (1H, д, J 2,6, 5-H), 8,01 (1H, дд, J 8,8/2,6, 7-H).

Масс-спектр [ $m/z$ ]: 440,5 ( $\text{M}^+$ ).

Найдено (%): С 62,65; Н 5,43; N 6,42.  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ . Вычислено (%): С, 62,71; Н, 5,49; N, 6,36.

[6-Нитро-1',3',3'-триметилспиро[2H-1-бензопиран-2,2'-индолин]-5'-ил]метилловый эфир 5-(1,2-дитиолан-3-ил)пентановой кислоты (**SP 4**) (рис. 3)

К охлажденному до -5°C раствору 29 мг (0,142 ммоль) 5-(1,2-дитиолан-3-ил)пентановой кислоты (6) в 30 мл абсолютного дихлорометана при перемешивании в атмосфере аргона по каплям добавляли раствор 40 мг (0,185 ммоль) N,N-дициклогексилкарбодиимида в 5 мл абсолютного дихлорометана и перемешивали в течение 30 мин, после чего добавляли раствор 50 мг (0,142 ммоль) 5'-гидроксиметил-6-нитро-1',3',3'-триметилспиро[2H-1-бензопиран-2,2'-индолина] (3) и 23 мг (0,170 ммоль) 4-(диметиламино)пиридина (DMAP) в 10 мл абсолютного дихлорометана. Через 6 ч перемешивания выпавший осадок N, N-дициклогексилмочевины отделяли фильтрованием, фильтрат промывали 3% раствором соляной кислоты до pH 4-5, водой до pH 7, органический слой сушили над сульфатом натрия и затем растворитель удаляли. Целевой продукт **SP 4** выделяли при помощи колоночной хроматографии на силикагеле, элюент - смесь петролейного эфира (т. кип. 40-70 °С) с этилацетатом с градиентом последнего от 0% до 100%.

Выход продукта реакции 55 мг (72%), в виде масла,  $R_f$  0,60, система петролейный эфир (т. кип. 40-70 °С) - этилацетат 2:1, по объему, пластинка "Kieselgel 60F<sub>254</sub>", детекция пятен воздействием на проявленную пластинку УФ-света.

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 1,18 (3H, с, 3'a- $\text{CH}_3$ ), 1,29 (3H, с, 3'b- $\text{CH}_3$ ), 1,48 (2H, м, 4''- $\text{CH}_2$ ), 1,68 (4H, м, 3''- и 5''- $\text{CH}_2$ ), 1,88 (1H, тд, J 13,8/6,9, 7''- $\text{CH}_2$ ), 2,36 (2H, т, J 7,4, 2''- $\text{CH}_2$ ), 2,44 (1H, тд, J 12,1/5,8, 7''- $\text{CH}_2$ ), 2,73 (3H, с, 1'- $\text{CH}_3$ ), 3,10 (1H, дт, J 11,1/7,0, 8''- $\text{CH}_2$ ), 3,16 (1H, дд, J 12,3/7,0/5,6, 8''- $\text{CH}_2$ ), 3,55 (1H, м, 6''-CH), 5,06 (2H, с, 5'- $\text{CH}_2$ ), 5,84 (1H, д, J 10,4, 3-H), 6,52 (1H, д, J 7,9, 7'-H), 6,76 (1H, д, J 8,8, 8-H), 6,92 (1H, д, J 10,4, 4-H), 7,07 (1H, с, 4'-H), 7,20 (1H, д, J 7,9, 6'-H), 7,99 (1H, д, J 2,6, 5-H), 8,01 (1H, дд, J 8,8/2,7, 7-H).

Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 20,1 / 26,1 (3'- $\text{CH}_3$ ), 24,9 (3''- $\text{CH}_2$ ), 28,9 (1'- $\text{CH}_3$ ), 29,1 (4''- $\text{CH}_2$ ), 34,4 (2'- $\text{CH}_2$ ), 34,8 (5''- $\text{CH}_2$ ), 38,7 (8''- $\text{CH}_2$ ), 40,4 (7''- $\text{CH}_2$ ), 52,4 (3'-C), 56,5 (6''-CH), 66,9 (5'- $\text{CH}_2$ ), 106,6 (2-C), 107,0 (7'-

C), 115,7 (8-C), 118,8 (4a-C), 121,6 (3-C), 122,7 (4'-C), 122,9 (5-C), 126,1 (7-C), 127,4 (5'-C), 128,6 (4-C), 129,2 (6'-C), 136,8 (3'a-C), 141,2 (6-C), 148,1 (7a'-C), 159,8 (8a-C), 173,7 (1''-C).

Масс-спектр  $[m/z]$ : 540,2 ( $M^+$ ).

Найдено (%): C 62,25; H 6,03; N 5,12.  $C_{28}H_{32}N_2O_5S_2$ . Вычислено (%): C, 62,20; H, 5,97; N, 5,18.

Электронные спектры поглощения растворов полученных соединений регистрировали на спектрофотометре "Shimadzu 1240PC" (Япония) с приставкой для термостатирования образцов. Фотоиндуцированные формы полученных соединений получали облучением светом ксеноновой лампы Hamamatsu модель Lightingcure – LC8 (Hamamatsu, Япония) через светофильтр УФС-2. Спектры поглощения фотоиндуцированных форм регистрировали при помощи системы модульных оптоволоконных спектрофотометров фирмы Ocean Optics (США): электронные спектры поглощения получали на спектрофотометре модель HR-2000+, а спектры флуоресценции – на спектрофлуориметре модель USB4000-FL. Спектрально-абсорбционные и спектрально-флуоресцентные характеристики при 25 °С спиро- (А) и мероцианиновых форм (В) целевых соединений приведены в таблице 1 и на рисунках 4 – 6.

**Получение комплексов катионов металлов со спиропирановыми лигандами SP 1-4.** Комплексы фотохромных лигандов с катионами металлов получали добавлением от 1 до 100 эквивалентов нитратов одно-, двух- и трехвалентных металлов к раствору 1 эквивалента лиганда в этаноле и последующей засветкой образца светом ксеноновой лампы фирмы Hamamatsu модель Lightingcure – LC8 (Hamamatsu, Япония) через светофильтр УФС-2. Процесс контролировали регистрацией спектров поглощения в диапазоне длин волн 350 – 700 нм.

Образцы фотохромных лигандов растворяли в этаноле ( $C=10^{-5} \div 5 \times 10^{-5}$  моль/л), измеряли спектры поглощения растворов, определяли максимумы полос поглощения. Затем растворы облучали УФ светом ксеноновой лампы LC-8 фирмы "Hamamatsu" через светофильтр УФС-2, и повторно измеряли спектры поглощения растворов и определяли максимумы полос поглощения в видимой области спектра.

Совпадение максимумов полос поглощения фотоиндуцированной мероцианиновой формы с максимумом этой формы в растворе, содержащем ионы металла, свидетельствует об отсутствии в растворе комплексов с этим катионом.

**Получение конъюгатов QD CdSe с фотохромными лигандами.** Препарат квантовых точек QD CdSe 3,7 нм был приготовлен, как описано в работе [18]. Конъюгаты QD CdSe с фотохромными лигандами получали смешиванием растворов компонентов в хлороформе в соотношении молярных концентраций QD CdSe: SP = 1:100. Смесь перемешивали в темноте при комнатной температуре в течение 2 ч.

В таблице 1 сопоставлены спектральные характеристики гибридных комплексов (конъюгатов), включающих квантовые точки QD CdSe и лиганд SP 4, со спектральными характеристиками исходных компонентов.

Флуоресценцию нанокристаллов CdSe возбуждали облучением их раствора в хлороформе светом ксеноновой лампы фирмы Hamamatsu модель Lightingcure – LC8 (Hamamatsu, Япония) через светофильтр УФС-2 (280-350 нм). На рисунке 6 в качестве примера сопоставлены спектры флуоресценции в хлороформе: препарата QD CdSe, 3,7 нм (кривая 1), раствора мероцианиновой формы лиганда SP 4 (кривая 2) и конъюгата SP 4–QD CdSe (кривая 3). Максимум флуоресценции раствора препарата QD CdSe в хлороформе приходится на 598 нм, ширина полосы на полувысоте 30 нм. При освещении образца в этих условиях модификация поверхности квантовых точек QD CdSe фотохромными лигандами вызывает тушение их собственной флуоресценции при  $\lambda_{ФЛ}=598$  нм и индукцию флуоресценции при  $\lambda_{ФЛ}=670$  нм мероцианиновой формы спиропиранового фрагмента лиганда. При переходе спиропиранового лиганда в окрашенную мероцианиновую форму под действием УФ-облучения флуоресценция исходных квантовых точек QD CdSe исчезает вследствие, по-видимому, явления резонансного переноса энергии флуоресценции. Вместо нее появляется флуоресценция мероцианиновой формы при  $\lambda_{ФЛ}=670$  нм. Аналогичные процессы имеют место при использовании в качестве фотохромного лиганда любого из соединений SP 1–4. Процесс фотоуправляемого циклического переключения флуоресценции комплексов квантовых точек QD CdSe со спиропирановыми лигандами может быть проведен неоднократно простым изменением длины волны возбуждающего света с 300-350 нм на 500-530 нм и обратно.

Таким образом, нами было показано, что все новые спиробензопираны SP 1–4 обладали ярко выраженными фотохромными свойствами, поэтому в будущем запланировано исследование возможности практического применения этих соединений в качестве фотоактивных лигандов для создания новых гибридных наноструктур с квантовыми точками и катионами металлов.

Полученные данные открывают новые перспективы для использования нового поколения фотохромов на основе функционализированных спиропиранов в качестве новых гибридных материалов для создания на их базе: детекторов металлов, компонентов фотохромных систем и прототипов smart-устройств молекулярной электроники.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-03-00139.*

#### **Список литературы / References:**

1. *Organic Photochromic and Thermochromic Compounds.* Crano J.C., Gugliemetti R.J. Eds., N.Y., London: Plenum Press., 1999, vol. 1, 2, doi: 10.1007/b114211.
2. Звездин К.В., Беликов Н.Е., Лаптев А.В., Лукин А.Ю., Демина О.В., Левин П.П., Бричкин С.Б., Спирин М.Г., Разумов В.Ф., Швеиц В.И., Ходонов А.А. Новые гибридные фотохромные материалы с

переключаемой флуоресценцией. *Российские нанотехнологии*, 2012, т. 7, № 5-6, с. 112-118. [Zvezdin K.V., Belikov N.E., Laptev A.V., Lukin A.Yu., Demina O.V., Levin P.P., Brichkin S.B., Spirin M.G., Razumov V.F., Shvets V.I., Khodonov A.A. New Hybrid Photochromic Materials with Switchable Fluorescence. *Nanotechnologies in Russia*, 2012, vol. 7, no. 5-6, pp. 308-317, doi: 10.1134/S1995078012030172. (In Russ.)]

3. Photosensitive Molecules for Controlling Biological Function. *Neuromethods*, 2011, vol. 55, doi: 10.1007/978-1-61779-031-7\_1.

4. Willner I., Willner B. Photoswitchable biomaterials as grounds for optobioelectronic devices. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1997, vol. 42, pp. 43-57, doi: 10.1016/S0302-4598(96)05152-5.

5. Демина О.В., Беликов Н.Е., Мельникова И.А., Лукин А.Ю., Варфоломеев С.Д., Ходонов А.А. Новые метки и зонды для решения задач бионанопотоники. *Химическая физика*, 2019, т. 38, № 12, с. 44-47. [Demina O.V., Belikov N.E., Melnikova I.A., Lukin A.Yu., Varfolomeev S.D., Khodonov A.A. New Labels and Probes for the Application in Bionanophotonics. *Russ. J. Physical Chemistry B*, 2019, vol. 13, no. 6, pp. 938-941, doi: 10.1134/S1990793119060162. (In Russ.)]

6. Papazoglou E.S., Parthasarathy A. *Bionanotechnology*. Morgan&Claypool, 2007, doi: 10.2200/S00051ED1V01Y200610BME007.

7. Лаптев А.В., Лукин А.Ю., Беликов Н.Е., Швеи В.И., Демина О.В., Барачевский В.А., Ходонов А.А. 5-Формил-замещенные индолиновые спиروبензопираны и способ их получения. Патент РФ № 2358977. Опубликовано 20.06.2009, Бюл. из. № 17. [Laptev A.V., Lukin A.Yu., Belikov N.E., Shvets V.I., Demina O.V., Barachevsky V.A., Khodonov A.A. 5-Formyl-substituted indoline spirobenzopyrans and method for their preparation. Patent of the Russian Federation no. 2358977. Published on 06.20.2009, Bull. no. 17. (In Russ.)]

8. Лаптев А.В., Лукин А.Ю., Беликов Н.Е., Фомин М.А., Демина О.В., Швеи В.И., Ходонов А.А. Фотохромные производные 5'-винил-6-нитро-спиروبензопирана и способы их получения. Патент РФ № 2458927. Опубликовано 20.08.2012, Бюл. из. № 23. [Laptev A.V., Lukin A.Yu., Belikov N.E., Fomin M.A., Demina O.V., Shvets V.I., Khodonov A.A. Photochromic derivatives of 5'-vinyl-6-nitro-spirobenzopyran and methods for their preparation. Patent of the Russian Federation no. 2458927. Published on 20.08.2012, Bull. no. 23. (In Russ.)]

9. Laptev A.V., Lukin A.Yu., Belikov N.E., Barachevsky V.A., Demina O.V., Khodonov A.A., Varfolomeev S.D., Shvets V.I. Ethynyl-equipped spirobenzopyrans as promising photochromic markers for nucleic acid fragments. *Mendeleev Communications*, 2013, vol. 23, no. 3, pp. 145-146, doi: 10.1016/j.mencom.2013.05.008.

10. Laptev A.V., Lukin A.Yu., Belikov N.E., Demina O.V., Khodonov A.A., Shvets V.I. New maleimide spirobenzopyran derivatives as photochromic labels for macromolecules with sulfhydryl groups. *Mendeleev Communications*, 2014, vol. 24, pp. 245-246, doi: 10.1016/j.mencom.2014.06.020.

11. Tomasulo M., Yildiz I., Raymo F.M. Luminescence Modulation with Semiconductor Quantum Dots and Photochromic Ligands. *Australian J. Chem.*, 2006, vol. 59, no. 3, pp. 175-178, doi: 10.1071/CH05332.

12. Tomasulo M., Yildiz I., Raymo F.M. Nanoparticle-induced transition from positive to negative photochromism. *Inorganic Chim. Acta*, 2007, vol. 360, no. 3, pp. 938-944, doi: 10.1016/j.ica.2006.07.029.

13. Liu C., Yuan J., Luo X., Chen M., Chen Z., Zhao Y., Li X. Folate-Decorated and Reduction-Sensitive Micelles Assembled from Amphiphilic Polymer-Camptothecin Conjugates for Intracellular Drug Delivery. *Mol. Pharmaceutics*, 2014, vol. 11, no. 11, pp. 4258-4269, doi: 10.1021/mp500468d.

14. Ходонов А.А., Беликов Н.Е., Лукин А.Ю., Левин П.П., Варфоломеев С.Д., Демина О.В. Фотохромные производные 5'-гидроксиметил-6-нитро-1',3',3'-триметилспиро[2H-1-бензопиран-2,2'-индолина]. Патент РФ № 2694904, опубликовано: 18.07.2019, Бюл. из. № 20. [Khodonov A.A., Belikov N.E., Lukin A.Yu., Levin P.P., Varfolomeev S.D., Demina O.V. Photochromic derivatives of 5'-hydroxymethyl-6-nitro-1',3',3'-trimethylspiro[2H-1-benzopyran-2,2'-indoline]. Patent of the Russian Federation no. 2694904, published: 07.18.2019, Bull. no. 20. (In Russ.)]

15. Разумов В.Ф. Фотоника коллоидных квантовых точек. Под ред. Ключева М.Б. Иваново: Ивановский гос. ун-т, 2017, 272 с. [Razumov V.F. *Photonics of colloid quantum dots*. Klyuev M.B. Ed. Ivanovo Ivanovo State University, 2017, 272 p. (In Russ.)]

16. Олейников В.А., Суханова А.В., Набиев И.Р. Флуоресцентные полупроводниковые нанокристаллы в биологии и медицине. *Российские нанотехнологии*, 2007, т. 2, № 1-2, с. 160-173. [Oleynikov V.A., Sukhanova A.V., Nabiev I.R. Fluorescent semiconductor nanocrystals in biology and medicine. *Nanotechnologies in Russia*, 2007, vol. 2, no. 1-2, pp. 160-173. (In Russ.)]

17. Беликов Н.Е., Демина О.В., Лукин А.Ю., Петровская Л.Е., Складнев Д.А., Варфоломеев С.Д., Ходонов А.А. Исследование технологии селективного маркирования рекомбинантных белков-мишеней и разработка путей синтеза модифицированных квантовых точек CdTe в водных растворах. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2021, т. 6, № 1, с. 88-96. [Belikov N.E., Demina O.V., Lukin A.Yu., Petrovskaya L.E., Skladnev D.A., Varfolomeev S.D., Khodonov A.A. Study of the technology of the recombinant target protein selective labeling and development of the synthetic routes for the modified CdTe quantum dots synthesis in aqueous solutions. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*, 2021, vol. 6, no. 1, pp. 88-96. (In Russ.)]

18. Николенко Д.Ю., Бричкин С.Б., Разумов В.Ф. Неизотермический высокотемпературный коллоидный синтез наночастиц CdSe. *Российские нанотехнологии*, 2009, т. 4, № 11-12, с. 92-95. [Nikolenko D.Yu., Brichkin S.B., Razumov V.F. Nonisothermal High-Temperature Colloidal Synthesis of Cd Se Nanocrystals. *Nanotechnologies in Russia*, 2009, vol. 4, no. 5-6, pp. 790-794, doi: 10.1134/S1995078009110044. (In Russ.)]

**PHOTOCHROMIC LIGANDS FOR MODIFICATION OF METAL CATIONS AND QUANTUM DOTS**  
**Belikov N.E.<sup>1</sup>, Demina O.V.<sup>1</sup>, Levina I.I.<sup>1</sup>, Lukin A.Yu.<sup>2</sup>, Safinova A.Ya.<sup>2</sup>, Petrovskaya L.E.<sup>3</sup>, Varfolomeev S.D.<sup>1</sup>,  
Khodonov A.A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, RAS  
*Kosygina str., 4, Moscow, 119334, Russia*

<sup>2</sup>MIREA – Russian Technological University  
*Vernadsky ave., 78, Moscow, 119454, Russia*

<sup>3</sup>M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS  
*Miklukho-Maclay str., 16/10, Moscow, 117997, Russia; e-mail: khodonov@gmail.com*

Received 21.06.2022. DOI: 10.29039/rusjbc.2022.0492

**Abstract.** In this paper, we consider the studies carried out by the authors aimed at developing new hybrid structures and methods for obtaining a family of photochromic labels capable of photocontrolled interaction with inorganic components, as well as the results of studying their photochromic behavior and the selectivity of complex formation processes. In this paper, special attention is devoted to the choice of the desired composition and structure of label molecules and the practical implementation of laboratory technology for the synthesis of a set of target compounds with specified optical parameters. The data obtained open up prospects for the use of a new generation of photochromes based on functionalized spiropyran as new hybrid materials for the creation on their basis: metal detectors, components of photochromic systems, and prototypes of molecular electronics smart devices.

**Key words:** *photochromic labels, spiropyran, quantum dots, metal cations, complex formation.*