

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биорганической химии им. академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук**

На правах рукописи

БАЛЕЕВА Надежда Сергеевна

**Синтез и свойства флуоресцентных красителей на
основе аналогов хромофора GFP**

Специальность 02.00.10 – «биоорганическая химия»

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
к.х.н. Баранов Михаил Сергеевич

Москва – 2019г.

Содержание

Введение	4
Глава 1. Обзор литературы	6
1.1 Современные методы создания 4-метилен-1H-имидазол-5(4H)-онов	6
1.1.1 Циклизация амидов N-ацилдегидроаминокислот	7
1.1.2 Взаимодействие иминов с эминоэфиром	15
1.1.3 Использование 1H-имидазол-5(4H)-онов	17
1.1.4 Прочие методы синтеза	19
1.2 Арилметеновые флуоресцентные красители	23
1.2.1 Ксантеновые красители	25
1.2.1.1 Производные флуоресцеина	25
1.2.1.2 Производные родамина	27
1.2.2 Красители семейства BODIPY	36
1.2.2.1 Варьирование заместителей	37
1.2.2.2 Создание конденсированных производных BODIPY	41
1.2.2.3 Введение атома азота в восьмое положение	46
1.2.2.4 Замена атомов фтора	49
Глава 2. Обсуждение результатов	51
2.1 Прямые аналоги хромофоров флуоресцентных белков	52
2.1.1 Высокофлуоресцентные синтетические аналоги хромофоров белка Sirius и цианового флуоресцентного белка (CFP)	53
2.1.2 Высокофлуоресцентные синтетические аналоги хромофора белка Kaede	58
2.2 Отдаленные аналоги хромофора GFP	68
2.2.1 Аминные аналоги	68
2.2.1.1 Синтез	70
2.2.1.2 Оптические свойства	71
2.2.1.3 Кислотно-основные свойства	74
2.2.2 Нафталиновые аналоги	77
2.2.2.1 Синтез	77
2.2.2.2 Оптические свойства	79
2.2.2.3 Кислотно-основные свойства	82
2.2.3 Арилацетиленовые аналоги	85
2.3 Функционализированные синтетические аналоги хромофора GFP	87
2.3.1 Введение функциональных групп пригодных для конъюгации с другими молекулами	87
2.3.2 Введение сенсорных групп	94
2.3.2.1 Необратимые сенсоры	94
2.3.2.1 Обратимые pH-сенсоры	96

Глава 3. Экспериментальная часть.....	102
3.1 Материалы и оборудование.....	102
3.2 Синтез	103
3.2.1 Получение имидазолонов на основе иминов	103
3.2.2 Введение дифторборильной группы	103
3.2.3 Получение синтетических аналогов хромофоров белка Sirius, CFP и Kaede .	104
3.2.4 Получение синтетических аналогов хромофоров GFP	113
3.2.5 Получение синтетических аналогов хромофоров GFP с функциональными заместителями	125
3.2.6 Получение карбаматных производных хромофора GFP.....	130
3.2.7 Получение N-гидроксипроизводных хромофора GFP	131
Выводы	135
Благодарности	136
Список сокращений и условных обозначений.....	137
Список литературы.....	138

Введение

Флуоресценция – это способность некоторых веществ испускать свет под действием излучения с меньшей длиной волны. Явление флуоресценции находит широкое применение в различных областях жизни человека: от бытового использования до научно-исследовательской практики.

Особенно важную роль флуоресценция сыграла в развитии биологических исследований. Поскольку большая часть соединений в клетке бесцветна, наблюдение за ними невозможно без предварительного введения каких-либо меток. На сегодняшний день разработано немало методов маркирования и типов меток, но флуоресцентные маркеры выделяются на фоне других благодаря широкому распространению флуоресцентной микроскопии в исследовательских лабораториях и ряду прикладных преимуществ: как правило, они имеют низкую токсичность и безопасны, а использование меток различного окрашивания позволяет специфически «красить» различные биологические объекты одновременно. И хотя научному сообществу удалось достигнуть больших успехов в этой области, поиск идеальной флуоресцентной метки по-прежнему остается актуальным.

Пожалуй, самой популярной флуоресцентной меткой являются флуоресцентные белки. Первый из них – зеленый флуоресцентный белок (GFP) – был выделен еще в 1962 из медузы *Aequorea victoria*, а спустя несколько десятилетий были разработаны уже сотни мутантных белков. Отличительной характеристикой флуоресцентных белков является способность автокаталитически формировать ароматическую структуру – хромофор, который и отвечает за поглощение и испускание белками видимого света.

Сочетание таких свойств хромофора GFP, как малый размер, высокая гидрофильность и высокий коэффициент молярного поглощения, очевидным образом сделало его интересным объектом для исследований. Особенно важным достижением стала разработка метода структурной модификации – введение фиксирующего фрагмента, что привело к многократному увеличению квантового выхода флуоресценции (КВФ) [Баранов, 2013]. Однако, не смотря на высокую перспективность, вопрос создания флуоресцентных маркеров на основе хромофоров не был проработан. В связи с этим целью этой работы стала разработка красителей на основе хромофора GFP.

В рамках поставленной цели было запланировано синтезировать ряд синтетических аналогов хромофоров флуоресцентных белков, изучить оптические свойства полученных соединений и разработать различные подходы их функционализации. В результате нами были созданы высокофлуоресцентные красители и изучено влияние строения молекулы красителя на оптические свойства. Также в ходе работы мы разработали удобные методы введения

функциональных группы, позволяющих использовать красители для конъюгации с биологическими объектами и в качестве сенсоров, что в перспективе может быть использовано для визуализации биологических процессов.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Современные методы создания 4-метилен-1H-имидазол-5(4H)-онов

Хромофоры белков семейства GFP имеют общее структурное ядро – 4-(4-гидроксипбензилиден)-1H-имидазол-5(4H)-он. Биосинтетический путь возникновения этого фрагмента - это модификация собственных аминокислотных остатков белка при участии кислорода воздуха, и катализируется самим белком.

В последние десятилетия в литературе было опубликовано множество методов синтеза 4-метилен-1H-имидазол-5(4H)-онов **A** (далее «имидазолонов») (Схема 1.1.1). Наиболее популярными среди них являются: циклизация амидов N-ацилдегидроаминокислот **B**, взаимодействие имидатов **C¹** с имидами **C²**, а также конденсация 1H-имидазол-5(4H)-онов **D** (далее «насыщенных имидазолонов») с карбонильными соединениями:

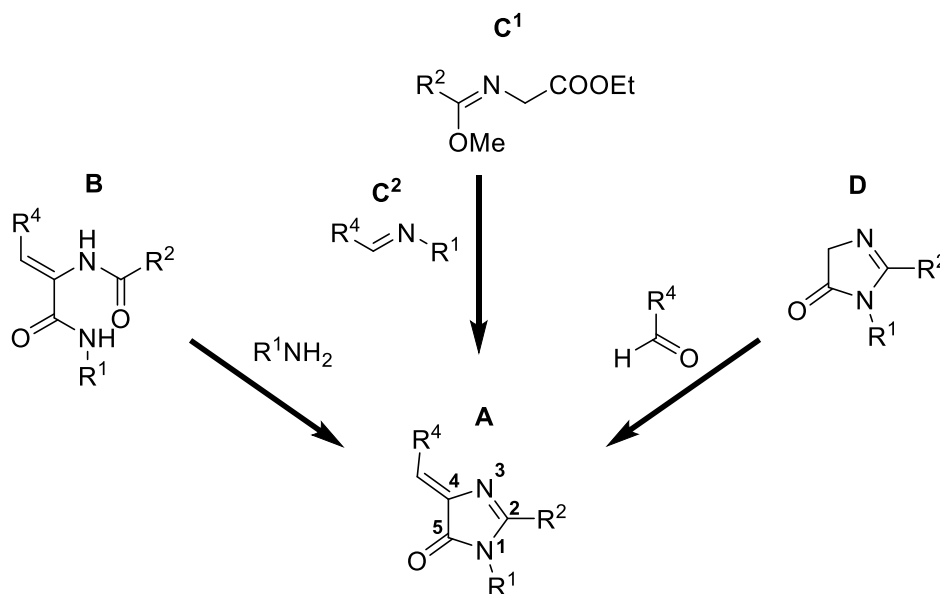


Схема 1.1.1 Ключевые подходы к созданию производных имидазолонов.

В первой части литературного обзора будут рассмотрены эти и другие менее популярные подходы, разработка которых активно продолжается в настоящее время. Использование каждого из этих методов сопряжено с определенными синтетическими трудностями и зачастую обуславливается конкретной задачей, стоящей перед исследователями. В связи этим мы также проведем анализ этих методов с точки зрения эффективности варьирования заместителей в различных положениях имидазолонового цикла.

1.1.1 Циклизация амидов N-ацилдегидроаминокислот

Синтез имидазолонов **A** из амидов N-ацилдегидроаминокислот **B** является самым ранним и, пожалуй, наиболее распространенным (Схема 1.1.2). Циклизация проходит либо при основном или кислотном катализе, либо при непосредственном термическом воздействии.

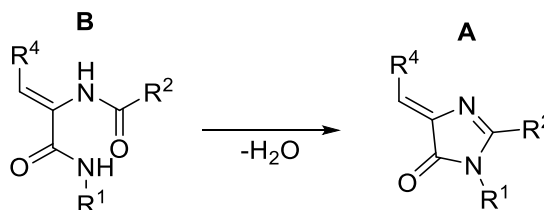


Схема 1.1.2 Циклизация амидов N-ацилдегидроаминокислот **B**.

Исходные амиды **B** обычно получают из 4-метилен-1Н-оксазол-5(4Н)-онов **B¹** (далее «оксазолон»). Раскрытие оксазолонного кольца под действием нуклеофильных агентов проходит достаточно легко и в мягких условиях:

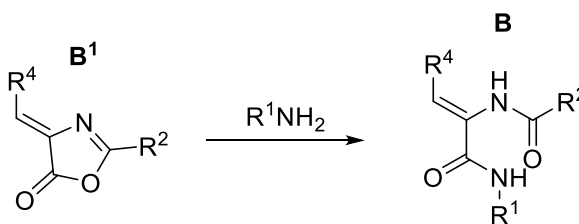


Схема 1.1.3 Получение N-ацилдегидроаминокислот **B** из оксазолонов **B¹**.

Так, простое смешивание исходного оксазолон с различными аминами в спирте (этиловый, метиловый, изопропиловый и др.) уже при комнатной температуре приводит к раскрытию оксазолонного цикла и получению соответствующего амида [Abu-Melha, 2012; Ghodbane и др., 2016; Wenge, Wagenknecht, 2011]. Например, реакция этилендиамина с 4-ацетоксибензилиден-2-метилоксазол-5(4Н)-оном **1.1.1**, ведущая к амиду **1.1.2**, протекает при комнатной температуре всего за 30 минут [Zhou и др., 2015]:

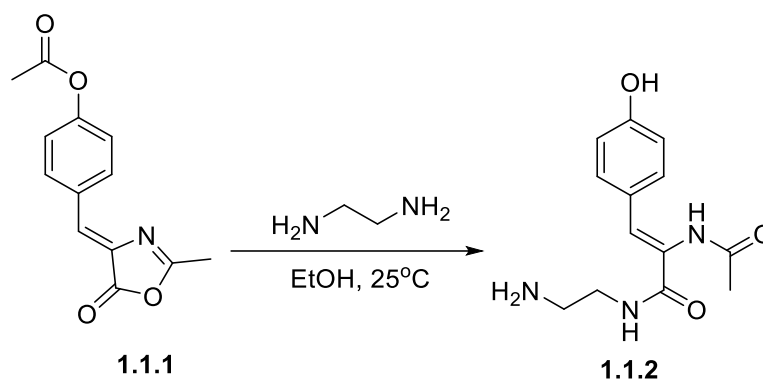


Схема 1.1.4. Пример раскрытия оксазолонового цикла.

Эта реакция также легко протекает и в других растворителях, например, в бензоле [Atia, Al-Marjani, Qaban, 2015; Sawant и др., 2013] или гликолях [Shi и др., 2012].

В случае использования ароматических аминов, обладающих низкой реакционной способностью (низкой нуклеофильностью), весьма эффективным оказывается использование уксусной кислоты в качестве катализатора, так как протонирование оксазолонового цикла облегчает его раскрытие [Namata и др., 2013; Parab и др., 2010; Parab, Dixit, Desai, 2011]. Например, взаимодействие оксазолонна **1.1.3** с ароматическими аминами протекало лишь в присутствии уксусной кислоты, тогда как реакция с алифатическими аминами успешно проходила без катализатора [Amareshwar, Mishra, Па, 2011]:

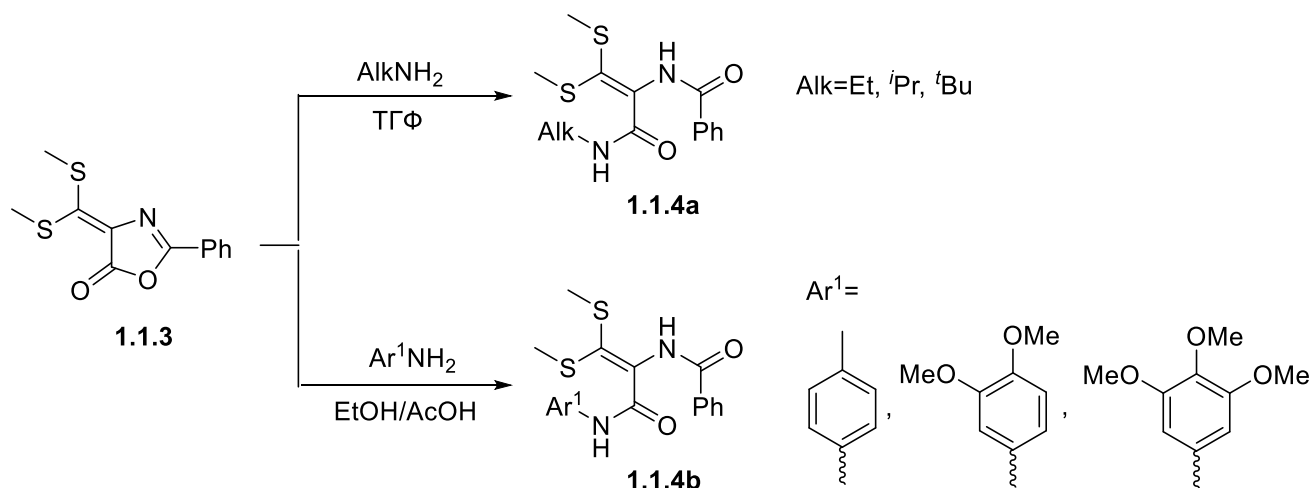


Схема 1.1.5. Пример использования уксусной кислоты в качестве катализатора.

Зачастую использование амидов N-ацилдегидроаминокислот в синтезе имидазолонов не предполагает их выделения в индивидуальном виде - циклизацию проводят *in situ*. Для этого в систему вводят дополнительные количества кислот или оснований, катализирующих циклизацию. Например, упомянутая выше уксусная кислота легко может быть использована в качестве растворителя для всех стадий процесса [Patel, Patel, 2011; Raghavendra и др., 2011;

Reddy и др., 2014; Suthakaran и др., 2008]. Так, с успехом был получен ряд производных тиоксотриазина **1.1.5** [El-Barbary, El-Shehawy, Abdo, 2014] и 3-хлорбензотиофена **1.1.6** и **1.1.7** [Naganagowda, Thamyongkit, Petsom, 2011]:

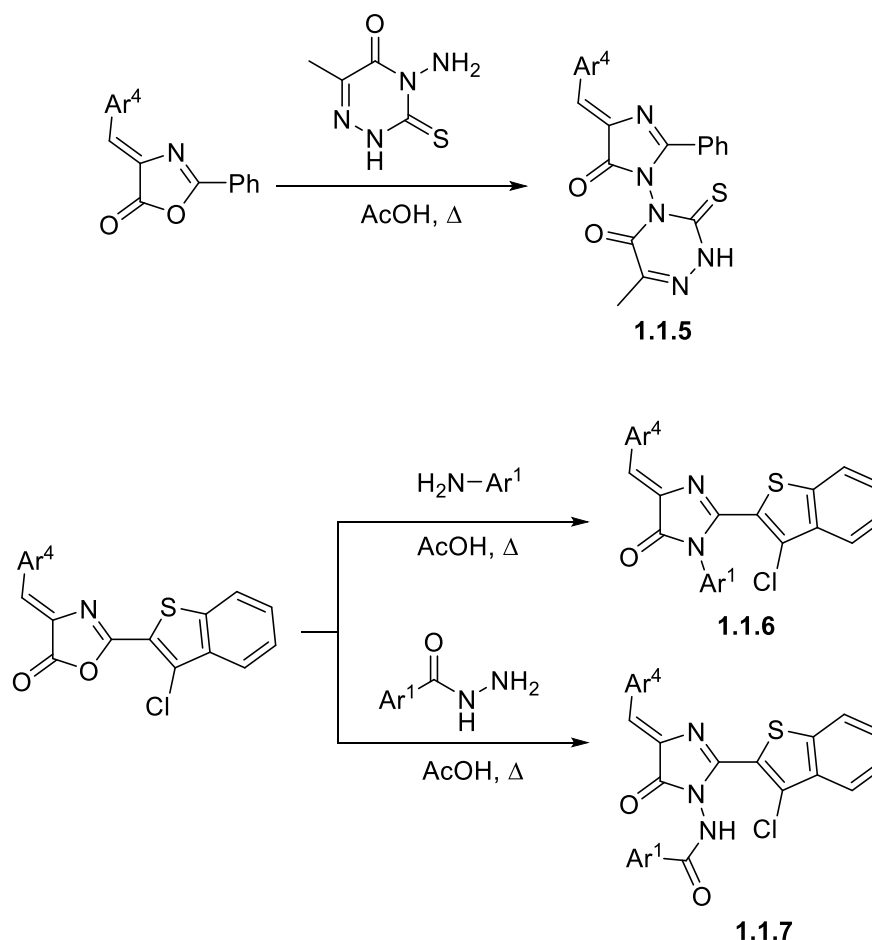


Схема 1.1.6. Примеры синтеза имидазолонов с использованием уксусной кислоты.

Эффективность использования других кислот Льюиса в качестве катализатора была продемонстрирована при создании ряда аналогов хромофора зеленого флуоресцентного белка. Например, хорошие выходы (около 60%) были получены при использовании каталитических количеств безводного хлорида цинка [Rafiq и др., 2011; Rajbongshi и др., 2012; Singh, Rajbongshi, Ramanathan, 2015].

Весьма удачным оказалось использование хлорокиси фосфора. Такой подход упоминается при синтезе тиодиазольного аналога **1.1.8** [Hamama и др., 2013] и ацетилфенильного производного **1.1.9** [Sadula, Peddaboina, Subhashini N.J., 2015], являющихся прекурсорами антимикробных и противоэпилептических препаратов:

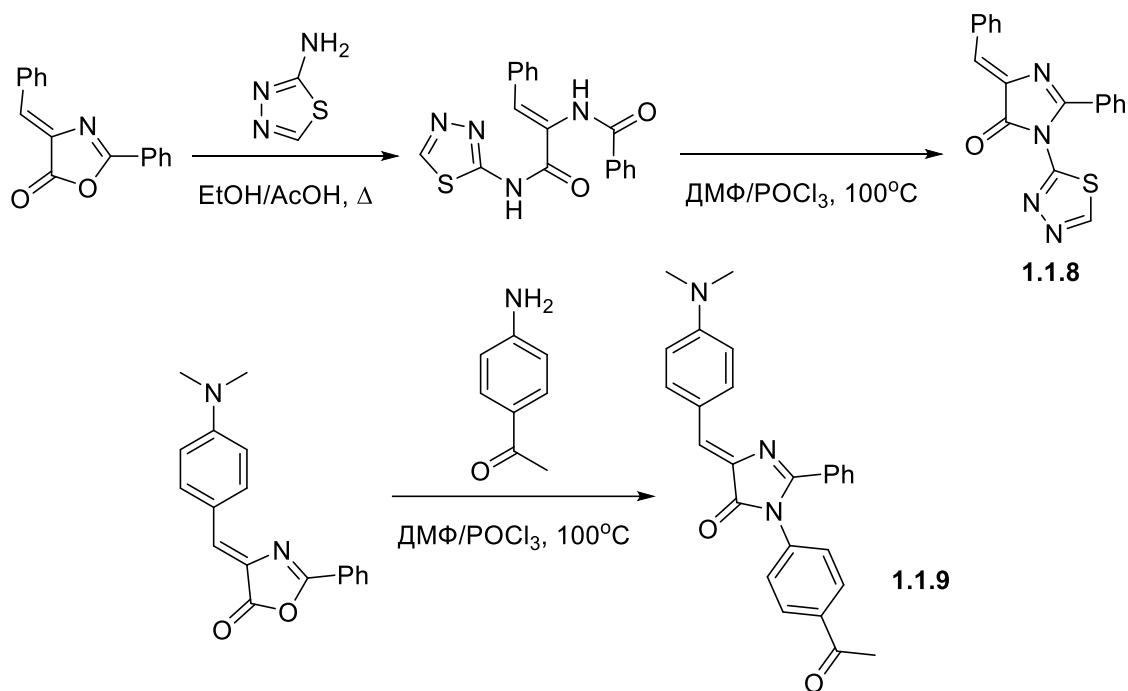


Схема 1.1.7. Примеры использования хлорокиси фосфора.

Среди методов основного катализа циклизации амидов N-ацилдегидроаминокислот наиболее типичным является использование карбонатов щелочных металлов. Реакция проводится при кипячении в полярных растворителях (этиловый спирт, ТГФ и пр.) с небольшим избытком амина [Frizler и др., 2013; Huang и др., 2012a; Huang, Yang, 2010; Lill и др., 2015; Prüger, Bach, 2007; Riedl и др., 2012; Xia, Piao, Bong, 2014]. Выходы целевого имидазолонна обычно составляют не меньше 75%. С помощью этого подхода был создан ряд аналогов хромофора GFP **1.1.10** [Dong, Solntsev, Tolbert, 2006; Dong, Solntsevn, Tolbert, 2009; Dong и др., 2007; Dong и др., 2008] и родственных соединений **1.1.11** (Схема 1.1.8) [Chen и др., 2007; Chuang и др., 2011].

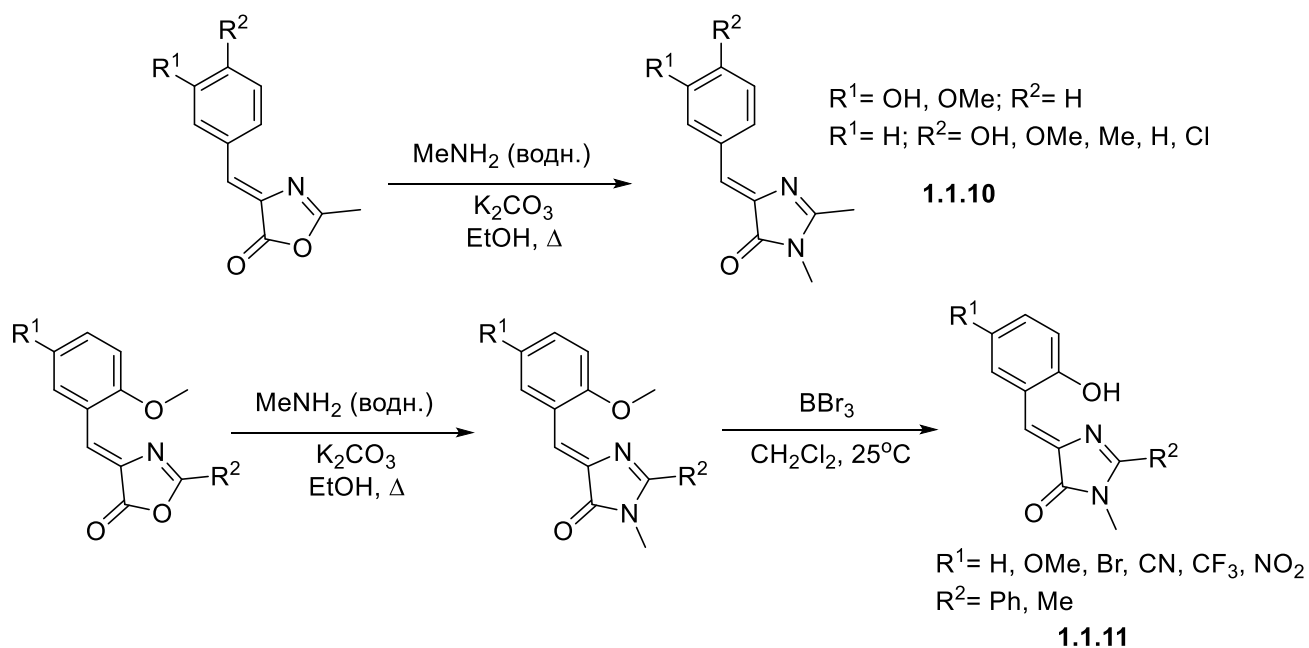


Схема 1.1.8. Использование карбонатов щелочных металлов.

Применение поташа или смеси поташ-ДМАП упоминается при синтезе фторсодержащего аналога хромофора GFP, используемого в качестве флуорогена. В свободном виде он имеет крайне низкий квантовый выход флуоресценции (0,07%), однако в составе комплекса с РНК-аптамером КВФ возрастает до 72% [Нап и др., 2013; Nies van и др., 2013; Paige, Wu, Jaffrey, 2011].

При создании потенциальных лекарственных препаратов была показана эффективность использования ацетата натрия и/или калия (Схема 1.1.9) [Mokale, Lokwani, Shinde, 2012; Mokale, Lokwani, Shinde, 2014]. С использованием этой методики была получена большая линейка производных, обладающих противораковой [Abbas и др., 2015; Awadallah и др., 2015; Georgey, 2014], антимикробной [El-Araby и др., 2012; Farag и др., 2013] и противоэпилептической [Hassanein и др., 2008; Khalifa, Baset, El-Eraky, 2012; Mohamed и др., 2012] активностью.

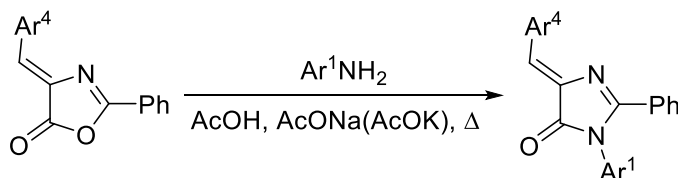


Схема 1.1.9. Применение ацетатов натрия и калия.

Не менее популярным подходом является использование пиридина [Atia, 2009; Bhatt и др., 2006; Mistry, Desai, 2005; Patel и др., 2010]. Циклизация проходит как в присутствии его

каталитических количеств, так и в пиридине в качестве растворителя. Этот подход упоминается при создании 4-оксо-2-фенилхромоновых аналогов имидазолонов как потенциальных противораковых агентов [Moorkoth и др., 2013], а также в синтезе аминобифенильных производных [Bishnoi и др., 2011; Bishnoi, Srivastava, Tripathi, 2006]. Ряд бензотиазольных производных имидазолна **1.1.13** (Схема 1.1.10) также был получен аналогичным способом [Sathe и др., 2011a; Sathe и др., 2011b; Sathe и др., 2010; Shameer и др., 2011; Srinivas и др., 2007].

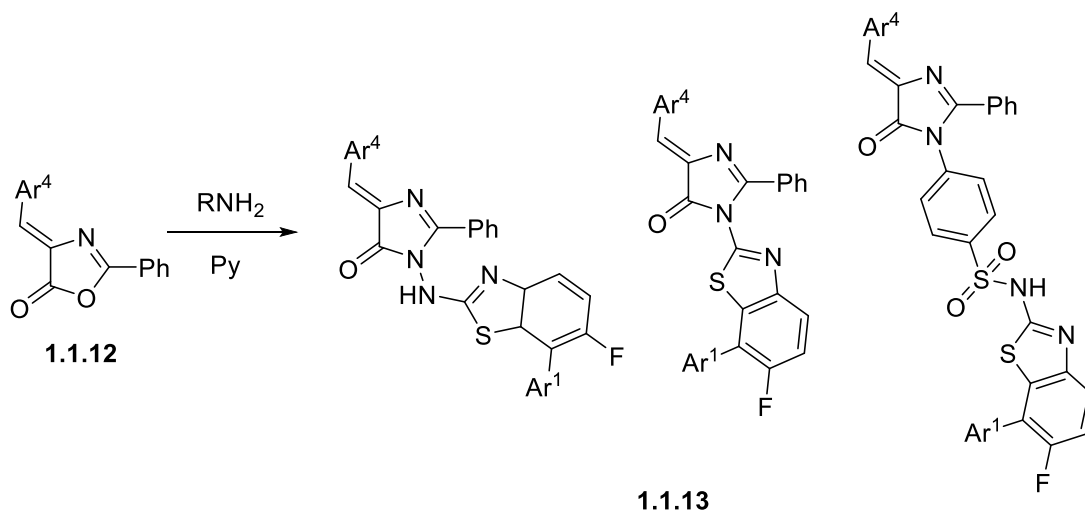


Схема 1.1.10. Пример использования пиридина в качестве растворителя.

В литературе также встречается использование смеси пиридина и щелочи [Lokhandwala, Parekh, 2014; Lokhandwala, Rai, 2013], а в качестве дополнительного водоотнимающего агента применяется окись алюминия или силикагель [Voosala и др., 2014].

В некоторых случаях эффективным становится использование третичных аминов. Так получение 3-диметиламинобензилиден-1,2-диметилимидазолна проводилось в присутствии каталитических количеств триэтиламина [Huang и др., 2012b].

Другим основным реагентом в синтезе имидазолонов является ДБУ, эффективность которого была показана на примере получения 4-бензилиден-2-фенилимидазолонов [Chavez и др., 2012]. Также использование ДБУ встречается при создании функционализированных производных хромофора зеленого флуоресцентного белка **1.1.15** [Stafforst, Diederichsen, 2007]:

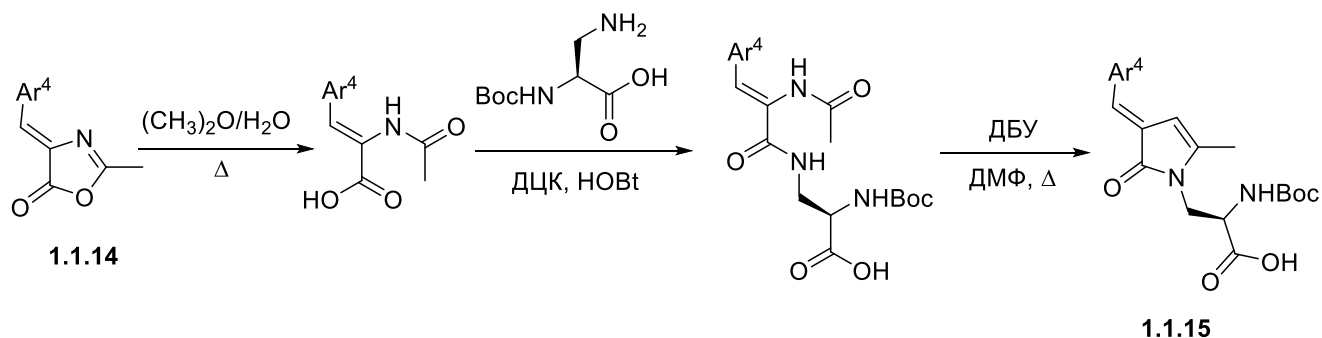


Схема 1.1.11. Пример использования ДБУ в качестве катализатора.

Как уже упоминалось ранее, прямое термическое воздействие также способствует дегидратации амидов N-дегидроаминокислот [Abbas и др., 2010; Khalifa, Abdelbaky, 2008; Mesaik и др., 2005; Moorthy и др., 2012; Youssef и др., 2016]:

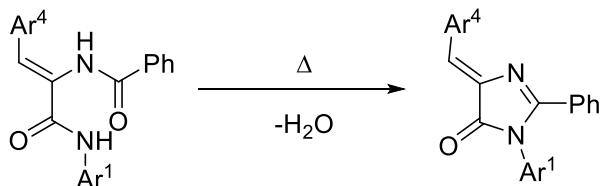


Схема 1.1.12. Циклизация амидов N-дегидроаминокислот при высокой температуре.

Отдельно стоит отметить, что все упомянутые методы получения имидазолонов из амидов N-ацилдегидроаминокислот можно значительно оптимизировать, дополнительно подвергая реакционную смесь микроволновому облучению (Таблица 1.1.1).

Таблица 1.1.1. Результаты использования микроволнового воздействия в синтезе имидазолонов из оксазолонов.

Условия	Выход, %	Ссылка
Пиридин, ДМФ, 10-12 мин, MW	76-88	[Bharadwaj и др., 2011; Bhardwaj и др., 2011; Bhardwaj, Manisha, Parashar, 2012; Dhingra и др., 2016; Khan и др., 2009; Khan и др., 2010]
AcOH, AcONa, 3-5 мин, MW	60-65	[Desai и др., 2013]
NH ₄ OAc, графит, 2-5 мин, MW	71-97	[Fozooni, Tikdari, 2008]
AcOH, 30 мин, MW	31-80	[Katritzky и др., 2011]
Пиридин, ДМФ/EtOH, 5 мин, MW	77-83	[Rathore, Sharma, 2014]
Этиленгликоль, 4-6 мин, MW	73-90	[Shi и др., 2012]

Тем не менее, из всех вышеописанных примеров хорошо видно, что подход, связанный с использованием амидов N-ацилдегидроаминокислот, удобен лишь для варьирования заместителя в первом положении имидазольного цикла, так как остальные заместители вводятся еще на стадии синтеза исходных веществ.

1.1.2 Взаимодействие иминов с иминоэфиром

Другим популярным методом создания имидазолонов **A** является взаимодействие карбоксиимидатов **C¹** с иминами **C²**:

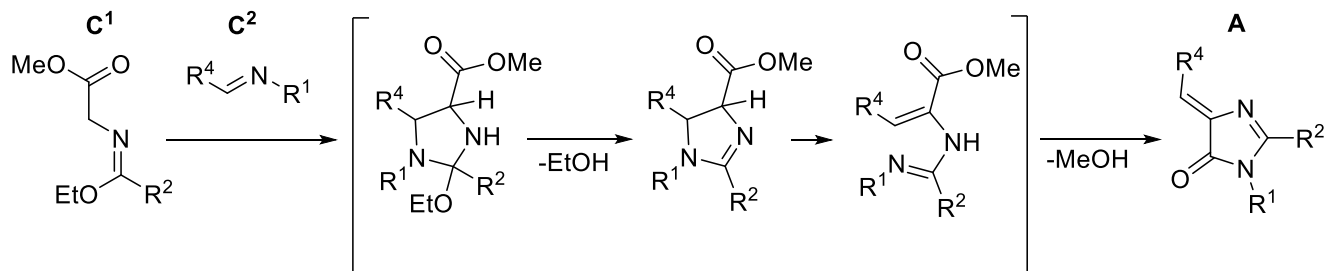


Схема 1.1.13. Получение имидазолонов с помощью циклоприсоединения иминов **C²** к карбоксиимидатам **C¹**.

Реакция протекает по механизму [2+3] циклоприсоединения с последующим перезамыканием цикла [Lerestif, Vazureau, Hamelin, 1993]. Как правило, синтез проводится при комнатной температуре и зачастую без растворителя. С помощью этого метода был создан широкий круг различных аналогов хромофора GFP [Dong и др., 2008; Baldrige и др., 2011a; Baldrige и др., 2011b; Baldrige, Amador, Tolbert, 2011; Chatterjee и др., 2013; Chatterjee и др., 2015; Samanta и др., 2014; Tou и др., 2014].

Исследование реакционной способности ряда иминов **C²** показало, что карбоксиимидат **C¹** легко вступает в реакцию не только с простейшими имидами, но и весьма эффективно взаимодействует с более сложными производными [Baldrige, Kowalik, Tolbert, 2010]. В результате был получен большой ряд соединений, в частности имидазолы, содержащие в первом положении имидазольного цикла перфторированный алкильный остаток **1.1.17** и холестерин **1.1.18**:

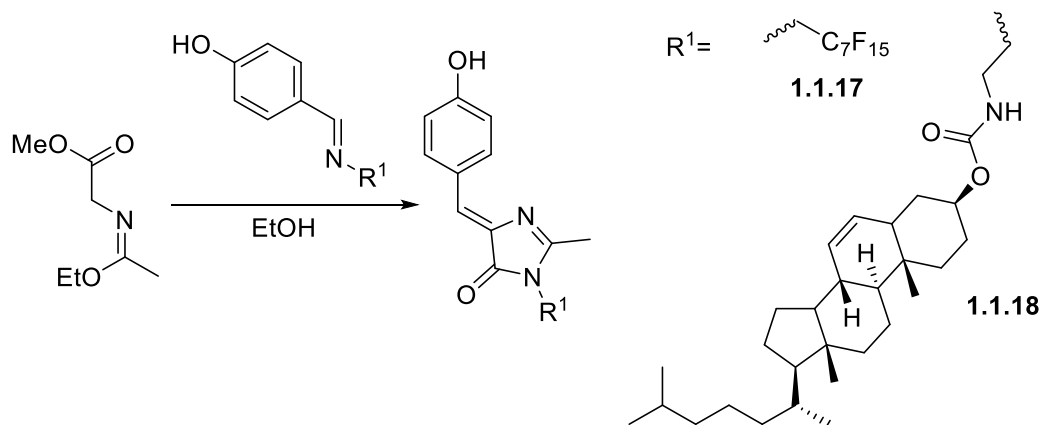


Схема 1.1.14. Примеры труднодоступных имидазолонов, полученных циклоприсоединением иминов к карбоксиимидатам.

Этот же подход был использован для создания линейки флуоресцентных полимеров, испускающих свет в разных областях спектра [Deng и др., 2015].

Стоит отметить, что у этого метода есть один существенный недостаток – исходные карбоксиимидаты и основания Шиффа легко подвергаются гидролизу, что может привести к образованию побочных продуктов, в первую очередь, имидазолонов **1.1.19**, содержащих в первом положении остаток эфира глицина (Схема 1.1.15). С другой стороны, взаимодействие карбоксиимидата с ароматическими альдегидами может быть использовано, если подобные функционализированные производные **1.1.19** являются целевыми [Clark и др., 2011].

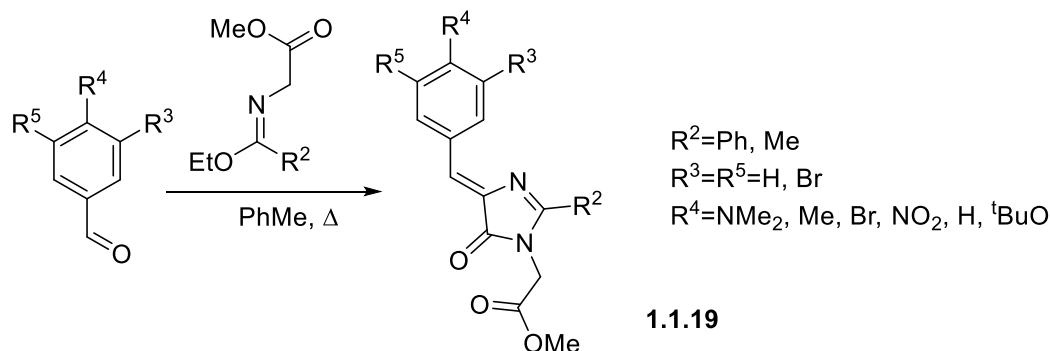


Схема 1.1.15. Пример использования побочной реакции для синтеза функционализированных имидазолонов.

В завершении раздела стоит отметить, что помимо высокой эффективности и мягких условий, этот подход привлекает внимание исследователей возможностью крайне легко варьировать заместители в первом и четвертом положении имидазолонового цикла. Однако введение заместителя во второе положение представляет собой определенные сложности ввиду ограниченной доступности соответствующих карбоксиимидатов.

1.1.3 Использование 1Н-имидазол-5(4Н)-онов

Другим весьма эффективным подходом к созданию различных имидазолонов **A** является взаимодействие насыщенных имидазолонов **D** с карбонильными соединениями:

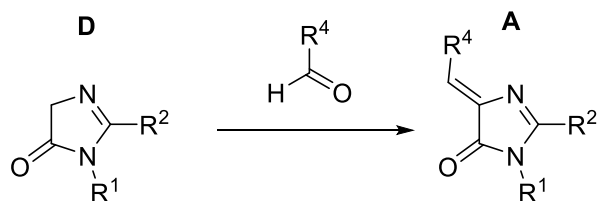


Схема 1.1.16. Взаимодействие насыщенных имидазолонов **D** с карбонильными соединениями.

Довольно популярным методом создания исходных соединений **D** является использование имидов азидоуксусной кислоты **1.1.20** (Схема 1.1.17) [Baldrige и др., 2010; Shen и др., 2013].

Фосфазены, получаемые из них легко претерпевают внутримолекулярную циклизацию:

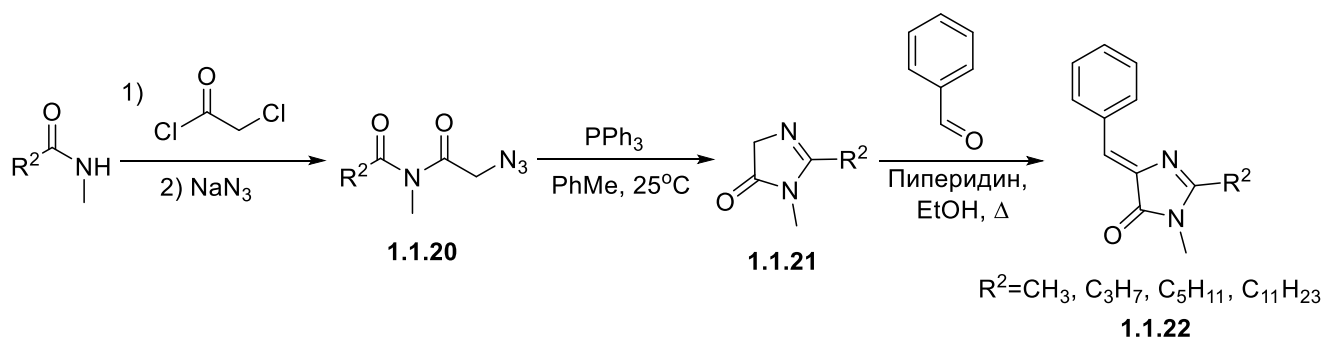


Схема 1.1.17. Использование имидов азидоуксусной кислоты для синтеза имидазолонов.

Превращение азидов **1.1.20** в имидазолы **1.1.21** проходит с большими выходами (выше 80%), а последующая конденсация проводится, как правило, без предварительного выделения имидазолонов **1.1.21** в индивидуальном виде.

Этот подход также был применен для создания аналогов хромофора GFP, содержащих различные мостиковые группы (соединения **1.1.23** и **1.1.24**, Схема 1.1.18) [Hsu и др., 2014; Wu, Burgess, 2008].

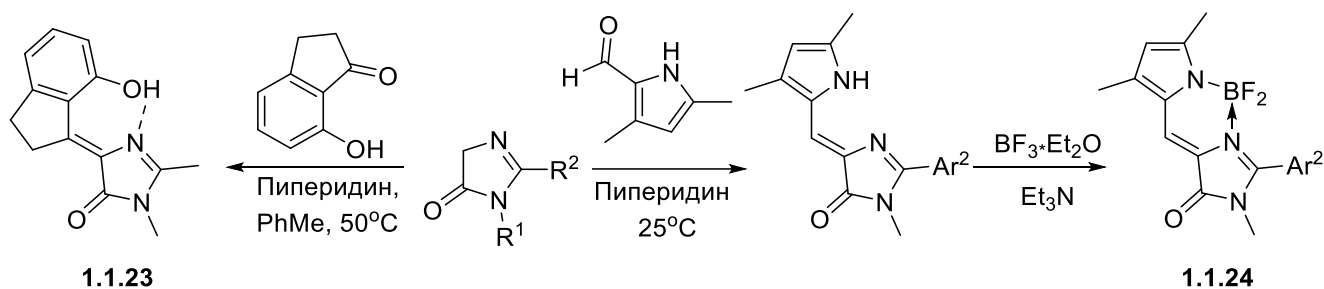


Схема 1.1.18. Примеры использования насыщенных имидазолонов.

К существенному недостатку этого метода можно отнести невысокие выходы в синтезе исходного имида азидоуксусной кислоты и необходимость использования хлорангидрида хлоруксусной кислоты для ее создания.

Среди других методов синтеза насыщенных имидазолонов стоит отметить взаимодействие имидаатов **1.1.25** с эфирами глицина [McCusker, Scheidt, 2013]:

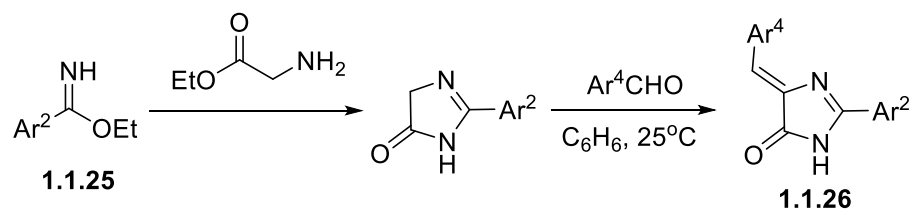


Схема 1.1.19. Взаимодействие имидаатов с эфирами глицина.

Однако метод не нашел широкого применения, так как осложняется побочными процессами, в частности конденсацией образующихся насыщенных имидазолонов с исходными имидатами [Shafi и др., 2005].

Из приведенных выше примеров видно, что использование насыщенных имидазолонов удобно для варьирования заместителей в четвертом положении целевого имидазолонового цикла. Однако введение других заместителей оказывается затруднено, а сами методы синтеза насыщенных имидазолонов обладают рядом существенных недостатков.

1.1.4 Прочие методы синтеза

Среди прочих методов создания имидазолонов в первую очередь стоит рассмотреть использование производных азидокоричных кислот. Их амиды **1.1.27** могут быть легко переведены в соответствующие фосфазены, взаимодействие которых с различными ацилирующими агентами приводит к получению имидазолонов (Схема 1.1.20). Использование такого подхода позволило получить фторсодержащий аналог хромофора GFP **1.1.28** [Song и др., 2014] и производное **1.1.29** с атомом водорода во втором положении [Baranov и др., 2013]:

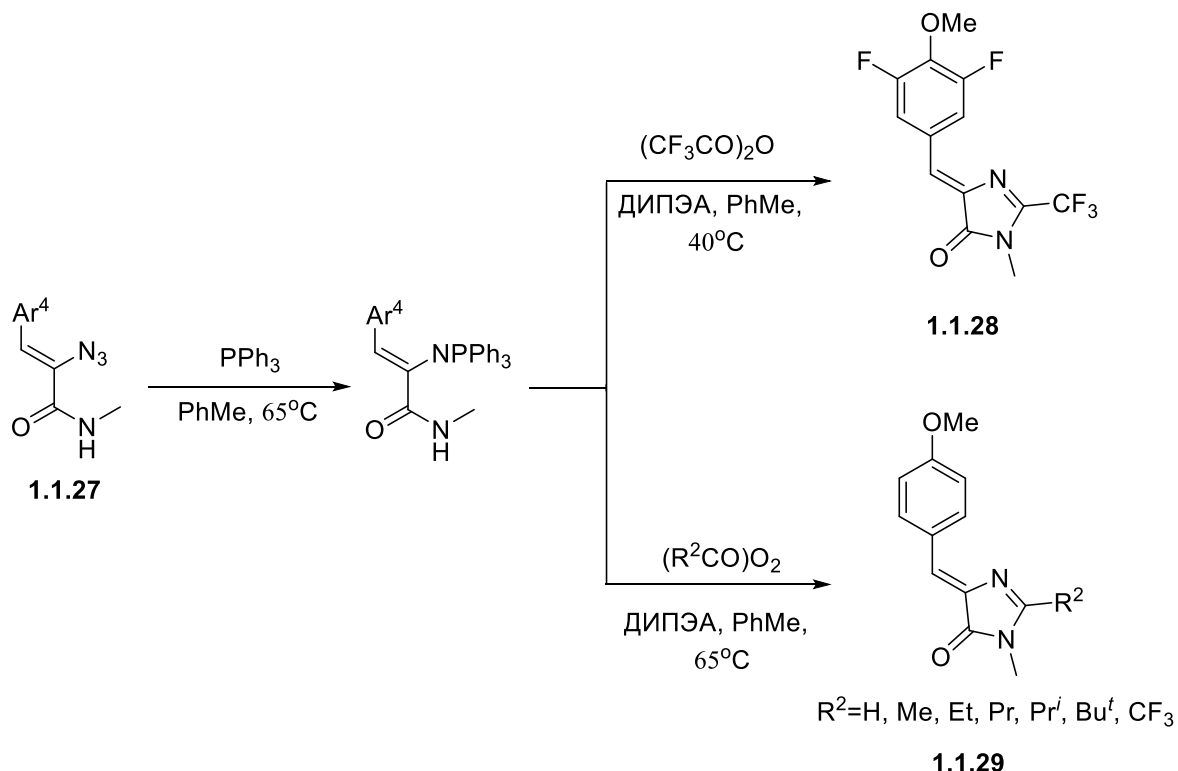


Схема 1.1.20. Использование амидов азидокоричных кислот.

Аналогично могут быть использованы имидазы азидокоричных кислот **1.1.30** (Схема 1.1.21), так как получаемые из них фосфазены легко претерпевают внутримолекулярную циклизацию сразу с образованием целевых имидазолонов. С использованием такого подхода были получены имидазолоны **1.1.31**, содержащие различные гетероциклические фрагменты во втором положении имидазолонового цикла [Wang и др., 2013]:

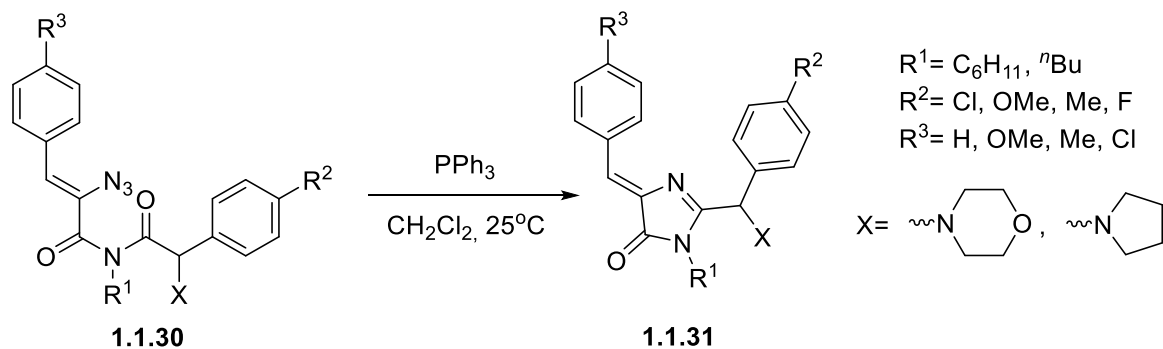


Схема 1.1.21. Использование имидов азидокоричных кислот.

Среди прочих методов синтеза стоит отметить конденсацию арилпропиолатов **1.1.32** с амидинами **1.1.33** [Gabillet и др., 2014]:

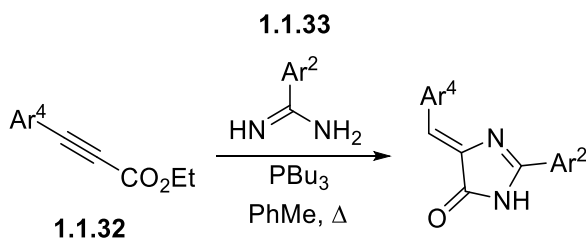


Схема 1.1.22. Взаимодействие арилпропиолатов с амидинами.

Довольно эффективно проходит медь-катализируемое взаимодействие гидрохлоридов амидинов **1.1.35** с производными бромкоричной кислоты **1.1.34** [Gong и др., 2010]:

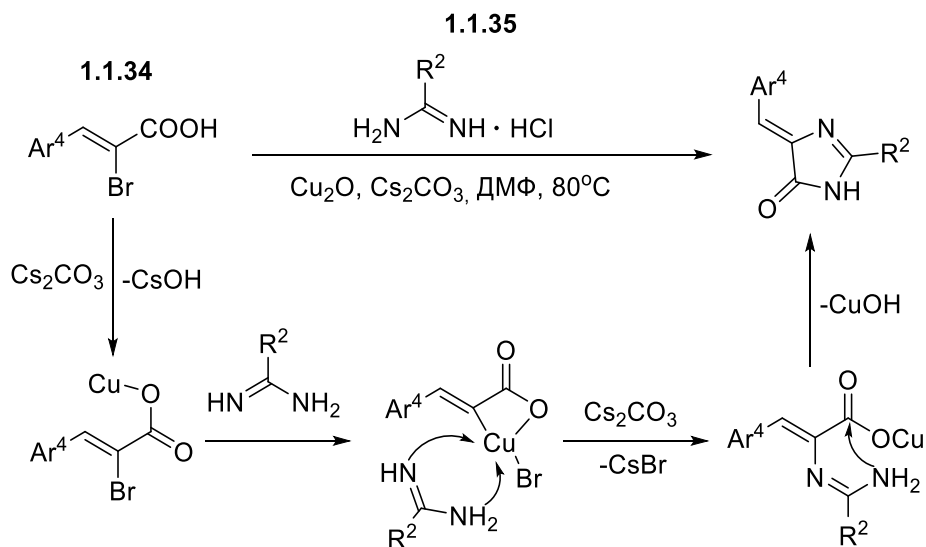


Схема 1.1.23. Механизм взаимодействия гидрохлоридов амидинов с производными бромкоричной кислоты.

Недавно был предложен интересный метод конденсации тioenимидатов **1.1.37** с иминоэфирами **1.1.36** (Схема 1.1.24) [Ikejiri и др., 2012; Ikejiri и др., 2015]. Использование этого подхода позволило создать разнообразные диарилметиленовые аналоги хромофора GFP **1.1.38** и **1.1.39**:

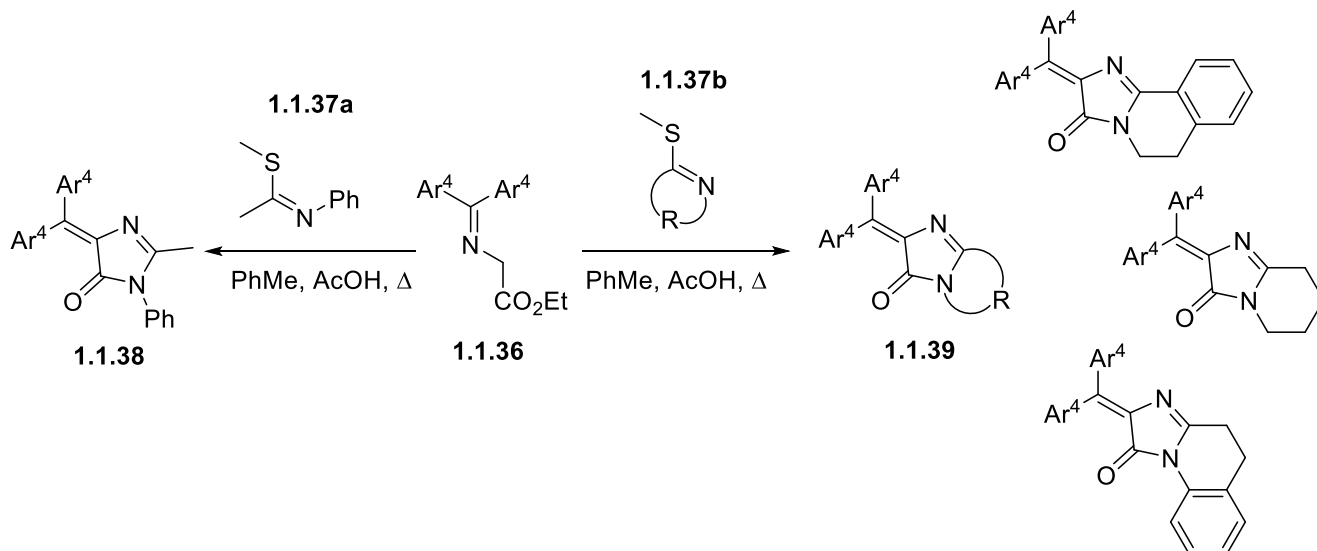


Схема 1.1.24. Использование конденсации тioenимидатов с иминоэфирами для создания производных имидазолонов.

Механизм реакции тioenимидатов **1.1.37** с иминоэфирами **1.1.36** предположительно включает образование азиридинов **1.1.40**, которые, однако, не удалось выделить в индивидуальном виде:

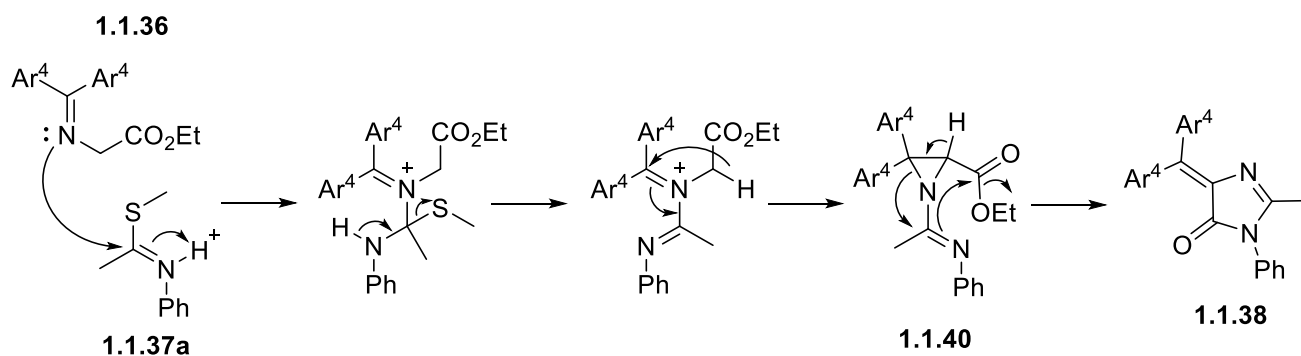


Схема 1.1.25. Механизм конденсации тioenимидатов с иминоэфирами.

В завершении раздела также стоит рассмотреть палладий-катализируемое кросс-сочетание алкилированных тиогидантоинов **1.1.41** с арилбороновыми кислотами [Oumouch и др., 2005]:

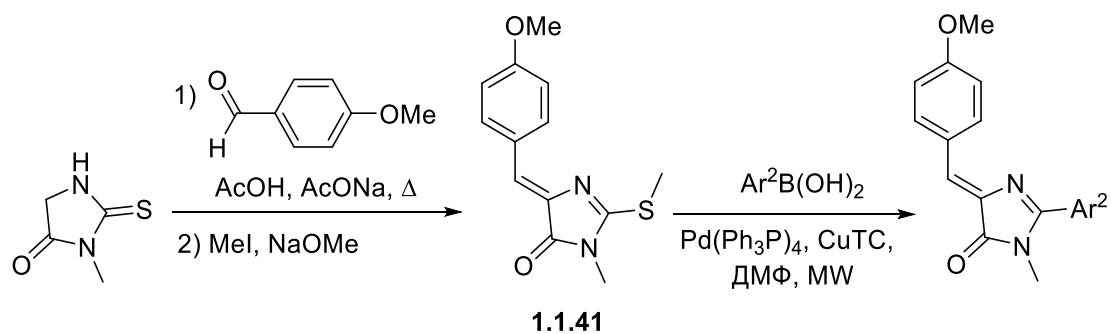


Схема 1.1.26. Взаимодействие алкилированных тиогидантоинов с арилбороновыми кислотами.

Позднее было установлено, что свободные тиогидантоины **1.1.42** оказываются даже более реакционноспособными, чем их алкилированные аналоги **1.1.43** [Gosling, Rollin, Tatibouët, 2011]:

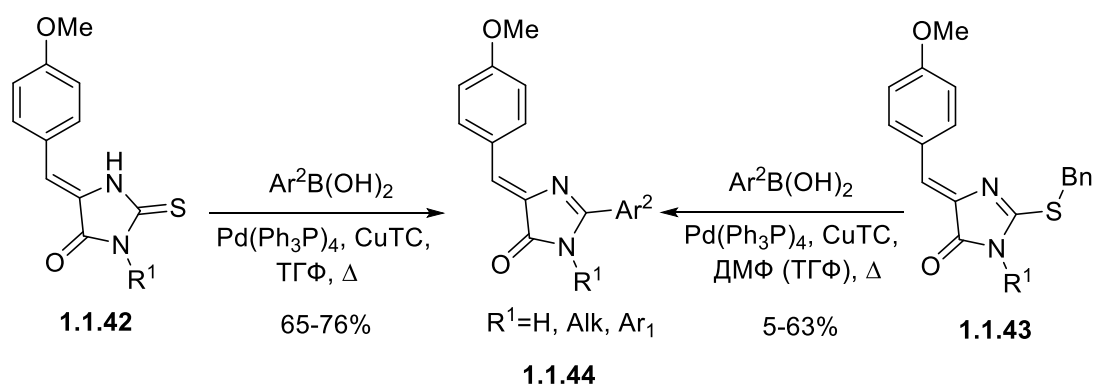


Схема 1.1.27. Примеры использования тиогидантоинов.

Очевидно, что этот подход является удобным методом введения заместителей во второе положение имидазолонового цикла, однако его использование ограничено лишь ароматическими заместителями.

1.2 Арилметеновые флуоресцентные красители

Флуоресцентные красители применяются человеком для решения самых разных задач: в промышленности, бытовой практике и для исследовательских целей. Особенно востребованы они стали с момента появления флуоресцентной микроскопии как прикладного метода исследования живых систем в биологических и биомедицинских исследованиях. В результате было создано огромное множество флуоресцентных красителей, отвечающих самым разным требованиям реальных экспериментов и соответственно имеющих различные оптические и физико-химические свойства.

Среди всей палитры флуоресцентных маркеров интересно выделить арилметеновые производные, к которым относится и упомянутый в прошлом разделе хромофор GFP. До недавнего времени использование производных хромофора GFP в роли флуоресцентных красителей было затруднено из-за низкого квантового выхода флуоресценции большинства из них. Однако последние исследования показали, что введение в молекулу фиксирующей дифторборильной группы (подробнее в Главе 2. «Обсуждение результатов») приводит к значительному увеличению интенсивности эмиссии этих веществ. Аналогичные свойства проявляют и арилметеновые производные: в отсутствие фиксации они характеризуются крайне низким квантовым выходом флуоресценции, однако введение в их структуру мостиковых групп приводит к существенному увеличению этого показателя (Схема 1.2.1).

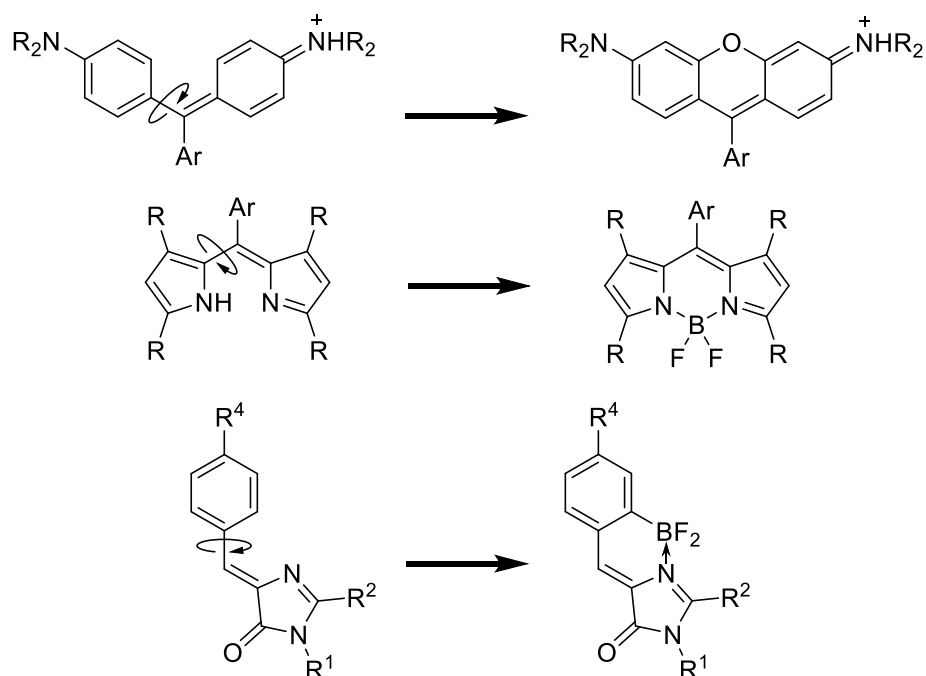


Схема 1.2.1. Флуоресцентные красители с зафиксированными фрагментами.

В связи с этим, в настоящем разделе будут рассмотрены два основных и наиболее активно развивающихся семейства флуоресцентных красителей, имеющих в своей основе

зафиксированную арилметеновую структуру: ксантеновые красители и красители семейства BODIPY. На примере этих соединений мы рассмотрим модификации, позволяющие изменить их оптические свойства: увеличить квантовый выход флуоресценции, сместить положения спектральных максимумов в длинноволновую область и т.п.

1.2.1 Ксантеновые красители

Исторически наиболее ранним и, пожалуй, самым популярным семейством флуоресцентных красителей являются разнообразные ксантеновые производные, а именно производные флуоресцеина и родамина.

За последние десятилетия было опубликовано множество работ, посвященных созданию красителей на их основе и установлению зависимости оптических свойств от строения молекулы [Beija, Afonso, Martinho, 2009; Chen и др., 2012; Kim и др., 2008].

В данном разделе мы рассмотрим современные модификации флуоресцеиновых и родаминовых красителей и их влияние на оптические и физико-химические свойства.

1.2.1.1 Производные флуоресцеина

Впервые флуоресцеин был синтезирован в 1871 году. В качестве флуоресцентного красителя его начали применять во второй половине 20 века [Flocks, Miller, Chao, 1959; Norton и др., 1965; Novotny, Alvis, 1961]. В последующие десятилетия основные исследования в области флуоресцеиновых производных были направлены на создание аналогов, содержащих различные линкерные заместители [Duan и др., 2009].

В настоящее время основным направлением модификации флуоресцеиновых красителей является создание конденсированных производных и галогенсодержащих аналогов:

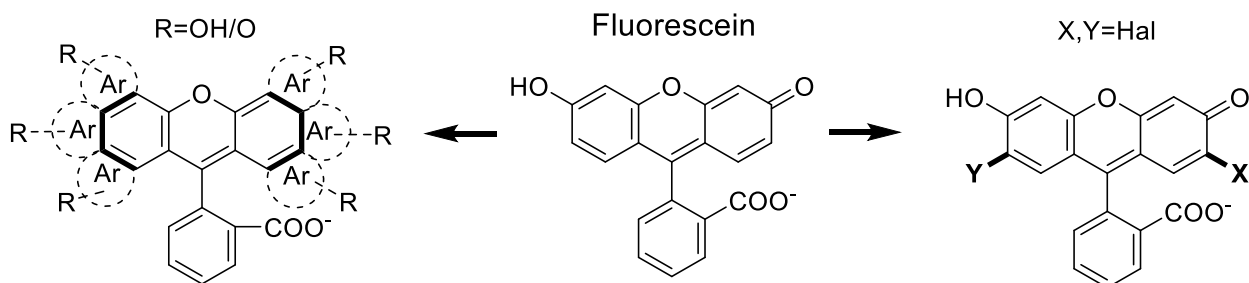
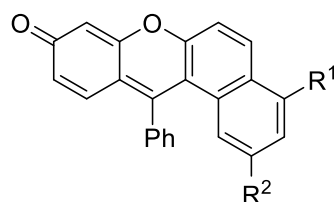


Схема 1.2.2. Возможные модификации флуоресцеиновых красителей.

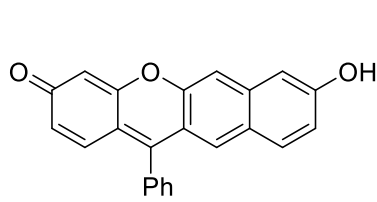
Эффективность создания конденсированных аналогов была продемонстрирована на примере соединений SNARFs **1.2.1-1.2.3** (от англ. Seminaaphthorhodafluores) (Схема 1.2.3) [Yang и др., 2008]. Помимо батохромного сдвига максимумов абсорбции и эмиссии (максимумы абсорбции и эмиссии флуоресцеина составляют 483 и 515 нм соответственно) увеличение количества сопряженных колец привело к возрастанию стоксового сдвига до 200нм (соединение **1.2.2**):



$R^1=OH, R^2=H$ 670/713*

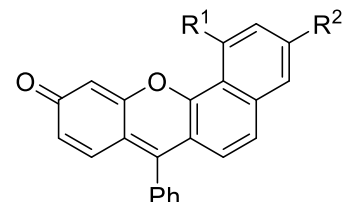
$R^1=H, R^2=OH$ 630/653

1.2.1



536/733

1.2.2



$R^1=OH, R^2=H$ 591/757

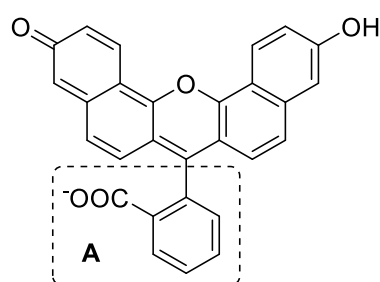
$R^1=H, R^2=OH$ 542/629

1.2.3

Схема 1.2.3. Конденсированные SNARFs.

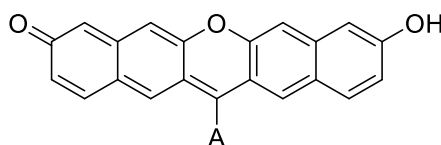
* Здесь и далее приводятся значения максимумов абсорбции и эмиссии в нм.

Позднее был создан ряд симметричных и несимметричных аналогов флуоресцеина конденсированных с бензолом SNAFLs (от англ. Seminaphthofluoresceines) (Схема 1.2.4) [Azuma и др., 2012; Sibrian-Vazquez и др., 2012]. Все полученные производные характеризовались значительным батохромным сдвигом в сравнении с флуоресцеином, а несимметричные производные (например соединения **1.2.7-1.2.8**) отличались от симметричных аналогов несколько большим стоксовым сдвигом (до 200 нм). Однако практически для всех соединений КВФ не превышал 1%:



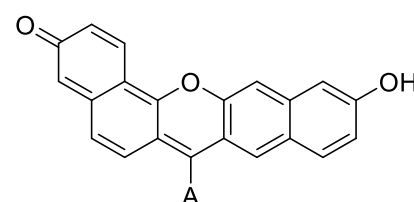
595/670 (0.14)*

1.2.4



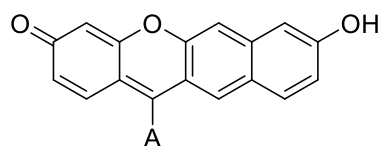
708/790 (0.002)

1.2.5



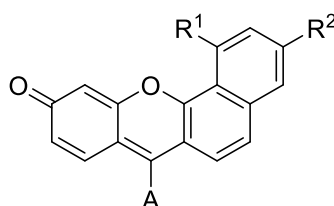
650/780 (0.004)

1.2.6



536/732 (0.002)

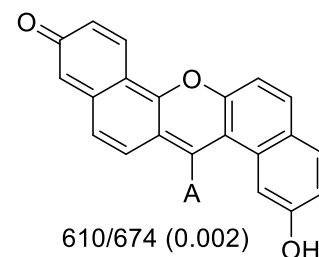
1.2.7



$R^1=OH, R^2=H$ 590/750 (0)

$R^1=H, R^2=OH$ 544/620 (0.35)

1.2.8



610/674 (0.002)

1.2.9

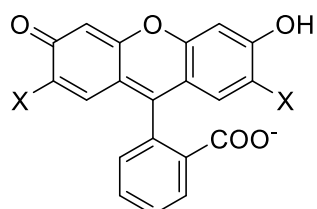
Схема 1.2.4. Конденсированные производные флуоресцеина.

* Здесь и далее в скобках приводится величина квантового выхода флуоресценции.

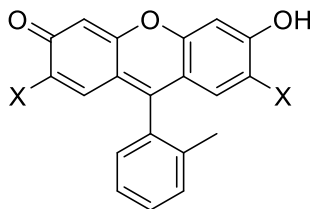
Как сам флуоресцеин, так и его аналоги имеют один существенный недостаток: благодаря наличию гидроксильной группы в молекуле они способны переходить в депротонированную форму ($pK_a=6.4$), в результате чего происходит существенное изменение оптических свойств.

Такое поведение значительно ограничивает область применения многих флуоресцеиновых красителей.

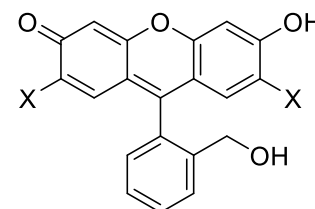
Одним из способов снизить pK_a производных флуоресцеина является введение в молекулу атомов галогенов в *орто*-положения по отношению к гидроксогруппе (Схема 1.2.5) [Garner, Koide, 2008; Koide и др., 2008; Mottram и др., 2006; Song, Garner, Koide, 2007; Swamy и др., 2006; Swamy и др., 2009; Xiong и др., 2013].



Oregon Green X=F $pK_a=4.8$
DCF X=Cl $pK_a=4.6$



Tokyo Green X=H $pK_a=6.2$
Pennsylvania Green X=F $pK_a=4.8$



Pittsburgh Green X=Cl

Схема 1.2.5. Галогенсодержащие аналоги флуоресцеина.

Однако наиболее эффективным решением, позволяющим избавиться от высокой pH чувствительности ксантеновых красителей, является полный отказ от присутствия в них гидроксильной группы. Наиболее удачной заменой в этом случае является введение аминных заместителей, присутствующих в группе родаминовых красителей.

1.2.1.2 Производные родамина

Модификации родаминовых красителей можно разделить на три основных направления: фиксирование подвижных аминзаместителей, создание различных конденсированных аналогов, а также замена атома кислорода в десятом положении родамина на атомы других групп периодической таблицы:

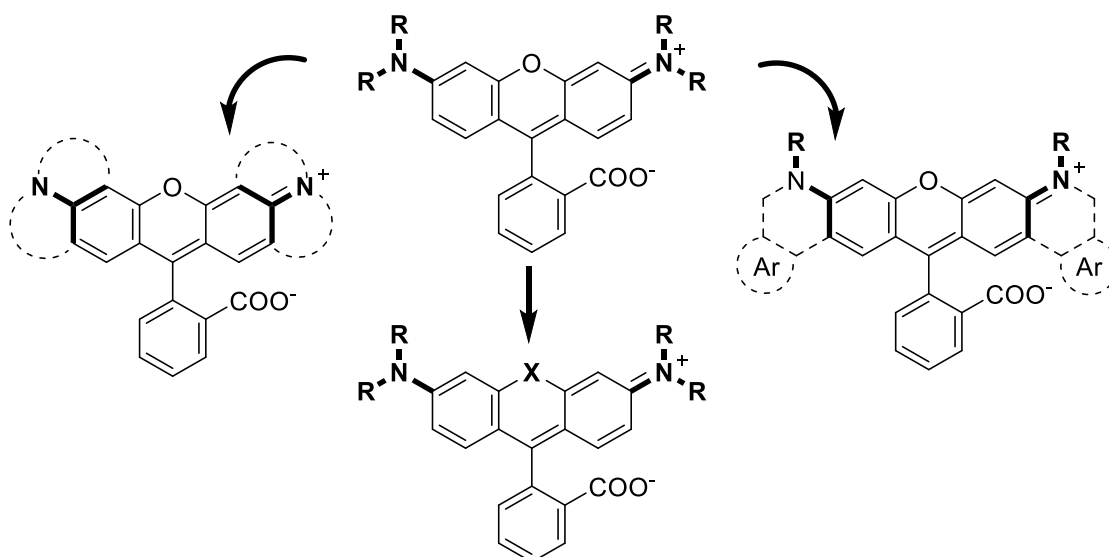


Схема 1.2.6. Модификации родаминовых красителей.

Замена гидроксильной группы в молекуле флуоресцеина на различные аминозаместители позволила не только избавиться от pH зависимости этих соединений, но и сместить максимумы абсорбции и эмиссии красителей в длинноволновую область спектра [Grimm, Lavis, 2011; Peng, Yang, 2010]. Так, в ряду соединений **1.2.10** батохромный сдвиг спектральных максимумов составлял 30-80 нм, а в ряду соединений **1.2.11** – 20-40 нм в сравнении с флуоресцеином (максимумы абсорбции и эмиссии флуоресцеина составляют 483 и 515 нм соответственно):

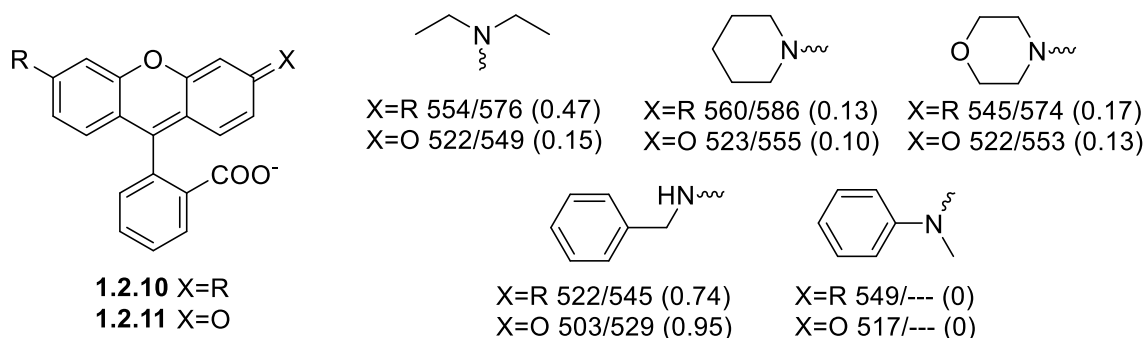


Схема 1.2.7. Сравнение свойств ряда родаминовых и флуоресцеиновых красителей.

Однако подобные соединения, как правило, характеризуются существенным варьированием квантового выхода флуоресценции в зависимости от растворителя, что связано с подвижностью заместителей при атомах азота (подробнее в Разделе 2.2 «Отдаленные высокофлуоресцентные аналоги хромофора GFP»).

В связи с этим, закономерным развитием химии родаминовых красителей стало создание различных аналогов с зафиксированными аминозаместителями (Схема 1.2.8). Такая модификация позволила не только решить проблему варьирования квантового выхода

флуоресценции, но и привела к росту этой величины в целом. Также наблюдалось заметное батохромное смещение максимумов абсорбции и эмиссии в сравнении с родаминами, содержащими подвижные аминзаместители [Kolmakov и др., 2010; Savarese и др., 2012].

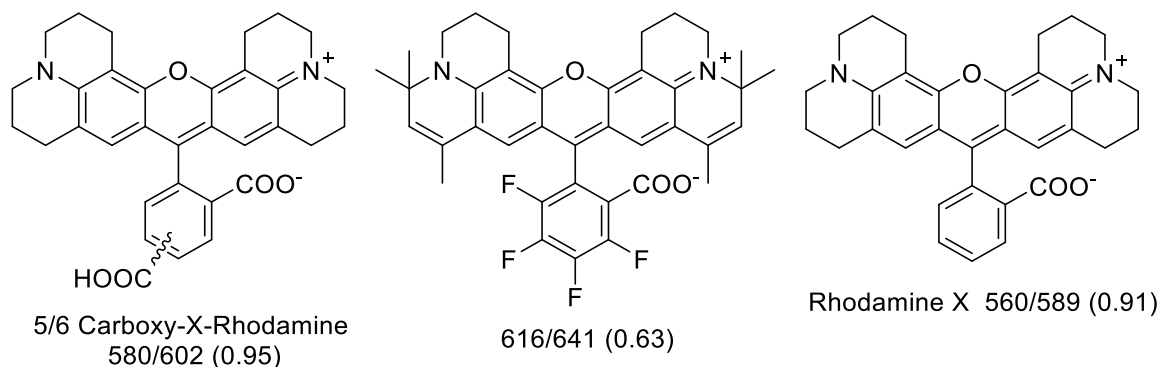


Схема 1.2.8. Примеры родаминовых красителей с зафиксированными аминзаместителями.

Эффективность жесткой фиксации аминогруппы также была продемонстрирована на примере несимметричных сульфородаминов [Chevalier и др., 2015]:

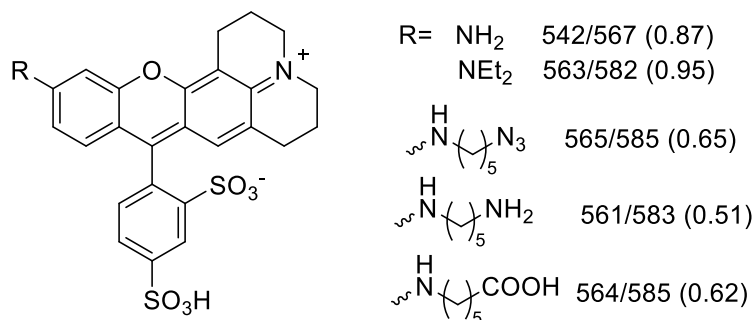


Схема 1.2.9. Примеры несимметричных сульфородаминовых красителей.

Данная модификация флуоресцеина нашла свое практическое применение в линейке красителей Alexa Fluor:

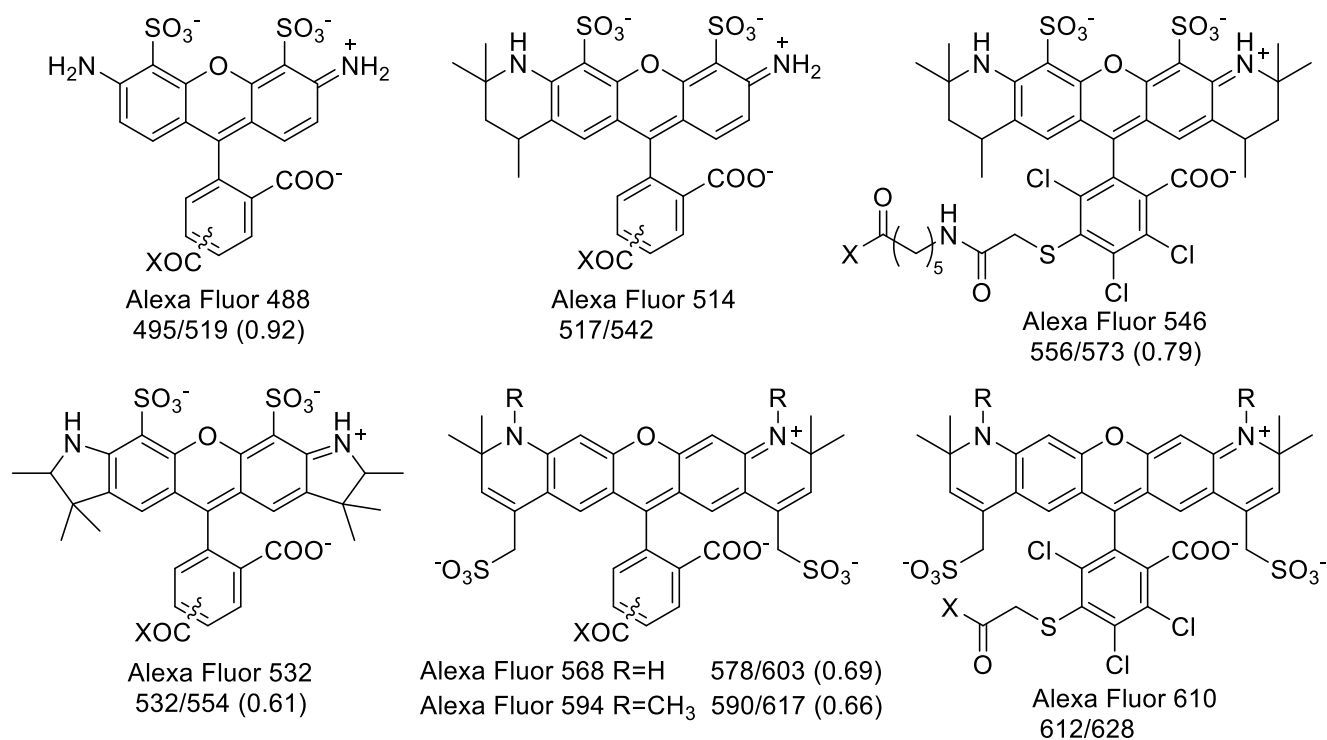


Схема 1.2.10. Красители Alexa Fluor.

Другим типом модификации стало создание конденсированных производных. Был опубликован ряд арилконденсированных родаминов **1.2.12** (Схема 1.2.11) [Liu и др., 2003]. Однако все полученные соединения характеризовались незначительным смещением максимумов абсорбции и эмиссии в длинноволновую область спектра.

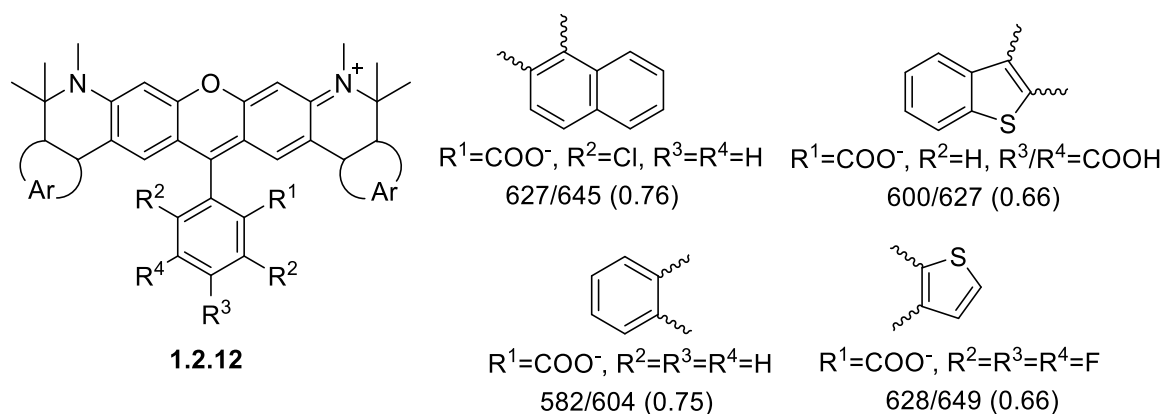
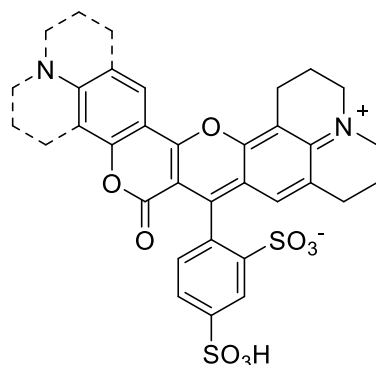


Схема 1.2.11. Различные арилконденсированные аналоги родамина.

Недавно была опубликована интересная комбинация сульфородаминов с кумарином (Схема 1.2.12) [Chevalier, Renard, Romieu, 2014]. Такая модификация не привела к

существенному батохромному смещению спектральных максимумов, однако стоков сдвиг увеличился до 60 нм (обычно стоков сдвиг родаминовых красителей составляет 20-30 нм).



R= NMe ₂	598/635 (0.58)
NEt ₂	602/635 (0.58)
N(C ₃ H ₆) ₂	615/675 (0.18)

Схема 1.2.12. Несимметричные кумариновые аналоги родамина.

Другим примером конденсированных производных родаминов являются аминобензопирановые аналоги (Схема 1.2.13) [Kamino и др., 2014; Kamino и др., 2010].

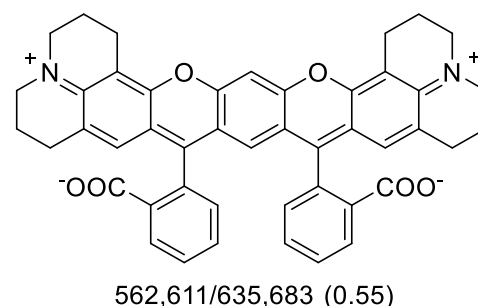
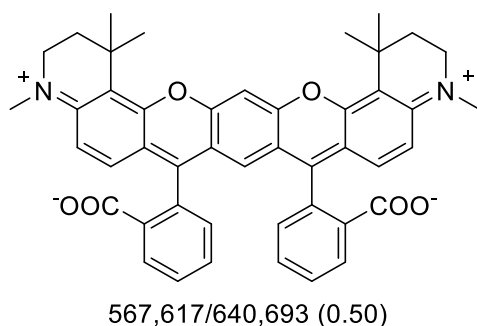
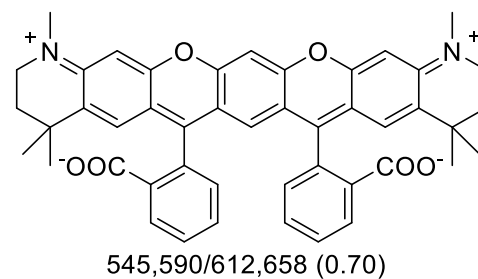
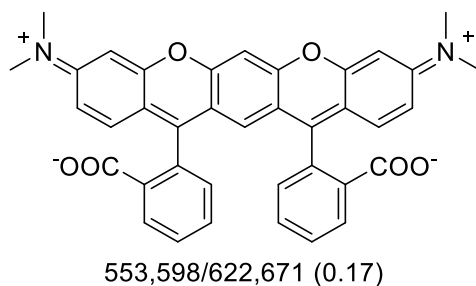


Схема 1.2.13. Аминобензопирановые аналоги родамина.

В завершении этого раздела рассмотрим примеры родаминовых красителей, содержащих в десятом положении атомы 14, 15 и 16 группы периодической таблицы. Наиболее популярными являются аналоги родамина с атомом кремния [Kushida, Nagano, Hanaoka, 2015; Uno и др., 2014; Wang и др., 2012]. Так, на примере пиронина **1.2.13** (Схема 1.2.14), было показано, что замена кислорода на кремний приводит к батохромному сдвигу максимумов абсорбции и эмиссии на 90 нм [Fu и др., 2008].

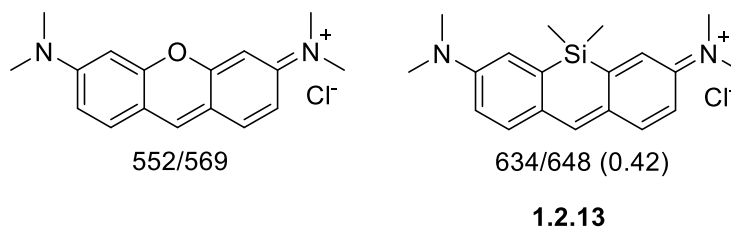


Схема 1.2.14. Кремнийсодержащий аналог родамина.

Позднее были опубликованы производные пиронина и родамина, содержащие другие элементы 14 группы (олово и германий) [Koide и др., 2011]:

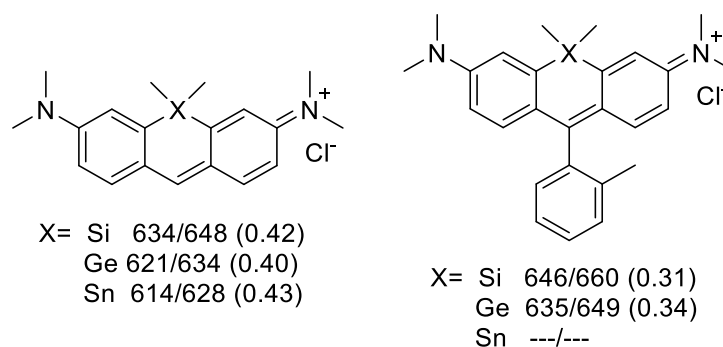


Схема 1.2.15. Примеры производных родамина, содержащие атомы олова, германия и кремния.

Однако исследование оптических свойств этих соединений показало, что наиболее перспективными являются соединения, содержащие кремний, так как, с одной стороны, именно в этом случае наблюдается наибольшее смещение максимумов абсорбции и эмиссии в длинноволновую область спектра, а с другой, - именно эти производные являются наиболее химически стабильными.

В связи с этим было создано множество других кремний-родаминов, содержащих, в том числе, зафиксированные аминные фрагменты, упомянутые выше [Koide и др., 2012a; Wang и др., 2014]. Дальнейшее изучение спектральных свойств показало, что в некоторых случаях жесткая фиксация аминогруппы неожиданно приводит к значительному снижению квантового выхода (соединения **1.2.14** и **1.2.15**):

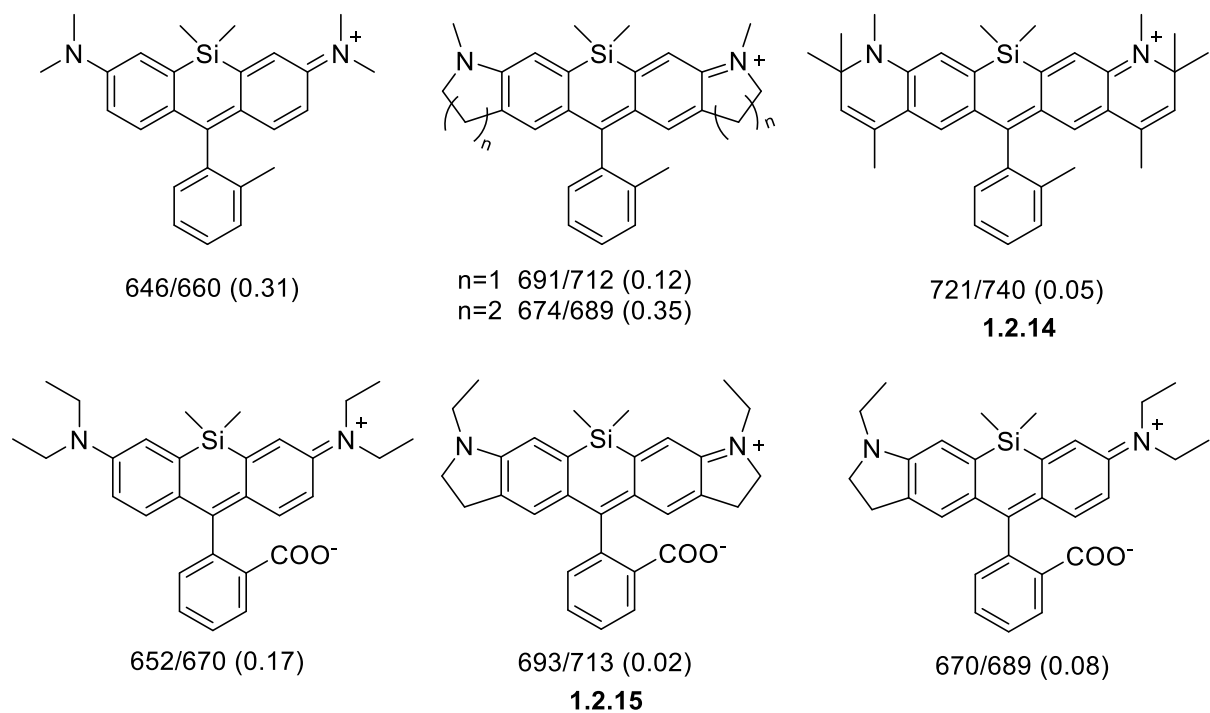


Схема 1.2.16. Расширенный ряд кремнийсодержащих родаминов.

Замена атома кислорода на углерод также приводит к батохромному смещению максимумов абсорбции и эмиссии (Схема 1.2.17) [Grimm и др., 2013]. С другой стороны, при этом наблюдается снижение квантового выхода:

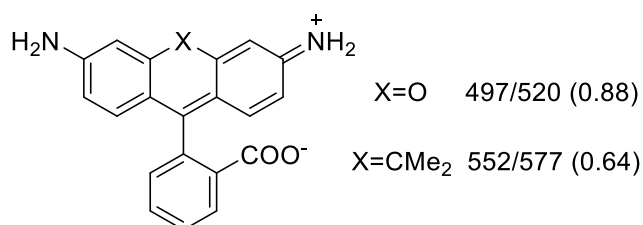


Схема 1.2.17. Углеродсодержащий аналог родамина.

Недавно был предложен весьма интересный отдаленный аналог кремний- и кислородродамина, содержащий в девятом положении ацетиленовый фрагмент (Схема 1.2.18) [Pastierik и др., 2014]. Такое превращение позволило сместить максимумы абсорбции и эмиссии в ближнюю инфракрасную область спектра:

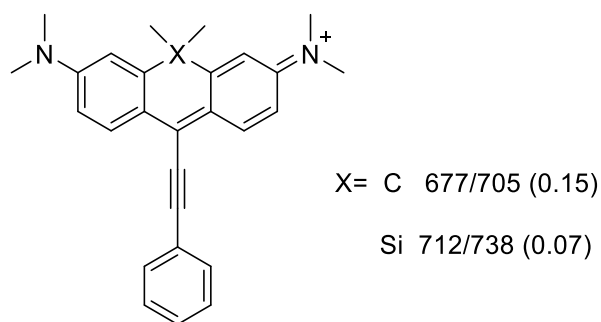


Схема 1.2.18. Примеры ацетиленовых производных родамина.

Большой интерес исследователей вызвала идея замены атома кислорода на атомы серы, селена и теллура (Схема 1.2.19). Изучение спектральных свойств модельных соединений показало, что величина батохромного сдвига максимумов абсорбции и эмиссии относительно оригинального родамина увеличивается в ряду сера-селен-теллур. Однако оказалось, что квантовый выход в этой же последовательности резко снижается, в частности для производного теллура флуоресценцию не удалось детектировать вовсе (соединения **1.2.16**) [Calitree и др., 2007; Ohulchanskyu и др., 2004]. Создание конденсированных производных существенно увеличило батохромный сдвиг спектральных максимумов (соединения **1.2.17**) [Круман, McCormick, Detty, 2016], а жесткая фиксация аминзаместителей позволила увеличить интенсивность флуоресценции (соединения **1.2.18**). К сожалению, КВФ производных теллура по-прежнему не превышал 1% [Gannon и др., 2009; Круман и др., 2014].

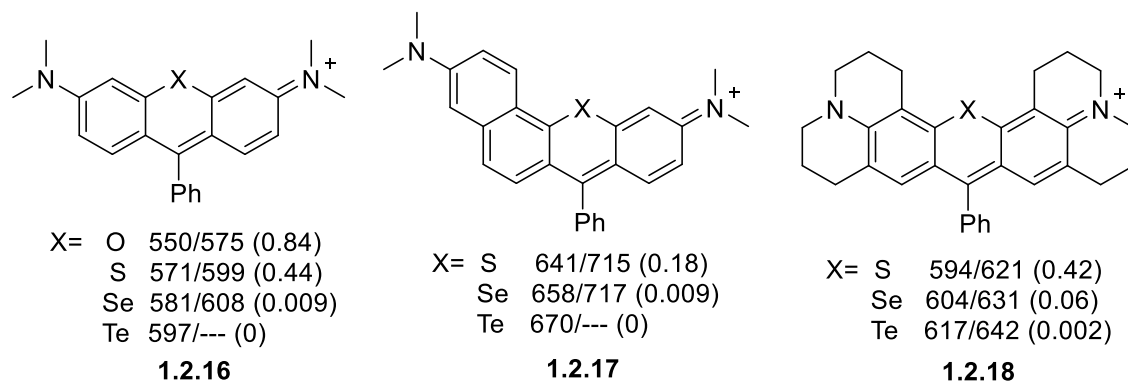


Схема 1.2.19. Расширенный ряд родаминов, содержащих атомы серы, селена и теллура.

Однако проведенные позднее исследования теллурсодержащих аналогов родамина показали, что окисленная форма производных теллура обладает флуоресценцией с квантовым выходом 16-20% [Koide и др., 2012b; Круман и др., 2013; Круман и др., 2014]:

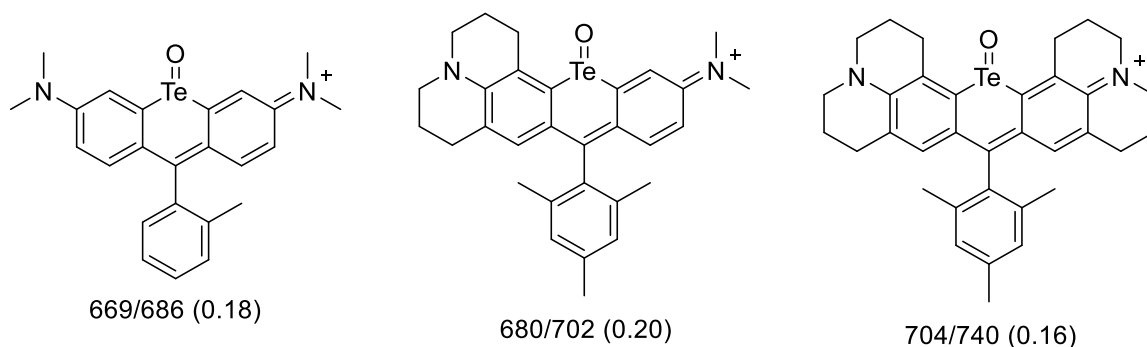


Схема 1.2.20. Окисленные теллурсодержащие аналоги родамина.

Оптические свойства окисленных форм также были исследованы на примере производных родамина, содержащих атомы серы **1.2.19** и фосфора **1.2.20** (Схема 1.2.21) [Chai и др., 2015; Liu и др., 2016]. Полученные соединения отличались заметным батохромных сдвигом в сравнении с неокисленными производными: максимумы абсорбции и эмиссии находились в области 700-750 нм (окно прозрачности биологических объектов). Однако КВФ не увеличился.

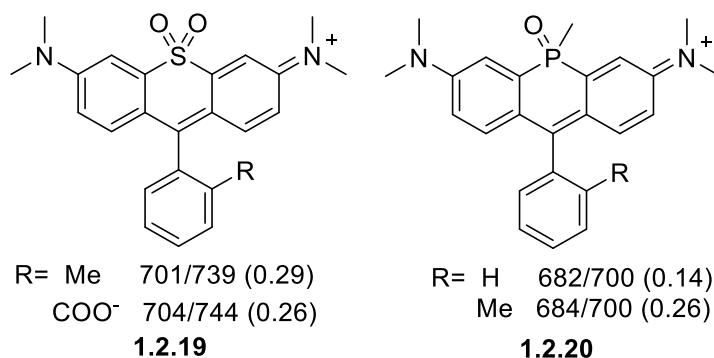


Схема 1.2.21. Окисленные сера- и фосфорсодержащие аналоги родамина.

1.2.2 Красители семейства BODIPY

Еще одним распространенным классом арилметеновых флуоресцентных красителей являются производные семейства BODIPY (от англ. **B**oron**D**IPYromethene):

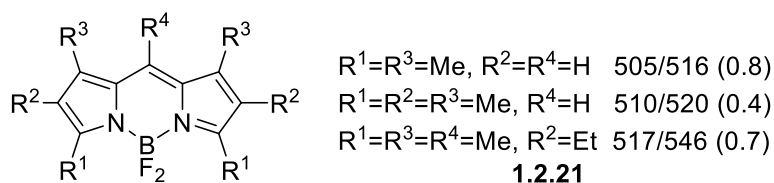


Схема 1.2.22 Простейшие представители красителей семейства BODIPY.

За последние десятилетия было опубликовано множество работ, посвященных созданию разнообразных красителей на основе BODIPY и установлению зависимости оптических свойств от строения молекулы. Модификация таких красителей, как правило, представляет собой введение электронодонорных и акцепторных заместителей в различные положения ключевого дипиририлметенового фрагмента, а также увеличение размера сопряженной π -системы в целом. Реже встречаются примеры модификаций, в которых изменениям подвергается традиционный дипиририлметеновый фрагмент.

В этом разделе литературного обзора мы рассмотрим все возможные подходы к модификации флуоресцентных красителей BODIPY, разделив их на 4 основных направления: введение заместителей в первое (седьмое), третье (пятое) и восьмое положения; создание конденсированных аналогов (α -, β - и γ -связи); замена атома углерода в восьмом положении на азот; замена атомов фтора на другие группы (Схема 1.2.23).

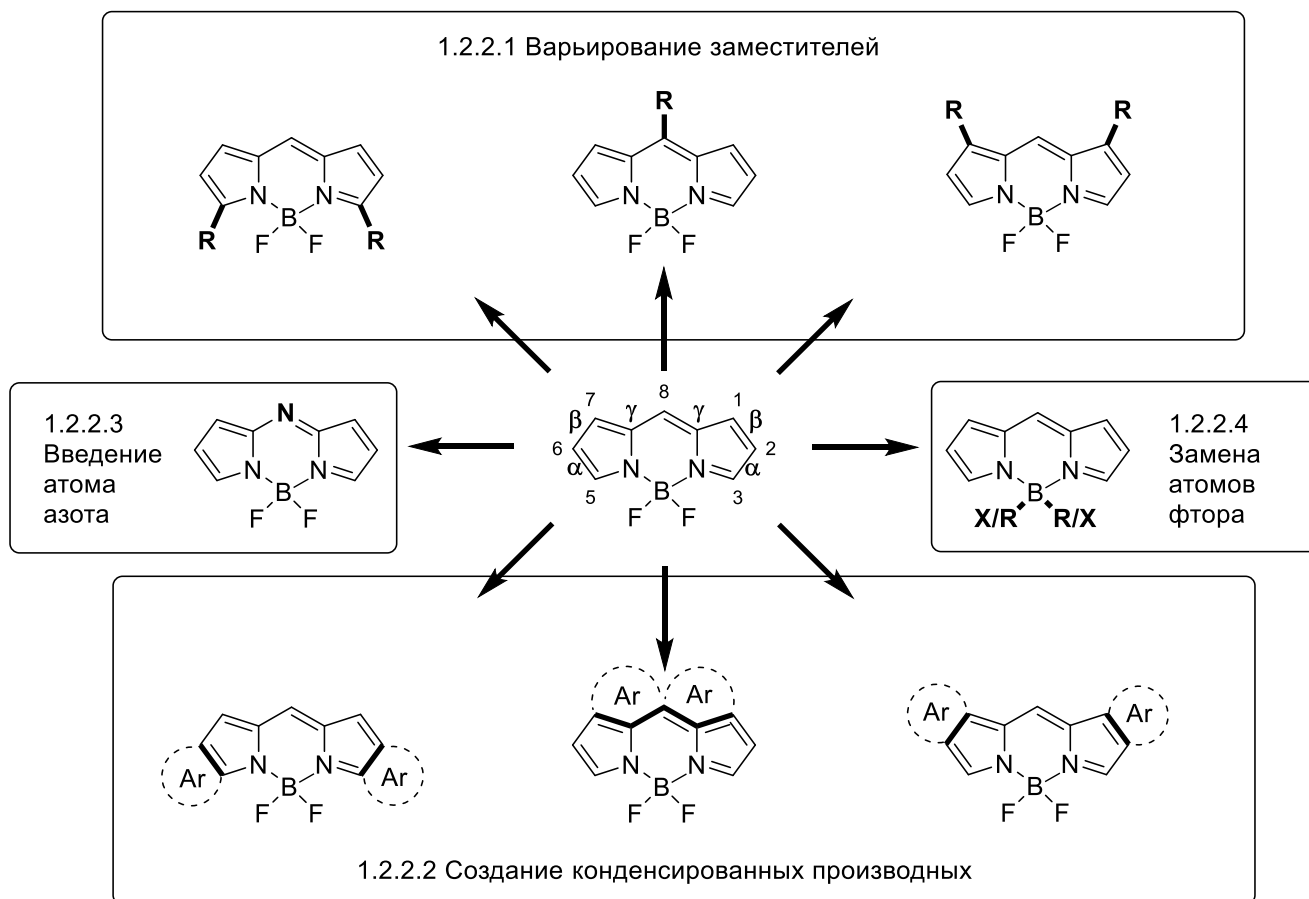


Схема 1.2.23 Методы модификации красителей семейства BODIPY.

1.2.2.1 Варьирование заместителей

Пожалуй, наиболее удобным способом увеличить размер сопряженной системы является введение ароматических заместителей в третье (пятое), первое (седьмое) и восьмое положения фрагмента BODIPY:

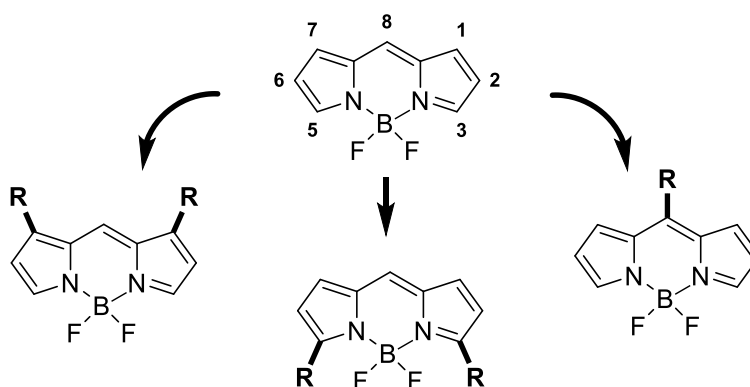


Схема 1.2.24. Ключевые положения для введения различных заместителей.

Было установлено, что введение даже простых фенильных заместителей в третье и пятое положения (соединение **1.2.22**, Схема 1.2.25) приводит к батохромному сдвигу на ~50 нм в сравнении с простейшими представителями (соединения **1.2.21**, Схема 1.2.22) [Burghart и др.,

1999]. Введение же гетероциклических фрагментов - таких, как пиррол (соединение **1.2.23**) и тиофен (соединение **1.2.24**) - позволило увеличить батохромный сдвиг до ~120 нм [Rihn и др., 2009; Zhang и др., 2012]. Еще большего смещения максимумов абсорбции и эмиссии удалось достигнуть введением дополнительных тиофеновых колец (соединение **1.2.25**) (Схема 1.2.25) [Poirel, Nicola De, Ziessel, 2012].

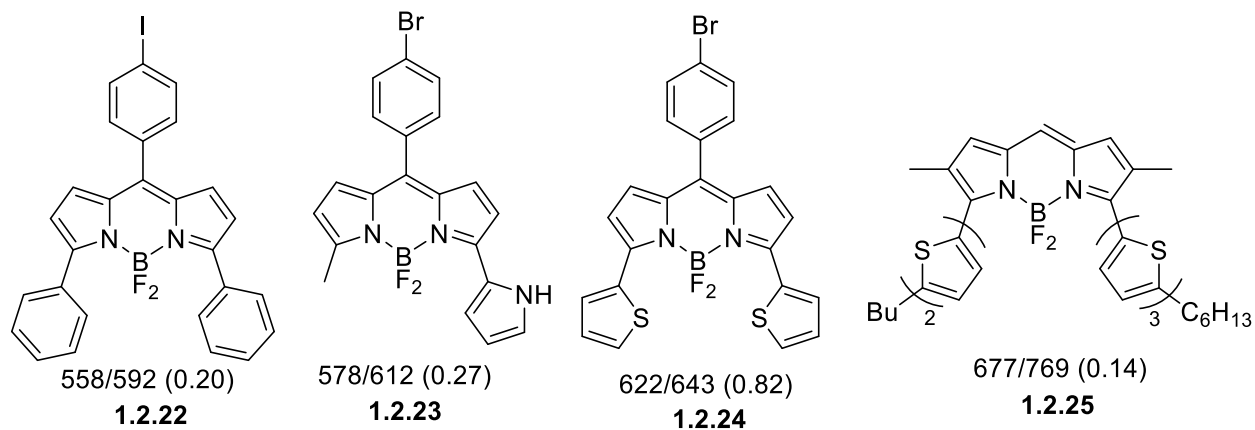


Схема 1.2.25. Примеры красителей BODIPY, содержащих ароматические заместители в третьем и пятом положениях.

Однако подобные 3,5-диарилзамещенные производные BODIPY обычно характеризуются невысокими значениями квантового выхода флуоресценции, что, вероятно, связано с подвижностью введенного заместителя. На примере некоторых производных (соединения **1.2.26-1.2.27**, Схема 1.2.26) показано, что жесткая фиксация заместителей в третьем и пятом положениях приводит к значительному росту величины КВФ [Chen и др., 2000; Kowada и др., 2011; Kowada, Yamaguchi, Ohe, 2010]. Кроме того, эти соединения характеризуются заметным батохромным сдвигом максимумов абсорбции и эмиссии в сравнении с соединениями **1.2.22-1.2.25** (Схема 1.2.25). Аналогичным образом фиксируются ароматические заместители в первом и седьмом положениях (соединения **1.2.28**, Схема 1.2.26) [Wang и др., 2010].

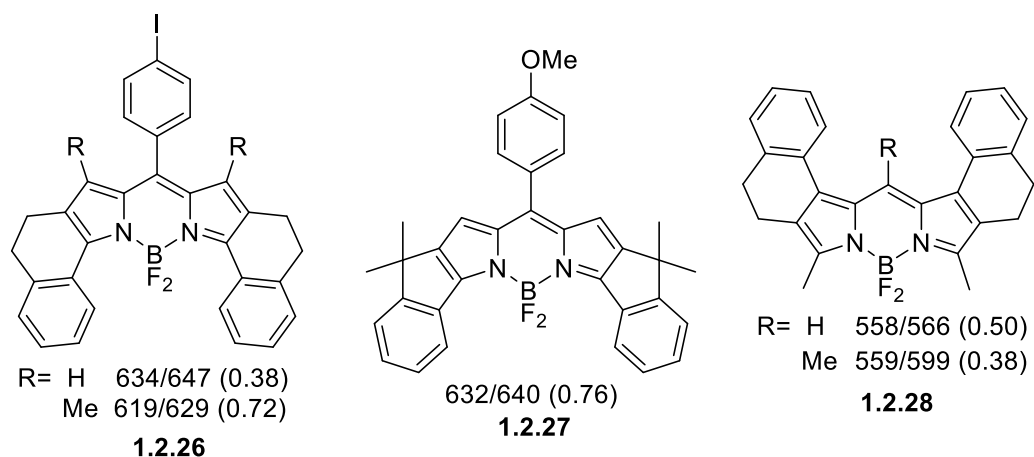


Схема 1.2.26. Примеры красителей BODIPY с фиксированными ароматическими заместителями.

Достаточно популярным методом модификации флуоресцентных красителей семейства BODIPY является введение в третье и пятое положения различных стирольных или арилацетиленовых заместителей:

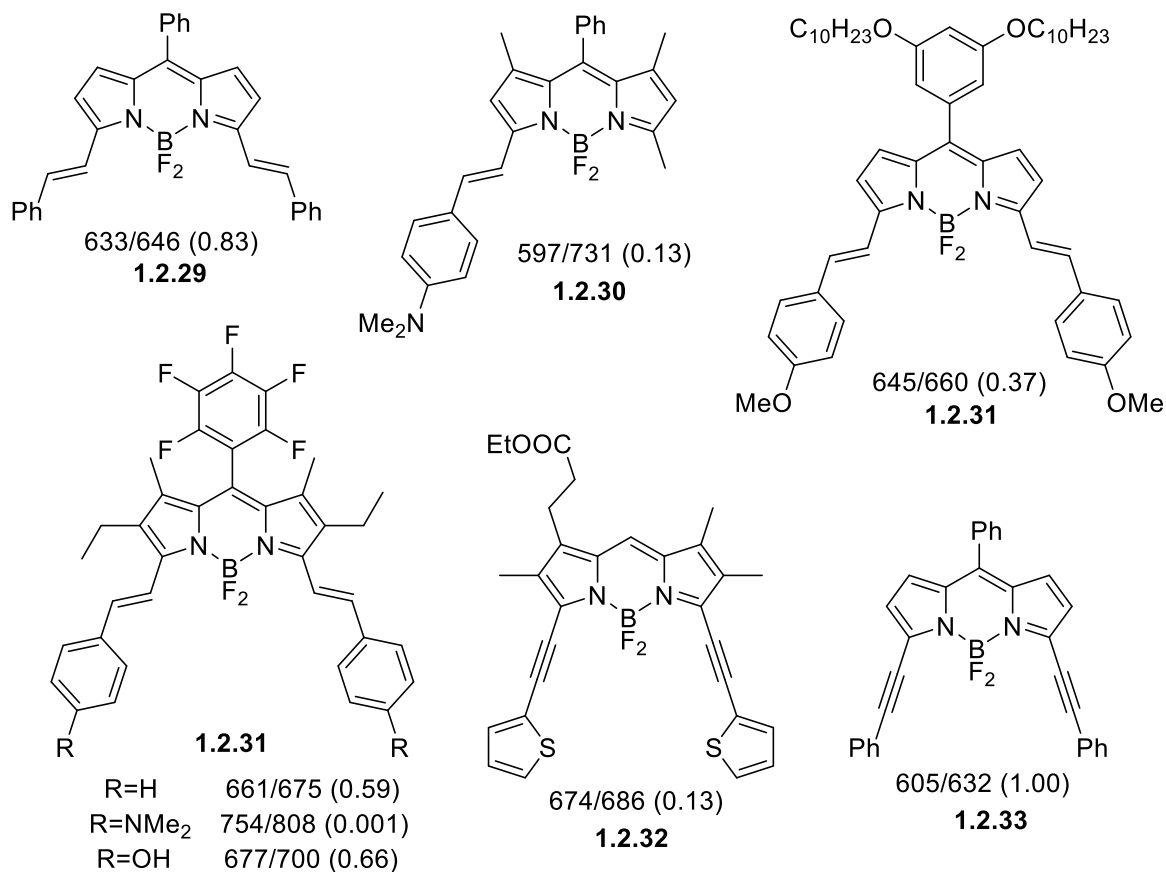


Схема 1.2.27. Примеры красителей BODIPY, содержащих различные стирольные и арилацетиленовые заместители.

Первые из них чаще всего получают прямой конденсацией с ароматическими альдегидами, которая легко протекает за счет высокой кислотности метильных групп в четвертом и пятом положениях ($R=Me$, Схема 1.2.28) [Baruah и др., 2006; Buyuksakir и др., 2009; Galangau и др., 2010; Rurack, Kollmannsberger, Daub, 2001; Yu и др., 2006]. Вторые же чаще всего синтезируют с использованием реакции Соногаширы ($R=Hal$, Схема 1.2.28) [Jiao и др., 2010a; Rohand и др., 2006].

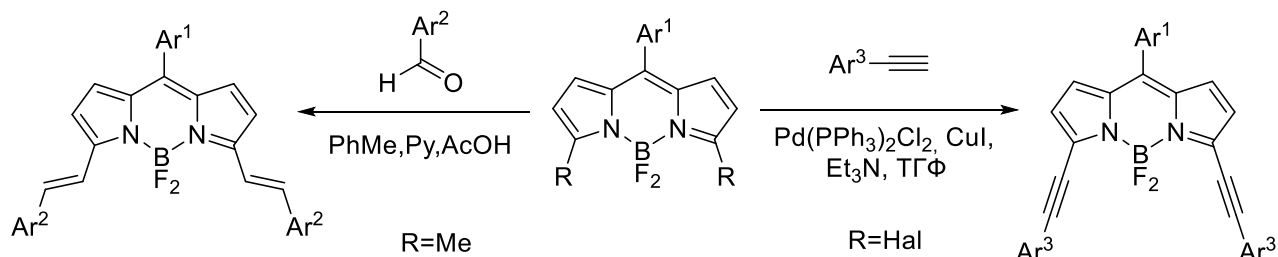


Схема 1.2.28. Получение производных BODIPY, содержащих различные стирольные и арилацетиленовые заместители.

В литературе также встречаются примеры производных красителей BODIPY, содержащих полиеновые заместители (Схема 1.2.29). Оптические свойства производных **1.2.34** зависят от положения заместителя в молекуле. Так, квантовый выход 2,6-дизамещенного соединения **1.2.34b** составил всего 5%, в то время как для 3,5-дизамещенного аналога **1.2.34a** эта величина была выше 50% [Chen и др., 2009].

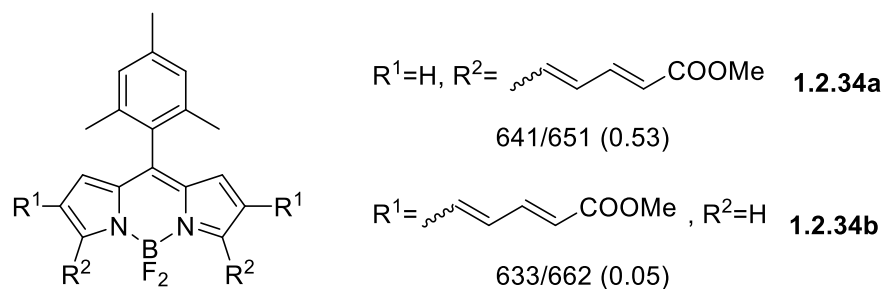


Схема 1.2.29. Примеры красителей BODIPY, содержащих полиеновые заместители.

Другой сходной модификацией стало создание производных **1.2.35** (Схема 1.2.30), близких по своему строению к цианиновым красителям и характеризующихся максимумами эмиссии до 745 нм. Однако КВФ в этом случае не достигал даже 1% [Yakubovskiy, Shandura, Kovtun, 2009].

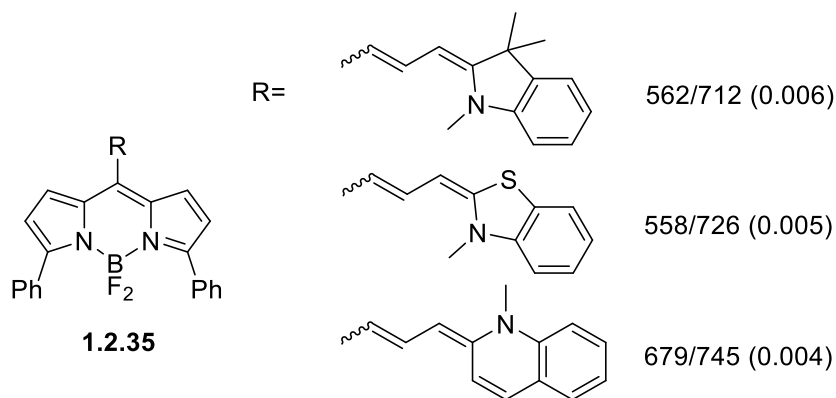


Схема 1.2.30. Примеры красителей BODIPY, содержащих цианиновые фрагменты.

1.2.2.2 Создание конденсированных производных BODIPY

Другим способом модифицировать красители семейства BODIPY является введение дополнительных ароматических колец. В структуре BODIPY есть три основных центра для сочленения с различными циклами: α -, β - и γ -связи:

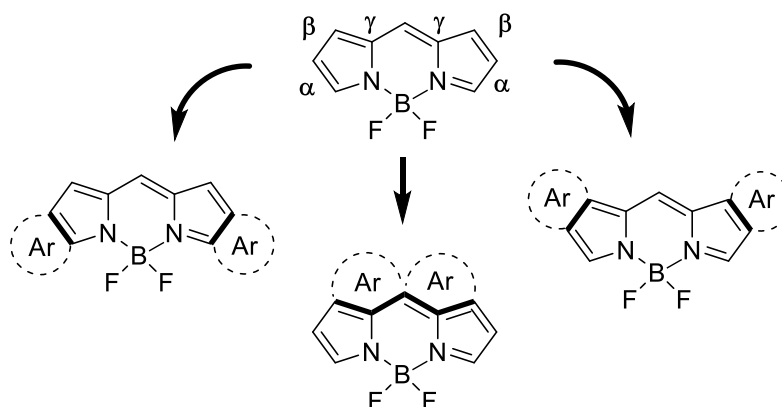


Схема 1.2.31. Ключевые центры для введения дополнительных ароматических колец.

Самыми простыми примерами такой модификации являются различные бензол- (соединения **1.2.36-1.2.40**) и фенантрен- (соединения **1.2.41-1.2.42**) конденсированные производные BODIPY с общей α - или β -связью (Схема 1.2.32) [Descalzo и др., 2008; Hayashi и др., 2012; Ni и др., 2013; Okujima и др., 2010; Shen и др., 2004; Uppal и др., 2012].

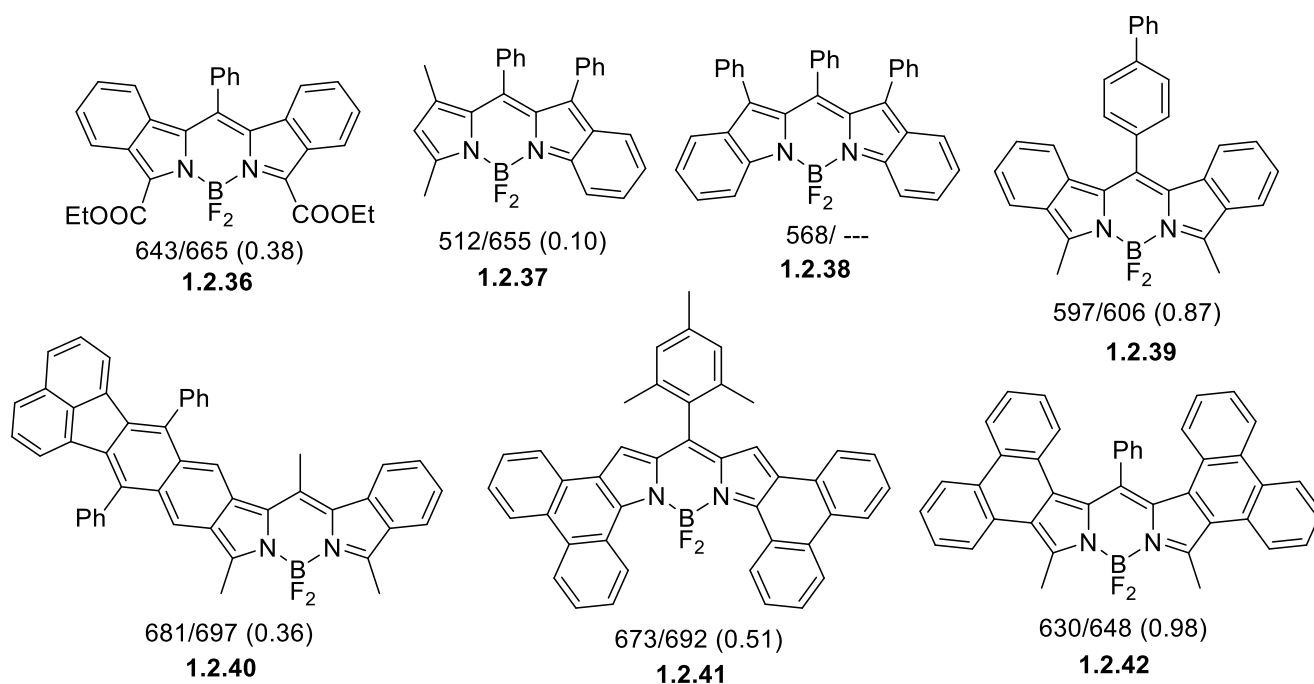


Схема 1.2.32. Примеры красителей BODIPY, конденсированных по α - и β -связям.

Как видно из приведенных примеров, подобные арилконденсированные аналоги имеют максимумы абсорбции и эмиссии, лежащие в более длинноволновой области спектра (для простейших красителей семейства BODIPY характерно поглощение и испускание в области 500-550 нм). Также эти соединения характеризуются достаточно высоким показателем квантового выхода. Однако такие красители достаточно липофильны и отличаются низкой растворимостью в воде.

Дополнительное введение гетероциклических и арилацетиленовых заместителей в арилконденсированные аналоги не привело к более заметному батохромному сдвигу спектральных максимумов (Схема 1.2.33). Но полученные соединения отличались высокой фото-стабильностью [Jiao и др., 2010b; Yu и др., 2012; Yu и др., 2016].

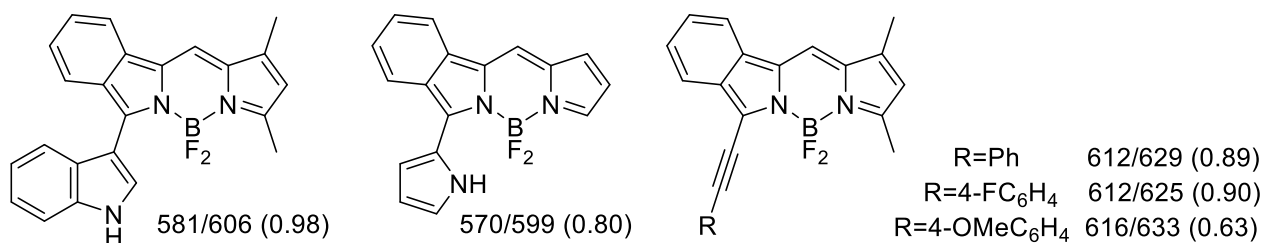


Схема 1.2.33. Примеры несимметричных арилконденсированных красителей BODIPY.

Создание производных красителей BODIPY конденсированных с фураном привело к рождению целой группы красителей KFL (от англ. Keio Fluors) (соединения 1.2.43, Схема

1.2.34). Впервые материалы по этой группе веществ были опубликованы в 2008 году [Umezawa и др., 2008].

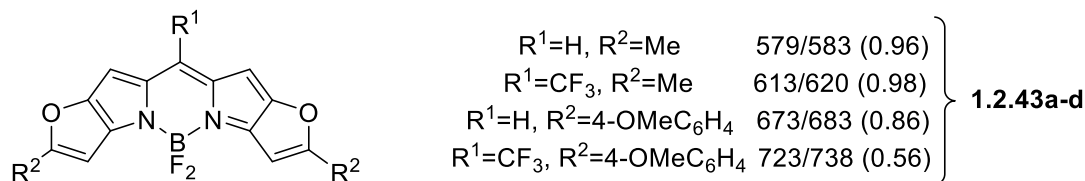


Схема 1.2.34. Примеры красителей BODIPY конденсированных с фураном.

Простейший незамещенный фурановый аналог BODIPY **1.2.43a** характеризуется значительным батохромным сдвигом спектральных максимумов в сравнении с простейшими представителями BODIPY (максимумы абсорбции и эмиссии в области 500-550 нм). Причем у всей линейки красителей KFL сохраняются высокие показатели квантового выхода. На примере соединения **1.2.43d** была продемонстрирована эффективность комбинации акцепторного заместителя в восьмом положении и донорного заместителя в фурановом кольце - максимум эмиссии сместился до 730 нм.

Позднее линейка красителей KFL была расширена. Был создан небольшой ряд производных с различными ароматическими заместителями в фурановом кольце (соединения **1.2.44**, Схема 1.2.35) [Umezawa и др., 2009]. Полученные соединения отличались высокими показателями квантового выхода (выше 80%) и испускали свет в области 650-700 нм:

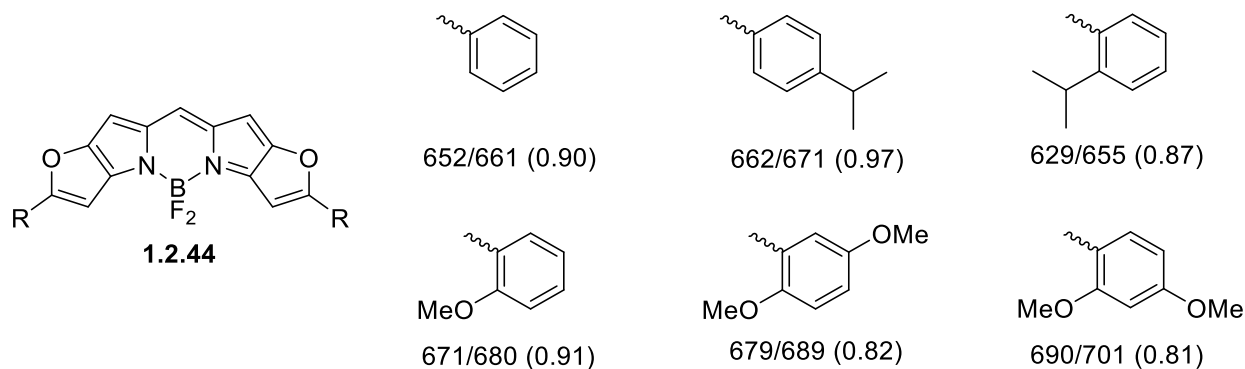


Схема 1.2.35. Примеры KFL красителей, содержащих ароматические заместители.

По аналогии с линейкой KFL были синтезированы производные BODIPY конденсированные с тиофеном [Awuah и др., 2011]. Однако сравнение оптических свойств тиофеновых аналогов с фурановыми не выявило существенных отличий (соединения **1.2.45**, Схема 1.2.36). Создание несимметричных производных также не привело к заметному изменению спектральных свойств (соединения **1.2.46** и **1.2.47**) [Jiang и др., 2012].

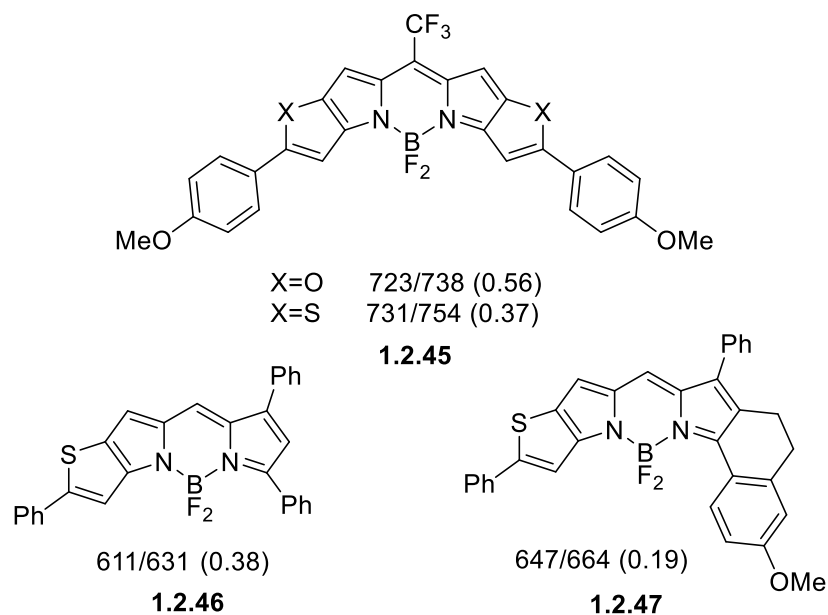


Схема 1.2.36. Примеры тиофеновых аналогов BODIPY.

Гораздо реже в литературе встречаются примеры конденсированных BODIPY с общей γ -связью [Jiao, Huang, Wu, 2011; Ni и др., 2013; Zeng и др., 2011]. Изучение оптических свойств показало, что такие бензольные, периленовые и антраценовые аналоги **1.2.48-1.2.50** (Схема 1.2.37) характеризуются уширением сигналов и большим числом отдельных максимумов абсорбции. Более того, они часто имеют низкий квантовый выход флуоресценции, а иногда эмиссия у них не детектируется вовсе:

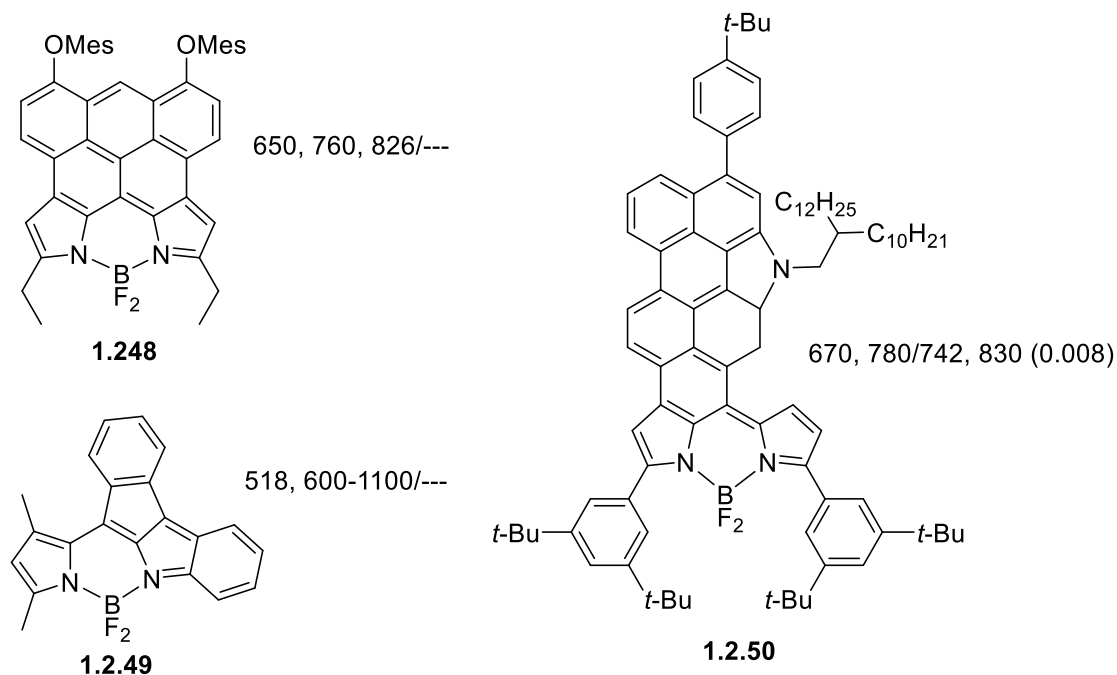


Схема 1.2.37. Примеры красителей BODIPY, конденсированных по γ -связи.

В качестве отдельной группы аналогов BODIPY конденсированных с бензолом стоит рассмотреть димерные производные. По аналогии с простыми арилконденсированными аналогами существует два удобных центра сочленения: α - и β -связи. Димеры BODIPY с общей α -связью (соединения **1.2.51-1.2.55**, Схема 1.2.38) характеризуются высокими показателями коэффициента экстинкции и максимумами абсорбции и эмиссии в области 700-850 нм [Nakamura и др., 2012]. Причем *анти*-димеры отличаются спектральными максимумами, лежащими в более длинноволновой области спектра в сравнении со своими *син*-аналогами (Схема 1.2.38). Впрочем, все полученные соединения оказались крайне нестабильными.

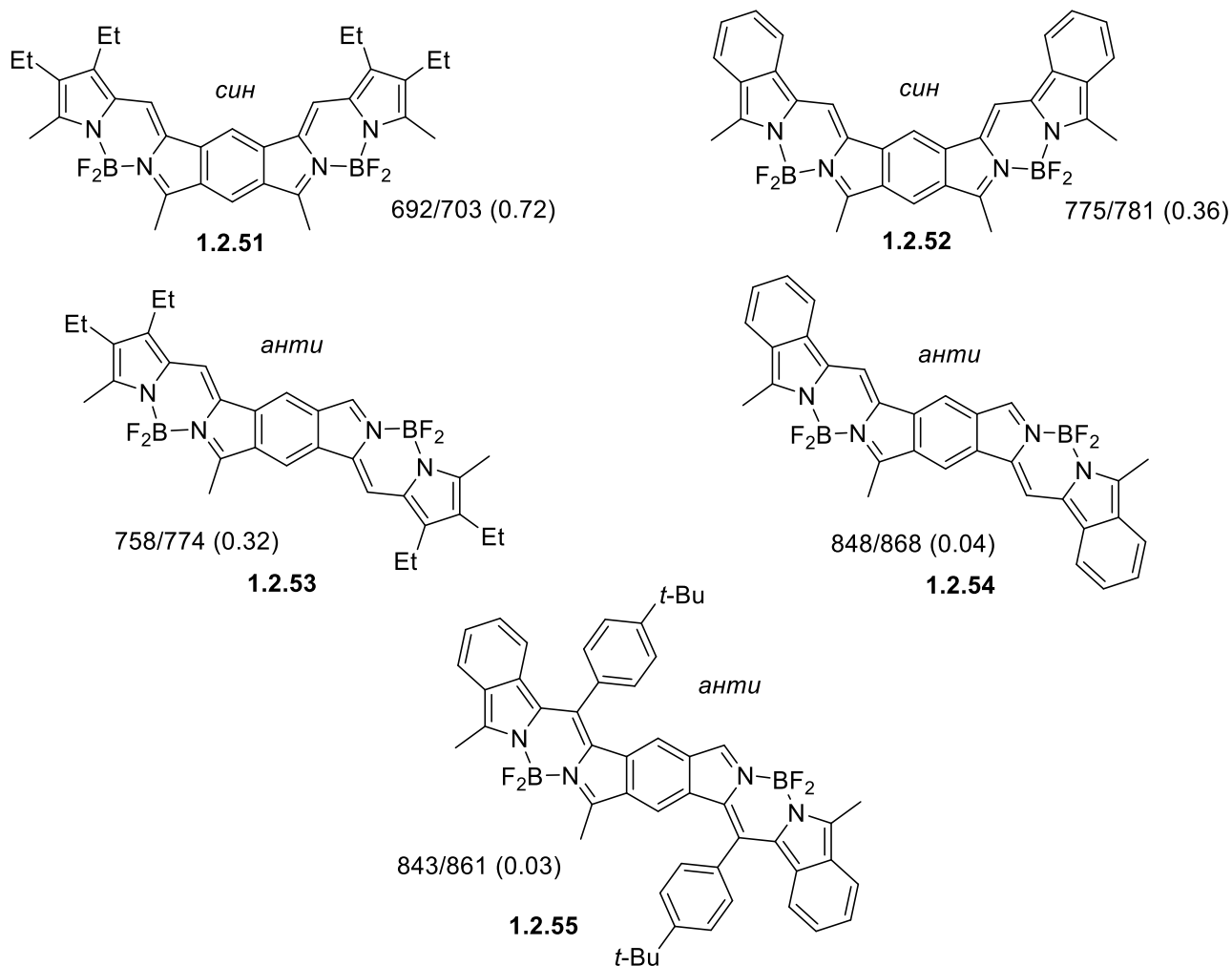


Схема 1.2.38. Примеры димерных аналогов BODIPY, конденсированных по α -связи.

Димерные аналоги BODIPY, конденсированные по β -связи, появились позднее. Квантово-химические расчеты показали, что такие димеры будут стабильнее своих аналогов с общей α -связью [Wakamiya, Murakami, Yamaguchi, 2013; Wang и др., 2015]. Полученные димеры BODIPY **1.2.56-1.2.58** действительно оказались достаточно стабильными (Схема 1.2.39). Причем дополнительное сочленение с тиофеном позволило сместить максимумы абсорбции и

эмиссии до 802 и 823 нм соответственно (соединение **1.2.57**), однако КВФ при этом понизился до 4%.

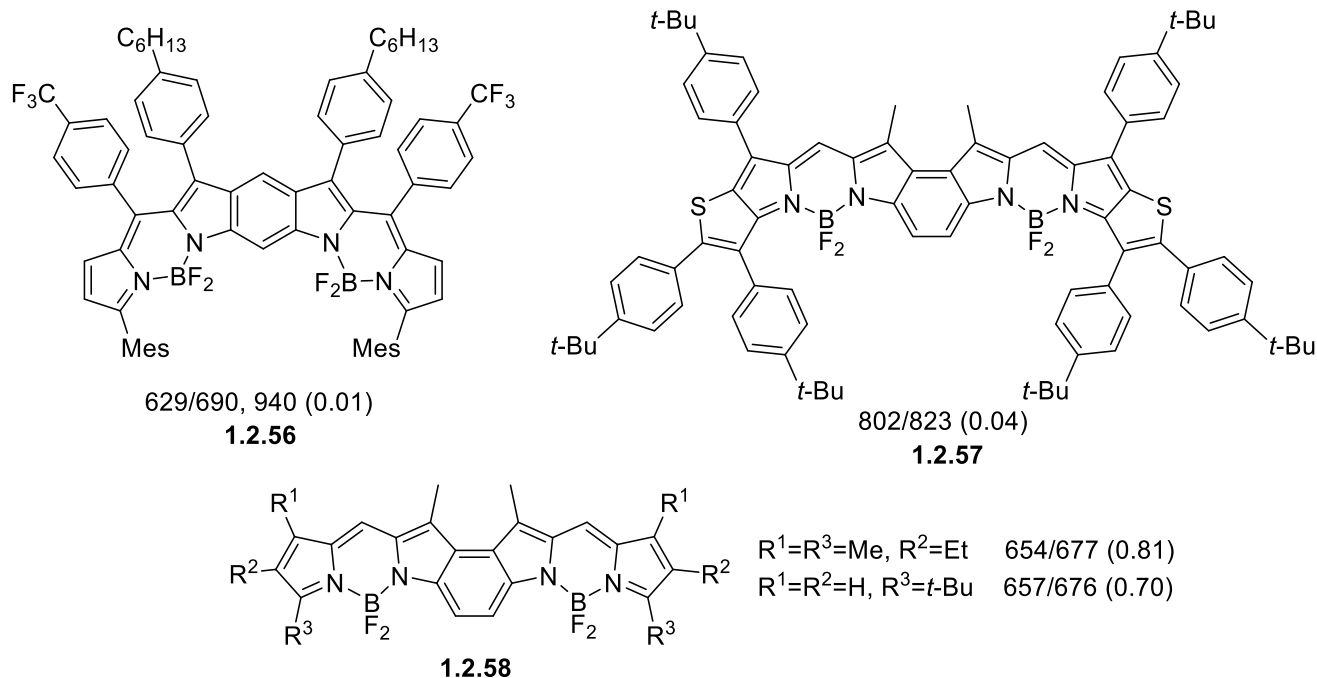


Схема 1.2.39. Примеры димерных аналогов BODIPY, конденсированных по β -связи.

1.2.2.3 Введение атома азота в восьмое положение

Другой достаточно популярной модификацией красителей BODIPY является замена атома углерода, лежащего в восьмом положении, на атом азота. Такая группа красителей получила название аза-BODIPY:

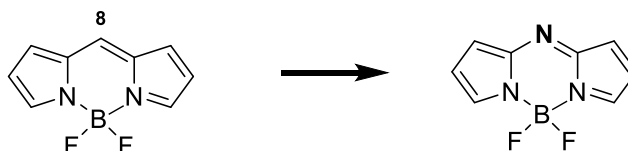


Схема 1.2.40. Аза-BODIPY красители.

Данные соединения характеризуются заметно меньшей стабильностью относительно оригинальных производных. Однако она может быть повышена за счет введения дополнительных ароматических заместителей. Полученные таким образом соединения характеризуются достаточно длинноволновым положением максимумов абсорбции и эмиссии (см. например, соединение **1.2.59a**, Схема 1.2.41). Дополнительное введение кислородсодержащих групп в *para*-положение фенильных заместителей (соединения **1.2.59b-f**) приводит к еще большему батохромному сдвигу спектральных максимумов [Aoife и др., 2004; Salim и др., 2014]:

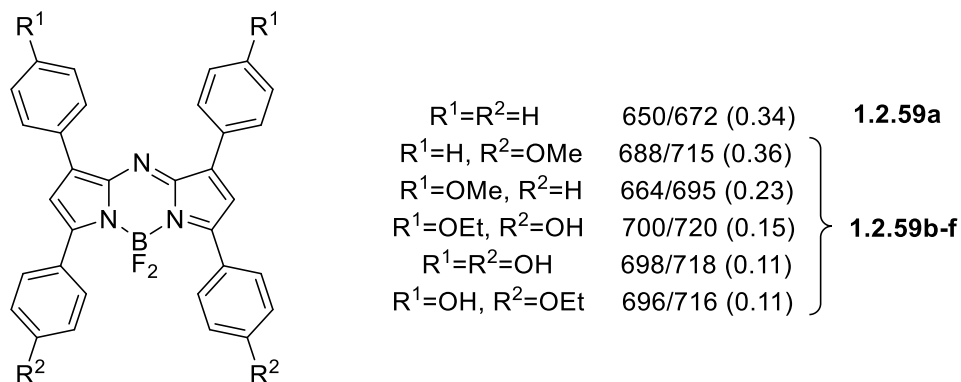


Схема 1.2.41. Аза-BODIPY красители, содержащие ароматические заместители.

Также эффективной модификацией производных аза-BODIPY является введение тиофена или арилацетиленовых заместителей [Bellier и др., 2012; Bellier и др., 2011; Zhang, Yu, Xiao, 2012]:

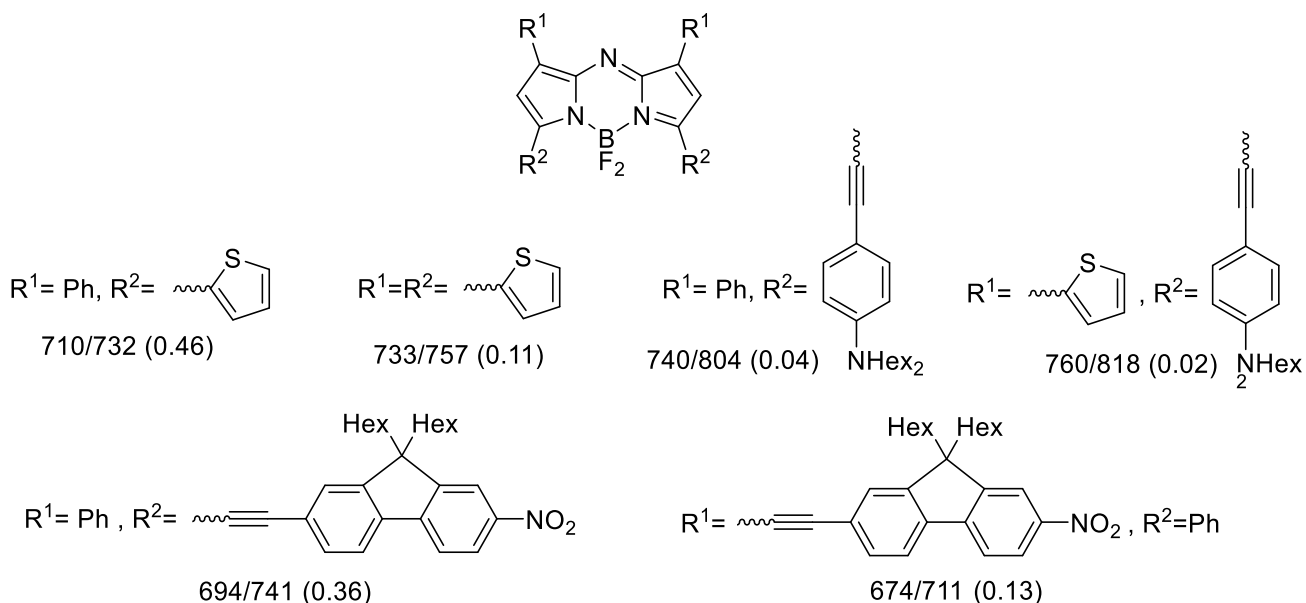


Схема 1.2.42. Примеры аза-BODIPY красителей, содержащих ароматические и алкинильные заместители.

На примере аза-BODIPY также было изучено влияние жесткой фиксации заместителей в третьем и пятом положении [Zhao, Carreira, 2005; Zhao, Carreira, 2006]. Максимумы абсорбции и эмиссии почти всех полученных соединений находились в области 700-750 нм:

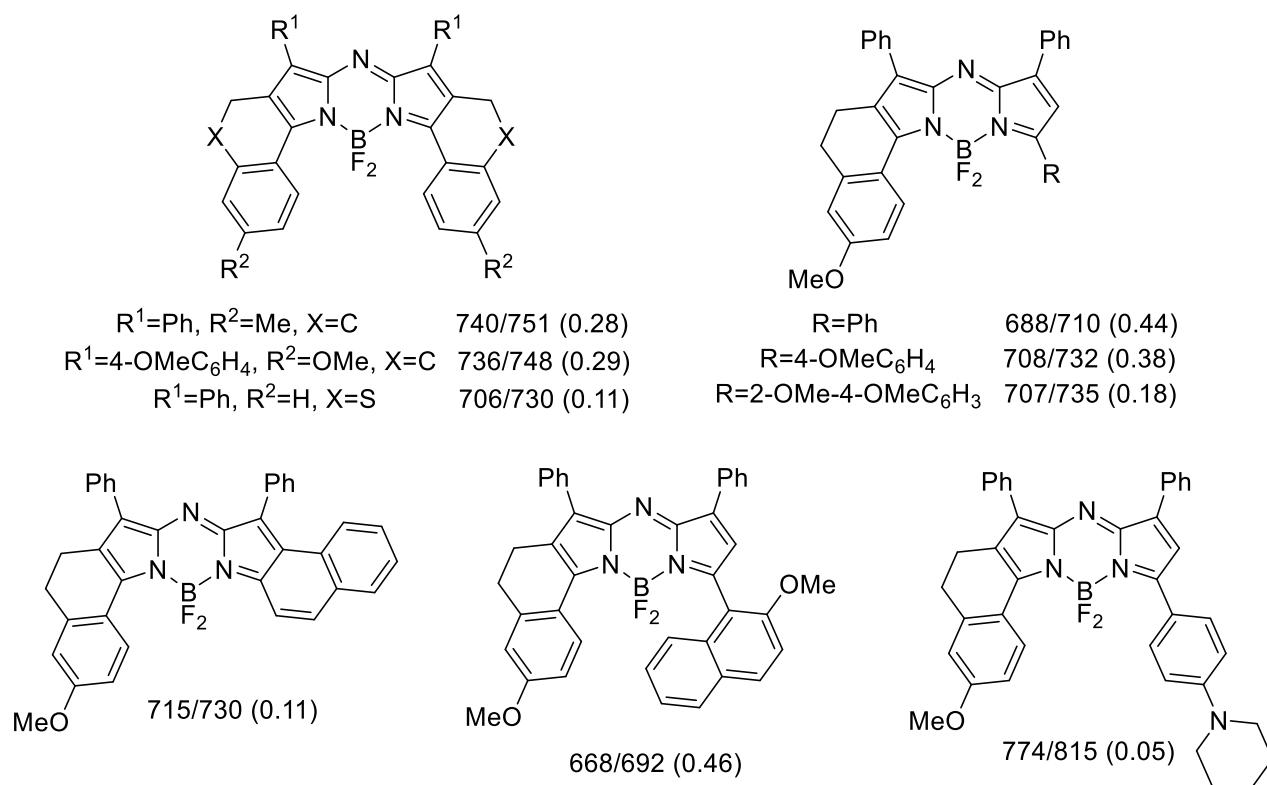


Схема 1.2.43. Примеры аза-BODIPY красителей с фиксированными заместителями.

По аналогии с оригинальными красителям BODIPY была предложена линейка производных аза-BODIPY конденсированных с бензолом и нафталином (Схема 1.2.44) [Lu и др., 2011]. Полученные соединения отличались максимумами абсорбции и эмиссии, лежащими в ближней инфракрасной области спектра (более 700 нм), однако квантовый выход не превышал 20%.

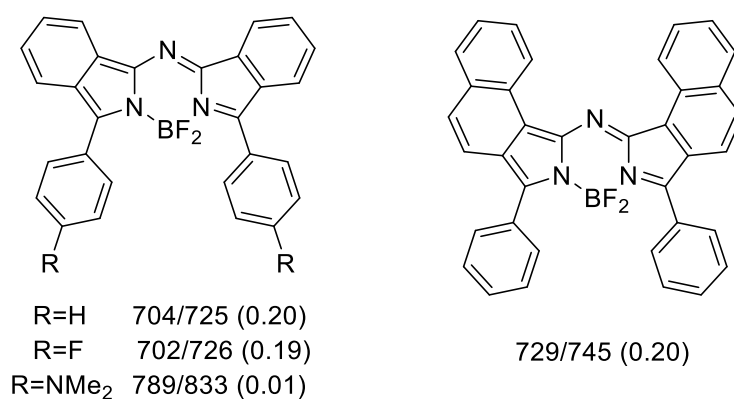


Схема 1.2.44. Примеры аза-BODIPY красителей конденсированных с бензолом.

1.2.2.4 Замена атомов фтора

Последним примером возможной модификации красителей BODIPY, рассматриваемой в настоящем обзоре, является замена атомов фтора (BF₂-группа) на другие заместители:

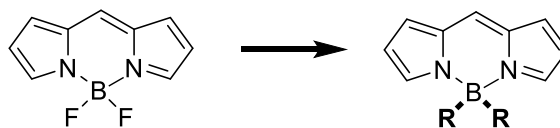


Схема 1.2.45. Модификация красителей BODIPY с помощью замены атомов фтора.

Различные алкильные производные, могут быть получены взаимодействием соответствующих дипиррометенов с бромдиметилбораном и трифлатом дибутилборана [Кее и др., 2005]. Изучение спектральных характеристик полученных соединений **1.2.60-1.2.62** показало, что с увеличением размера заместителя на атоме бора КВФ уменьшается (Схема 1.2.46).

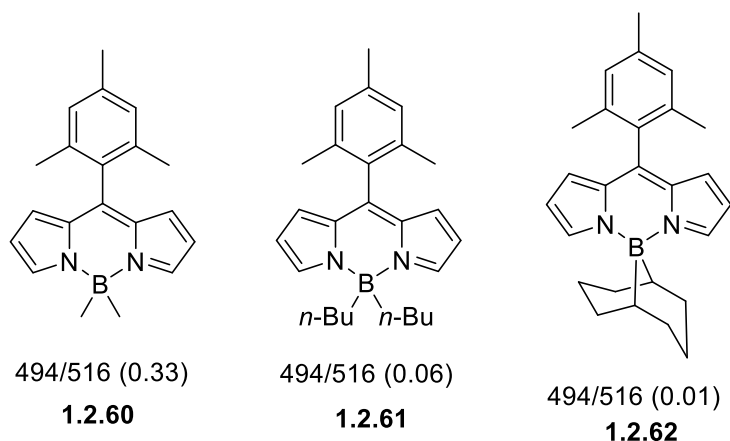


Схема 1.2.46. Замена атомов фтора на различные алкильные заместители.

Более того различные арильные/алкильные производные BODIPY характеризовались лишь незначительным смещением максимумов абсорбции и эмиссии в сравнении с BF₂-BODIPY (спектральные максимумы в области 500-550 нм).

Сравнение оптических свойств моно- и диарильных производных также не выявило существенных отличий (Схема 1.2.47). Положения спектральных максимумов и КВФ практически не отличались [Goze и др., 2006].

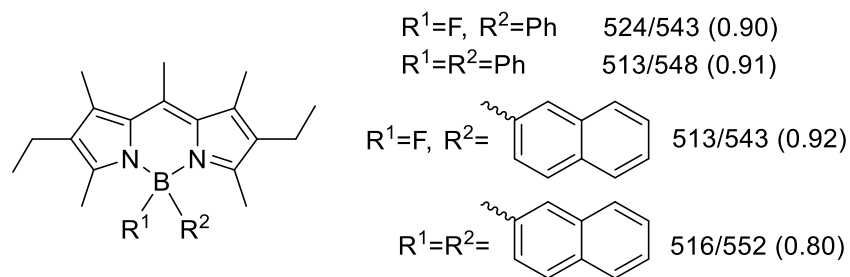


Схема 1.2.47. Арильные аналоги BODIPY.

Оптические свойства арилацетиленовых производных BODIPY (Схема 1.2.48) также значительно не отличались от свойств простейших BF_2 -BODIPY [Ziessel, Goze, Ulrich, 2007].

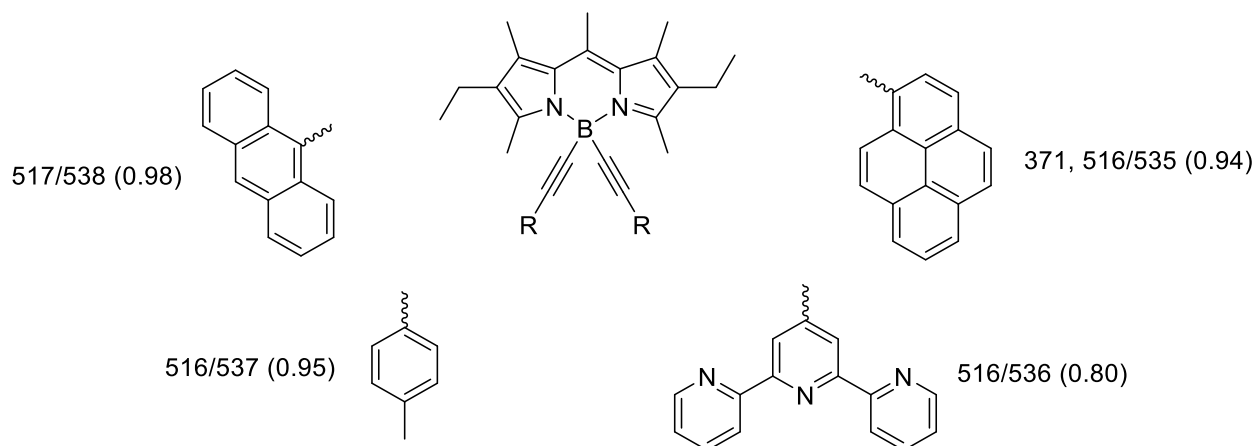


Схема 1.2.48. Арилацетиленовые аналоги BODIPY.

Последним примером такого типа модификации, рассматриваемом в настоящем обзоре, является введение кислородсодержащих групп (Схема 1.2.49). Изучение спектральных характеристик показало, что замена атомов фтора на различные кислородсодержащие группы также приводит лишь к незначительным изменениям оптических свойств [Gabe и др., 2006; Tahtaoui и др., 2007].

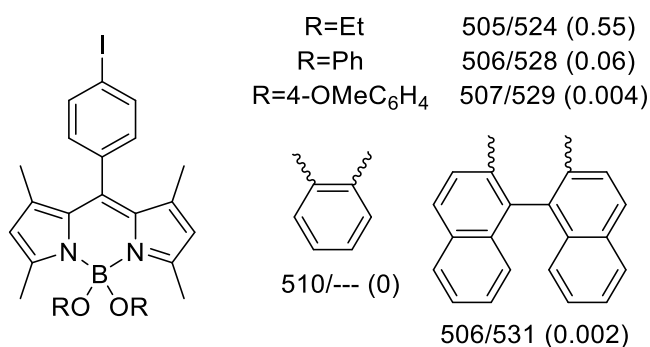


Схема 1.2.49. Красители BODIPY, содержащие алкокси- и арилокси группы при атоме бора.

Глава 2. Обсуждение результатов

Синтетические аналоги хромофоров флуоресцентных белков

Разнообразные производные хромофоров флуоресцентных белков, имеющие в своей основе структуру имидазолонна (4-бензилиден-1Н-имидазол-5(4Н)-онов), являются перспективными претендентами на роль новой группы флуоресцентных красителей. Эти соединения имеют малый размер, низкую степень гидрофобности, а также разнообразную и интенсивную окраску.

Недавно в нашей лаборатории были проведены исследования различных синтетических аналогов хромофора GFP, которые позволили выявить взаимосвязь между строением молекулы и величиной квантового выхода флуоресценции подобных соединений. Было установлено, что непосредственное влияние на КВФ оказывает подвижность бензилиденового фрагмента. Так, при введении в молекулу хромофора фиксирующей дифторборильной группы происходит многократное увеличение интенсивности эмиссии и квантовый выход достигает 73%, что близко к аналогичному показателю для самого GFP (79%) [Varanov и др., 2012]:

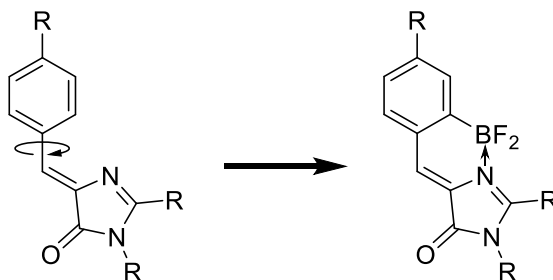


Схема 2.1.1 Хромофор флуоресцентного белка с зафиксированной структурой.

Разработка метода введения BF₂-группы в молекулу хромофора позволила не только существенным образом повлиять на оптические свойства, но и создать небольшой ряд высокофлуоресцентных родственных соединений [Varanov и др., 2014].

Настоящая работа посвящена развитию предложенного направления и созданию новых синтетических аналогов зафиксированных имидазолонов. Она состоит из трех частей: синтез хромофоров других флуоресцентных белков; создание отдаленных аналогов хромофоров; разработка методов введения функциональных групп в структуру хромофоров.

2.1 Прямые аналоги хромофоров флуоресцентных белков

В первой части данного исследования модификация, заключающаяся во введении дифторборильной группы, была использована для создания конформационно зафиксированных синтетических аналогов хромофоров других флуоресцентных белков - мутантов GFP: цианового флуоресцентного белка (CFP) и белка Sirius, а также белка Kaede:

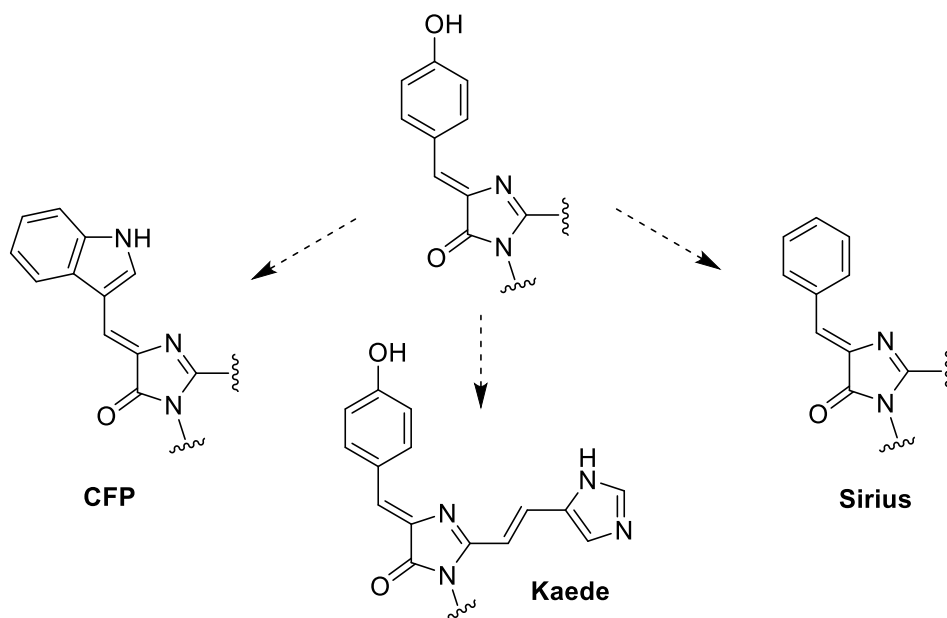


Схема 2.1.2. Хромофоры других флуоресцентных белков.

Это исследование позволило показать, что непосредственное увеличение КВФ и изменение других оптических свойств при фиксации подвижного бензилиденового фрагмента характерно не только для хромофора GFP, но и для хромофоров других флуоресцентных белков.

2.1.1 Высокофлуоресцентные синтетические аналоги хромофоров белка Sirius и цианового флуоресцентного белка (CFP)

Конформационно зафиксированные аналоги хромофоров белка Sirius и CFP **2.1.3** были получены при воздействии трибромида бора на имидазолы **2.1.2**. Последние, в свою очередь, были синтезированы с помощью циклоприсоединения иминов **2.1.1** к иминоэфиру (см. Раздел 1.1.2 «Взаимодействие иминов с имидастом»):

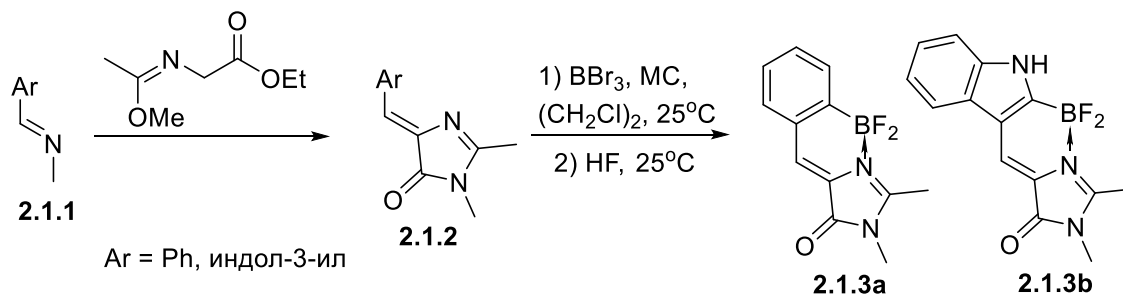


Схема 2.1.3. Получение борированных производных **2.1.3**.

Изучение оптических свойств полученных соединений показало, что борированные производные демонстрируют более чем стократное увеличение квантового выхода в сравнении с исходными имидазонами **2.1.2**. В результате квантовый выход зафиксированных производных **2.1.3** незначительно отличался от квантового выхода соответствующих им белков, а в случае индолсодержащего аналога **2.1.3b** был выше на 20% (Табл. 2.1.1).

Таблица 2.1.1. Оптические свойства соединений **2.1.2**, **2.1.3** и соответствующих им флуоресцентных белков в воде.

Соединение	Абс.	Эм.	КВФ
2.1.3a	368	430	~0.10*
2.1.2a	350 (pH=7)	-	<0.001
	352 (pH=2.5)	-	<0.001
Белок Sirius	355	424	0.24
2.1.3b	476	520	0.59
2.1.2b	408 (pH=7)	-	<0.001
	446 (pH=2.5)	-	<0.001
CFP	434	474	0.40

(* - величина квантового выхода зависит от концентрации)

Также было установлено, что зафиксированные аналоги **2.1.3** отличаются батохромным смещением спектральных максимумов относительно своих предшественников **2.1.2**. Для фенильного аналога **2.1.3a** сдвиг составил ~15 нм, а для индольного **2.1.3b** около 70 нм. Подобное поведение, как правило, объясняется образованием координационной связи между атомами азота и бора [Baranov и др., 2012; Chuang и др., 2009; Yampolsky и др., 2008]. Как следствие, можно было предположить, что спектральные свойства борированных аналогов **2.1.3** будут близки к свойствам N-алкилированных и N-протонированных имидазолонов **2.1.2**.

Исследование оптических свойств имидазолонов **2.1.2** в кислой среде показало, что для неборированного фенильного хромофора **2.1.2a** протонирование атома азота не приводит к заметному смещению максимума абсорбции в более красную область, а лишь изменяет форму сигнала (Рис. 2.1.1). В то время как для индольного неборированного хромофора **2.1.2b** протонирование по атому азота характеризуется заметным батохромным сдвигом на ~40 нм, что хорошо подтверждает вышеописанное предположение:

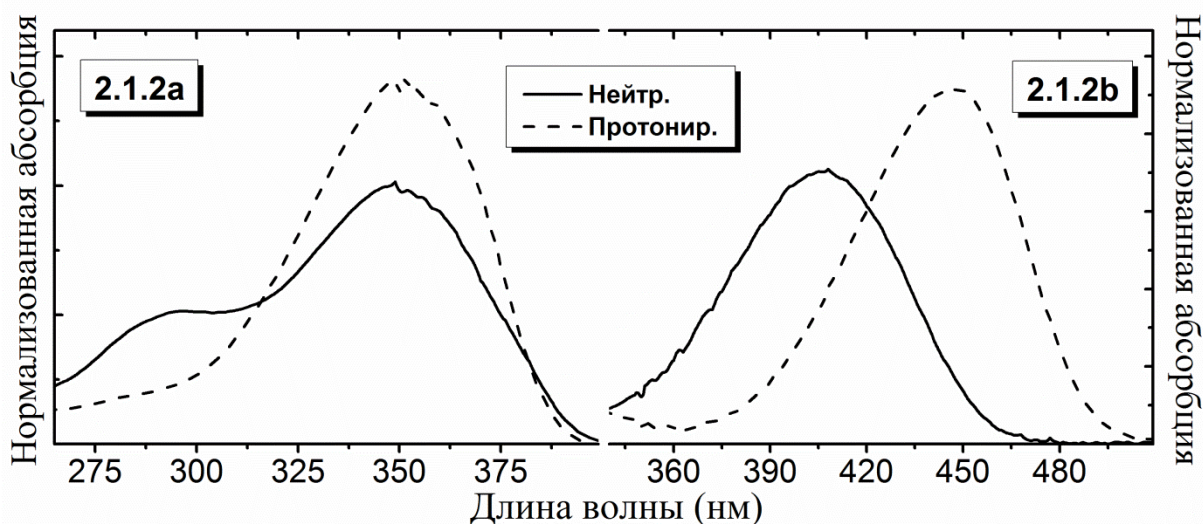


Рисунок 2.1.1. Спектры абсорбции соединений **2.1.2** в воде при различном значении pH.

Положения максимумов абсорбции и эмиссии производных **2.1.3** слабо зависят от используемого растворителя. Однако наибольший батохромный сдвиг наблюдается в воде и этиловом спирте, что согласуется с данными, полученными для производных хромофора GFP (см. Раздел 2.2 «Отдаленные высокофлуоресцентные аналоги хромофора GFP»). Также было установлено, что квантовый выход соединения **2.1.3b** не имеет зависимости от используемого растворителя. В то время как для производного **2.1.3a** наблюдается сильное понижение величины квантового выхода в воде и этиловом спирте (Табл. 2.1.2).

Таблица 2.1.2. Оптические свойства соединений **2.1.3** в различных растворителях.

Соединение		H ₂ O	EtOH	CH ₃ CN	EtOAc	Диоксан
2.1.3a	Абс.	368	365	360	362	365
	Эм.	430	426	420	421	422
	КВФ	~0.10*	~0.20*	0.55	0.63	0.78
2.1.3b	Абс.	476	482	461	468	472
	Эм.	520	516	509	504	502
	КВФ	0.59	0.66	0.68	0.64	0.65

(* - величина КВФ зависит от концентрации)

Исследование кислотно-основных свойств зафиксированных аналогов **2.1.3** показало, что при подкислении водных растворов не наблюдалось смещения положений спектральных

максимумов абсорбции. Даже для соединения **2.1.3b**, имеющего атом азота в индольном кольце, спектры абсорбции не изменялись. Такое поведение можно объяснить влиянием сопряжения, которое приводит к уменьшению величины pK_a индола. При pH 6-13 спектры абсорбции имели более сложный характер:

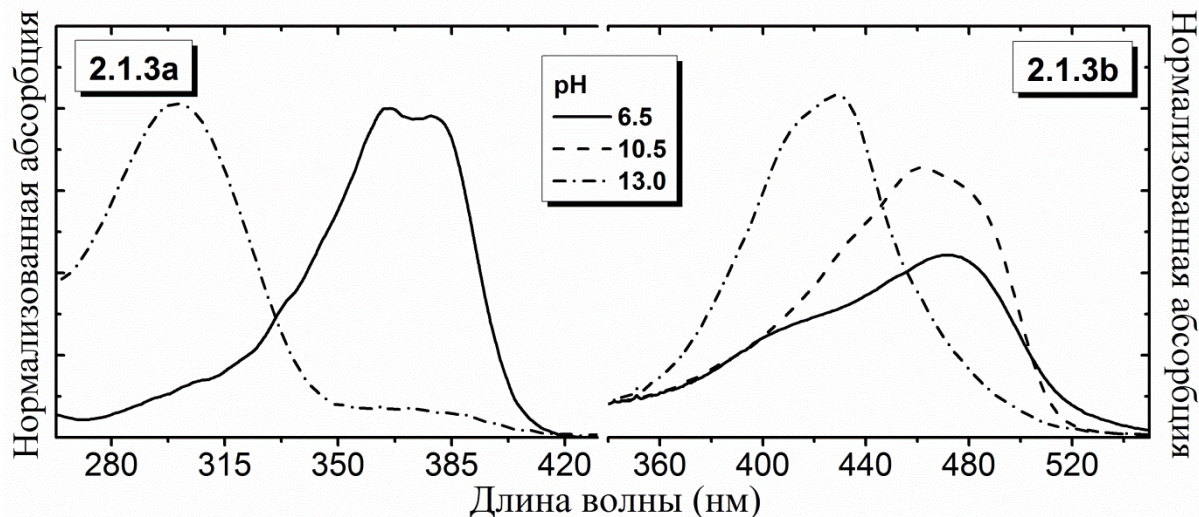


Рисунок 2.1.2. Спектры абсорбции соединений **2.1.3** в воде при различном значении pH.

Так, для соединения **2.1.3b** при переходе от pH 6 до pH 13 наблюдалось два независимых процесса. Первый имел обратимый характер и сопровождался небольшим гипсохромным сдвигом положений максимумов абсорбции и эмиссии на ~ 15 нм, при $pK_a = 9.8-9.9$. Стоит отметить, что при подобном переходе не происходило заметного снижения интенсивности флуоресценции. Такой эффект можно объяснить возможным депротонированием аминогруппы, что уже наблюдалось на примере триптофансодержащих белков [Brakemann и др., 2011].

Дальнейшее увеличение pH выше 12 приводило к сильному смещению положения максимума абсорбции до 430 нм. Для соединения **2.1.3a** при $pH > 12$ тоже был зафиксирован заметный гипсохромный сдвиг примерно на 70 нм. Кроме того было замечено, что для обоих аналогов **2.1.3** в сильнощелочных водных растворах ($pH > 12$) наблюдается практически полная потеря флуоресценции. Такой эффект, вероятно, вызван присоединением гидроксид-иона к имидазолонному кольцу, что ранее уже было показано на примере фотопереключаемых GFP-подобных белков:

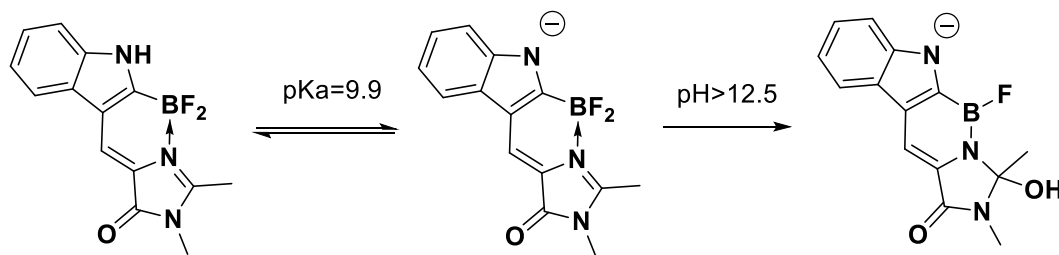


Схема 2.1.4. Схема возможного щелочного гидролиза.

В заключение можно сказать, что полученные конформационно зафиксированные аналоги белка Sirius и CFP являются хорошими претендентами на роль флуоресцентных красителей. Они характеризуются высокими показателями квантового выхода, а все рН-зависимые процессы лежат за пределами физиологической области и не препятствуют их применению в живых системах.

2.1.2 Высокофлуоресцентные синтетические аналоги хромофора белка Kaede

Другим направлением этого исследования стало создание зафиксированных аналогов хромофора белка Kaede. Эти соединения содержат дополнительные сопряженные заместители во втором положении имидазольного цикла, которые существенно влияют на оптические свойства (см. Раздел 1.2 «Арилметеновые флуоресцентные красители»). Наиболее удобным подходом для их создания является использование уже борированного аналога хромофора GFP:

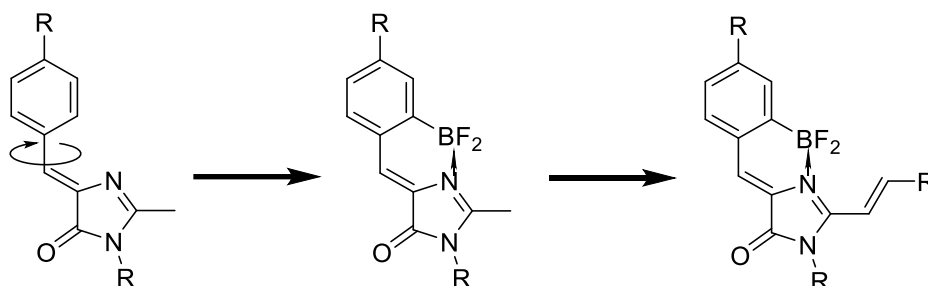


Схема 2.1.5. Возможный подход к созданию синтетических аналогов хромофора Kaede.

Возможность проведения этого превращения обуславливается высокой реакционной способностью метильной группы. Например, известно, что хромофор GFP легко вступает в реакцию конденсации с различными ароматическими альдегидами в присутствии кислот Льюиса [Chuang и др., 2009]. Нами было установлено, что при конденсации соединения **2.1.4** с ароматическими хлорангидами образуются кетоны **2.1.5**:

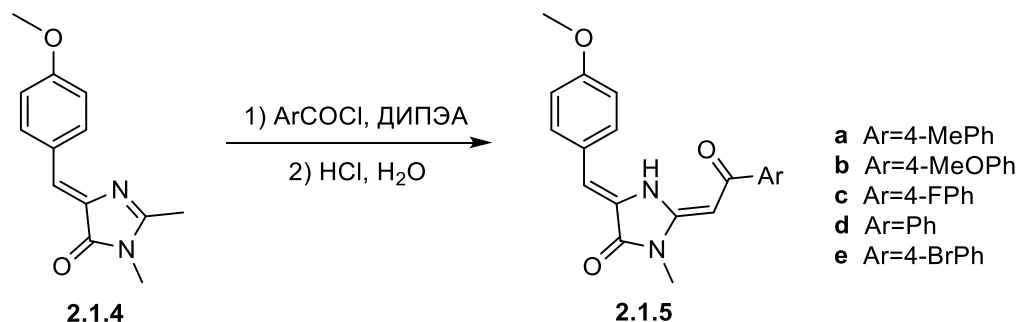


Схема 2.1.6. Конденсация имидазольного соединения **2.1.4** с ароматическими хлорангидами.

В ходе синтеза было установлено, что наиболее эффективно данное взаимодействие проходит при нагревании в избытке хлорангида в присутствии диизопропилэтиламина. Вероятно, что на первом этапе происходит ацилирование по атому азота имидазольного кольца с образованием четвертичных солей **2.1.6** (Схема 2.1.7). Дальнейшее ацилирование приводит к образованию амидов **2.1.7**, которые претерпевают изомеризацию по кратным связям, и образуется смесь 2-4 изомеров. Однако под действием соляной кислоты, происходит удаление

ароильного фрагмента на атоме азота, а также изомеризация кратных связей с образованием (2E,5Z)-имидазолонов **2.1.5**:

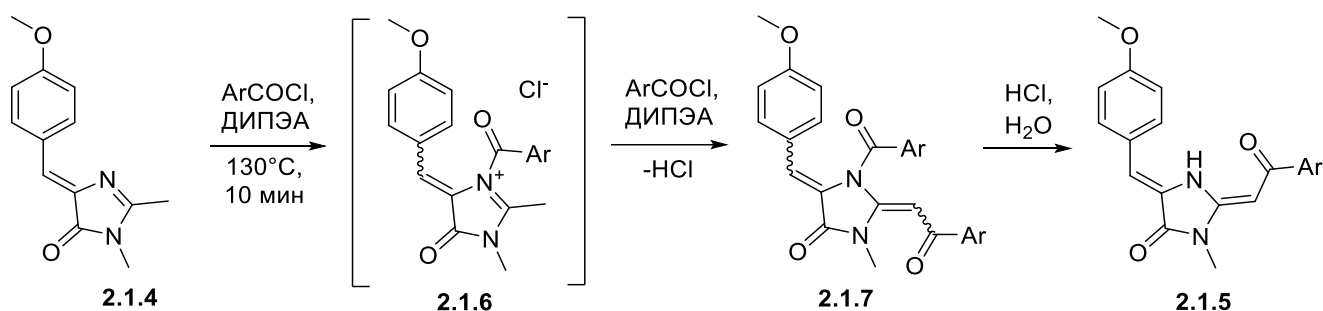


Схема 2.1.7. Возможный механизм взаимодействия имидазолона **2.1.4** с ароматическими хлорангидридами.

Также было установлено, что под воздействием щелочи этот процесс обратим, и полученные кетоны легко превращаются в исходный имидазолон **2.1.4** с выходами от 50 до 80%. Для создания конформационно зафиксированных аналогов хромофора Kaede использовалась похожая конденсация. Борированный аналог хромофора GFP конденсировали с различными ароматическими альдегидами в смеси пиридин-пиперидин при нагревании:

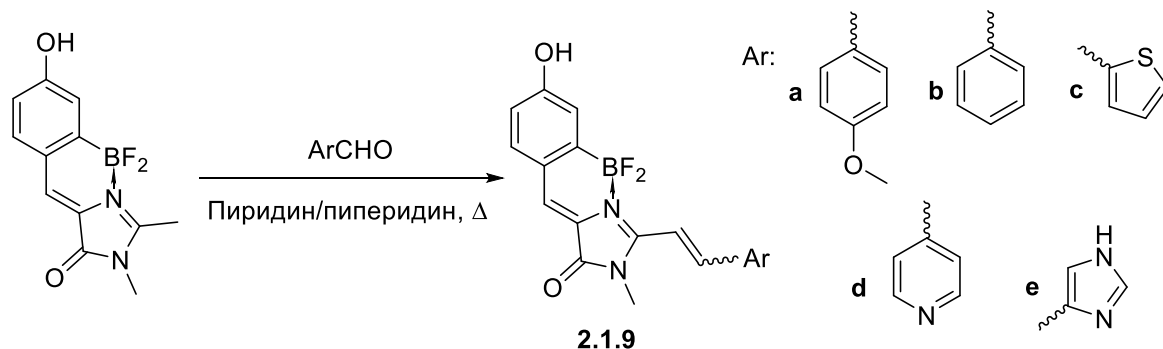


Схема 2.1.8. Конденсация с ароматическими альдегидами.

В ходе синтеза также было замечено, что финальные соединения **2.1.9** достаточно легко претерпевают изомеризацию по двойной связи во втором положении имидазолонового цикла. В растворах большинства из них в полярных растворителях уже в течение нескольких часов образовывалась смесь *цис*- и *транс*-изомеров. Аналогичное превращение наблюдалось и в процессе очистки этих соединений на силикагеле. Такая склонность к быстрой изомеризации не позволила выделить в чистом виде наиболее близкий к природному хромофору белка Kaede борированный аналог **2.1.9e**.

Исследование оптических свойств показало, что конформационно зафиксированные производные **2.1.9** характеризуются не очень высокими показателями квантового выхода

флуоресценции, лежащими в диапазоне 3-15% в зависимости от арильного заместителя и используемого растворителя.

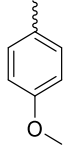
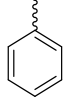

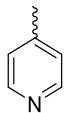
Изучение спектров абсорбции водных растворов при различных значениях pH показало, что для всего ряда соединений **2.1.9** характерно депротонирование фенольной группы, которое сопровождается батохромным смещением максимумов абсорбции около 100 нм и характеризуется рKa порядка 7.1-7.5 (Табл. 2.1.3).

Таблица 2.1.3. Кислотно-основные свойства соединений **2.1.9** в воде.

Соединение	Нейтр. абс.	Анион. абс.	рKa
2.1.9a	452	549	7.5
2.1.9b	455	539	7.1
2.1.9c	452	555	7.4
2.1.9d	463	558	7.1

Положения максимумов абсорбции и эмиссии сильнее смещаются в длинноволновую область с усилением акцепторных свойств введенного арильного заместителя (Табл. 2.1.4 и Рис. 2.1.3):

Таблица 2.1.4. Оптические свойства соединений **2.1.9** в различных растворителях.

Соединение	Заместитель	EtOH		CH ₃ CN		
		Нейтр.	Анион.	Нейтр.	Анион.	
2.1.9a		Абс.	457(37000)†	550	440(35000)	546
		Эм.	569	652	560	663
2.1.9b		Абс.	467(29500)	571	436(27500)	565
		Эм.	556	639	561	675
2.1.9c		Абс.	468	579	448	581
		Эм.	577	666	567	709
2.1.9d		Абс.	484(22500)	590	441(25000)	605
		Эм.	586	681	576	716

† - здесь и далее в скобках приводится коэффициент молярного поглощения ($M^{-1} cm^{-1}$)

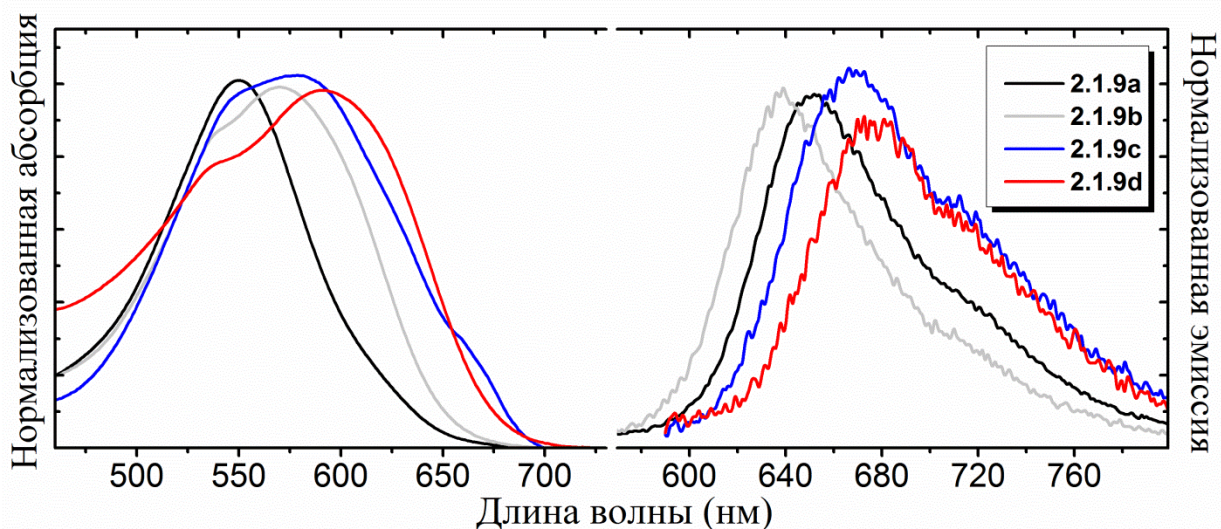


Рисунок 2.1.3. Спектры абсорбции и эмиссии анионной формы соединений **2.1.9** в этаноле.

Для того, чтобы еще больше сместить максимумы абсорбции и эмиссии в длинноволновую область спектра, были синтезированы соединения **2.1.9f** и **2.1.9g**, содержащие более сильный донор в бензилиденовой части молекулы:

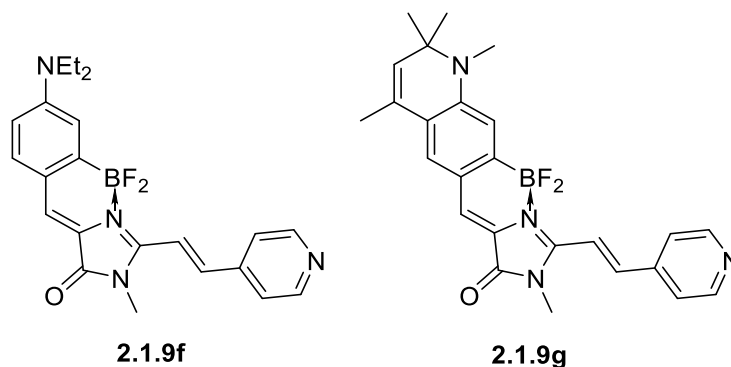


Схема 2.1.9. Аминопроизводные борированного хромофора белка Каеде.

Такие производные имели максимумы абсорбции и эмиссии в области 600-700 нм (Табл. 2.1.5), однако характеризовались более низким квантовым выходом (~0.1% для **2.1.9g** в диоксане).

Таблица 2.1.5. Оптические свойства соединений **2.1.9f** и **2.1.9g** в различных растворителях.

Соединение		EtOH	CH ₃ CN
2.1.9f	Абс.	597	581
	Эм.	705	719
2.1.9g	Абс.	629	608
	Эм.	-	-

Вероятно, что столь низкие показатели квантового выхода флуоресценции всего ряда соединений вызваны наличием в молекулах соединений **2.1.9** дополнительной кратной связи, подвижность которой может приводить к безызлучательным процессам. Очевидно, что эту проблему можно решить с помощью жесткой фиксации:

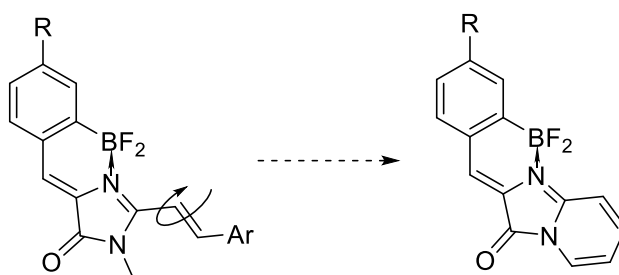


Схема 2.1.10. Борированные аналоги хромофора белка Kaede с зафиксированной двойной связью.

В ходе создания таких производных на первом этапе были получены исходные хромофоры **2.1.10**, для синтеза которых нами был модифицирован метод конденсации насыщенных имидазолонов с ароматическими альдегидами (см. Раздел 1.1.3 «Использование 1Н-имидазол-5(4Н)-онов»). При последующем введении полученных имидазолонов во взаимодействие с трибромидом бора образовывалась сложно разделяемая смесь продуктов. Однако целевые производные **2.1.11** удалось получить при замене молекулярных сит на диизопропилэтиламин:

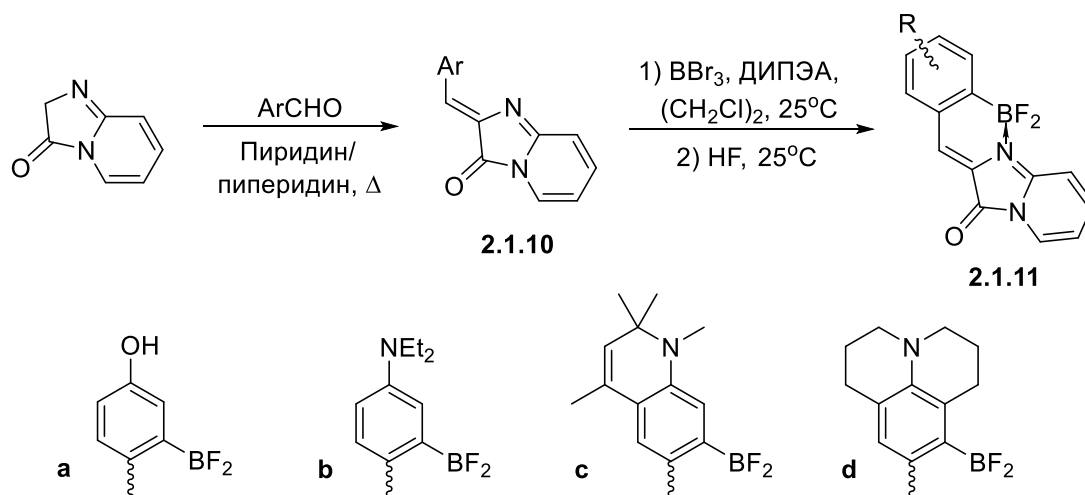


Схема 2.1.11. Создание борированных аналогов хромофора белка Kaede с зафиксированной двойной связью.

Изучив оптические свойства соединений **2.1.11**, мы установили, что наибольшим батохромным смещением спектральных максимумов характеризуются соединения, содержащие более сильный донорный заместитель в бензилиденовой части молекулы (Рис. 2.1.4 и Табл. 2.1.6).

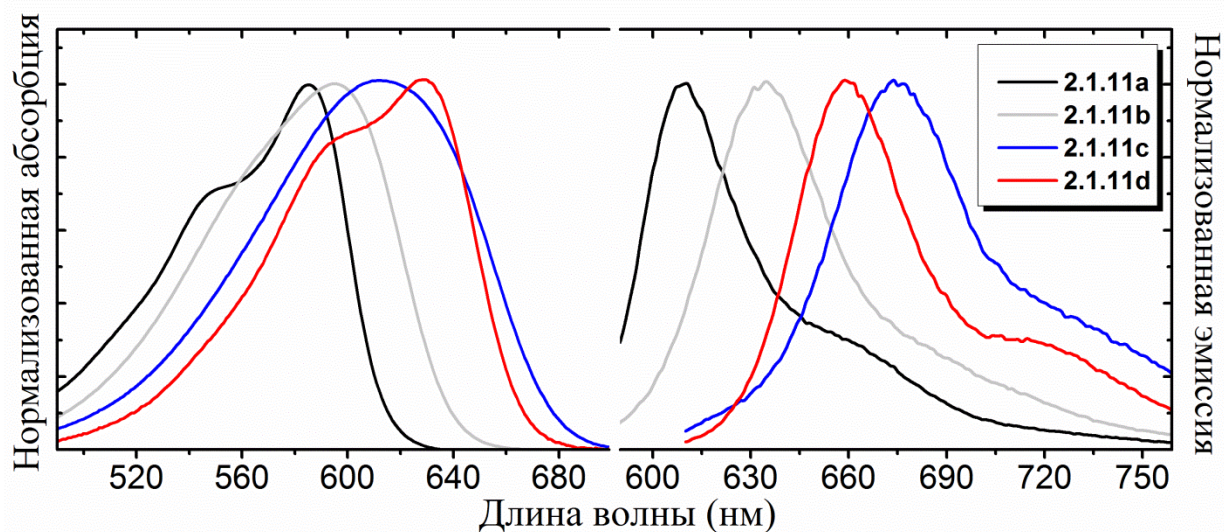


Рисунок 2.1.4. Спектры абсорбции и эмиссии соединений **2.1.11** в этаноле (для соединения **2.1.11a** депротонированная форма).

Таблица 2.1.6. Оптические свойства соединений **2.1.11** в различных растворителях.

Соед.		H ₂ O	EtOH	CH ₃ CN	EtOAc	Диоксан
2.1.11a	Нейтр.	506(25000)	513(27000)	500(27000)	508(28000)	511(28000)
	Абс.					
	Анион.	570	591	606	597	592
	Эм.					
2.1.11b	Нейтр.	537	547	529	533	533
	Анион.	586	611	626	620	619
2.1.11c	Абс.	603(55000)	596(58000)	580(52000)	583(52000)	589(55000)
	Эм.	626	635	639	631	624
2.1.11d	Абс.	625(67000)	629(68000)	608(66000)	612(66000)	616(66000)
	Эм.	647	659	664	660	653
2.1.11d	Абс.	607(42000)	612(47000)	595(42000)	598(41000)	609(44000)
	Эм.	666	676	682	674	665

Было установлено, что фиксация двойной связи действительно позволила увеличить величину квантового выхода флуоресценции до 50-60%:

Таблица 2.1.7. Квантовые выходы флуоресценции соединений **2.1.11a-d** в различных растворителях.

Соединение	H ₂ O	EtOH	CH ₃ CN	EtOAc	Диоксан
2.1.11a	-	-	0.53	0.47	-
2.1.11b	0.19	0.37	0.40	0.53	0.66
2.1.11c	0.07	0.15	0.15	0.23	0.33
2.1.11d	0.05	0.08	0.08	0.16	0.26

Интересно отметить, что для аминопроизводных **2.1.11b-d** величина квантового выхода варьируется в зависимости от используемого растворителя, что вероятно свидетельствует о возникновении нефлуоресцентного ICT-состояния (подробнее далее в Разделе 2.2.1 «Аминные аналоги»). Максимальные значения были зафиксированы в неполярных растворителях:

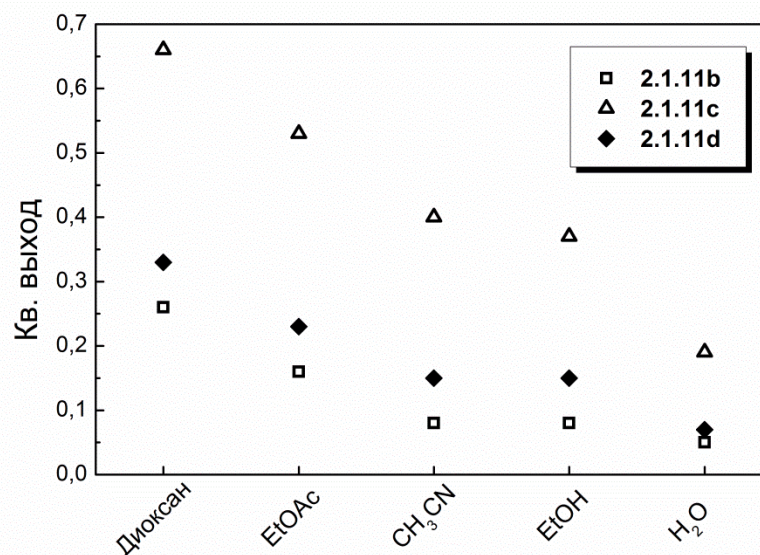


Рисунок 2.1.5. Варьирование величины квантового выхода соединений **2.1.11b-d**.

Изучение спектров абсорбции водных растворов всего ряда соединений **2.1.11** при различных значениях pH показало, что добавление кислот и щелочей приводило к заметному смещению спектральных максимумов. Так, переход к анионной форме фенольного производного **2.1.11a** характеризовался bathochromным сдвигом около 60 нм, а протонирование аминных производных **2.1.11b-d** привело к гипсохромному смещению на 140-170 нм (Рис. 2.1.6 и Рис. 2.1.7). Эти результаты хорошо коррелируют с данными, полученными ранее для борированного аналога хромофора GFP и его аминных производных [Baranov и др., 2012; Baranov и др., 2014].

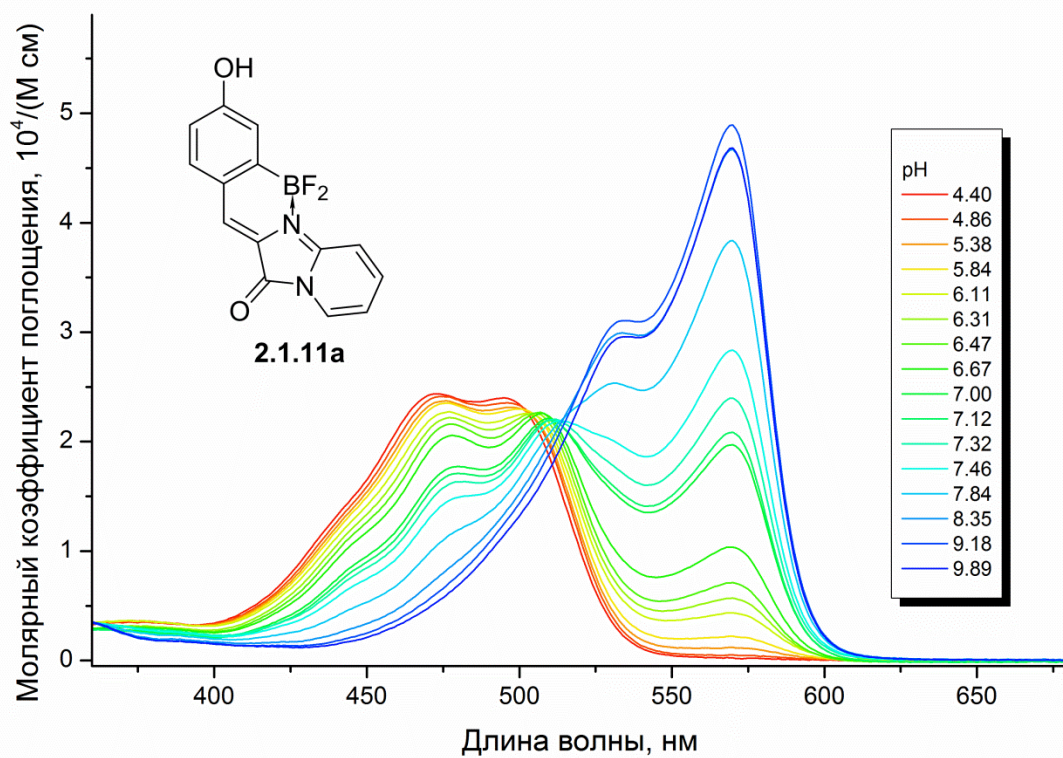


Рисунок 2.1.6. Спектры абсорбции соединения **2.1.11a** в воде при различном значении pH.

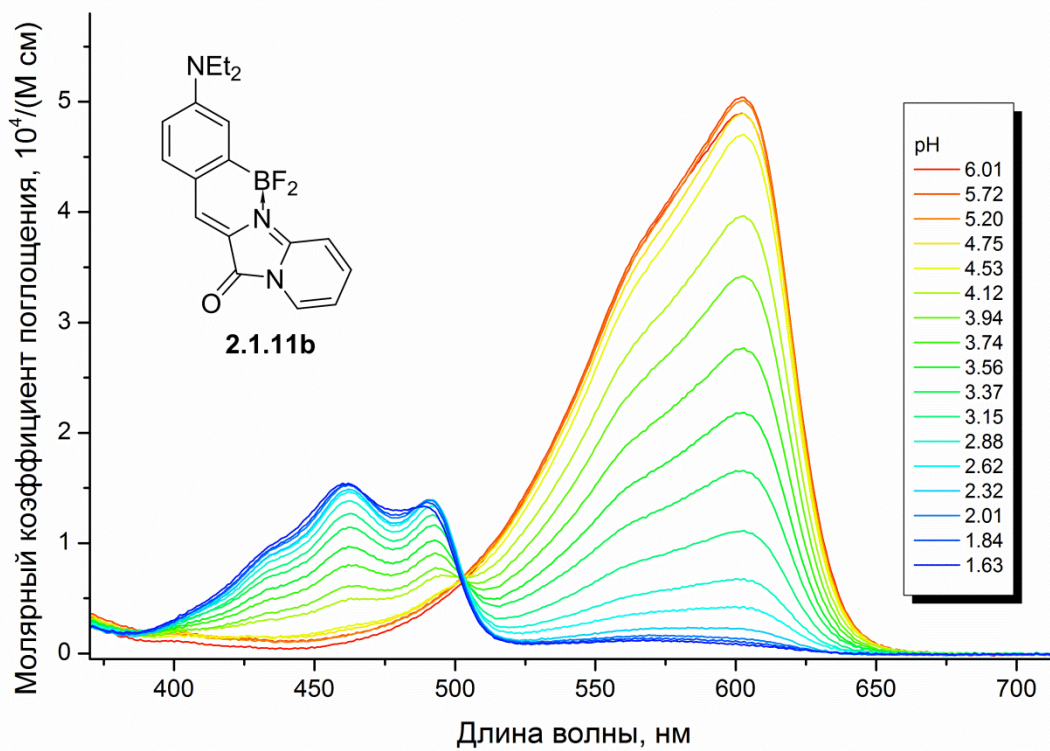


Рисунок 2.1.7. Спектры абсорбции соединения **2.1.11b** в воде при различном значении pH.

Было обнаружено, что соединение **2.1.11a** имеет рKa около 7, что хорошо коррелирует с данными, полученными для других 4-гидроксibenзилиденимидазолонов (см. Табл. 2.1.4, соединения **2.1.9**) [Baranov и др., 2012]. Диэтиламинное производное **2.1.11b** характеризуется рKa=3.6, а его циклические аналоги **2.1.11c** и **2.1.11d** – рKa порядка 1 и отличаются крайней нестабильностью при таких значениях рН. Стоит отметить, что положения максимумов протонированных форм соединений **2.1.11b-c** практически совпадают из-за нивелирования влияния аминозаместителей, как и в случае различных аминных аналогов борированного хромофора GFP (Табл. 2.1.8) [Baranov и др., 2014].

Таблица 2.1.8. Кислотно-основные свойства соединений **2.1.11** в воде.

Соединение	Абс. нейтр. (Анион. для 2.1.11a)	Абс. протонир. (Нейтр. для 2.1.11a)	рKa
2.1.11a	570	506	7.2
2.1.11b	603	462	3.6
2.1.11c	625	455	~1.1*
2.1.11d	607	456	~1.2*

(* - нестабилен при таких условиях)

Таким образом было установлено, что фиксация бензилиденового фрагмента в четвертом положении хромофора Kaede существенно увеличивает величину квантового выхода подобных соединений. При дополнительной фиксации двойной связи наблюдается еще большее увеличение КВФ приблизительно до 60%. Использование другой модификации – введение аминозаместителя в бензилиденовый фрагмент хромофора – позволило значительно сместить спектральные максимумы в длинноволновую область спектра. Однако присутствие аминозаместителя в хромофоре приводит к заметному варьированию квантового выхода, что является интересным предметом для исследования и будет рассмотрено в следующем разделе.

2.2 Отдаленные аналоги хромофора GFP

Основываясь на литературных данных (см. Раздел 1.2 «Арилметеновые флуоресцентные красители»), мы решили расширить существующий круг производных борированного хромофора GFP, используя различные модификации, влияющие на оптические свойства красителей. А именно создать ряд аминопроводных с заместителями разной геометрии, синтезировать соединения, содержащие более длинную цепь сопряжения: полиароматические аналогии и производные с ацетиленовыми заместителями.

2.2.1 Аминные аналоги

Замена гидроксильной группы в структуре зафиксированного хромофора GFP на различные аминозаместители (Схема 2.2.1, соединения **2.2.2**), проведенная ранее в нашей лаборатории позволила сместить спектральные максимумы в более длинноволновую область спектра [Baranov и др., 2014].

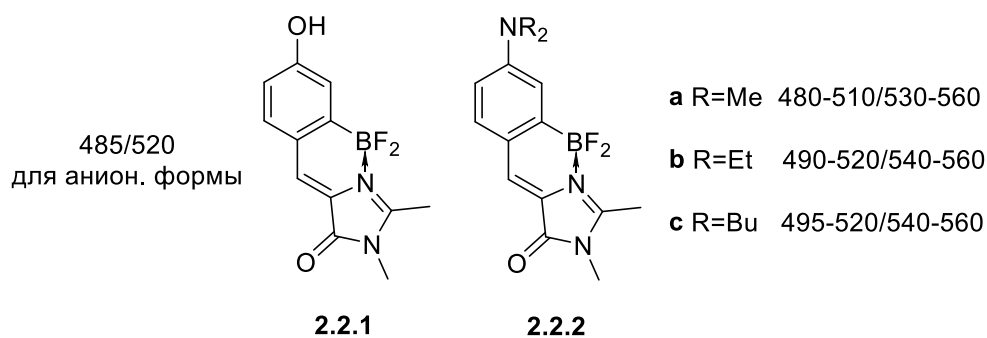


Схема 2.2.1 Аминные аналоги конформационно зафиксированного хромофора GFP.

Однако для этих соединений была выявлена определенная зависимость величины квантового выхода флуоресценции от окружения: при переходе к протонным растворителям (вода, этиловый спирт или ацетонитрил) этот показатель существенно снижался. Так, в диоксане эта величина составляла 70-80 %, а в воде снижалась до 3-5 %.

Подобное поведение уже наблюдалось ранее для других красителей с аналогичными аминозаместителями [Barucha-Kraszewska, Kraszewski, Ramseyer, 2013; Nabuchi, Kim, Noboru, 2001; Kucheraк и др., 2010; Lissi и др., 2000; Lobo, Abelt, 2003] и объясняется возможностью образования отдельного возбужденного состояния с высокой степенью перераспределения заряда (ICT – Intramolecular Charge Transfer). Как правило, при этом наблюдается уменьшение квантового выхода флуоресценции основного возбужденного состояния. Стабилизация же ICT-состояния предположительно происходит за счет изменения геометрии молекулы и

формированием либо свернутой структуры молекулы (TICT – Twisted Intramolecular Charge Transfer), либо планарной хиноидной структуры (PICT – Planar Intramolecular Charge Transfer):

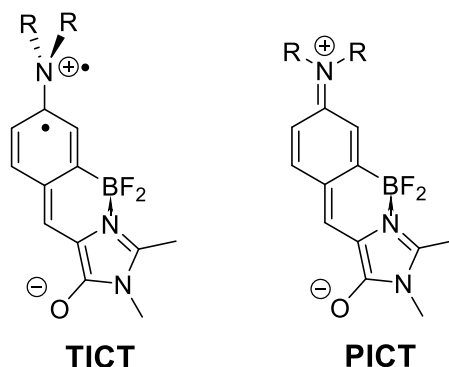


Схема 2.2.2 Стабилизация ICT-состояния.

Один из способов уменьшить вероятность образования TICT-состояния заключается в фиксации алкильных заместителей на атоме азота [Kolmakov и др., 2010; Lefevre и др., 1996; Mottram и др., 2012; Wang и др., 2007], которая препятствует формированию свернутой структуры. В нашей лаборатории было создано несколько таких аминопроизводных борированного хромофора GFP (соединения **2.2.2d,e**, Схема 2.2.3). Однако все они также характеризовались заметным варьированием величины квантового выхода флуоресценции: в диоксане 70-90%, в воде 15-50%.

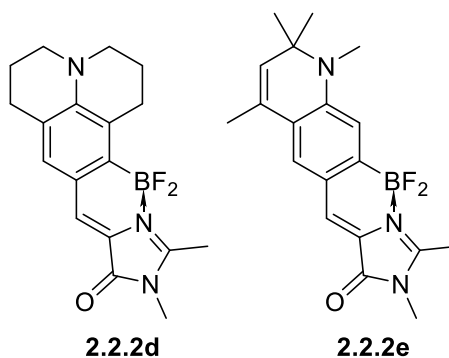


Схема 2.2.3 Производные с заместителями, препятствующими образованию TICT-состояния.

В литературе также был предложен подход, предотвращающий формирование PICT-состояния [Grimm и др., 2016; Shen и др., 2017; Yoshihara, Druzhinin, Zachariasse, 2004]. На примере производных родамина (Схема 2.2.4) было продемонстрировано, что при введении различных циклических заместителей по атому азота происходит уменьшение варьирования квантового выхода. Согласно модели, предложенной авторами, присутствие таких заместителей

существенно препятствует формированию хиноидной структуры, так как оно сопровождается изменением угла C-N-C, которое в малых циклах затруднено.

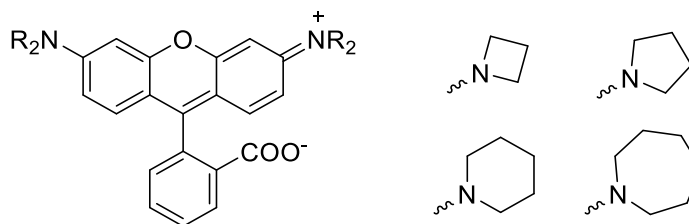


Схема 2.2.4. Аналоги родамина, содержащие циклические заместители [Grimm и др., 2015].

В настоящей работе мы решили продолжить изучение эффективности подходов, препятствующих образованию возбужденного состояния с высокой степенью перераспределения заряда производных борированного хромофора GFP. Для чего был существенно расширен ряд соответствующих веществ.

2.2.1.1 Синтез

Необходимые исходные производные *n*-аминобензальдегида **2.2.3**, содержащие циклические заместители на атоме азота, были получены при взаимодействии фторбензальдегида с различными аминами (Схема 2.2.5) [Lu и др., 2012].

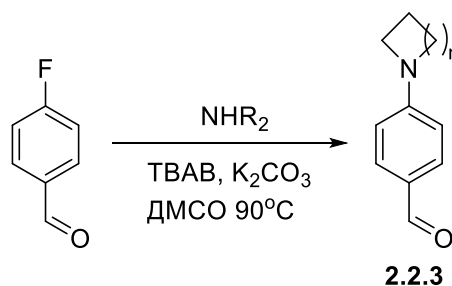


Схема 2.2.5 Получение аминопроизводных бензальдегида.

Синтез имидазолонов **2.2.4** проводился по классической схеме с превращением соответствующих аминокбензальдегидов в имины и последующим взаимодействием с иминоэфиром (см. Раздел 1.1.2 «Взаимодействие иминов с имидазом»). Заключительная стадия введения BF_2 -группы в имидазолы проводилась при кипячении в дихлорэтано с трибромидом бора в присутствии молекулярных сит:

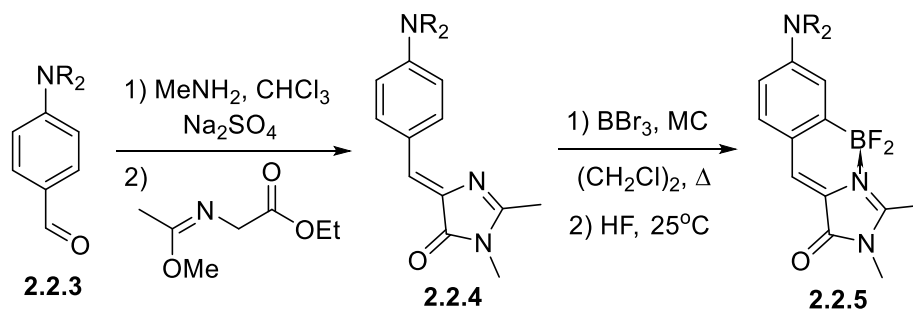


Схема 2.2.6 Синтез борированных аминопроизводных хромофора GFP.

В результате были получены следующие производные:

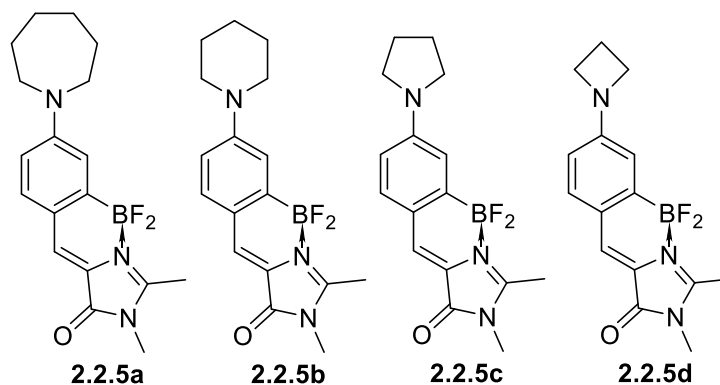






Схема 2.2.7 Ряд аминопроизводных зафиксированного хромофора GFP.

Все борированные производные **2.2.5** были получены с хорошими выходами за исключением производного **2.2.5d**. Это производное было получено с выходом 10 %, так как реакция сопровождалась побочным процессом – раскрытием азетидинового цикла.

2.2.1.2 Оптические свойства

Изучение оптических свойств показало, что соединения **2.2.5a-d** (Схема 2.2.7) существенно не отличаются от полученных ранее алкилсодержащих аналогов (производные **2.2.2a-c**, Схема 2.2.1):

Таблица 2.2.1. Оптические свойства соединений **2.2.5a-d** и **2.2.2a-c** в различных растворителях.

Соединение	Заместитель		H ₂ O	EtOH	CH ₃ CN	EtOAc	Диоксан
2.2.5a		Абс.	519(30000)	509(33000)	496(31000)	492(34000)	497(34500)
		Эм.	567(0.04)‡	558(0.26)	553(0.34)	541(0.82)	538(0.76)
2.2.5b		Абс.	~505*	500(33000)	484(37000)	481(39000)	487(42000)
		Эм.	~560(~0.05)*	564(0.17)	558(0.30)	546(0.78)	540(0.78)
2.2.5c		Абс.	516(33000)	508(35500)	493(35500)	491(38500)	496(39500)
		Эм.	562(0.33)	560(0.63)	552(0.65)	541(0.77)	537(0.76)
2.2.5d		Абс.	508(51500)	493(55500)	482(59000)	480(62500)	484(62000)
		Эм.	562(0.53)	556(0.76)	551(0.70)	542(0.80)	535(0.84)
2.2.2a-c	Me, Et, Bu		510-520	495-510	485-500	485-495	490-500
		Абс.	(~50000)	(~47000)	(~45000)	(~47000)	(~52000)
			560-565	555-560	550-555	535-545	530-540
		Эм.	(0.03-0.05)	(0.22-0.35)	(0.31-0.48)	(0.63-0.67)	(0.72-0.78)

(* - низкая растворимость)

‡ - здесь и далее в скобках приводится величина квантового выхода флуоресценции

Было установлено, что производные, содержащие большие циклические заместители (соединения **2.2.5a-b**), характеризуются заметным варьированием величины квантового выхода. В то время, как присутствие четырех и пятичленного цикла (соединения **2.2.5c-d**) приводит к увеличению КВФ в полярных растворителях, однако некоторое варьирование сохранилось (Табл. 2.2.1).

Интересные результаты были получены при изучении оптических свойств производного **2.2.5e** (Схема 2.2.8). Оказалось, что это соединение характеризуется более стабильным квантовым выходом как в сравнении с веществами **2.2.5c-d**, содержащими небольшие циклические заместители, так и с ранее полученными **2.2.2d-e** с фиксированными заместителями (Рис. 2.2.1).

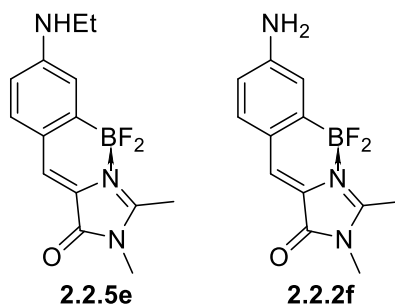


Схема 2.2.8 Аминопроизводные борированного хромофора GFP.

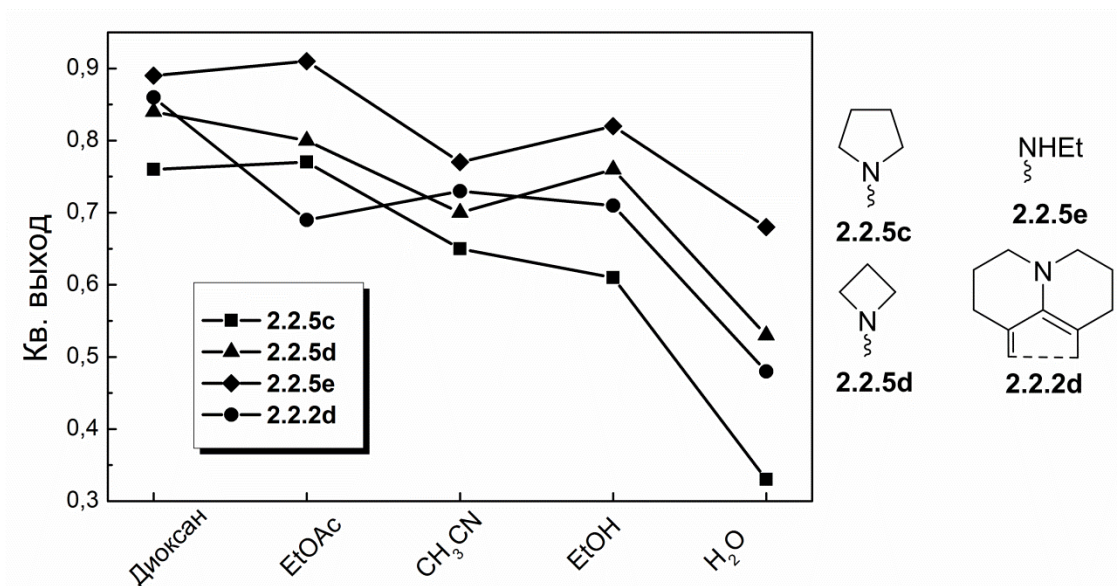


Рисунок 2.2.1. Варьирование величины квантового выхода соединений **2.2.5c-e** и **2.2.2d**.

Подобными свойствами также характеризуется борированный аналог хромофора GFP, содержащий незамещенную аминогруппу (соединение **2.2.2f**, Схема 2.2.8): квантовый выход в различных растворителях составляет 60-80 %. Очевидно, что в случае аминопроизводных конформационно зафиксированного хромофора GFP важную роль в процессе формирования ИСТ-состояния играет электронный эффект заместителей на атоме азота. Так, присутствие атома водорода, обладающего более слабым электронно-донорным эффектом в сравнении с алкильными заместителями, приводит к дестабилизации положительного заряда и увеличению квантового выхода флуоресценции основного возбужденного состояния.

Электронный эффект заместителей на атоме азота также сказывается на положении спектральных максимумов. Введение заместителей, обладающих электронно-донорным эффектом, приводит к смещению максимумов абсорбции и эмиссии в длинноволновую область спектра. Так, производное **2.2.5e** (R = NHEt) характеризуется батохромным сдвигом

спектральных максимумов в сравнении с соединением, содержащим незамещенную аминогруппу ($R = NH_2$):

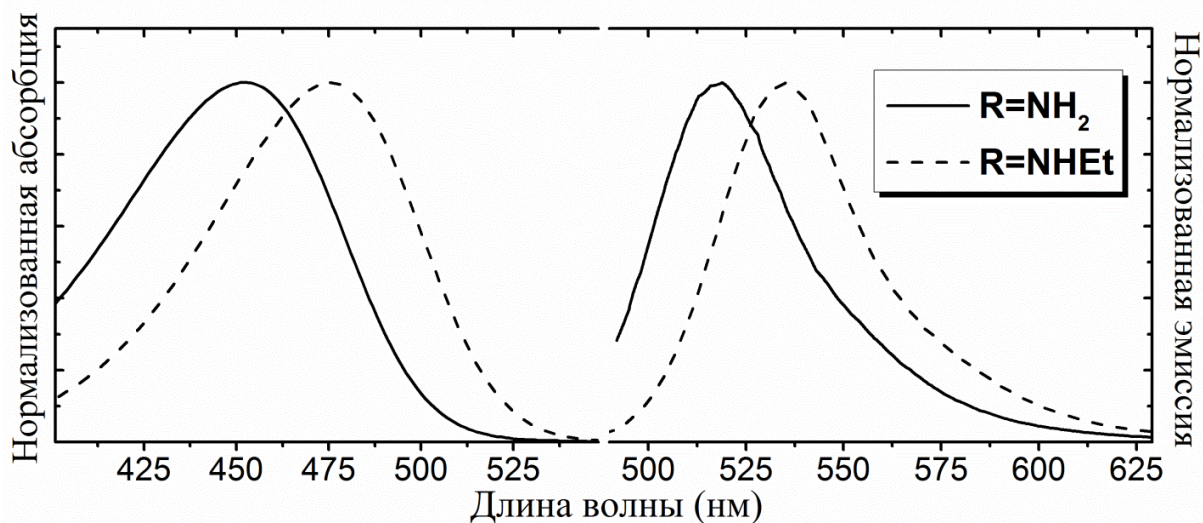


Рисунок 2.2.2 Спектры абсорбции и эмиссии соединений **2.2.2f** и **2.2.5e** в ацетонитриле.

Таким образом, на основе полученных результатов можно сделать вывод, что на формирование нефлуоресцентной формы возбужденного состояния, и как следствие на стабильность квантового выхода аминопроизводных зафиксированного хромофора GFP наибольшее влияние оказывает электронный эффект заместителей на атоме азота.

2.2.1.3 Кислотно-основные свойства

Исследование кислотно-основных свойств всего ряда соединений **2.2.5** показало, что все эти аминные производные способны переходить в протонированную форму:

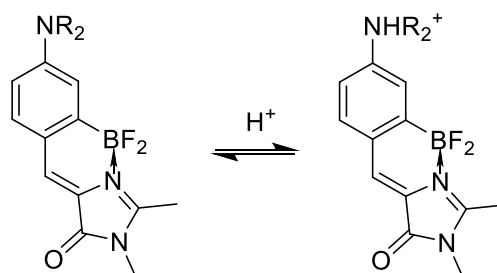


Схема 2.2.9 Протонирование аминопроизводных борированного хромофора GFP.

В результате протонирования соединений по атому азота происходит существенное гипсохромное смещение максимумов абсорбции (Рис. 2.2.3, 2.2.4). Как видно из таблицы 2.2.2, для всего ряда полученных соединений протонированная форма характеризовалась очень похожими положениями максимумов абсорбции - около 360 нм. Такое поведение, вероятно,

вызвано тем, что при образовании катионной формы заместители на атоме азота выходят из единой сопряженной системы и не могут влиять на оптические свойства соединений. Этот результат был получен ранее и для веществ **2.2.2** [Varanov и др., 2014], однако стоит отметить, что все новые соединения характеризовались более низким значением рКа в диапазоне 1.5-2.5 (Табл. 2.2.2).

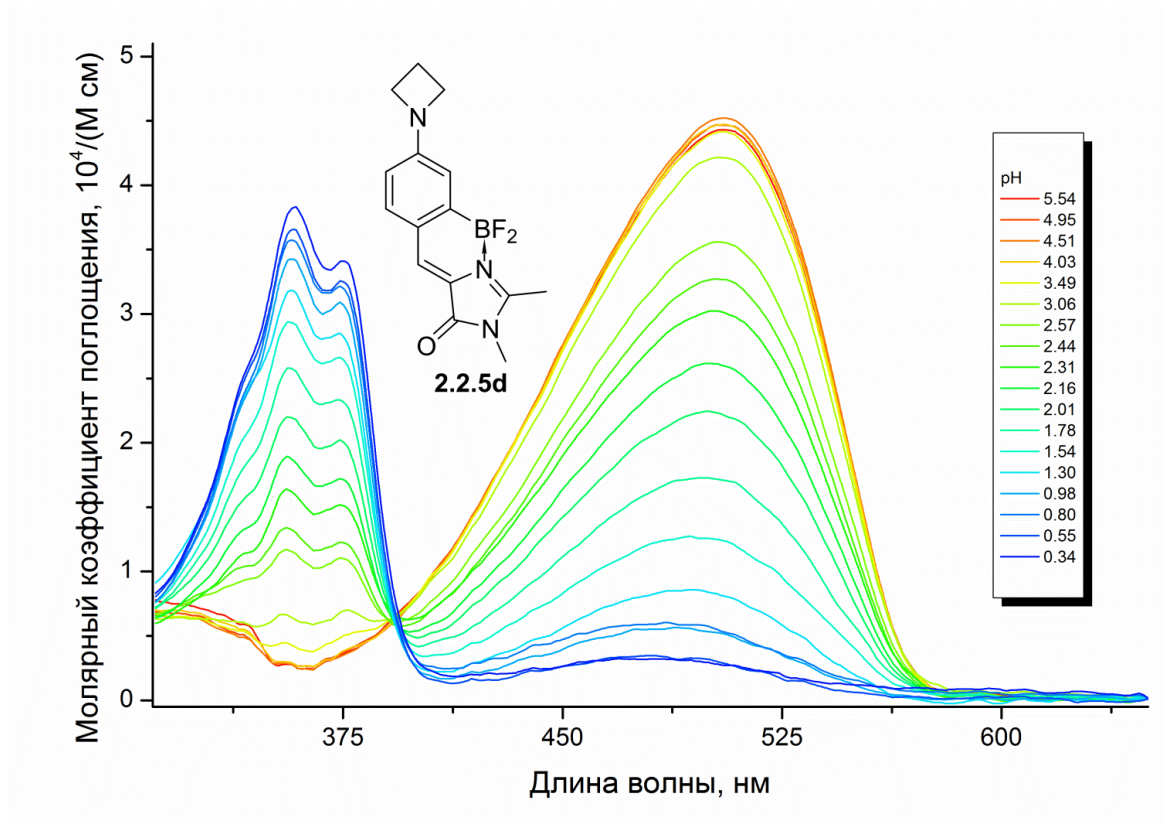


Рисунок 2.2.3 Спектры абсорбции соединения **2.2.5d** в воде при различном значении pH.

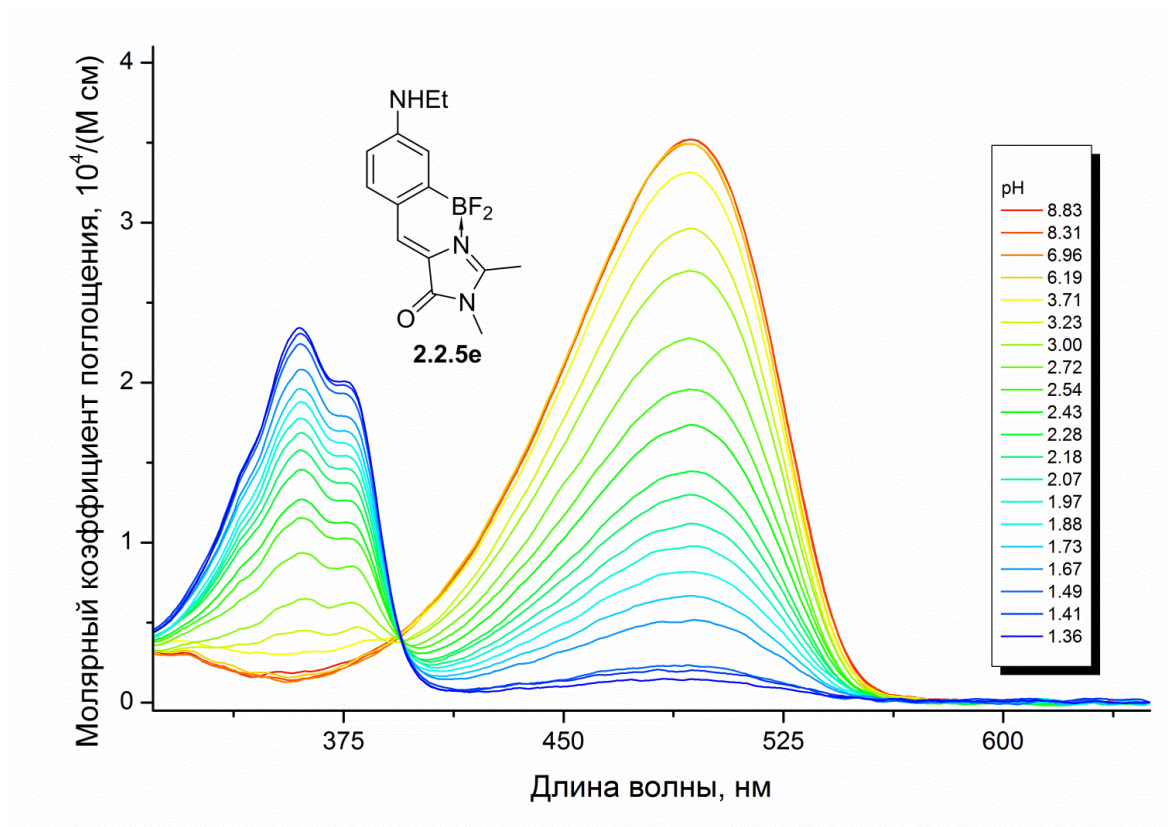






Рисунок 2.2.4 Спектры абсорбции соединения **2.2.5e** в воде при различном значении pH.

Таблица 2.2.2. Кислотно-основные свойства соединений **2.2.5** в воде.

Соединение	Заместитель	Нейтр. абс.	Кат. абс.	pKa
2.2.5a		519	359	2.0
2.2.5b		503	361	-*
2.2.5c		516	360	1.6
2.2.5d		508	359	2.0
2.2.5e	NHEt	495	362	2.5

(* - низкая растворимость)

2.2.2 Нафталиновые аналоги

Достаточно популярной модификацией флуоресцентных красителей является создание веществ, содержащих полиароматические группы. Как было описано в литературном обзоре (см. Раздел 1.2 «Арилметеновые флуоресцентные красители»), эта модификация приводит к заметному батохромному смещению спектральных максимумов и увеличению стоксового сдвига. Причем этот эффект значительно усиливается при увеличении расстояния между заместителями в полиароматическом фрагменте.

Наиболее оптимальным местом для подобной модификации хромофора GFP является его бензилиденный фрагмент.

2.2.2.1 Синтез

Нами были синтезированы следующие нафталинсодержащие аналоги борированного хромофора GFP (Схема 2.2.10):

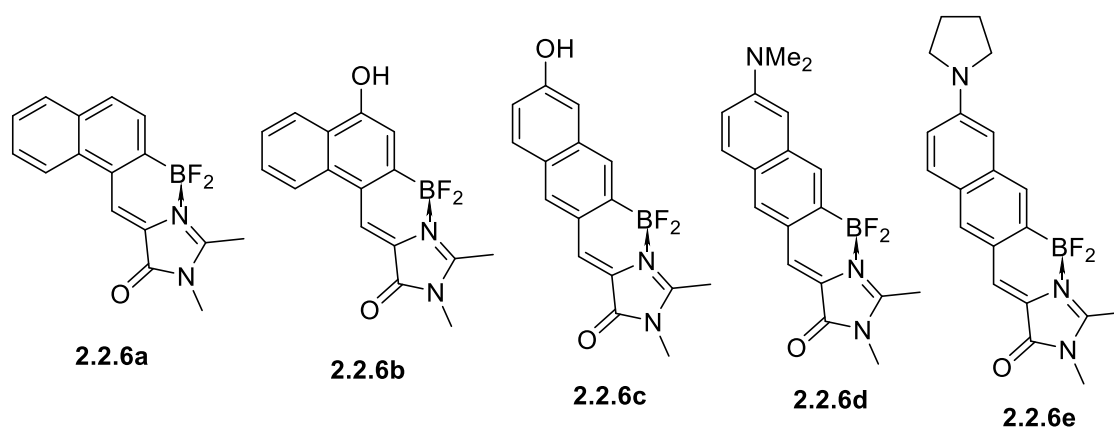


Схема 2.2.10. Конденсированные аналоги борированного хромофора GFP.

Производные **2.2.6** были синтезированы с помощью классического подхода (Схема 2.2.11). Исходные имидазолы **2.2.7** были получены при смешивании соответствующих нафталальдегидов с метиламином и последующим взаимодействием с иминоэфиром. Затем с помощью трибромиды бора в молекулу была введена BF_2 -группа:

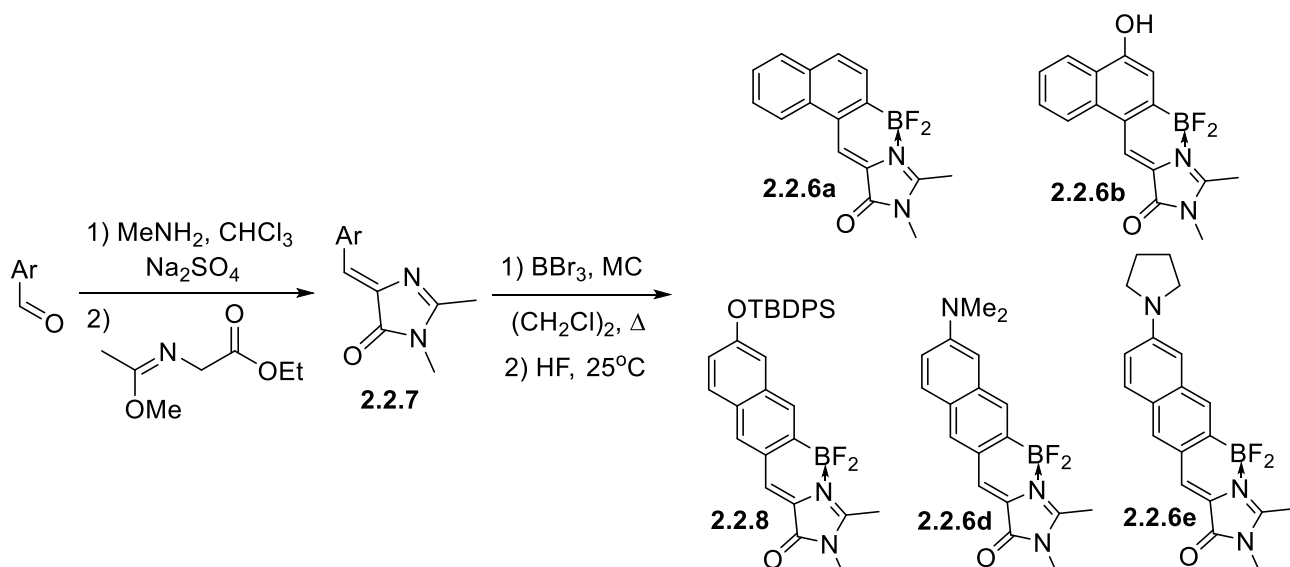


Схема 2.2.11. Получение нафталинсодержащих производных.

При получении одного из гидроксипроизводных нам потребовалось ввести защитную *трет*-бутилдифенилсилильную группу (соединение **2.2.8**) (подробнее см. Главу 3. «Экспериментальная часть»), так как иначе на стадии введения дифторборильной группы происходило бромирование нафтольной группы и образование побочных продуктов. Снятие защитной группы и получение финального гидроксинафталинового аналога **2.2.6с** осуществлялось *тетра*-бутиламмоний фторидом при комнатной температуре:

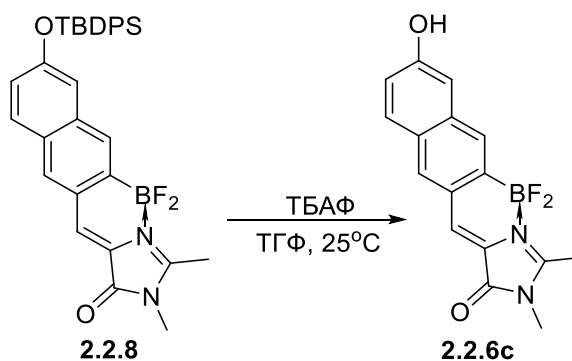


Схема 2.2.12. Схема получения производного **2.2.6с**.

При создании аминафталиновых производных необходимые исходные альдегиды **2.2.9** были синтезированы с помощью методики, описанной в литературе [Rao и др., 2012]:

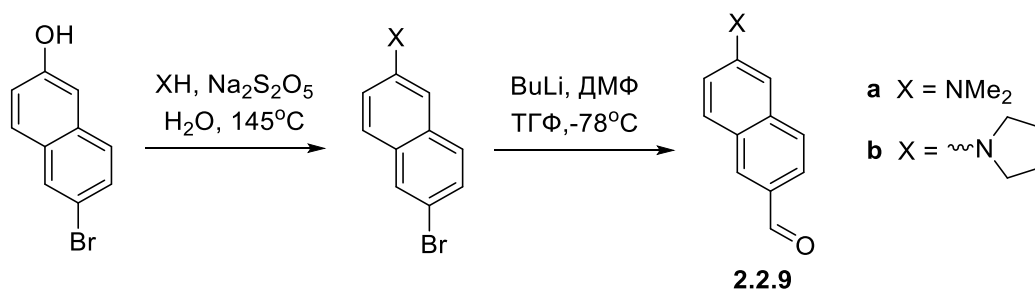
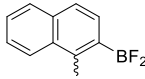
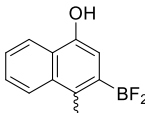
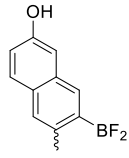
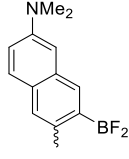
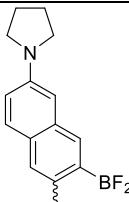
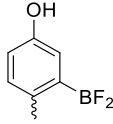


Схема 2.2.13. Синтез аминафталяльдегидов.

2.2.2.2 Оптические свойства

Изучение спектральных характеристик нафталиновых производных показало, что даже самый простой представитель полученного ряда, не содержащий заместителей в нафталине (соединение **2.2.6a**), имеет небольшой батохромный сдвиг спектральных максимумов в сравнении с нейтральной формой оригинального борированного хромофора GFP **2.2.1** (Табл. 2.2.3). Производные же, содержащие гидроксильные группы (**2.2.6b,c**), как и ожидалось, характеризуются более выраженным смещением в длинноволновую область спектра. А введение более сильных донорных заместителей (соединения **2.2.6d,e**) смещает максимумы абсорбции в область 470-510 нм и максимумы эмиссии – 600-670 нм:

Таблица 2.2.3. Оптические свойства соединений **2.2.6a-e** в различных растворителях

Соединение	Заместитель		H ₂ O	EtOH	CH ₃ CN	EtOAc	Диоксан
2.2.6a		Абс.	427	436	425 (19000)	428 (19500)	435 (20000)
		Эм.	532	510	497	484	483
2.2.6b		Абс.	465 (15000)	479 (20000)	458 (23000)	467 (23500)	474 (21000)
		Эм.	554	543	532	525	523
2.2.6c		Абс.	424 (14000)	430 (14500)	422 (17500)	429 (17500)	433 (18000)
		Эм.	564	550	524	511	504
2.2.6d		Абс.	476	498 (18000)	487 (21000)	486 (22000)	492 (22500)
		Эм.	670	650	641	607	595
2.2.6e		Абс.	511	510 (26000)	498 (30000)	498 (30000)	508 (31500)
		Эм.	674	653	646	617	602
2.2.1		Абс.	404	416	402	410	414
		Эм.	485	483	469	465	464

Как и предполагалось, заметное влияние на оптические свойства оказывает взаимное расположение заместителей в нафталиновой группе. Так, удаление имидазолоновой группы и донорного заместителя друг от друга приводит не только к батохромному сдвигу спектральных максимумов, но и к росту стоксового сдвига (Табл. 2.2.3, Рис. 2.2.5).

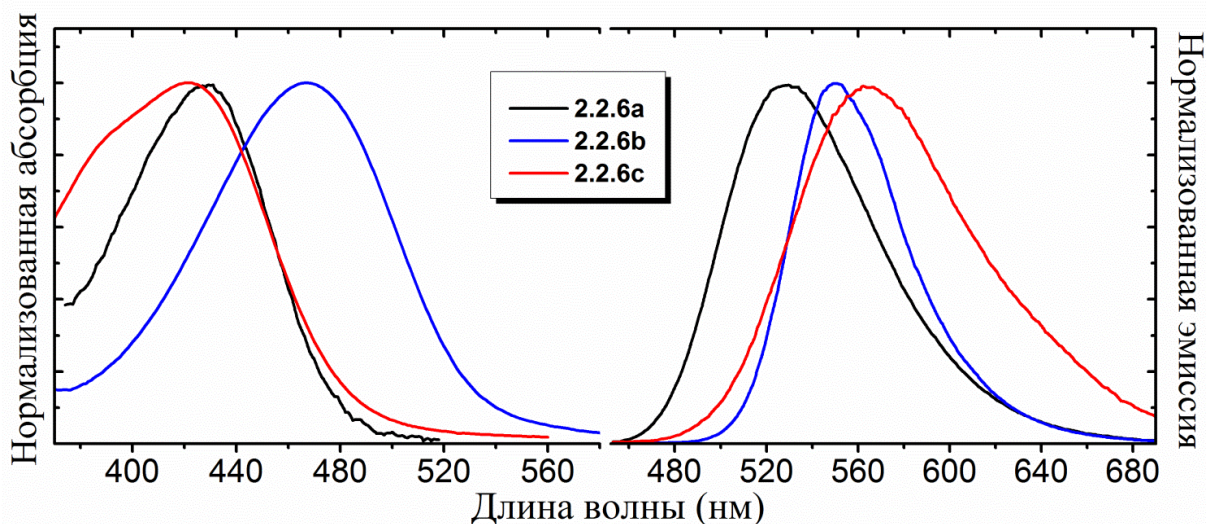


Рисунок 2.2.5. Спектры абсорбции и эмиссии соединений **2.2.6a-c** в воде.

Особенно заметно это для производных, содержащих аминогруппы. Так, соединения **2.2.6d,e** имеют стоксов сдвиг 150-200 нм:

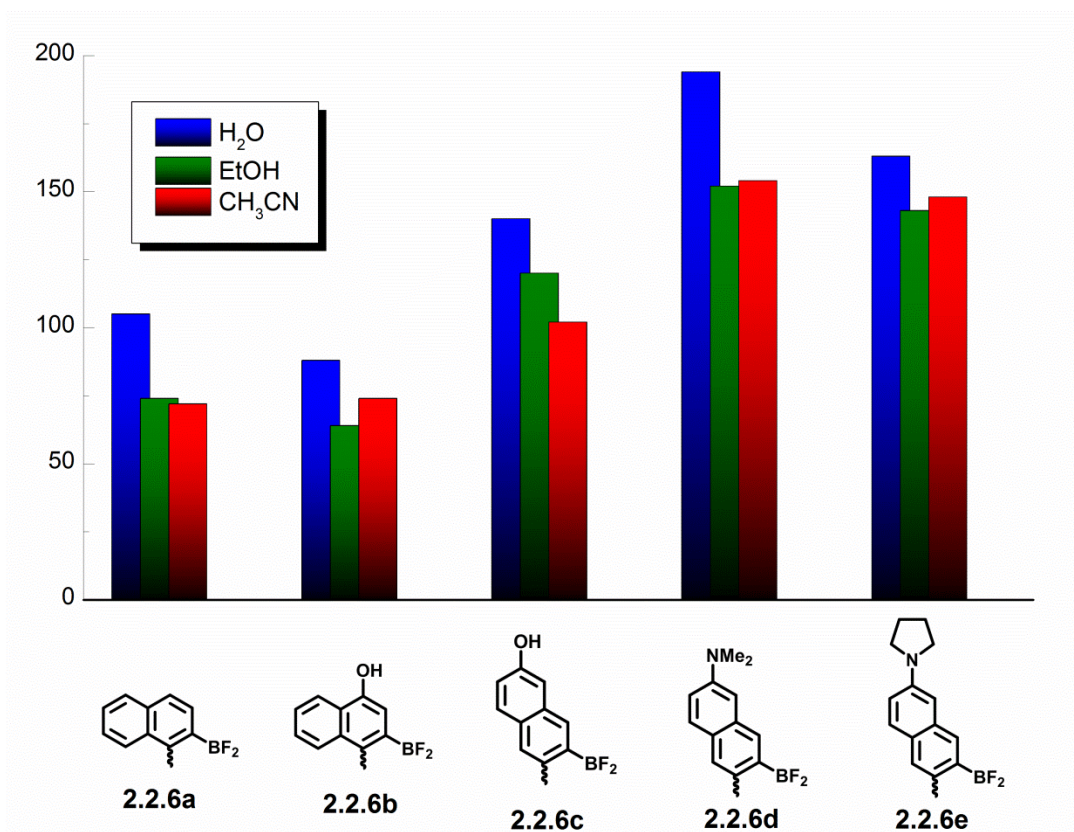


Рисунок 2.2.6 Изменение величины стоксового сдвига соединений **2.2.6** в различных растворителях.

Также было установлено, что почти все полученные соединения характеризуются высокими показателями квантового выхода флуоресценции практически во всех растворителях.

Так, для незамещенного нафталинового производного **2.2.6a** и для гидроксипроизводных **2.2.6b,c** КВФ составляет 60-95 % и лишь в некоторых случаях снижается до 30 % (Табл. 2.2.4).

Таблица 2.2.4. Квантовые выходы флуоресценции соединений **2.2.6** в различных растворителях.

Соединение	H ₂ O	EtOH	CH ₃ CN	EtOAc	Диоксан
2.2.6a	0.65	0.30	0.86	0.95	0.98
2.2.6b	0.77	0.65	0.80	0.80	0.86
2.2.6c	0.27	0.61	0.77	0.88	0.94
2.2.6d	0.04	0.19	0.29	0.40	0.45
2.2.6e	0.02	0.13	0.20	0.31	0.34

Тем не менее, аминафталиновые производные **2.2.6d,e** характеризуются заметным варьированием этой величины в зависимости от используемого растворителя. Например, в диоксане или этилацетате КВФ составляет 30-40 %, а воде – около 5 %. Вероятно, что для этих соединений, как и для аминопроизводных зафиксированного хромофора GFP возможно образование дополнительной формы возбужденного состояния с высокой степенью перераспределения заряда в молекуле (см. Раздел 2.2.1 «Аминные аналоги»).

2.2.2.3 Кислотно-основные свойства

Исследование кислотно-основных свойств гидроксипроизводных **2.2.6b,c** показало, что при подщелачивании их водных растворов происходит заметное смещение максимумов абсорбции в длинноволновую область спектра на 60 – 90 нм, что хорошо коррелирует с данными, полученными для зафиксированных аналогов хромофоров GFP [Baranov и др., 2012] и Kaede (см. Раздел 2.1.2 «Высокофлуоресцентные синтетические аналоги хромофора белка Kaede»), и объясняется депротонированием фенольной группы (Рис. 2.2.7 и Рис. 2.2.8, Табл. 2.2.5).

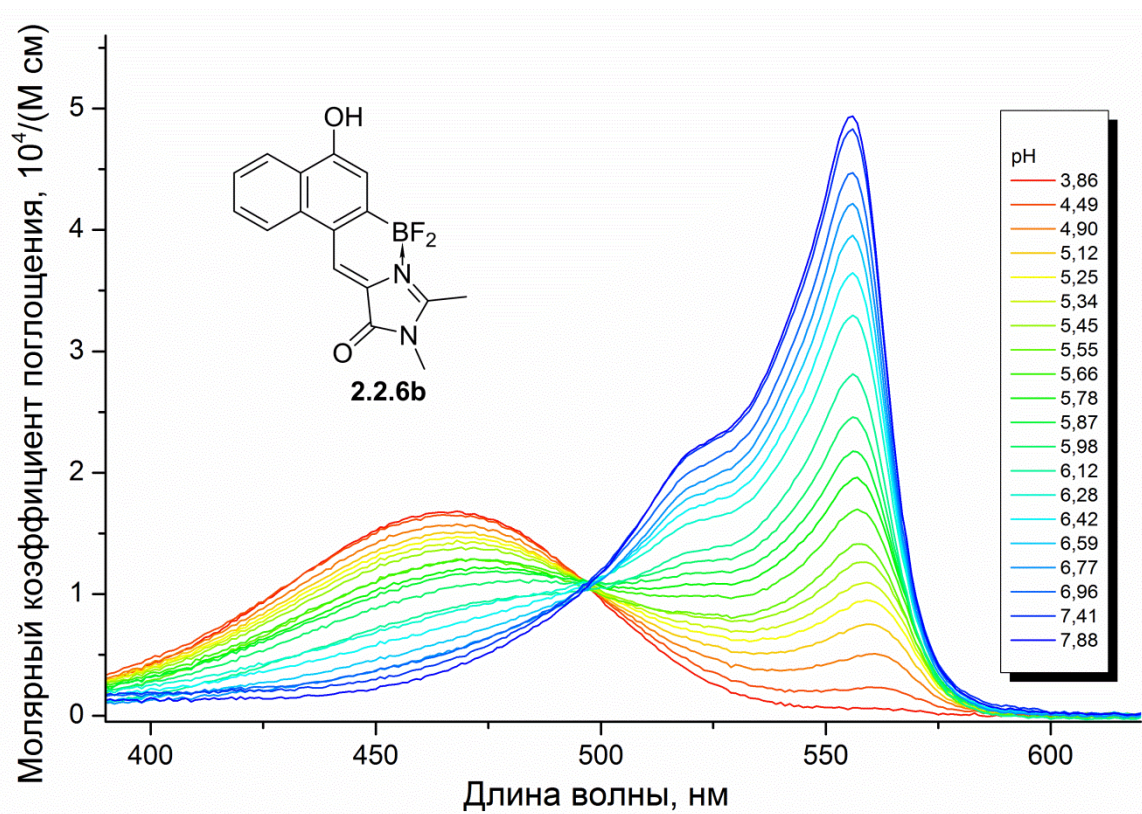


Рисунок 2.2.7. Спектры абсорбции соединения **2.2.6b** в воде при различном значении рН.

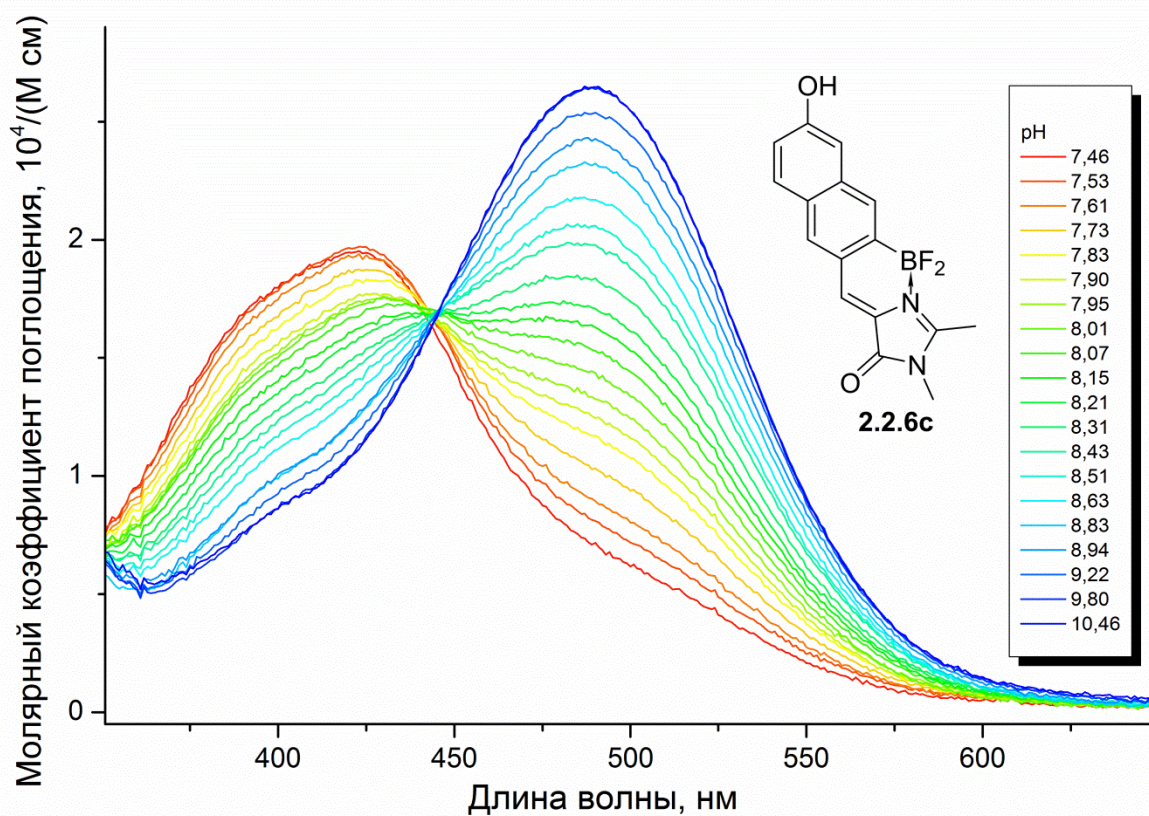
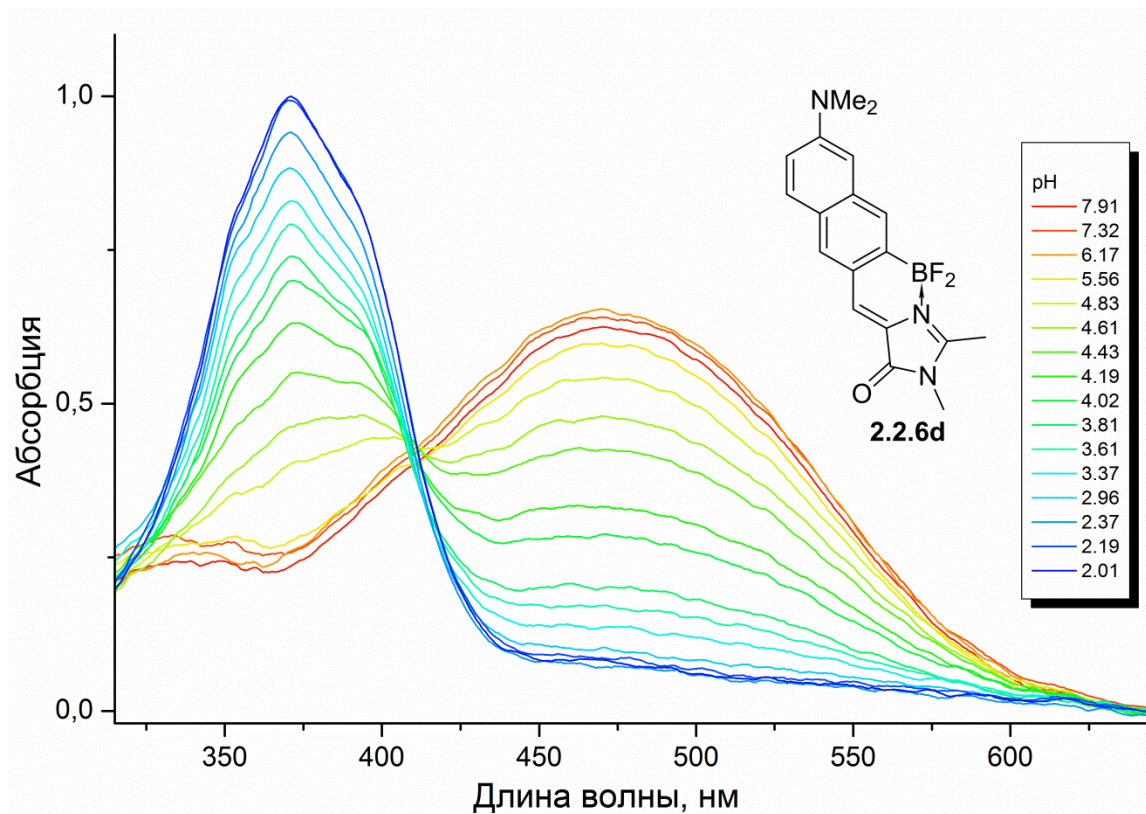


Рисунок 2.2.8. Спектры абсорбции соединения **2.2.6c** в воде при различном значении рН.

Таблица 2.2.5. Кисотно-основные свойства соединений **2.2.6b,c**.

Соединение	Абс. нейтр.	Абс. анион.	pKa
2.2.6b	466	561	6.0
2.2.6c	424	490	8.3

Изучение спектров абсорбции водных растворов аминафталиновых производных **2.2.6d,e** при различном значении pH показало, что при переходе к протонированной форме происходит заметное гипсохромное смещение максимумов абсорбции и нивелирование влияния аминозаместителя (Рис. 2.2.9 и Табл. 2.2.6). Похожие изменения оптических свойств наблюдались для всех аминопроизводных борированного хромофора GFP (см. Раздел 2.2.1 «Аминные аналоги») [Varanov и др., 2014].

Рисунок 2.2.9. Спектры абсорбции соединения **2.2.6d** в воде при различном значении pH.Таблица 2.2.6. Кисотно-основные свойства соединений **2.2.6d,e**.

Соединение	Абс. протонир.	Абс. нейтр.	pKa
2.2.6d	371	476	4.2
2.2.6e	370	511	2.9

2.2.3 Арилацетиленовые аналоги

Как уже было продемонстрировано на примере родаминовых красителей и красителей семейства BODIPY (см. Раздел 1.2 «Арилметеновые флуоресцентные красители»), введение в молекулу различных арилацетиленовых заместителей существенно изменяет оптические свойства красителей. Мы решили исследовать влияние подобной модификации на примере борированного хромофора GFP и синтезировали два аналога, содержащих арилацетиленовый заместитель в *para*-положении бензилиденового фрагмента:

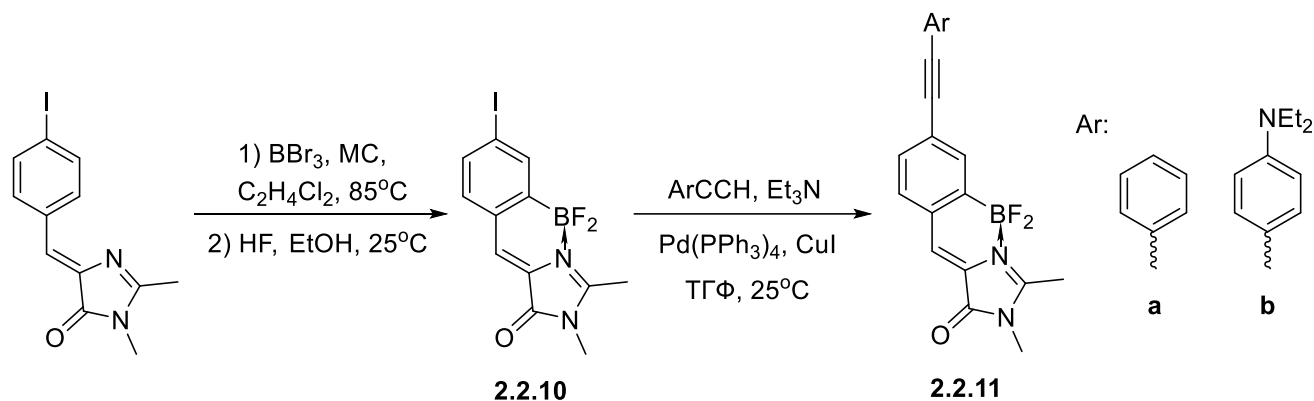


Схема 2.2.14. Получение арилацетиленовых аналогов борированного хромофора GFP.

Исходный йодсодержащий аналог **2.2.10** был получен при взаимодействии соответствующего имидазолонa с трибромидом бора при кипячении в дихлорэтане. Арилацетиленовые производные **2.2.11** были получены с помощью реакции Соногаширы в присутствии тетраакис(трифенилфосфин)палладия и иодида меди. Стоит отметить, что, несмотря на наличие дифторборильной группы, реакция проходила без каких-либо побочных процессов.

Как и ожидалось, введение арилацетилена в бензилиденовый фрагмент действительно приводит к заметным изменениям оптических свойств (Табл. 2.2.7).

Таблица 2.2.7. Оптические свойства соединений **2.2.10** и **2.2.11** в различных растворителях.

Соединение	CH ₃ OH	CH ₃ CN	Диоксан	
2.2.10	Абс.	388(28000)	386(29000)	394(31000)
	Эм.	455(0.68)	440(0.70)	432(0.65)
2.2.11a	Абс.	409(46500)	405(44000)	406(42000)
	Эм.	496(0.25)	483(0.72)	464(0.79)
2.2.11b	Абс.	463(32500)	459(31000)	476(31000)
	Эм.	600(0.001)	550(0.01)	632(0.24)

Так, в сравнении с соединением **2.2.10** фенилацетиленовый аналог **2.2.11a** характеризуется батохромным смещением максимумов абсорбции (10-20 нм) и эмиссии (30-40 нм). Аминопроизводное **2.2.11b** отличается еще более выраженным батохромным сдвигом (Рис. 2.2.10).

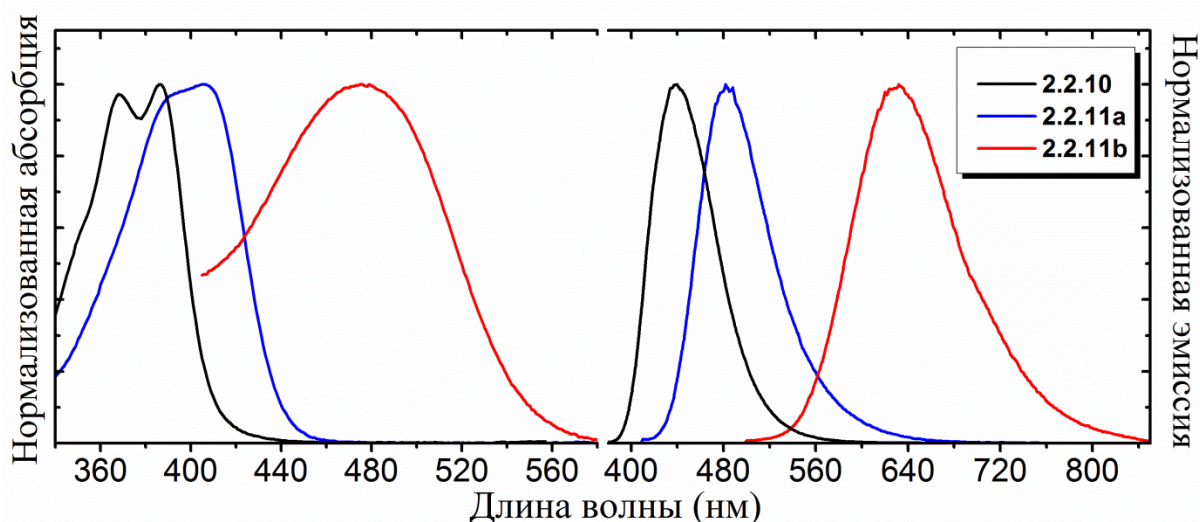


Рисунок 2.2.10. Спектры абсорбции и эмиссии соединений **2.2.10** и **2.1.11** в диоксане.

Таким образом, можно заключить, что арилацетиленовые аналоги борированного хромофора GFP являются весьма перспективными флуоресцентными красителями, а реакция Соногаширы – удобным методом создания подобных соединений.

2.3 Функционализированные синтетические аналоги хромофора GFP

Отдельной синтетической задачей в создании флуоресцентных красителей является введение в молекулу какой-либо функциональной (линкерной) группы, обеспечивающей специфическое взаимодействие красителя с целевым объектом. Как правило, введение подобных групп осуществляется на самых ранних этапах синтеза и накладывает определенные ограничения на все последующие стадии. В настоящей работе на примере некоторых аминокпроизводных борированного хромофора GFP и представителей других классов флуоресцентных красителей мы продемонстрировали удобные методы функционализации, которые могут быть использованы на последних этапах синтеза.

2.3.1 Введение функциональных групп пригодных для конъюгации с другими молекулами

Разработанный нами подход основан на использовании реакции [2+3] циклоприсоединения азидов к терминальным енаминам с образованием 1,2,3-триазолов. В литературе приведено крайне мало примеров подобных взаимодействий, хотя родственная реакция циклоприсоединения ацетиленов к азидам уже приобрела большую популярность в органическом синтезе. Использование терминальных енаминов было продемонстрировано лишь на примере производных нитрометана, ацетонитрила, нитротолуолов и некоторых гетероциклических соединений [Bakulev и др., 2012; Batog и др., 2000; Jia и др., 2015; Kiselyov, Semenova, Semenov, 2009].

Изучение этого превращения мы начали с синтеза пары модельных соединений **2.3.2**. В качестве исходных соединений были выбраны аминокпроизводные борированного хромофора GFP, содержащие простые алкильные заместители на атоме азота. Из них с помощью реакции присоединения ацеталей различных формамидов к активированной метильной группе были получены терминальные енаминные производные **2.3.1**, из которых при последующем взаимодействии с азидами были синтезированы функционализированные производные **2.3.2**:

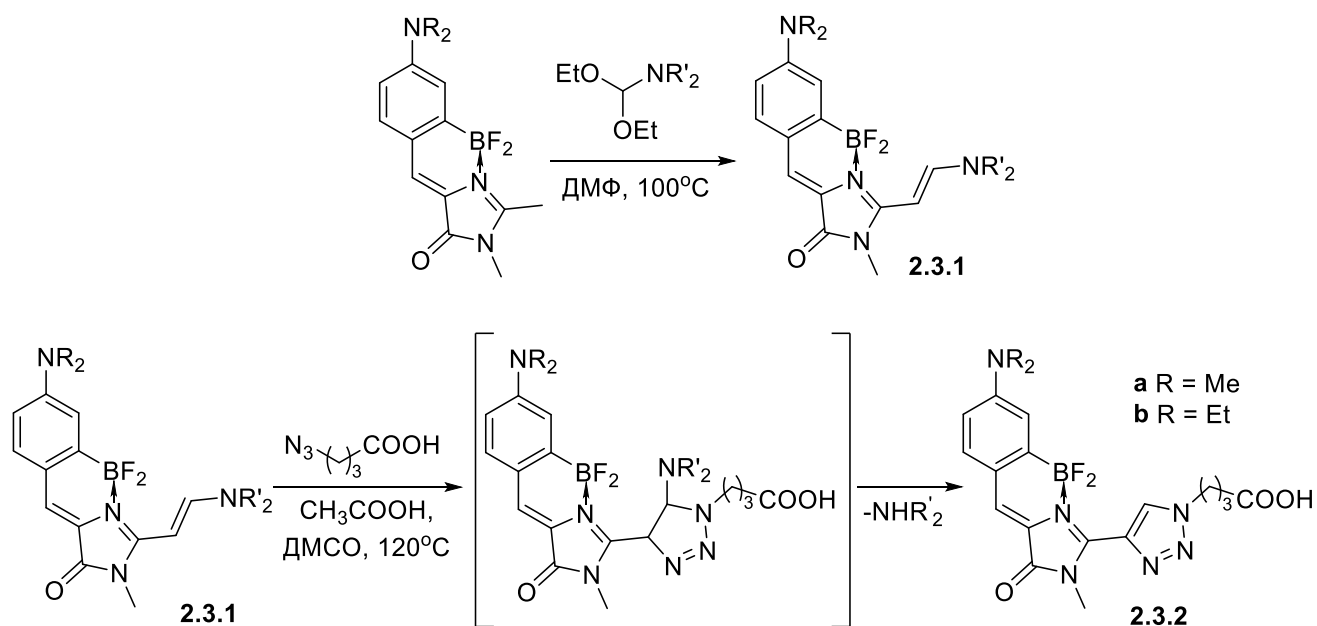


Схема 2.3.1. Схема получения функционализированных производных **2.3.2**.

Варьирование растворителей на стадии циклоприсоединения показало, что наиболее эффективно реакция проходит в среде диметилсульфооксида и диметилформамида, а при использовании таких растворителей, как диоксан и нитробензол происходит большое количество побочных процессов. Причем в ДМСО время реакции сокращается на 5-8 часов.

Скорость этого превращения также может зависеть от электронного характера аминозаместителя енаминной компоненты. Чтобы изучить влияние этой группы на протекание реакции, мы создали ряд енаминов **2.3.1**, содержащих как простые аминоалкильные заместители, так и циклические амины, где в качестве исходного флуоресцентного красителя было использовано соединение **2.2.2b**:

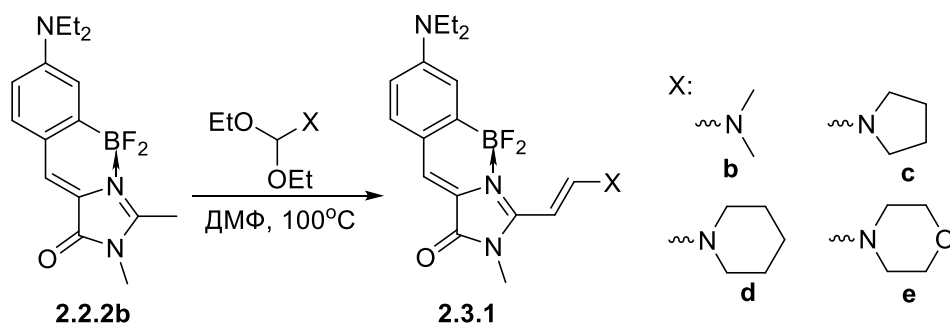


Схема 2.3.2. Получение различных енаминных производных.

Однако исследование реакционной способности полученных соединений показало, что время реакции циклоприсоединения в ряду синтезированных производных **2.3.1** изменяется незначительно. Так, реакция с енамином, содержащим морфолин (соединение **2.3.1e**),

проходила за 12 часов, а в случае диметиламинного заместителя (соединение **2.3.1b**) время реакции составило 16 часов.

В результате нами было получено два функционализированных аналога аминокпроизводных борированного хромофора GFP, содержащих карбоксильные группы (соединения **2.3.2**, Схема 2.3.3). Такие линкеры можно использовать для связывания флуоресцентных меток с различными объектами, содержащими свободные amino-, а также тиольные и спиртовые группы. При этом использование алифатического линкера, не сопряженного с π -системой флуорофора, гарантирует отсутствие изменения оптических свойств при связывании.

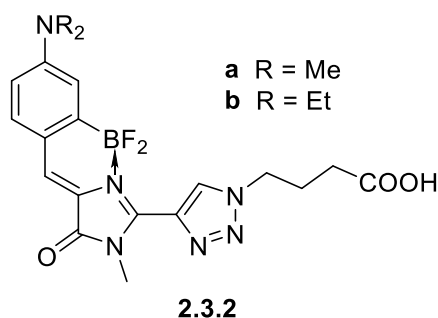


Схема 2.3.3. Функционализированные аминокпроизводные борированного хромофора GFP.

При дальнейшем изучении этого метода функционализации мы установили, что его можно использовать для модификации не только синтетических аналогов хромофора GFP, но и для других флуоресцентных красителей (Схема 2.3.4). Для большинства молекул красителей характерно наличие электронодонорной и электроноакцепторной частей, введение метильной группы в последнюю, обеспечивает успешное проведение реакции присоединения ацеталей формидов и получение енаминных производных (соединения **2.3.3** и **2.3.5**). Последующее циклоприсоединение к азидам проходит так же эффективно. Кроме того было установлено, что при использовании ароматических азидов время реакции значительно сокращается (до 5 часов):

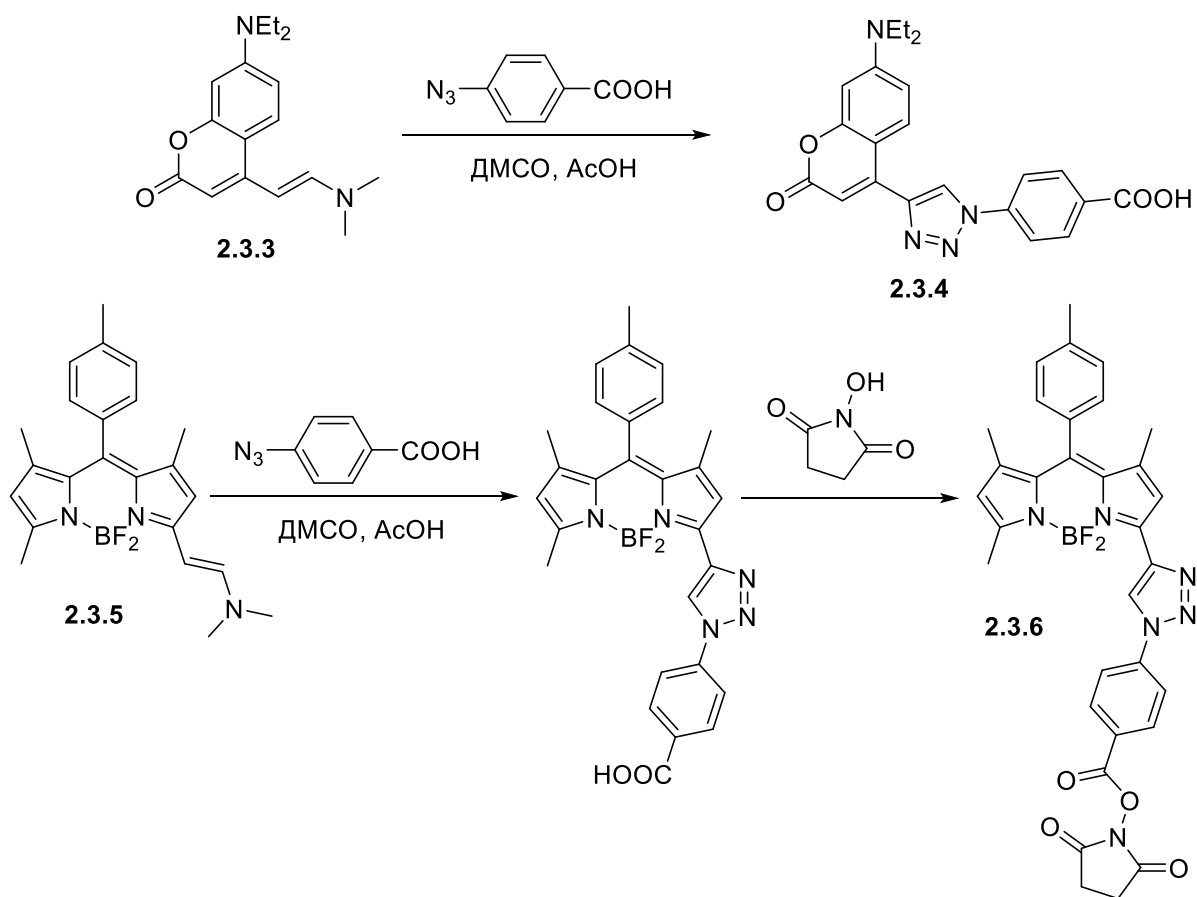


Схема 2.3.4. Функционализированные производные BODIPY и кумарина.

На примере функционализированного производного BODIPY было установлено, что благодаря наличию карбоксильной группы эти соединения могут быть сразу использованы для получения активированных эфиров. Введение N-гидроксисукцинимидной группы проходит эффективно и при мягких условиях, что позволяет значительно оптимизировать этот метод функционализации.

Введение в молекулу енаминных и триазольных заместителей привело к определенным изменениям оптических свойств. На примере соединений **2.3.1b-e** и **2.3.2b** мы установили, что они отличаются от своего предшественника **2.2.2b** заметным батохромным сдвигом максимумов абсорбции и эмиссии:

Таблица 2.3.1. Оптические свойства соединений **2.2.2b**, **2.3.1b-e** и **2.3.2b** в различных растворителях.

Соединение	Заместитель		H ₂ O	EtOH	CH ₃ CN	EtOAc	Диоксан
2.3.1b		Абс.	532(-)*	525(51000)	512(51000)	514(52000)	519(51000)
		Эм.	597	591	582	570	569
2.3.1c		Абс.	534(-)	528(13500)	514(14000)	517(13500)	523(13500)
		Эм.	599	594	581	567	568
2.3.1d		Абс.	529(-)	526(17000)	512(18000)	514(18000)	521(16500)
		Эм.	600	591	582	572	570
2.3.1e		Абс.	539(-)	529(45000)	517(43500)	518(44000)	524(44000)
		Эм.	607	597	591	580	576
2.3.2b		Абс.	560(48000)	551(43000)	536(38000)	535(38000)	537(39000)
		Эм.	607	601	605	592	588
2.2.2b		Абс.	520(53500)	505(48000)	494(45500)	492(47000)	497(51000)
		Эм.	563	557	554	538	538

(* - низкая растворимость)

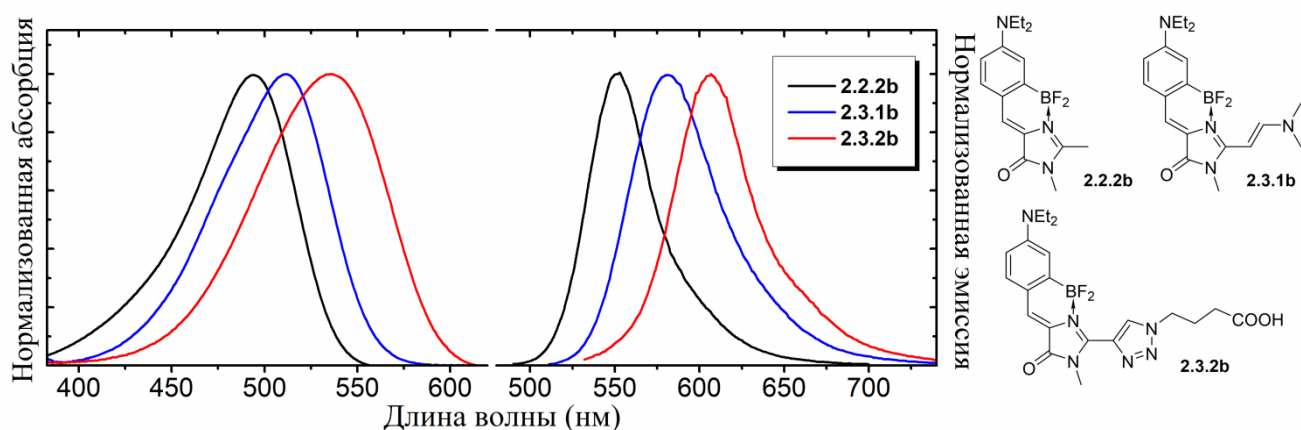
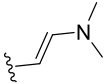
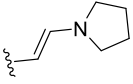
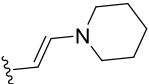
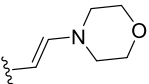
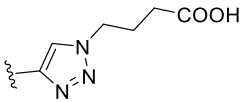



Рисунок 2.3.1. Спектры абсорбции и эмиссии соединений **2.2.2b**, **2.3.1b** и **2.3.2b** в ацетонитриле.

Кроме того введение заместителей также влияло на величину квантового выхода флуоресценции (Табл. 2.3.2). Так, енаминные производные **2.3.1b-e** отличались незначительным

варьированием квантового выхода в различных растворителях. В то время как для функционализованного аналога **2.3.2b** изменение этого показателя было сравнимо с данными, полученными ранее для исходного соединения **2.2.2b**.

Таблица 2.3.2. Квантовые выходы флуоресценции соединений **2.2.2b**, **2.3.1b-e** и **2.3.2b** в различных растворителях.

Соединение	Заместитель	H ₂ O	EtOH	CH ₃ CN	EtOAc	Диоксан
2.3.1b		0.60	0.67	0.60	0.63	0.70
2.3.1c		0.50	0.61	0.58	0.64	0.70
2.3.1d		0.58	0.89	0.60	0.82	0.90
2.3.1e		0.13	0.56	0.51	0.53	0.53
2.3.2b		0.07	0.38	0.41	0.58	0.72
2.2.2b		0.03	0.22	0.31	0.63	0.72

(* - низкая растворимость)

Изучение кислотно-основных свойств функционализованных производных в воде показало, что для них, как и для всех ранее синтезированных аминопроизводных хромофора GFP при подкислении происходит гипсохромное смещение максимума поглощения и нивелирование влияния аминозаместителя при pH в области ~1.0 – 3.0:

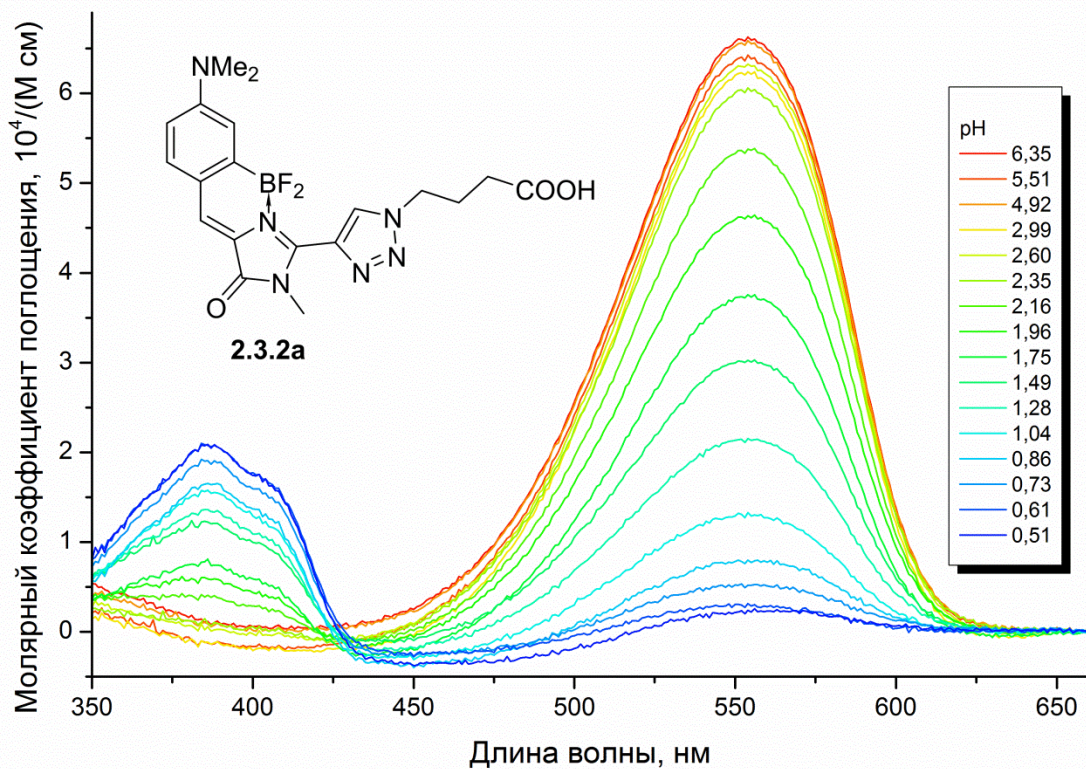


Рисунок 2.3.2. Спектры абсорбции соединения **2.3.2a** в воде при различном значении рН.

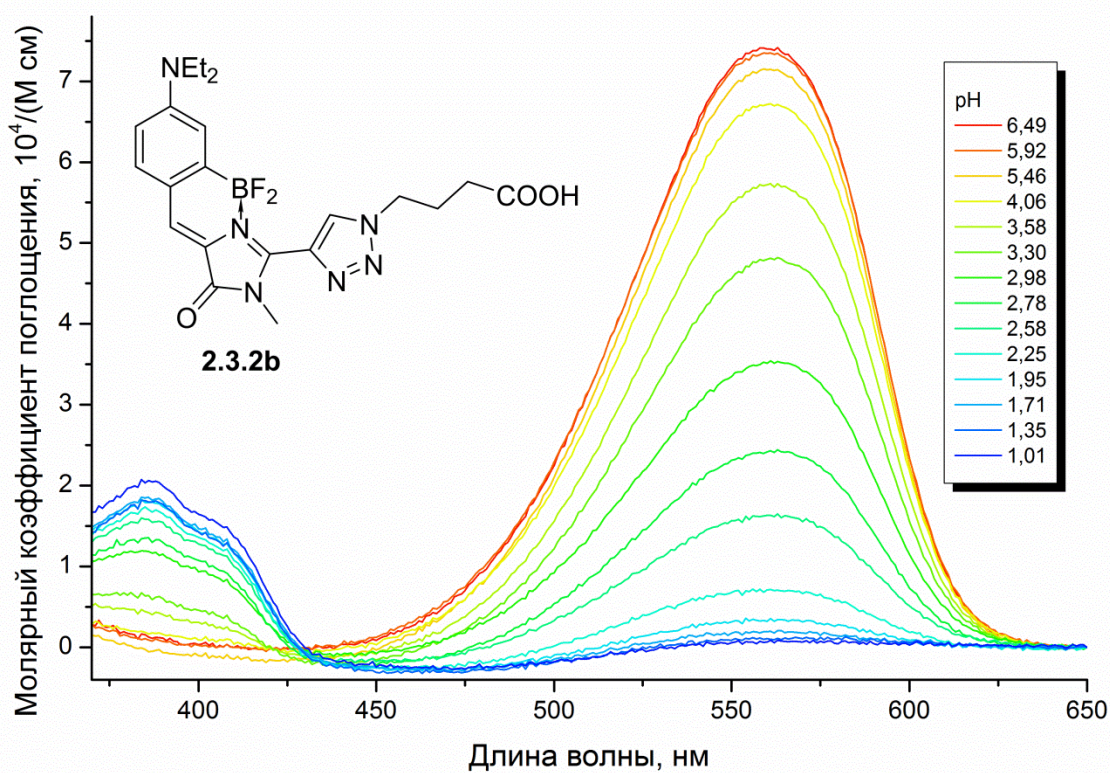


Рисунок 2.3.3. Спектры абсорбции соединения **2.3.2b** в воде при различном значении рН.

2.3.2 Введение сенсорных групп

Одним из важных направлений использования флуоресцентных красителей является создание сенсоров – соединений, содержащих специальный фрагмент, чувствительный к определяемому веществу (аналиту). При взаимодействии таких соединений с аналитом могут происходить как обратимые изменения, так и необратимые.

2.3.2.1 Необратимые сенсоры

Различные карбаматы являются довольно распространенным типом необратимых сенсоров, они были использованы для обнаружения тиолов и перекиси водорода [Chung и др., 2011; Peng и др., 2012]:

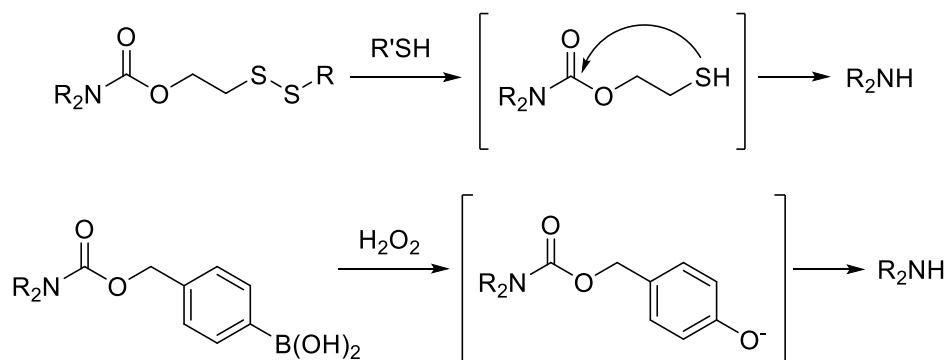


Схема 2.3.5. Примеры сенсоров, содержащих карбаматные группы.

Поскольку полученные нами конформационно зафиксированные производные не вступают в реакции с подобными аналитами (по крайней мере, при концентрациях ниже 0.1М при комнатной температуре), в настоящей работе на основе некоторых ранее синтезированных аминопроизводных борированного хромофора GFP (соединения **2.2.2f** и **2.3.7**) были созданы модельные карбаматные производные:

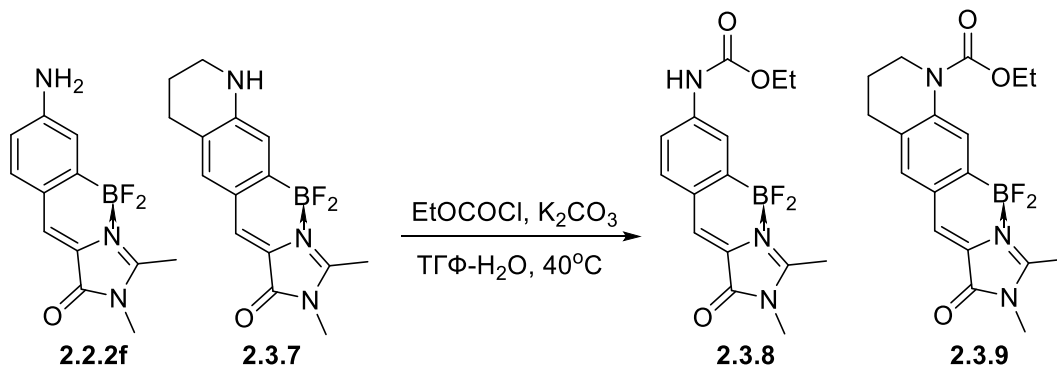


Схема 2.3.6. Схема синтеза карбаматных производных.

Синтез модельных карбаматов проводился в смеси вода-тетрагидрофуран под действием этилхлорформиата в присутствии карбоната калия. Реакция проходила гладко и с выходами 70-90%.

Сравнение оптических свойств полученных производных со свойствами предшественников показало, что при введении карбаматной группы такие характеристики, как квантовый выход флуоресценции и коэффициент молярного поглощения изменяются лишь незначительно. Также наблюдается заметное гипсохромное смещение максимумов:

Таблица 2.3.3. Оптические свойства соединений **2.2.2f** и **2.3.7-2.3.9** в воде

Соединение	Абс.	Эм.	КВФ
2.2.2f	461(30000)	531	0.70
2.3.7	514(45000)	558	0.63
2.3.8	405(28000)	499	0.82
2.3.9	411(43000)	522	0.57

Так, при переходе к карбаматной форме аминокпроизводного **2.2.2f** в спектрах абсорбции и эмиссии наблюдается гипсохромный сдвиг на 30-50 нм (Рис. 2.3.4), а для аналога **2.3.7** смещение в более коротковолновую область достигает 100 нм в спектрах абсорбции (Рис. 2.3.5).

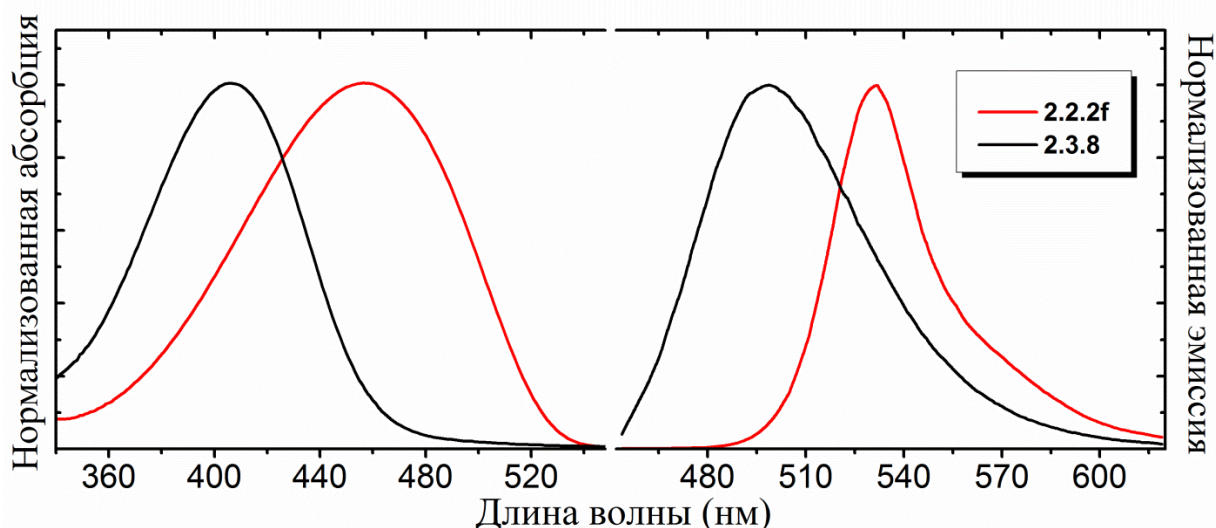


Рисунок 2.3.4. Спектры абсорбции и эмиссии соединений **2.2.2f** и **2.3.8** в воде.

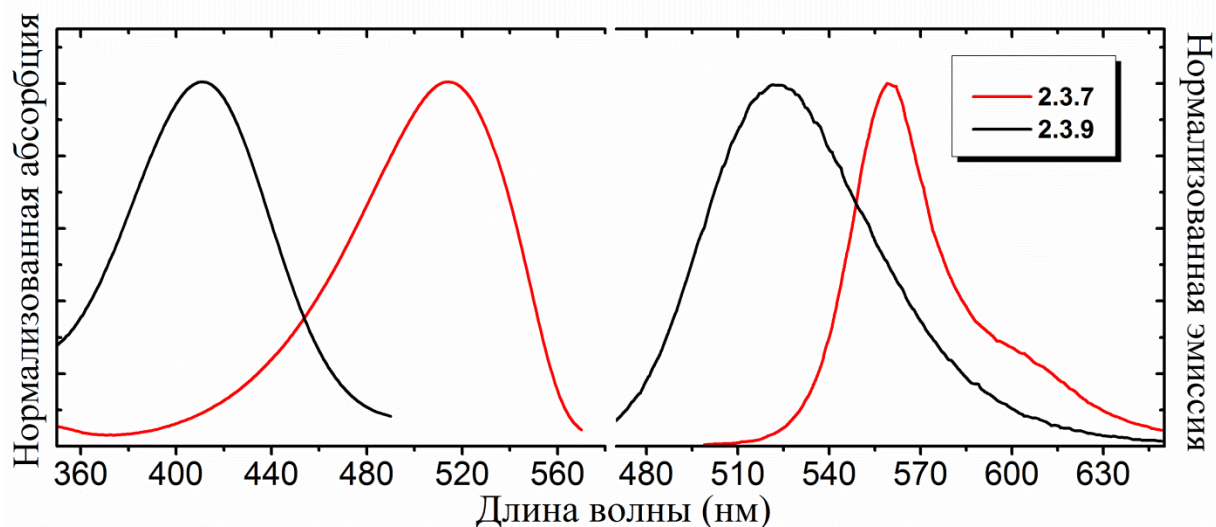


Рисунок 2.3.5. Спектры абсорбции и эмиссии соединений **2.3.7** и **2.3.9** в воде.

Столь существенные изменения спектров абсорбции при переходе к свободной аминной форме сенсоров позволят следить за присутствием той или иной формы с помощью различных возбуждающих лазеров и в разных каналах.

Таким образом, использование аминокпроизводных борированного хромофора GFP в качестве основы для создания различных карбаматных флуоресцентных сенсоров является весьма перспективным и является одной из задач для нашей дальнейшей работы.

2.3.2.1 Обратимые рН-сенсоры

Другим типом сенсоров являются обратимые сенсоры. Для таких соединений характерен неоднократный переход от одной формы к другой и изменение окраски при взаимодействии с каким-либо компонентом в системе. Среди них есть широко используемые, такие как мурексид (металлоиндикаторы) и дифениламин (окислительно-восстановительный индикатор). А такие известные как лакмус и фенолфталеин (кисотно-основные индикаторы) давно используются в обучающей практике.

Для большинства синтетических аналогов хромофора GFP благодаря наличию гидроксидных и аминокгрупп характерно изменение оптических свойств при изменении рН. Однако переход от одной формы к другой, как правило, не сопровождается ярко выраженным изменением величины квантового выхода флуоресценции. Мы решили усилить зависимость оптических свойств путем введения дополнительной гидроксигруппы в первое положение имидазолонна.

Нами был получен следующий ряд N-гидроксипроизводных борированного хромофора GFP:

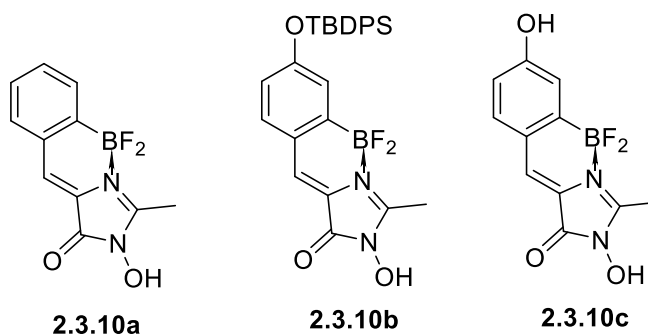


Схема 2.3.7. N-гидроксипроизводные борированного хромофора GFP.

Для создания аналогов **2.3.10** на первом этапе синтеза с помощью наиболее популярного метода – взаимодействие оксазолон с гидроксилмином (см. Раздел 1.1.1 «Циклизация амидов N-ацилдегидроаминокислот») - были получены N-гидроксиимидазолонны **2.3.12**:

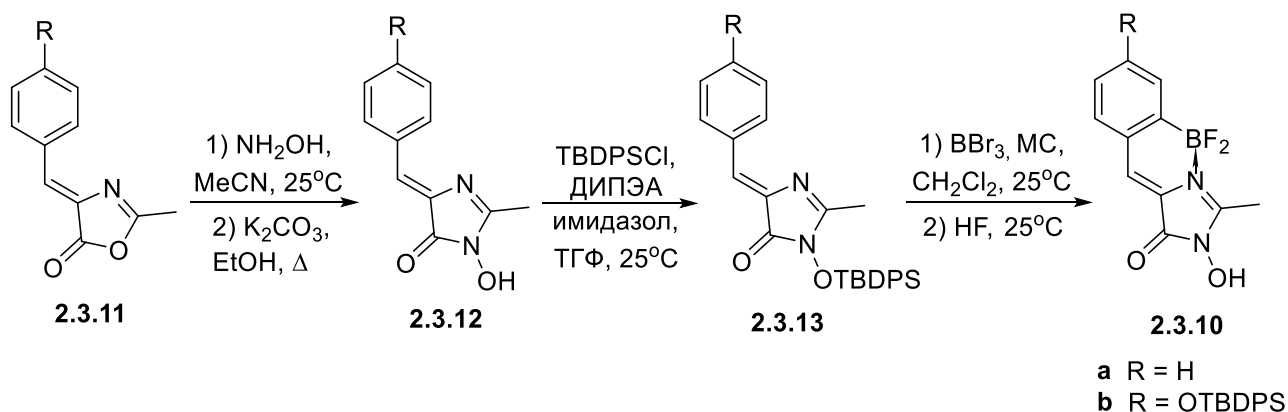


Схема 2.3.8. Синтез N-гидроксипроизводных борированного хромофора GFP **2.3.10**.

На следующем этапе в молекулу N-гидроксиимидазолонов вводилась защитная дифенилтретбутилсилильная группа, и полученные имидазолонны **2.3.13** подвергались воздействию триборида бора. Снятие силильной защиты с N-гидроксильного атома кислорода происходило под действием концентрированной плавиковой кислоты.

Удаление силильной защиты с фенольного атома кислорода соединения **2.3.10b** проводилось действием фторида тетрабутиламмония, в результате чего было получено производное **2.3.10c**:

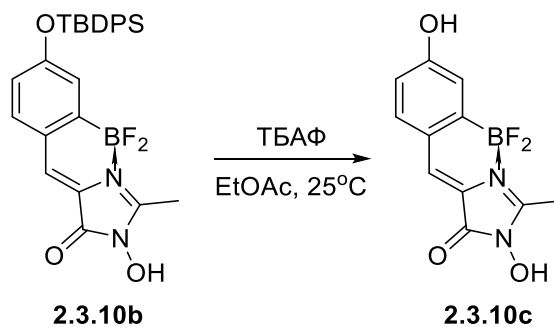


Схема 2.3.9. Получение производного **2.3.10c**.

Исследование оптических свойств полученных соединений показало, что все они характеризуются поглощением в области 350-430 нм и испусканием в области 400-500 нм:

Таблица 2.3.4. Оптические свойства соединений **2.3.10** в различных растворителях

Соединение	R		H ₂ O	MeOH	CH ₃ CN	Гексан	Диоксан
2.3.10a	H	Абс.	.*	371	365	370	368
		Эм.	.*	447	428	395	406
2.3.10b	OTBDPS	Абс.	.*	407	403	421	414
		Эм.	.*	457	461	460	457
2.3.10c	OH	Абс.	412	417	407	.*	418
		Эм.	485	479	466	.*	462

(* - низкая растворимость)

Величина квантового выхода соединений **2.3.10b,c** существенно зависит от используемого растворителя, и при переходе к полярным растворителям этот показатель значительно уменьшается. Причем заметное варьирование квантового выхода также можно наблюдать в самом ряду производных **2.3.10**:

Таблица 2.3.5. Квантовые выходы флуоресценции соединений **2.3.10** в различных растворителях.

Соединение	R	H ₂ O	MeOH	CH ₃ CN	Гексан	Диоксан
2.3.10a	H	-*	0.02	0.01	0.03	0.03
2.3.10b	OTBDPS	-*	0.04	0.43	0.52	0.28
2.3.10c	OH	0.12	0.20	0.64	-*	0.68

(* - низкая растворимость)

Наличие N-гидроксильной группы в молекуле производных **2.3.10** предполагает возможность перехода этих соединений в депротонированную форму, а в случае соединения **2.3.10c** вероятно образование дианиона:

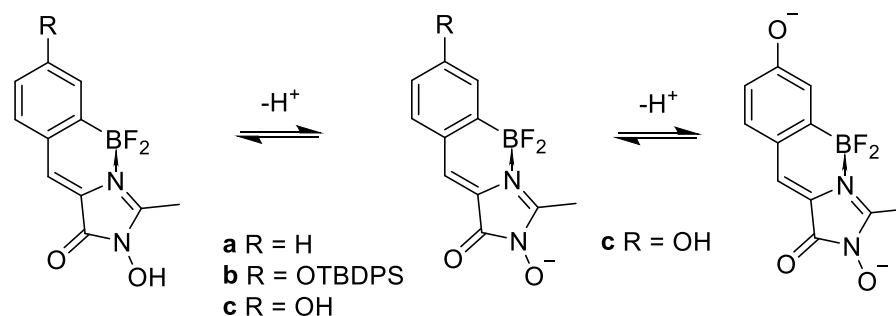


Схема 2.3.10. Депротонирование производных **2.3.10**.

Изучение спектров абсорбции в фосфатном буфере при разном значении pH показало, что для всего ряда соединений при pH 4-5 наблюдается небольшой гипсохромный сдвиг и изменение формы сигнала, что очевидно связано с депротонированием N-гидроксильной группы и образованием аниона:

Таблица 2.3.6. Кислотно-основные свойства соединений **2.3.10** в фосфатном буфере.

Соединение	Нейтр.	Анион.	pKa
	абс.	абс.	
2.3.10a	373	356	5.4
2.3.10b	409	397	5.2
2.3.10c	412	398; 486	8.9; 5.3

При значениях pH > 6 спектры соединений **2.3.10a,b** не изменялись, а в спектрах производного **2.3.10c** при pH 8-9 наблюдалось заметное bathochromное смещение максимума

примерно на 80 нм (Рис. 2.3.6). Для дигидроксипроизводного такое поведение, как и предполагалось, объясняется образованием дианиона. Стоит отметить, что рКа этого процесса достигает значения 8.9.

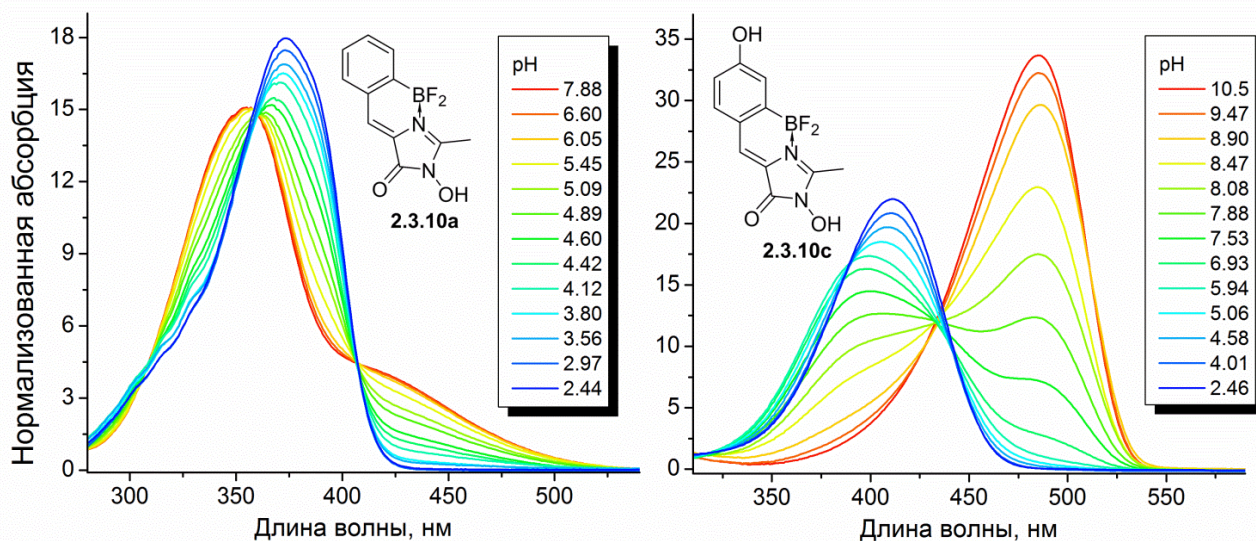


Рисунок 2.3.6. Спектры абсорбции соединений **2.3.10a** и **2.3.10c** в фосфатном буфере при различном значении рН.

При дальнейшем изучении свойств N-гидроксипроизводных было установлено, что производные **2.3.10a,b** малорастворимы в полярных растворителях и имеют крайне низкий квантовый выход флуоресценции как в воде, так и в фосфатном буфере.

Весьма неожиданные результаты были получены для фенольного аналога **2.3.10c**. При исследовании его спектров эмиссии в фосфатном буфере при значении рН 0.5-4.5 наблюдалась интенсивная флуоресценция, а при рН > 5 происходил резкий спад флуоресцентного сигнала:

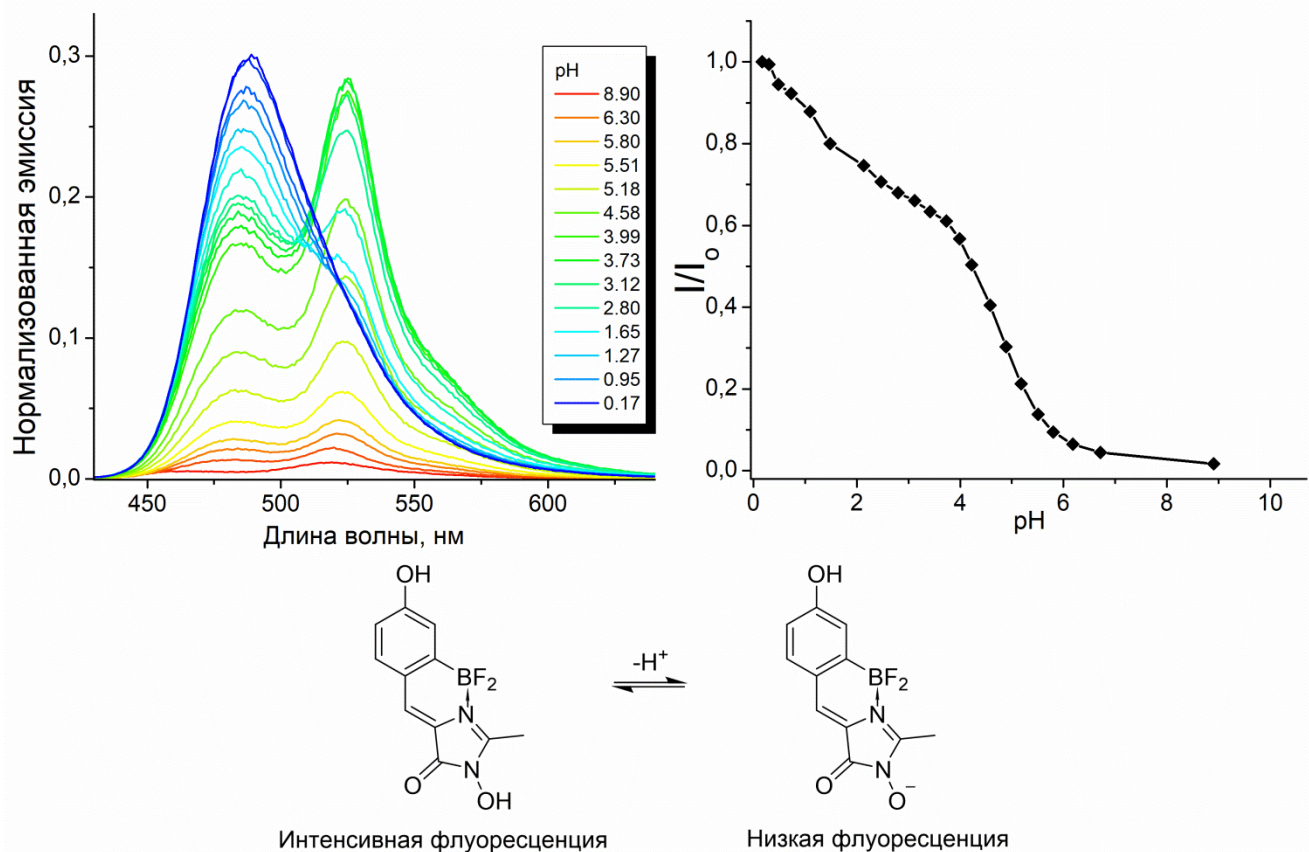


Рисунок 2.3.7. Спектры эмиссии соединения **2.3.10c** в фосфатном буфере при различном значении pH.

Такое необычное поведение дигидроксипроизводного выгодно выделяет его среди других аналогов борированного хромофора GFP. Резкое изменение флуоресцентных свойств, происходящее при pH 4-6 (физиологический диапазон), позволит успешно использовать его в качестве pH-сенсора для широкого спектра задач и экспериментов в живых системах.

Глава 3. Экспериментальная часть

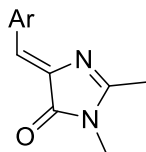
3.1 Материалы и оборудование

Спектры ЯМР зарегистрированы на приборах Bruker Avance III 800 (снабжен 5-мм СРТХІ криодатчиком), Bruker Avance III 700 в ДМСО-d₆ и CDCl₃, внутренний стандарт - ТМС. Спектры поглощения в УФ и видимом диапазонах регистрировали на спектрофотометре Varian Cary 100 Bio. Спектры флуоресценции (возбуждения и эмиссии) были получены на спектрофлуориметре Agilent Cary Eclipse. Температуры плавления определены на приборе SMP30 и не исправлены. Масс-спектры высокого разрешения зарегистрированы на приборе LTQ Orbitrap Elite (ThermoFisher Scientific, USA) методом электрораспылительной ионизации (ESI).

Аналитическую и препаративную тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Merck (Германия) с флуоресцентным индикатором UV-254. Для колоночной хроматографии использовали силикагель фирмы Merck (Kieselgel 60, 70-230 mesh). Реактивы Acros Organics и SigmaAldrich применяли без дополнительной очистки. Для проведения реакций использовали свежеперегнанные растворители фирмы Химмед.

3.2 Синтез

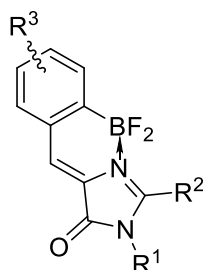
3.2.1 Получение имидазолонов на основе иминов



Общая методика А:

Соответствующий ароматический альдегид (5 ммоль) растворяли в хлороформе (25 мл). К полученной смеси добавляли водный раствор метиламина (40%, 5 мл) и безводный сульфат натрия (20 г). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. По окончании реакции полученную смесь фильтровали. Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Сухой остаток растворяли в абсолютном метаноле (3 мл) и добавляли этил((1-метокси)амино)ацетат (0.95 г, 6 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Затем растворитель упаривали и полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 20:1).

3.2.2 Введение дифторборильной группы



Общая методика В:

Соответствующий имидазолон (3 ммоль) растворяли в абсолютном дихлорметане (100 мл). К полученной смеси добавляли свежепрокаленные молекулярные сита (10 г 4 Å и 10 г 3 Å) и раствор трибромида бора в дихлорметане (1М, 12 мл, 12 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 дней. По окончании реакции полученную смесь отфильтровывали. Молекулярные сита промывали этанолом (2×15 мл). Затем к раствору добавляли водный раствор плавиковой кислоты (20%, 10 мл) и перемешивали в течение 30 минут. После перемешивания полученный раствор разбавляли этилацетатом (100 мл), промывали насыщенным раствором карбоната калия (5%, 2×50 мл), водой (2×50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2×50 мл). Растворитель высушивали над безводным

сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 20:1).

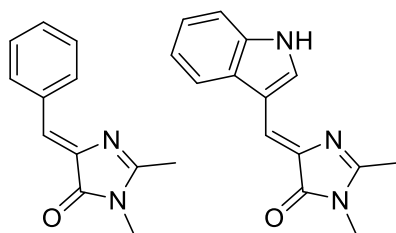
Общая методика С:

Соответствующий имидазолон (3 ммоль) смешивали со свежeproкаленными молекулярными ситами (10 г 3Å и 10 г 4Å) в 250 мл дихлорэтана. К смеси добавляли раствор трибромида бора в дихлорэтано (1М, 12 мл, 12 ммоль) и кипятили в течение 8 часов. Полученную смесь охлаждали и отфильтровывали, сита промывали холодным этанолом (2 × 15 мл). К полученной смеси добавляли раствор плавиковой кислоты (20%, 10 мл) и перемешивали 30 мин. Смесь разбавляли этилацетатом (100 мл), промывали насыщенным раствором карбоната калия (5%, 2 × 50 мл), водой (2 × 50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 50 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия, упаривали и разделяли с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 20:1).

Общая методика D:

Соответствующий имидазолон (3 ммоль) растворяли в абсолютном дихлорэтано (250 мл). К полученному раствору добавляли диизопропилэтиламин (1.16 г, 9 ммоль) и раствор трибромида бора в дихлорэтано (1М, 24 мл, 24 ммоль). Затем реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 дней. По окончании реакции полученную смесь разбавляли 50 мл этанола и перемешивали в течение 30 минут. Затем полученный раствор разбавляли водным раствором плавиковой кислоты (20%, 10 мл) и перемешивали в течение 30 минут. По окончании перемешивания полученный раствор разбавляли этилацетатом (100 мл), промывали водным раствором карбоната калия (5%, 2 × 50 мл), водой (2 × 50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 50 мл). Полученный раствор высушивали над безводным сульфатом натрия. Затем растворитель упаривали и полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 20:1)

3.2.3 Получение синтетических аналогов хромофоров белка Sirius, CFP и Kaede



(Z)-4-Бензилиден-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.2a)

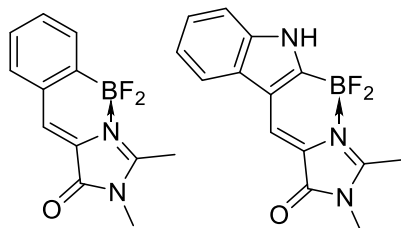
Получили по общей методике А из 0.53 г бензальдегида: желт. крист., 0.8 г (выход 83%).

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 8.20 (д, $J = 7.6$ Гц, 2H, Ar), 7.44 (т, $J = 7.6$ Гц, 2H, Ar), 7.38 – 7.41 (м, 1H, Ar), 6.97 (с, 1H, CH-Ar), 3.10 (с, 3H, CH₃), 2.36 (с, 3H, CH₃).

(Z)-4-((1H-Индол-3-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.2b)

Получили по общей методике **A** из 0.73 г индол-3-карбальдегида: оранжев. крист., 0.9 г (выход 78%).

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 11.90 (с, 1H, NH), 8.38 (д, $J = 2.6$ Гц, 1H, Ar), 8.20 (д, $J = 7.7$ Гц, 1H, Ar), 7.47 (д, $J = 7.9$ Гц, 1H, Ar), 7.30 (с, 1H, CH-Ar), 7.20 (т, $J = 7.5$ Гц, 1H, Ar), 7.15 (т, $J = 7.7$ Гц, 1H, Ar), 3.10 (с, 3H, CH₃), 2.34 (с, 3H, CH₃).



(Z)-4-(2-(Дифторборил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.3a)

Получили по общей методике **B** из 0.6 г имидазолонна **2.1.2a**: желт. крист., 0.15 г (выход 20%), т.пл. ~ 250 °С с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 7.65 (с, 1H, CH-Ar), 7.61 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H, Ar), 7.59 (д, $J = 7.3$ Гц, 1H, Ar), 7.45 (т, $J = 7.2$ Гц, 1H, Ar), 7.36 (т, 1H, $J = 7.4$ Гц, Ar), 3.23 (с, 3H, CH₃), 2.76 (с, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 13.1, 26.6, 126.9, 127.8, 128.2, 131.2, 131.3, 131.4, 132.9, 163.1, 167.4.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₂H₁₁BFN₂O [M-F]⁺ 229.0954, найдено 229.0942.

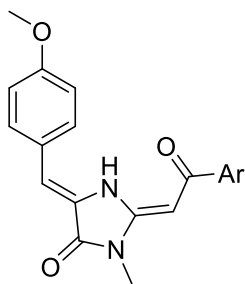
(Z)-4-((2-(Дифторборил)-1H-индол-3-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.3b)

Получили по общей методике **B** из 0.7 г имидазолонна **2.1.2b**: красн. крист., 0.13 г (выход 15%), т.пл. ~ 250 °С с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 12.29 (с, 1H, NH), 8.09 (с, 1H, CH-Ar), 7.92 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H, Ar), 7.41 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H, Ar), 7.18 (т, $J = 7.0$ Гц, 1H, Ar), 7.15 (т, $J = 7.0$ Гц, 1H, Ar), 3.24 (с, 3H, CH₃), 2.73 (с, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 12.8, 26.4, 112.4, 115.2, 118.8, 120.2, 121.4, 122.9, 124.9, 125.8, 139.2, 161.4, 162.2.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₄H₁₂BFN₃O [M-F]⁺ 268.1063, найдено 268.1032.



(2E,5Z)-2-(2-Арил-2-оксоэтилиден)-3-метил-5-(4-метоксибензилиден)имидазолидин-4-оны 2.1.5 (общая методика)

Смесь (*Z*)-1,2-диметил-4-(4-метоксибензилиден)-1*H*-имидазол-5(4*H*)-она **2.1.4** (1.15 г, 5 ммоль) и соответствующего хлорангидрида (20 ммоль) в 20 мл диизопропиламина кипятили при 130 °С в течение 10 минут. Затем реакционную смесь упаривали. Сухой остаток растворяли в 250 мл этилацетата, промывали водным раствором соляной кислоты (3%, 3 × 50 мл), водой (3 × 50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 50 мл). Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии, собирая окрашенные фракции ($R_f \sim 0.3$). Полученную смесь (смесь 2-4 *Z*- и *E*-изомеров) растворяли в 10 мл уксусной кислоты и добавляли 10 мл разбавленной водной соляной кислоты (10%). Полученную смесь кипятили в течение 5 минут. Затем раствор разбавляли этилацетатом (250 мл), промывали насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (3 × 50 мл), водой (2 × 50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 50 мл). Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 50:1).

(2E,5Z)-3-Метил-2-[2-(4-метилфенил)-2-оксоэтилиден]-5-(4-метоксибензилиден)имидазолидин-4-он (2.1.5a): желт. крист., 0.75 г (выход 43%), т. пл. 191–193 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 12.35 (уш. с, 1H, NH), 7.97 (д, J = 7.9 Гц, 2H, Ar), 7.59 (д, J = 8.6 Гц, 2H, Ar), 7.32 (д, J = 7.9 Гц, 2H, Ar), 7.15 (д, J = 8.7 Гц, 2H, Ar), 6.66 (с, 1H, CH-Ar), 6.19 (с, 1H, CH), 3.84 (с, 3H, CH₃), 3.23 (с, 3H, CH₃), 2.38 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 21.0, 25.9, 55.3, 77.3, 110.3, 114.9, 124.4, 126.0, 127.2, 129.0, 130.3, 136.1, 141.7, 154.6, 159.8, 163.1, 187.1.

HRMS (*m/z*) вычислено для C₂₁H₂₁N₂O₃ [M+H]⁺ 363.1316, найдено 349.1547.

(2E,5Z)-3-Метил-5-(4-метоксибензилиден)-2-[2-(4-метоксифенил)-2-оксоэтилиден]имидазолидин-4-он (2.1.5b): желт. крист., 0.58 г (выход 32%), т. пл. 176–179 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 12.25 (уш. с, 1H, NH), 8.05 (д, J = 8.8 Гц, 2H, H Ar), 7.57 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 7.15 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 7.04 (д, J = 8.9 Гц, 2H, Ar), 6.63 (с, 1H, CH), 6.16 (с, 1H, CH), 3.84 (с, 6H, CH₃), 3.23 (с, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 25.9, 55.3, 55.4, 77.1, 109.9, 113.6, 115.0, 124.5, 126.1, 129.3, 130.3, 131.4, 154.3, 159.8, 162.1, 163.1, 186.6.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 365.1501, найдено 365.1495.

(2E,5Z)-2-(2-(4-Фторфенил)-2-оксоэтилиден)-5-(4-метоксибензилиден)-3-метилимидазолидин-4-он (2.1.5c): желт. крист., 0.65 г (выход 37%), т. пл. 184–186 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 12.25 (уш. с, 1H, NH), 8.13 (дд, J = 8.6, 5.7, 2H, Ar), 7.58 (д, J = 8.8, 2H, Ar), 7.32 (уш. т, J = 8.7, 2H, Ar), 7.14 (д, J = 8.7, 2H, Ar), 6.67 (с, 1H, CH), 6.20 (с, 1H, CH), 3.84 (с, 3H, CH₃), 3.23 (с, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 26.0, 55.4, 77.3, 110.7, 115.0, 115.3, 124.2, 125.9, 129.9, 130.4, 135.4, 154.8, 159.9, 163.1, 164.2, 186.0.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{FN}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 353.1301, найдено 353.1295.

(2E,5Z)-5-(4-Метоксибензилиден)-3-метил-2-(2-оксо-2-фенилэтилиден)имидазолидин-4-он (2.1.5d): желт. крист., 0.58 г (выход 35%), т. пл. 188–190 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 12.31 (уш. с, 1H, NH), 8.05 (д, J = 7.5, 2H, Ar), 7.59 (д, J = 8.8, 2H, Ar), 7.55 (т, J = 7.5, 1H, Ar), 7.51 (т, J = 7.5, 2H, Ar), 7.15 (д, J = 8.8, 2H, Ar), 6.67 (с, 1H, CH), 6.18 (с, 1H, CH), 3.85 (с, 3H, CH₃), 3.24 (с, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 25.8, 55.2, 77.3, 110.6, 114.9, 124.3, 125.9, 126.9, 128.2, 130.2, 131.4, 138.7, 154.7, 159.8, 163.0, 187.2.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 335.1396, найдено 335.1385.

(2E,5Z)-2-(2-(4-Бромфенил)-2-оксоэтилиден)-5-(4-метоксибензилиден)-3-метилимидазолидин-4-он (2.1.5e): желт. крист., 0.66 г (выход 32%), т. пл. 175–178 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 12.26 (уш. с, 1H, NH), 8.00 (д, J = 8.3, 2H, Ar), 7.69 (д, J = 8.3, 2H, Ar), 7.57 (д, J = 8.8, 2H, Ar), 7.13 (д, J = 8.8, 2H, Ar), 6.67 (с, 1H, CH), 6.19 (с, 1H, CH), 3.84 (с, 3H, CH₃), 3.22 (с, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 25.8, 55.2, 77.2, 110.9, 114.9, 124.1, 125.2, 125.8, 129.0, 130.3, 131.2, 137.8, 154.9, 159.8, 162.9, 185.9.

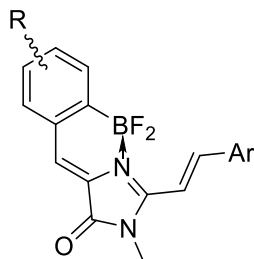
HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{BrN}_2\text{O}_3$ $[\text{M}(^{79}\text{Br})+\text{H}]^+$ 413.0501, $[\text{M}(^{81}\text{Br})+\text{H}]^+$ 415.0480, найдено 413.0498, 415.0476.

(Z)-1,2-Диметил-4-(4-метоксибензилиден)-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.4)

Кетон **2.1.5** (1 ммоль) растворяли в 20 мл этанола. Затем добавляли водный раствор гидроксида натрия (10 мл, 10 ммоль). Полученную смесь кипятили в течение 5 минут. По окончании реакции продукт экстрагировали из реакционной смеси хлороформом (3 × 30 мл). Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт

дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/MeOH 10:1): желт. крист., 130-175 мг (выход 56-76%), т. пл. 126–128 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.19 (д, J = 8.8, 2H, Ar), 7.01 (д, J = 8.8, 2H, Ar), 6.93 (с, 1H, CH), 3.81 (с, 3H, CH₃), 3.09 (с, 3H, CH₃), 2.34 (с, 3H, CH₃).



(Z)-4-(2-(Дифторборил)бензилиден)-1-метил-2-арил-1H-имидазол-5(4H)-оны 2.1.9 (общая методика)

К раствору соответствующих имидазолон (1 ммоль) и ароматического альдегида (5 ммоль) в пиридине (10 мл) добавляли пиперидин (0.12 мл) и перемешивали в течение 3-5 минут при 100 °С. Затем смесь упаривали, сухой остаток промывали этилацетатом (4 × 25 мл), сушили в вакууме и полученную смесь разделяли с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 50:1).

(Z)-4-(4-Гидроски-2-(дифторборил)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-(4-метоксифенил)винил)-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.9a): красн. крист., 0.15 г (выход 40%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (800 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10.26 (с, 1H, OH), 8.19 (д, J = 16.9 Гц, 1H, CH=CH), 7.78 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 7.56 (с, 1H, CH-Ar), 7.50 (д, J = 8.1 Гц, 1H, Ar), 7.28 (д, J = 16.7 Гц, 1H, CH=CH), 7.12 (д, J = 8.6 Гц, 2H, Ar), 7.03 (с, 1H, Ar), 6.75 (дд, J = 8.2, 2.3 Гц, 1H, Ar), 3.87 (с, 3H, OCH₃), 3.52 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (201 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 28.6, 55.6, 108.0, 114.5, 114.9, 115.3, 118.6, 124.9, 127.2, 128.7, 130.7, 134.1, 147.6, 157.9, 161.5, 162.3, 163.1.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₀H₁₇BF₂N₂O₃ [M-F]⁺ 363.1316, найдено 363.1289.

(Z)-4-(4-Гидрокси-2-(дифторборил)бензилиден)-1-метил-2-(E)-стирил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.9b): красн. крист., 0.13 г (выход 37%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10.31 (уш.с., 1H, OH), 8.18 (д, J = 16.9 Гц, 1H, CH=CH), 7.82 - 7.76 (м, 2H, Ar), 7.62 (с, 1H, CH-Ar), 7.58 - 7.54 (м, 3H, Ar), 7.53 (д, J = 8.2 Гц, 1H, Ar), 7.43 (д, J = 16.7 Гц, 1H, CH=CH), 7.03 (с, 1H, Ar), 6.76 (дд, J = 8.2, 2.4 Гц, 1H, Ar), 3.53 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 28.5, 111.0, 115.4, 118.7, 124.8, 125.1, 128.5, 129.3, 129.7, 131.6, 134.4, 134.5, 147.3, 157.7, 161.8, 163.0.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₉H₁₅BF₂N₂O₂ [M-F]⁺ 333.1205, найдено 333.1206.

(Z)-4-(4-Гидрокси-2-(дифторборил)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.9c): темно-красн. крист., 90 мг (выход 25%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (800 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.34 (д, J = 16.4 Гц, 1H, CH=CH), 7.95 (д, J = 4.6 Гц, 1H, Ar), 7.71 (д, J = 3.1 Гц, 1H, Ar), 7.55 (с, 1H, CH-Ar), 7.49 (д, J = 8.6 Гц, 1H, Ar), 7.28 (т, J = 4.3 Гц, 1H, Ar), 7.14 (д, J = 16.7 Гц, 1H, CH=CH), 7.00 (с, 1H, Ar), 6.72 (дд, J = 8.1, 1.8 Гц, 1H, Ar), 3.51 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (201 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 28.6, 109.1, 115.6, 119.0, 124.4, 124.9, 129.0, 129.3, 132.4, 134.1, 134.4, 139.9, 140.1, 156.5, 162.9.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₇H₁₃BF₂N₂O₂ [M-F]⁺ 339.0775, найдено 339.0747.

(Z)-4-(4-Гидрокси-2-(дифторборил)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-(пиридин-4-ил)винил)-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.9d): темно-красн. крист., 0.22 г (выход 63%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10.40 (с, 1H, OH), 8.75 (д, J = 5.5 Гц, 2H, Ar), 8.09 (д, J = 16.9 Гц, 1H, CH=CH), 7.74 - 7.68 (м, 3H, Ar, CH-Ar), 7.61 - 7.53 (м, 2H, CH=CH, Ar), 7.03 (с, 1H, Ar), 6.76 (дд, J = 8.3, 2.4 Гц, 1H, Ar), 3.55 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 28.4, 115.3, 115.4, 118.7, 121.8, 124.7, 125.0, 131.0, 134.9, 141.4, 144.1, 150.7, 157.2, 162.1, 162.9.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₈H₁₄BF₂N₃O₂ [M+H]⁺ 354.1220, найдено 354.1225.

(Z)-4-(4-Гидрокси-2-(дифторборил)бензилиден)-1-метил-2-((Z)-2-(1H-имидазол-5-ил)винил)-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.9e): красн. крист., 30 мг (выход 10%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7.79 (с, 1H, Ar), 7.76 (д, J = 11.8 Гц, 1H, CH=CH), 7.74 (с, 1H, Ar), 7.61 (д, J = 8.3 Гц, 1H, Ar), 7.57 (с, 1H, CH-Ar), 7.29 (уш.с., 1H, Ar), 6.88 (дд, J = 8.3, 2.4 Гц, 1H, Ar), 6.46 (д, J = 12.1 Гц, 1H, CH=CH), 3.25 (уш.с., 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 26.7, 116.0, 121.1, 124.5, 125.8, 126.8, 134.6, 137.2, 157.1, 161.7, 162.1.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₆H₁₄BF₂N₄O₂ [M+H]⁺ 343.1172, найдено 343.1181.

(Z)-4-(4-(Диэтиламино)-2-(дифторборил)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-(пиридин-4-ил)винил)-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.9f): темно-зелен. крист., 0.32 г (выход 78%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.73 (д, J = 5.9 Гц, 2H, Ar), 8.01 (д, J = 16.9 Гц, 1H, CH=CH), 7.68 (д, J = 5.9 Гц, 2H, Ar), 7.62 - 7.56 (м, 2H, CH=CH, CH-Ar), 7.49 (д, J = 8.8 Гц, 1H,

Ar), 6.91 (с, 1H, Ar), 6.71 (дд, J = 8.9, 2.5 Гц, 1H, Ar), 3.55 - 3.46 (м, 7H, CH₃, 2CH₂), 1.17 (т, J = 7.0 Гц, 6H, 2CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 12.6, 28.3, 44.2, 111.05, 114.3, 115.4, 121.61, 121.8, 131.5, 135.5, 141.8, 141.9, 150.7, 151.2, 152.9, 162.0.

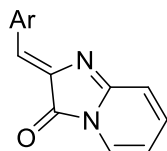
HRMS (m/z) вычислено для C₂₂H₂₃BF₂N₄O [M+H]⁺ 409.2011, найдено 409.1975.

(Z)-4-((2-(Дифторборил)-1,2,2,4-тетраметил-1,2-дигидрохинолин-6-ил)метил)-1-метил-2-((E)-2-(пиридин-4-ил)винил)-1H-имидазол-5(4H)-он (2.1.9g): темно-зелен. крист., 0.31 г (выход 70%) т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.73 (д, J = 6.0 Гц, 2H, Ar), 8.02 (д, J = 16.7 Гц, 1H, CH=CH), 7.68 (д, J = 5.8 Гц, 2H, Ar), 7.61 - 7.55 (м, 2H, CH=CH, CH-Ar), 7.29 (с, 1H, Ar), 6.79 (с, 1H, Ar), 5.44 (с, 1H, CH), 3.51 (с, 3H, CH₃), 2.99 (с, 3H, CH₃), 1.94 (с, 3H, CH₃), 1.38 (с, 6H, 2CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 18.0, 28.2, 28.6, 31.4, 58.0, 104.5, 113.3, 115.6, 120.8, 121.8, 122.1, 125.7, 127.6, 129.3, 131.5, 141.6, 142.2, 148.9, 150.3, 151.0, 152.9, 161.8.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₅H₂₅BF₂N₄O [M+H]⁺ 447.2162, найдено 447.2176.



(Z)-4-(Бензилиден)-1H-имидазо[1,2-а]пиридин-5(4H)-оны 2.1.10 (общая методика)

Раствор гидрохлорида имидазо[1,2-а]пиридин-3(2H)-она (1.5 г, 9.6 ммоль), соответствующего ароматического альдегида (8 ммоль) и триэтиламина (1.5 мл) в пиридине (4.5 мл) перемешивали при 100 °С в течение 4 часов. Полученную смесь упаривали, сухой остаток растворяли в 100 мл хлороформа, промывали водой (2 × 50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 50 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия, упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/гексан 1:1).

(Z)-4-(4-Гидроксибензилиден)-1H-имидазо[1,2-а]пиридин-5(4H)-он (2.1.10a): желт. крист., 1.6 г (выход 85%), т.пл. ~ 250 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10.27 (с, 1H, OH), 8.20 (д, J = 8.6 Гц, 2H, Ar), 7.73 (д, J = 6.8 Гц, 1H, Ar), 7.29 (ддд, J = 9.4, 6.4, 1.3 Гц, 1H, Ar), 7.19 (с, 1H, CH-Ar), 6.99 (д, J = 9.4 Гц, 1H, Ar), 6.87 (д, J = 8.9 Гц, 2H, Ar), 6.37 (т, J = 6.6 Гц, 1H, Ar).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 109.3, 115.9, 118.5, 126.0, 128.1, 134.9, 135.6, 137.6, 154.6, 160.2, 166.5.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₄H₁₀N₂O₂ [M+H]⁺ 239.0821, найдено 239.0827.

(Z)-4-(4-(Диэтиламино)бензилиден)-1H-имидазо[1,2-а]пиридин-5(4H)-он (2.1.10b):

желт. крист., 0.48 г (выход 20%), т.пл. 137-139 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.16 (уш.д, 2H, Ar), 7.71 (д, J = 6.9 Гц, 1H, Ar), 7.22 (дд, J = 9.4, 6.4, 1.2 Гц, 1H, Ar), 7.17 (с, 1H, CH-Ar), 6.98 (д, J = 9.4 Гц, 1H, Ar), 6.76 (д, J = 9.2 Гц, 2H, Ar), 6.35 (т, J = 6.6 Гц, 1H, Ar), 3.45 (кв, J = 7.1 Гц, 4H, 2CH₂), 1.14 (т, J = 7.1 Гц, 6H, 2CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 12.5, 43.9, 109.1, 111.4, 118.4, 121.7, 125.6, 129.7, 133.3, 135.2, 135.9, 149.5, 152.4, 165.6.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₈H₁₉N₃O [M+H]⁺ 294.1606, найдено 294.1613.

(Z)-4-((1,2,2,4-Тетраметил-1,2-дигидрохинолин-6-ил)метилден)-1H-имидазо[1,2-а]пиридин-5(4H)-он (2.1.10c): фиол. крист., 1.14 г (выход 43%), т.пл. 155-158 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.14 (уш.д, 1H, Ar), 7.96 (уш.с., 1H, Ar), 7.71 (д, J = 6.9 Гц, 1H, Ar), 7.25 (дд, J = 8.5, 6.5 Гц, 1H, Ar), 7.17 (с, 1H, CH-Ar), 6.95 (д, J = 9.5 Гц, 1H, Ar), 6.62 (д, J = 8.9 Гц, 1H, Ar), 6.35 (т, J = 6.6 Гц, 1H, Ar), 5.44 (с, 1H, CH), 2.89 (с, 3H, CH₃), 1.97 (с, 3H, CH₃), 1.35 (с, 6H, 2CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 18.1, 28.3, 30.9, 57.3, 109.1, 110.4, 118.5, 121.4, 122.3, 125.7, 126.3, 128.0, 129.6, 129.7, 133.6, 135.3, 135.9, 147.3, 152.5, 165.7.

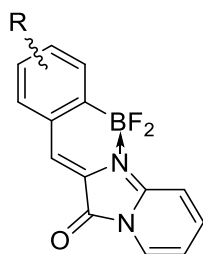
HRMS (m/z) вычислено для C₂₁H₂₁N₃O [M+H]⁺ 332.1757, найдено 332.1765.

(Z)-4-((1,2,3,5,6,7-Гексагидропиридо[3,2,1-ij]хинолин-9-ил)метилден)-1H-имидазо[1,2-а]пиридин-5(4H)-он (2.1.10d): фиол. крист., 1.23 г (выход 48%), т.пл. 180-183 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7.74 (уш.с., 2H, Ar), 7.69 (д, J = 6.7 Гц, 1H, Ar), 7.18 (дд, J = 8.5, 6.5 Гц, 1H, Ar), 7.04 (с, 1H, CH-Ar), 6.98 (д, J = 9.5 Гц, 1H, Ar), 6.34 (т, J = 6.5 Гц, 1H, Ar), 3.33 - 3.26 (м, 4H, 2CH₂), 2.70 (т, J = 6.1 Гц, 4H, 2CH₂), 1.91 - 1.84 (м, 4H, 2CH₂).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 20.8, 27.1, 49.4, 109.0, 118.4, 120.6, 121.3, 125.5, 130.2, 132.4, 132.6, 135.3, 145.5, 151.7, 165.4.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₀H₁₉N₃O [M+H]⁺ 318.1601, найдено 318.1601.

**(Z)-4-(4-Гидрокси-2-(дифторборил)бензилиден)-1H-имидазо[1,2-а]пиридин-5(4H)-он (2.1.11a)**

Получили по общей методике **C** из 0.7 г имидазолонна **2.1.10a**: красн. крист., 0.13 г (выход 15%), т.пл. ~ 250 °С с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 10.32 (с, 1H, OH), 8.36 (д, J = 6.6 Гц, 1H, Ar), 8.03 (т, J = 7.6 Гц, 1H, Ar), 7.75 (с, 1H, CH-Ar), 7.54 (м, 2H, Ar), 7.10 - 7.03 (м, 2H, Ar), 6.77 (дд, J = 8.1, 2.1 Гц, 1H, Ar).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 113.6, 113.8, 115.4, 118.4, 123.1, 126.3, 128.0, 129.5, 134.6, 144.2, 149.9, 159.0, 161.7.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BFN}_2\text{O}_2$ [M-F] $^+$ 267.0736, найдено 267.0740.

(Z)-4-(4-(Диэтиамино)-2-(дифторборил)бензилиден)-1H-имидазо[1,2-a]пиридин-5(4H)-он (2.1.11b)

Получили по общей методике **C** из 0.87 г имидазолонна **2.1.10b**: фиолет. крист., 0.17 г (выход 17%), т.пл. ~ 250 °C с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 8.32 (д, J = 6.8 Гц, 1H, Ar), 7.91 – 7.96 (м, 1H, Ar), 7.70 (с, 1H, CH-Ar), 7.51 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 7.03 (т, J = 6.7 Гц, 1H, Ar), 6.93 (с, 1H, Ar), 6.73 (дд, J = 8.8, 2.6 Гц, 1H, Ar), 3.51 (кв, J = 6.9 Гц, 4H, 2CH₂), 1.18 (т, J = 7.05 Гц, 6H, 2CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 12.6, 44.2, 111.3, 113.5, 113.9, 119.8, 123.0, 127.2, 130.9, 135.5, 141.7, 147.2, 151.1, 157.5.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}$ [M+H] $^+$ 342.1584, найдено 342.1588.

(Z)-4-((2-(Дифторборил)-1,2,2,4-тетраметил-1,2-дигидрохинолин-6-ил)метил)-1H-имидазо[1,2-a]пиридин-5(4H)-он (2.1.11c)

Получили по общей методике **D** из 0.99 г имидазолонна **2.1.10c**: темно-зелен. крист., 0.17 г (выход 15%), т.пл. ~ 260 °C с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 8.32 (д, J = 6.7 Гц, 1H, Ar), 7.95 – 7.89 (м, 1H, Ar), 7.70 (с, 1H, CH-Ar), 7.51 (д, J = 8.9 Гц, 1H, Ar), 7.31 (с, 1H, Ar), 7.06 - 7.01 (м, 1H, Ar), 6.81 (с, 1H, Ar), 5.46 (с, 1H, CH), 3.00 (с, 3H, CH₃), 1.95 (с, 3H, CH₃), 1.38 (с, 6H, 2CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 18.0, 28.6, 31.4, 57.9, 112.9, 113.5, 113.6, 120.0, 120.9, 123.4, 125.8, 127.3, 127.6, 129.5, 130.9, 141.7, 147.3, 148.8, 157.4.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}$ [M+H] $^+$ 380.1740, найдено 380.1749.

(Z)-4-((8-(Дифторборил)-1,2,3,5,6,7-гексагидропиридо[3,2,1-ij]хинолин-9-ил)метлен)-1H-имидазо[1,2-a]пиридин-5(4H)-он (2.1.11d)

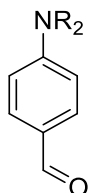
Получили по общей методике **D** из 0.95 г имидазолонна **2.1.10d**: темно-фиол. крист., 0.13 г (выход 12%), т.пл. ~ 300 °C с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 8.28 (д, J = 6.6 Гц, 1H, Ar), 7.85 (дд, J = 8.3, 7.5 Гц, 1H, Ar), 7.55 - 7.51 (м, 2H, CH-Ar, Ar), 7.11 (с, 1H, Ar), 7.00 (т, J = 6.7 Гц, 1H, Ar), 3.41 – 3.35 (м, 4H, 2CH₂), 2.98 (т, J = 5.8 Гц, 2H, CH₂), 2.67 (т, J = 5.9 Гц, 2H, CH₂), 1.91 – 1.84 (м, 4H, 2CH₂).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 20.6, 20.8, 25.4, 26.9, 49.9, 50.3, 113.1, 113.5, 118.1, 120.6, 123.2, 125.9, 126.6, 131.4, 133.4, 140.0, 145.6, 148.1, 156.4.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 366.1584, найдено 366.1582.

3.2.4 Получение синтетических аналогов хромофоров GFP



N-Замещенные-4-аминобензальдегиды 2.2.3 (общая методика)

4-Фторбензальдегид (1.24 г, 10 ммоль) и соответствующий амин (15 ммоль) смешивали в 20 мл ДМСО. К полученной смеси добавляли карбонат калия (1.38 г, 10 ммоль) и ТБАБ (0.3 г, 1 ммоль) и перемешивали при 90 °С в течение 48 часов. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли 150 мл этилацетата, промывали водой (3 × 50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 50 мл). Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/гексан 10:1).

4-(Азепан-1-ил)бензальдегид (2.2.3a): оранжев. масло, 1.6 г (выход 83%).

^1H ЯМР (700 МГц, CDCl_3): δ 9.72 (с, 1H, COH), 7.72 (д, J = 8.9 Гц, 2H, Ar), 6.72 (д, J = 8.9 Гц, 2H, Ar), 3.55 (т, J = 6.0 Гц, 4H, CH_2), 1.79-1.85 (уш.с., 4H, CH_2), 1.52-1.61 (уш.с., 4H, CH_2).

4-(Пиперидин-1-ил)бензальдегид (2.2.3b): оранжев. крист., 1.7 г (выход 90%).

^1H ЯМР (700 МГц, CDCl_3): δ 9.76 (с, 1H, COH), 7.74 (д, J = 8.9 Гц, 2H, Ar), 6.91 (д, J = 8.9 Гц, 2H, Ar), 3.36-3.47 (м, 4H, CH_2), 1.67-1.72 (уш.с., 6H, CH_2).

4-(Пирролидин-1-ил)бензальдегид (2.2.3c): желт. крист., 1.3 г (выход 76%).

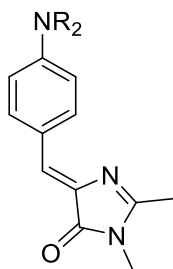
^1H ЯМР (7300 МГц, CDCl_3): δ 9.73 (с, 1H, COH), 7.73 (м, J = 8.9 Гц, 2H, Ar), 6.58 (м, J = 8.9 Гц, 2H, Ar), 3.37-3.42 (м, 4H, CH_2), 2.04-2.09 (м, 4H, CH_2).

4-(Азетидин-1-ил)бензальдегид (2.2.3d): желт. крист., 0.9 г (выход 53%).

^1H ЯМР (700 МГц, CDCl_3): δ 9.74 (с, 1H, COH), 7.72 (д, J = 8.6 Гц, 2H, Ar), 6.41 (д, J = 8.7 Гц, 2H, Ar), 4.00-4.09 (т, J = 7.5 Гц, 4H, CH_2), 2.39-2.52 (кв, J = 7.4 Гц, 2H, CH_2).

4-(Этиламино)бензальдегид (2.2.3d): желт. крист., 0.6 г (выход 42%).

^1H ЯМР (700 МГц, CDCl_3): δ 9.73 (с, 1H, COH), 7.70 (д, J = 8.5 Гц, 2H, Ar), 6.61 (д, J = 8.5 Гц, 2H, Ar), 4.25-4.37 (уш.с., 1H, NH), 3.21-3.32 (м, 2H, CH_2), 1.30 (т, J = 7.2 Гц, 3H, CH_2).



(Z)-4-(4-(Азепан-1-ил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.4a)

Получили по общей методике **A** из 1 г 4-(азепан-1-ил)бензальдегида **2.2.3a**: оранжев. крист., 0.64 г (выход 43%), т.пл. 195-197 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8.02 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar), 6.84 (с, 1H, Ar-CH), 6.74 (д, $J = 8.9$ Гц, 2H), 3.52 (т, $J = 6.0$ Гц, 4H, CH_2), 3.07 (с, 3H, CH_3), 2.31 (с, 3H, CH_3), 1.68-1.76 (уш.с., 4H, CH_2), 1.43-1.49 (уш.с., 4H, CH_2).

^{13}C ЯМР (176 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 15.1, 26.1, 26.1, 26.6, 48.8, 110.9, 121.0, 126.4, 134.1, 134.3, 149.8, 159.9, 169.6.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298.1914, найдено 298.1915.

(Z)-4-(4-(Пиперидин-1-ил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.4b)

Получили по общей методике **A** из 0.95 г 4-(пиперидин-1-ил)бензальдегида **2.2.3b**: оранжев. крист., 1.2 г (выход 85%), т.пл. 198-200 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8.04 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H, Ar), 6.94 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H, Ar), 6.85 (с, 1H, Ar-CH), 3.31-3.33 (уш.с., 4H, CH_2), 3.08 (с, 3H, CH_3), 2.32 (с, 3H, CH_3), 1.56-1.59 (уш.с., 6H, CH_2).

^{13}C ЯМР (176 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 15.2, 23.9, 24.9, 26.1, 47.9, 113.9, 123.0, 125.8, 133.7, 135.3, 151.8, 160.9, 169.7.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 284.1757, найдено 284.1761.

(Z)-4-(4-(Пирролидин-1-ил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.4c)

Получили по общей методике **A** из 0.88 г 4-(пирролидин-1-ил)бензальдегида **2.2.3c**: оранжев. крист., 0.9 г (выход 68%), т.пл. 224-226 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8.05 (д, $J = 8.9$ Гц, 2H, Ar), 6.85 (с, 1H, Ar-CH), 6.59 (д, $J = 8.9$ Гц, 2H, Ar), 3.30-3.35 (м, 4H, CH_2), 3.07 (с, 3H, CH_3), 2.31 (с, 3H, CH_3), 1.91-2.02 (м, 4H, CH_2).

^{13}C ЯМР (176 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 15.1, 24.9, 26.1, 47.2, 111.6, 121.1, 126.6, 133.9, 134.2, 148.7, 159.9, 169.6.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 270.1601, найдено 270.1602.

(Z)-4-(4-(Азетидин-1-ил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.4d)

Получили по общей методике **A** из 0.8 г 4-(азетидин-1-ил)бензальдегида **2.2.3d**: оранжев. крист., 0.6 г (выход 48%), т.пл. 247-250 °С.

^1H ЯМР (800 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8.04 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar), 6.85 (с, 1H, Ar-CH), 6.41 (д, $J = 8.6$ Гц, 2H, Ar), 3.92 (т, $J = 7.3$ Гц, 4H, CH_2), 3.07 (с, 3H, CH_3), 2.34 (кв, $J = 7.3$ Гц, 2H, CH_2), 2.31 (с, 3H, CH_3).

^{13}C ЯМР (201 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 15.2, 16.0, 26.1, 51.4, 110.4, 122.4, 126.4, 133.6, 134.8, 152.3, 160.6, 169.6.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 256.1444, найдено 256.1449.

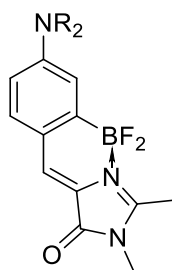
(Z)-4-(4-(Этиламино)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.4e)

Получили по общей методике А из 0.8 г 4-(этиламино)бензальдегида **2.2.3e**: оранжев. крист., 0.7 г (выход 58%), т.пл. 196-198 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 7.97 (д, $J = 8.5$ Гц, 2H, Ar), 6.82 (с, 1H, Ar-CH), 6.59 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H, Ar), 6.42 (т, $J = 5.0$ Гц, 1H, NH), 3.09-3.13 (м, 2H, CH_2), 3.07 (с, 3H, CH_3), 2.30 (с, 3H, CH_3), 1.17 (т, $J = 7.1$ Гц, 3H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 14.2, 15.1, 26.1, 36.8, 111.6, 121.4, 126.7, 134.1, 150.8, 159.8, 169.6.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 244.1444, найдено 244.1445.



(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(азепан-1-ил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.5a)

Получили по общей методике С из 0.89 г имидазолонна **2.2.4a**: красн. крист., 0.13 г (выход 13%), т.пл. ~ 250 °С с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 7.47 (с, 1H, Ar), 7.41 (д, $J = 8.6$ Гц, 1H, Ar), 6.90 (с, 1H, Ar-CH), 6.70 (дд, $J = 8.7, 2.5$ Гц, 1H, Ar), 3.58 (т, $J = 5.9$ Гц, 4H, CH_2), 3.22 (с, 3H, CH_3), 2.68 (с, 3H, CH_3), 1.72-1.77 (уш.с., 4H, CH_2), 1.47-1.51 (уш.с., 4H, CH_2).

^{13}C ЯМР (201 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 12.6, 26.1, 26.3, 26.7, 49.0, 110.6, 113.8, 121.3, 121.3, 130.0, 134.7, 151.7, 161.1, 162.1.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 346.1897, найдено 346.1899.

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(пиперидин-1-ил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.5b)

Получили по общей методике С из 0.85 г имидазолонна **2.2.4b**: красн. крист., 0.15 г (выход 15%), т.пл. 225-228 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, DMSO- d_6): δ 7.49 (с, 1H, Ar-CH), 7.43 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, Ar), 7.04 (с, 1H, Ar), 6.87 (дд, $J = 8.7, 2.6$ Гц, 1H, Ar), 3.41-3.45 (м, 4H, CH₂), 3.22 (с, 3H, CH₃), 2.69 (с, 3H, CH₃), 1.58-1.63 (м, 6H, CH₂).

^{13}C ЯМР (176 МГц, DMSO- d_6): δ 12.7, 23.9, 25.0, 26.3, 47.7, 112.9, 115.9, 122.3, 122.5, 129.5, 134.2, 152.9, 162.2, 162.3.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₇H₂₁BF₂N₃O [M+H]⁺ 332.1740, найдено 332.1744.

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(пирролидин-1-ил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.5c)

Получили по общей методике **C** из 0.8 г имидазолонна **2.2.4c**: красн. крист., 0.2 г (выход 22%), т.пл. 269-272 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, DMSO- d_6): δ 7.48 (с, 1H, Ar-CH), 7.43 (д, $J = 8.6$ Гц, 1H, Ar), 6.75 (с, 1H, Ar), 6.52 (дд, $J = 8.6, 2.4$ Гц, 1H, Ar), 3.37-3.40 (м, 4H, CH₂), 3.21 (с, 3H, CH₃), 2.68 (с, 3H, CH₃), 1.96-1.99 (м, 4H, CH₂).

^{13}C ЯМР (176 МГц, DMSO- d_6): δ 12.6, 24.9, 26.3, 47.3, 111.2, 114.7, 121.1, 121.3, 130.2, 134.5, 150.3, 161.0, 162.1.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₆H₁₉BF₂N₃O [M+H]⁺ 318.1584, найдено 318.1586.

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(азетидин-1-ил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.5d)

Получили по общей методике **C** из 0.76 г имидазолонна **2.2.4d**: красн. крист., 90 мг (выход 10%), т.пл. ~ 250 °С с разложением.

^1H ЯМР (800 МГц, DMSO- d_6): δ 7.49 (с, 1H, Ar-CH), 7.42 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H, Ar), 6.53 (с, 1H, Ar), 6.32 (дд, $J = 8.3, 2.2$ Гц, 1H, Ar), 4.01 (т, $J = 7.3$ Гц, 4H, CH₂), 3.21 (с, 3H, CH₃), 2.68 (с, 3H, CH₃), 2.37 (кв, $J = 7.4$ Гц, 2H, CH₂).

^{13}C ЯМР (201 МГц, DMSO- d_6): δ 12.7, 15.9, 26.3, 51.0, 109.4, 112.9, 121.6, 122.0, 130.2, 134.1, 153.2, 161.8, 162.2.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₅H₁₇BF₂N₃O [M+H]⁺ 304.1427, найдено 304.1429.

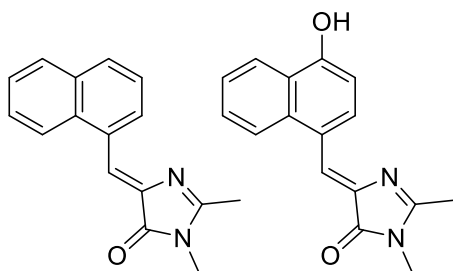
(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(этиламино)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.5e)

Получили по общей методике **C** из 0.7 г имидазолонна **2.2.4e**: красн. крист., 0.16 г (выход 18%), т.пл. 225-228 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, DMSO- d_6): δ 7.44 (с, 1H, Ar-CH), 7.36 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, Ar), 6.83-6.86 (уш.с., 1H, NH), 6.80 (с, 1H, Ar), 6.51 (дд, $J = 8.5, 1.9$ Гц, 1H, Ar), 3.21 (с, 3H, CH₃), 3.15-3.19 (м, 2H, CH₂), 2.67 (с, 3H, CH₃), 1.18 (т, $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (176 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 12.6, 14.2, 26.3, 36.8, 110.4, 115.4, 121.0, 121.6, 130.3, 134.9, 152.7, 160.9, 162.1.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 292.1427, найдено 292.1430.



(Z)-4-((Нафталин-1-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.7a)

Получили по общей методике **A** из 0.78 г 1-нафталальдегида: бел. крист., 1 г (выход 80%).

^1H ЯМР (700 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8.87 (д, $J = 7.3$ Гц, 1H, Ar), 8.30 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, Ar), 8.00 (т, $J = 7.9$ Гц, 2H, Ar), 7.72 (с, 1H, CH-Ar), 7.64 (м, 2H, Ar), 7.59 (т, $J = 7.5$ Гц, 1H, Ar), 3.15 (с, 3H, CH_3), 2.39 (с, 3H, CH_3).

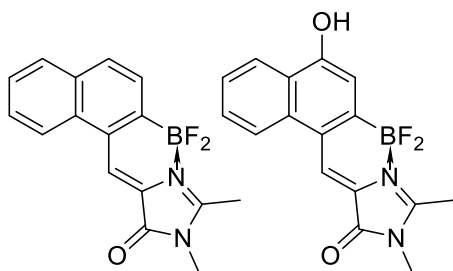
(Z)-4-((4-Гидроксинафталин-1-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.7b)

Получили по общей методике **A** из 0.86 г 4-гидрокси-1-нафталальдегида: бел. крист., 1.05 г (выход 79%), т.пл. ~ 265 °C с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8.94 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H, Ar), 8.24 (дд, $J = 12.7, 8.3$ Гц, 2H, Ar), 7.62 - 7.67 (м, 2H, Ar), 7.53 (т, $J = 7.5$ Гц, 1H, Ar), 7.03 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H, Ar), 3.13 (с, 3H, CH_3), 2.37 (с, 3H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, $\text{DMSO-}d_6$): δ 15.3, 26.2, 108.7, 119.9, 120.5, 122.4, 122.8, 124.4, 124.8, 127.7, 133.1, 133.5, 137.0, 156.0, 162.9, 169.8.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 267.1128, найдено 267.1121.



(Z)-4-((2-Дифторборилнафталин-1-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.6a)

Получили по общей методике **C** из 0.75 г имидазолонна **2.2.7a**: желт. крист., 0.27 г (выход 30%), т.пл. ~ 260 °C с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 8.60 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, Ar), 8.39 (с, 1H, CH-Ar), 8.04 (д, $J = 7.9$ Гц, 1H, Ar), 7.96 (д, $J = 7.9$ Гц, 1H, Ar), 7.76 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H, Ar), 7.64 (т, $J = 7.9$ Гц, 1H, Ar), 7.57 (т, $J = 7.4$ Гц, 1H, Ar), 3.28 (с, 3H, CH_3), 2.82 (с, 3H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 13.2, 26.7, 122.2, 122.7, 126.0, 126.9, 127.4, 128.2, 128.6, 128.8, 130.9, 131.7, 132.8, 163.0, 167.9.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M-F}]^+$ 279.1110, найдено 279.1106.

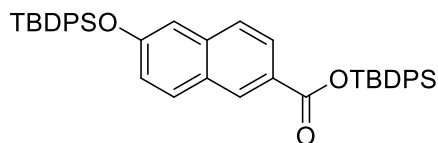
(Z)-4-((4-Гидрокси-2-(дифторборил)нафталин-1-ил)метилден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.6b)

Получили по общей методике **C** из 0.8 г имидазолена **2.2.7b**: желт. крист., 0.24 г (выход 25%), т.пл. ~ 280 °C с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 11.11 (с, 1H, OH), 8.50 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, Ar), 8.28 (с, 1H, Ar), 8.19 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H, Ar), 7.62 (т, $J = 7.1$ Гц, 1H, Ar), 7.51 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H, Ar), 7.23 (с, 1H, Ar), 3.27 (с, 3H, CH_3), 2.76 (с, 3H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 12.7, 26.4, 112.0, 120.0, 122.2, 122.5, 123.4, 123.5, 124.0, 124.7, 127.8, 133.0, 157.7, 162.5, 164.5.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M-F}]^+$ 295.1060, найдено 295.1057.



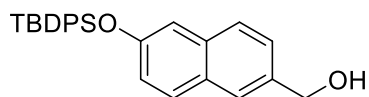
Трет-бутилдифенилсилил 6-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-нафтоат

Смесь 6-гидрокси-2-нафталинкарбоновой кислоты (2.82 г, 15 ммоль), дифенил(трет-бутил)хлоросилана (12.33 г, 45 ммоль), диизопропилэтиламина (7.8 г, 60 ммоль) и имидазола (0.1 г, 1.5 ммоль) в 250 мл абсолютного тетрагидрофурана перемешивали при комнатной температуре в течение 72 часов. Затем смесь упаривали, растворяли в этилацетате (150 мл), промывали водным раствором соляной кислоты (5%, 2×50 мл), водой (2×50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2×50 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/гексан 10:1): бел. крист., 6.67 г (выход 67%), т. пл. 155–158 °C.

^1H ЯМР (800 МГц, CDCl_3): δ 8.59 (с, 1H, Ar), 8.02 (дд, $J = 8.6, 1.5$ Гц, 1H, Ar), 7.74 - 7.80 (м, 9H, Ar), 7.55 (д, $J = 8.7$ Гц, 1H, Ar), 7.43 - 7.48 (м, 4H, Ar), 7.37 - 7.43 (м, 8H, Ar), 7.10 - 7.15 (м, 2H, Ar), 1.22 (с, 9H, CH_3), 1.17 (с, 9H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, CDCl_3): δ 19.4, 19.5, 26.5, 27.1, 114.7, 122.5, 126.2, 126.4, 126.9, 127.8, 127.9, 128.0, 130.0, 130.1, 130.9, 131.7, 132.0, 132.5, 135.3, 135.5, 137.1, 155.7, 165.9.

HRMS (m/z) вычислено для $C_{43}H_{45}O_3Si_2$ $[M+H]^+$ 665.2902, найдено 665.2912.



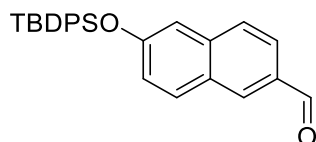
(6-((Трет-бутилдифенилсилил)окси)нафталин-2-ил)метанол

Трет-бутилдифенилсилил 6-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-нафтоат (6.64 г, 10 ммоль) растворяли в 75 мл абсолютного толуола. Полученный раствор охлаждали до $-78\text{ }^\circ\text{C}$ и прикапывали раствор ДИБАЛ-Н в толуоле (1M, 30 мл, 30 ммоль). Полученную смесь перемешивали при температуре $-78\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 2 часов. Затем реакцию смесь разбавляли насыщенным раствором тартрата натрия (100 мл), экстрагировали хлороформом (3×50 мл). Органический слой промывали водой (2×50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2×50 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/гексан 1:1): бел. крист., 3.35 г (выход 79%), т. пл. $63\text{--}66\text{ }^\circ\text{C}$.

^1H ЯМР (800 МГц, $CDCl_3$): δ 7.75 - 7.80 (м, 4H, Ar), 7.68 (с, 1H, Ar), 7.61 (д, $J = 9.5$ Гц, 1H, Ar), 7.51 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, Ar), 7.42 - 7.46 (м, 2H, Ar), 7.34 - 7.40 (м, 5H, Ar), 7.06 - 7.09 (м, 2H, Ar), 4.78 (с, 2H, CH_2), 1.16 (с, 9H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, $CDCl_3$): δ 19.5, 26.6, 65.6, 114.6, 121.9, 125.4, 125.5, 127.2, 127.8, 129.0, 129.1, 130.0, 133.0, 134.0, 135.5, 136.1, 153.6.

HRMS (m/z) вычислено для $C_{27}H_{28}O_2Si$ $[M+H]^+$ 413,1913, найдено 413,1911.



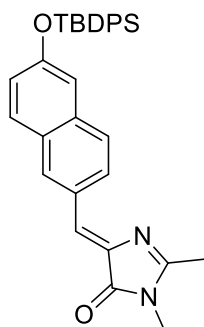
(6-((Трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-нафталальдегид

Смесь (6-((Трет-бутилдифенилсилил)окси)нафталин-2-ил)метанола (3 г, 7.5 ммоль) и хлорхромата пиридиния (на Al_2O_3 , 1 ммоль/г, 15 г, 15 ммоль) в 75 мл хлороформа перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. Полученную смесь отфильтровывали, осадок промывали хлороформом (2×50 мл). Растворитель упаривали и полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/гексан 5:1): бел. крист., 2.5 г (выход 80%), т. пл. $95\text{--}98\text{ }^\circ\text{C}$.

^1H ЯМР (800 МГц, $CDCl_3$): δ 10.06 (с, 1H, CHO), 8.20 (с, 1H, Ar), 7.82 (дд, $J = 8.7, 1.5$ Гц, 1H, Ar), 7.74 - 7.79 (м, 5H, Ar), 7.56 (д, $J = 8.7$ Гц, 1H, Ar), 7.44 - 7.47 (м, 2H, Ar), 7.39 (т, $J = 7.4$ Гц, 4H, Ar), 7.15 (дд, $J = 8.7, 2.4$ Гц, 1H, Ar), 7.11 (д, $J = 2.1$ Гц, 1H, Ar), 1.16 (с, 9H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, $CDCl_3$): δ 19.5, 26.5, 115.1, 122.8, 123.1, 127.8, 127.9, 128.0, 130.2, 131.0, 132.4, 132.5, 134.3, 135.5, 138.0, 156.3, 191.9.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₇H₂₆O₂Si [M+H]⁺ 411,1775, найдено 411,1793.



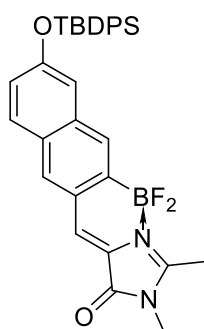
(Z)-4-(6-((Трет-бутилдифенилсилил)окси)нафталин-2-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.7)

Получили по общей методике **A** из 2 г (6-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-нафталальдегида: бел. крист., 1.5 г (выход 59%), т.пл. 167-170 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.39 - 8.43 (м, 2H, Ar), 7.77 (д, J = 8.9 Гц, 1H, Ar), 7.71 - 7.73 (м, 4H, Ar), 7.60 (д, J = 8.8 Гц, 1H, Ar), 7.47 - 7.51 (м, 2H, Ar), 7.44 (т, J = 7.3 Гц, 4H, Ar), 7.13 (д, J = 2.4 Гц, 1H, Ar), 7.06 (дд, J = 8.9, 2.5 Гц, 1H, Ar), 7.04 (с, 1H, CH-Ar), 3.10 (с, 3H, CH₃), 2.37 (с, 3H, CH₃), 1.09 (с, 9H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 15.1, 18.8, 26.1, 26.2, 114.2, 121.6, 124.6, 126.6, 127.9, 128.2, 128.3, 129.9, 130.1, 130.2, 131.8, 132.2, 134.3, 134.9, 138.5, 154.1, 163.7, 169.6.

HRMS (m/z) вычислено для C₃₂H₃₃N₂O₂Si [M+H]⁺ 505,2306, найдено 505,2319.



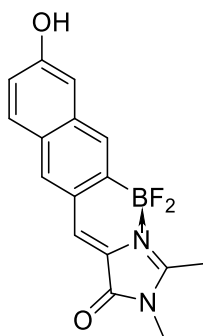
(Z)-4-(3-(Дифторборил)-6-((трет-бутилдифенилсилил)окси)нафталин-2-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.8)

Получили по общей методике **B** из 1.5 г имидазолонна **2.2.7**: желт. крист., 0.3 г (выход 18%), т.пл. ~ 200 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.09 (с, 1H, Ar), 7.76 (д, J = 8.9 Гц, 1H, Ar), 7.72 - 7.74 (м, 5H, Ar), 7.64 (с, 1H, CH-Ar), 7.48 - 7.51 (м, 2H, Ar), 7.44 - 7.47 (м, 4H, Ar), 7.12 (д, J = 2.4 Гц, 1H, Ar), 7.04 (дд, J = 8.9, 2.4 Гц, 1H, Ar), 3.23 (с, 3H, CH₃), 2.74 (с, 3H, CH₃), 1.10 (с, 9H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, CDCl₃): δ 13.0, 19.5, 26.5, 26.6, 115.4, 122.3, 126.2, 127.9, 128.4, 129.6, 130.1, 130.5, 131.0, 132.2, 132.5, 133.4, 135.5, 137.3, 156.1, 162.5, 162.9.

HRMS (m/z) вычислено для C₃₂H₃₂BF₂N₂O₂Si [M+H]⁺ 553,2289, найдено 553,2299.



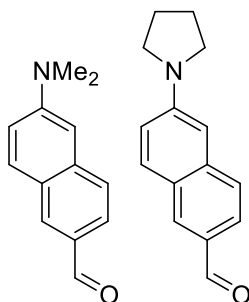
(Z)-4-(6-Гидрокси-3-(Дифторборил)нафталин-2-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.6с)

Смесь имидазолонна **2.2.8** (0.28 г, 0.5 ммоль) и ТБАФ (0.3 г, 1.25 ммоль) в 50 мл этилацетата перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут. Затем к полученной смеси добавляли 0.2 мл уксусной кислоты. Полученный раствор промывали водой (2 × 25 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 25 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт растворяли с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 10:1): зел. крист., 66 мг (выход 42%), т. пл. ~ 320 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.09 (с, 1H, Ar), 7.81 (с, 1H, Ar), 7.79 (д, J = 8.8 Гц, 1H, Ar), 7.74 (с, 1H, CH-Ar), 7.15 (д, J = 2.0 Гц, 1H, Ar), 7.09 (дд, J = 8.8, 2.3 Гц, 1H, Ar), 3.25 (с, 3H, CH₃), 2.76 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (201 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 13.0, 26.5, 109.2, 118.9, 126.4, 126.9, 128.8, 129.1, 129.4, 130.7, 132.5, 136.7, 157.7, 162.9, 165.3.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₆H₁₃BF₂N₂O₂ [M-F]⁺ 295.1060, найдено 295.1054.



N-Замещенные-6-аминонафтаальдегиды 2.2.9 (общая методика)

Соответствующий 6-бromo-2-аминонафталин (10 ммоль) растворяли в 25 мл абсолютного ТГФ и охлаждали до -78 °С. Затем к реакционной смеси добавили раствор бутиллития в гексане (1M, 12 мл, 12 ммоль). Полученную смесь перемешивали при -78 °С в течение 30 минут. Затем к полученной смеси добавляли ДМФ (12 ммоль) и нагревали до 0 °С. Затем реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором хлорида аммония (100 мл), экстрагировали диэтиловым эфиром (3 × 50 мл). Органический слой промывали водой (2 × 50 мл) и насыщенным раствором

хлорида натрия (2×50 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/гексан 1:10).

6-(Диметиламино)-2-нафталальдегид (2.2.9a): бел. крист, 1.69 г (выход 85%).

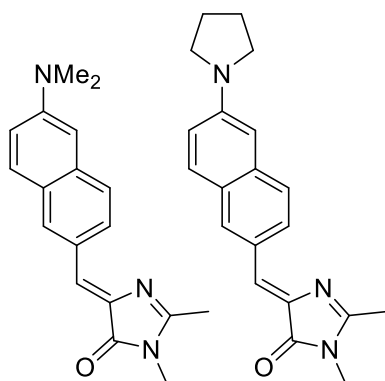
^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 9.96 (с, 1H, OH), 8.31 (с, 1H, Ar), 7.93 (д, $J = 9.2$ Гц, 1H, Ar), 7.69 - 7.75 (м, 2H, Ar), 7.30 (дд, $J = 9.1, 2.5$ Гц, 1H, Ar), 6.99 (д, $J = 2.2$ Гц, 1H, Ar), 3.08 (с, 6H, CH_3).

6-(Пирролидин-1-ил)-2-нафталальдегид (2.2.9b): бел. крист, 2.1 г (выход 94%), т.пл. 133-135 °С.

^1H ЯМР (700 МГц, CDCl_3): δ 9.99 (с, 1H, COH), 8.13 (с, 1H, Ar), 7.81 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H, Ar), 7.63 (д, $J = 8.6$ Гц, 1H, Ar), 7.03 (дд, $J = 8.9, 2.4$ Гц, 1H, Ar), 6.74 (д, $J = 2.1$ Гц, 1H, Ar), 3.40 - 3.50 (м, 4H, CH_2), 2.04 - 2.14 (м, 4H, CH_2).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 24.9, 47.4, 104.2, 116.6, 122.8, 124.2, 126.1, 129.5, 130.8, 134.9, 138.3, 147.9, 191.6.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 226.1226, найдено 226.1445.



(Z)-4-((6-Диметиламинонафталин-2-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.7d)

Получили по общей методике **A** из 1 г 6-(диметиламино)-2-нафталальдегида **2.2.9a**: оранжев. крист., 1 г (выход 70%), т.пл. ~ 230 °С с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 8.40 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, Ar), 8.33 (с, 1H, Ar), 7.76 (д, $J = 9.1$ Гц, 1H, Ar), 7.66 (д, $J = 8.8$ Гц, 1H, Ar), 7.23 (д, $J = 9.3$ Гц, 1H, Ar), 7.04 (с, 1H, CH-Ar), 6.92 (с, 1H, Ar), 3.11 (с, 3H, CH_3), 3.06 (с, 6H, CH_3), 2.37 (с, 3H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 15.3, 26.2, 39.9, 105.2, 116.2, 125.5, 125.8, 126.1, 127.5, 128.3, 129.7, 132.9, 135.4, 137.2, 149.5, 162.5, 169.8.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 294.1601, найдено 294.1604.

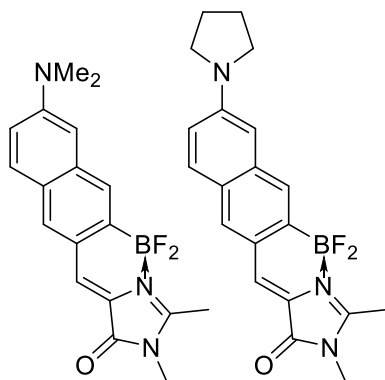
(Z)-4-((6-(Пирролидин-1-ил)нафталин-2-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.7e)

Получили по общей методике **A** из 1.12 г 6-(пирролидин-1-ил)-2-нафталальдегида **2.2.9b**: оранжев. крист., 1.4 г (выход 89%), т.пл. ~ 250 °C с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.38 (д, J = 8.8 Гц, 1H, Ar), 8.32 (с, 1H, Ar), 7.74 (д, J = 8.9 Гц, 1H, Ar), 7.62 (д, J = 8.8 Гц, 1H, Ar), 7.05 (дд, J = 8.8, 2.2 Гц, 1H, Ar), 7.02 (с, 1H, CH-Ar), 6.75 (д, J = 1.8 Гц, 1H, Ar), 3.38 - 3.40 (м, 4H, CH₂), 3.11 (с, 3H, CH₃), 2.37 (с, 3H, CH₃), 2.00 - 2.02 (м, 4H, CH₂).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 15.3, 24.9, 26.2, 47.4, 104.2, 116.2, 125.2, 125.7, 125.9, 126.9, 128.3, 129.9, 133.2, 135.6, 136.9, 146.9, 162.2, 169.8.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₀H₂₂N₃O [M+H]⁺ 320.1757, найдено 320.1802.



(Z)-4-((3-(Дифторборил)-6-диметиламинонафталин-2-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.6d)

Получили по общей методике **C** из 0.88 г имидазолонна **2.2.7d**: красн. крист., 0.12 г (выход 12%), т.пл. ~ 300 °C с разложением.

¹H ЯМР (800 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.00 (с, 1H, Ar), 7.78 (с, 1H, Ar), 7.74 (д, J = 9.1 Гц, 1H, Ar), 7.69 (с, 1H, CH-Ar), 7.20 (дд, J = 9.1, 1.9 Гц, 1H, Ar), 6.96 (с, 1H, Ar), 3.25 (с, 3H, CH₃), 3.08 (с, 6H, CH₃), 2.75 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (201 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 12.9, 26.5, 43.8, 105.4, 115.9, 124.9, 125.4, 127.6, 129.3, 129.5, 129.9, 132.7, 136.9, 150.1, 162.8, 163.9.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₈H₁₉BF₂N₃O [M+H]⁺ 342.1584, найдено 342.1626.

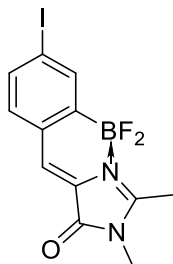
(Z)-4-((3-(Дифторборил)-6-(пирролидин-1-ил)нафталин-2-ил)метилен)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.6e)

Получили по общей методике **C** из 0.96 г имидазолонна **2.2.7e**: красн. крист., 0.12 г (выход 11%), т.пл. ~ 340 °C с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 7.98 (с, 1H, Ar), 7.71 - 7.75 (м, 2H, CH-Ar, Ar), 7.68 (с, 1H, Ar), 7.02 (дд, $J = 8.8, 2.3$ Гц, 1H, Ar), 6.78 (д, $J = 1.9$ Гц, 1H, Ar), 3.40 – 3.42 (м, 4H, CH_2), 3.25 (с, 3H, CH_3), 2.74 (с, 3H, CH_3), 2.01 – 2.03 (м, 4H, CH_2).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 12.8, 24.9, 26.5, 47.4, 104.6, 115.9, 124.8, 125.0, 127.1, 128.9, 129.6, 130.3, 133.1, 137.2, 147.5, 162.7, 163.6.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 368.1740, найдено 368.1768.



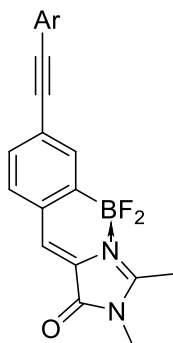
(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-йодбензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.2.10)

Получили по общей методике **C** из 0.98 г (Z)-4-(4-йодбензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-она: зел. крист., 0.87 г (выход 78%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

^1H ЯМР (700 МГц, ДМСО- d_6): δ 7.83 (с, 1H, Ar), 7.75 (д, $J = 8.1$, 1H, Ar), 7.63 (с, 1H, CH-Ar), 7.39 (д, $J = 8.1$, 1H, Ar), 3.23 (с, 3H, CH_3), 2.74 (с, 3H, CH_3).

^{13}C ЯМР (176 МГц, ДМСО- d_6): δ 167.9, 162.9, 140.0, 136.7, 132.8, 132.2, 127.3, 126.9, 100.6, 26.6, 13.2.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{BFIN}_2\text{O}$ $[\text{M}-\text{F}]^+$ 354.9909, найдено 354.9855.



(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(арилэтинил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-оны 2.2.11 (общая методика)

Имидазолон **2.2.10** (0.38 г, 1 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий (0.1 г, 0.1 ммоль) и йодид меди (10 мг, 0.05 ммоль) растворяли в 10 мл абсолютного ТГФ. К полученной смеси добавляли триэтиламин (0.3 г, 3 ммоль) и соответствующий арилацетилен (1.6 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 72 часов. Затем полученную смесь разбавляли этилацетатом (150 мл), промывали водой (2×50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2×50 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали.

Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/гексан 20:1).

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(фенилэтинил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он 2.2.11a: зел. крист., 0.15 г (выход 45%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7.69 (с, 1H, CH-Ar), 7.67 (д, J = 7.9, 1H, Ar), 7.62-7.58 (м, 2H, Ar), 7.53 (д, J = 7.9, 1H, Ar), 7.46-7.43 (м, 2H, Ar), 3.25 (с, 3H, CH₃), 2.77 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 167.9, 163.0, 134.2, 133.1, 131.5, 131.3, 130.5, 129.0, 128.8, 127.5, 126.8, 124.9, 122.1, 91.9, 89.8, 26.7, 13.2.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₀H₁₅BFN₂O [M-F]⁺ 329.1256, найдено 329.1267.

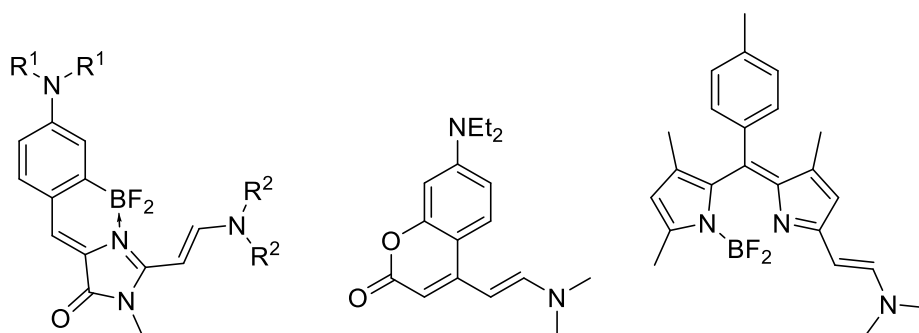
(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-((4-(диэтиламино)фенил)этинил)бензилиден)-1,2-диметил-1H-имидазол-5(4H)-он 2.2.11b: красн. крист., 0.17 г (выход 47%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7.66 (с, 1H, CH-Ar), 7.64-7.59 (м, 2H, Ar), 7.44 (д, J = 7.9, 1H, Ar), 7.36 (д, J = 8.4, 2H, Ar), 6.67 (д, J = 8.4, 2H, Ar), 3.38 (кв, J = 6.8, 4H, CH₂), 3.24 (с, 3H, CH₃), 2.77 (с, 3H, CH₃), 2.38 (т, J = 6.8, 4H, CH₃).

¹³C ЯМР(176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 167.3, 162.9, 147.7, 133.6, 132.9, 131.4, 131.3, 129.8, 128.7, 127.12, 127.0, 126.4, 111.2, 94.6, 88.1, 43.6, 26.6, 13.1, 12.3.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₄H₂₅BF₂N₃O [M+H]⁺ 420.2059, найдено 420.2091.

3.2.5 Получение синтетических аналогов хромофоров GFP с функциональными заместителями



Получение enamинных производных (общая методика)

Соответствующие хромофор (5 ммоль) и ацеталь (15 ммоль) растворяли в 50 мл ДМФ и перемешивали при 100 °С в течение 5 минут. Затем реакционную смесь упаривали, и полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 50:1).

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(диметиламино)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-диметиламино)этинил)-1H-имидазол-5(4H)-он 2.3.1a: красн. крист., 1.38 г (выход 75%), т.пл. ~ 310 °С с разложением.

^1H NMR (700 МГц, DMSO- d_6): δ 8.65 (д, $J = 12.1$ Гц, 1H, CH=CH), 7.26 (д, $J = 8.7$ Гц, 1H, Ar), 6.93 (с, 1H, Ar-CH), 6.87 (д, $J = 2.4$ Гц, 1H, Ar), 6.63 (дд, $J = 8.6, 2.7$ Гц, 1H, Ar), 5.16 (д, $J = 12.4$ Гц, 1H, CH=CH), 3.31 (с, 3H, CH₃), 3.27 (с, 3H, CH₃), 3.09 (с, 3H, CH₃), 3.00 (с, 6H, CH₃).

^{13}C NMR (176 МГц, DMSO- d_6): δ 26.9, 36.9, 40.0, 46.0, 77.8, 111.1, 114.2, 119.1, 122.7, 124.8, 130.6, 151.1, 156.9, 163.0.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₇H₂₂BF₂N₄O [M+H]⁺ 347.1849, найдено 347.1840.

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(диэтиламино)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-диметиламино)этинил)-1H-имидазол-5(4H)-он 2.3.1b: красн. крист., 1.4 г (выход 80%), т.пл. = 280-283 °С.

^1H NMR (700 МГц, DMSO- d_6): δ 8.61 (д, $J = 12.9$ Гц, 1H, CH=CH), 7.23 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, Ar), 6.91 (с, 1H, CH-Ar), 6.83 (д, $J = 1.5$ Гц, 1H, Ar), 6.59 (дд, $J = 8.6, 2.5$ Гц, 1H, Ar), 5.16 (д, $J = 12.5$ Гц, 1H, CH=CH), 3.41 (кв, $J = 7.0$ Гц, 4H, CH₂), 3.31 (с, 3H, CH₃), 3.27 (с, 3H, CH₃), 3.08 (с, 3H, CH₃), 1.13 (т, $J = 7.0$ Гц, 6H, CH₃).

^{13}C NMR (176 МГц, DMSO- d_6): δ 12.7, 27.0, 36.9, 43.8, 46.0, 77.9, 110.5, 113.6, 119.4, 121.9, 124.3, 131.1, 148.5, 156.6, 163.0.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₉H₂₅BF₂N₄O [M+H]⁺ 375.2126, найдено 375.2161.

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(диэтиламино)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-пирролидин-1-илэтинил)-1H-имидазол-5(4H)-он 2.3.1c: красн. крист., 1.82 г (выход 91%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

^1H NMR (700 МГц, DMSO- d_6): δ 8.78 (д, $J = 10.0$ Гц, 1H, CH=CH), 7.23 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, Ar), 6.90 (с, 1H, CH-Ar), 6.83 (уш.с., 1H, Ar), 6.59 (дд, $J = 8.5, 2.1$ Гц, 1H, Ar), 5.09 (д, $J = 11.6$ Гц, 1H, CH=CH), 3.74 (т, $J = 6.5$ Гц, 2H, CH₂), 3.39 - 3.46 (м, 6H, CH₂), 3.27 (с, 3H, CH₃), 2.04 (п, $J = 6.8$ Гц, 2H, CH₂), 1.94 (п, $J = 6.6$ Гц, 2H, CH₂), 1.13 (т, $J = 6.9$ Гц, 6H, CH₃).

^{13}C NMR (176 МГц, DMSO- d_6): δ 12.7, 24.3, 24.6, 26.9, 43.8, 47.1, 53.4, 78.9, 110.5, 113.6, 119.2, 122.0, 124.4, 131.1, 148.5, 152.6, 156.1, 163.0.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₁H₂₇BF₂N₄O [M+H]⁺ 401.2319, найдено 401.2310.

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(диэтиламино)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-морфолин-4-илэтинил)-1H-имидазол-5(4H)-он 2.3.1d: красн. крист., 1.77 г (выход 85%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

^1H NMR (700 МГц, DMSO- d_6): δ 8.59 (д, $J = 12.9$ Гц, 1H, CH=CH), 7.25 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, Ar), 6.94 (с, 1H, CH-Ar), 6.83 (д, $J = 2.1$ Гц, 1H, Ar), 6.59 (дд, $J = 8.5, 2.6$ Гц, 1H, Ar), 5.39 (д, $J = 12.9$ Гц, 1H, CH=CH), 3.74 - 3.72 (м, 4H, CH₂), 3.64 - 3.62 (м, 4H, CH₂), 3.41 (кв, $J = 7.0$ Гц, 4H, CH₂), 3.27 (с, 3H, CH₃), 1.13 (т, $J = 7.0$ Гц, 6H, CH₃).

^{13}C NMR (176 МГц, DMSO- d_6): δ 12.6, 27.1, 43.8, 45.2, 54.1, 65.2, 66.5, 77.9, 110.5, 113.6, 120.1, 121.9, 124.2, 131.3, 148.7, 155.1, 157.2, 162.9.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 417.2268, найдено 417.2271.

(Z)-4-(2-(Дифторборил)-4-(диэтиламино)бензилиден)-1-метил-2-((E)-2-пиперидин-1-илэтинил)-1H-имидазол-5(4H)-он 2.3.1e: красн. крист., 1.82 г (выход 88%), т.пл. ~ 330 °C с разложением.

^1H NMR (700 МГц, DMSO- d_6): δ 8.62 (д, J = 12.0 Гц, 1H, CH=CH), 7.23 (д, J = 8.7 Гц, 1H, Ar), 6.89 (с, 1H, CH-Ar), 6.83 (д, J = 1.7 Гц, 1H, Ar), 6.59 (дд, J = 8.6, 2.5 Гц, 1H, Ar), 5.33 (д, J = 12.5 Гц, 1H, CH=CH), 3.60 – 3.58 (м, 4H, CH₂), 3.41 (кв, J = 7.0 Гц, 4H, CH₂), 3.27 (с, 3H, CH₃), 1.69 – 1.64 (м, 6H, CH₂), 1.13 (т, J = 7.0 Гц, 6H, CH₃).

^{13}C NMR (176 МГц, DMSO- d_6): δ 12.7, 23.3, 24.9, 26.6, 27.0, 43.8, 45.5, 55.9, 77.2, 110.5, 113.6, 119.1, 121.9, 124.4, 131.0, 148.5, 155.1, 157.2, 163.0.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 415.2475, найдено 415.2479.

7-Диэтиламино-4-((диметиламино)этинил)кумарин 2.3.3: желт. крист., 1.06 г (выход 74%), т.пл. = 184-188 °C.

^1H NMR (800 МГц, DMSO- d_6): δ 7.69 (д, J = 9.3 Гц, 1H, Ar), 7.63 (д, J = 12.9 Гц, 1H, CH=CH), 6.61 (дд, J = 9.0, 2.5 Гц, 1H, Ar), 6.40 (д, J = 2.5 Гц, 1H, Ar), 5.82 (с, 1H, Ar), 5.28 (д, J = 13.2 Гц, 1H, CH=CH), 3.41 (кв, J = 7.1 Гц, 4H, CH₂), 3.00 (с, 6H, CH₃), 1.13 (т, J = 6.9 Гц, 6H, CH₃).

^{13}C NMR (201 МГц, DMSO- d_6): δ 12.2, 43.7, 85.8, 90.6, 97.0, 107.3, 107.7, 125.3, 148.1, 149.7, 151.9, 155.8, 161.3.

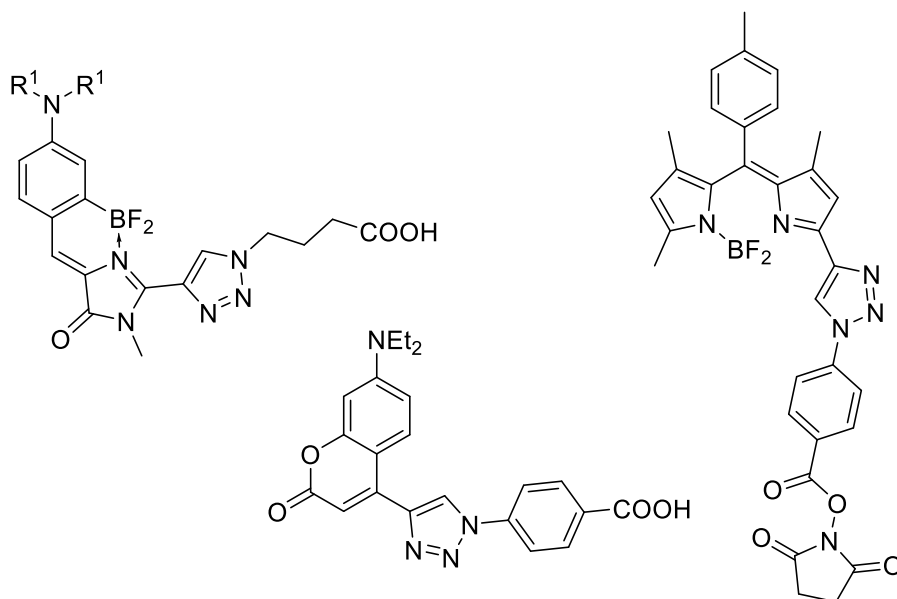
HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 287.1754, найдено 287.1762.

(E)-2-((Z)-2-((1-(Дифторборил)-3,5-диметил-1H-пиррол-2ил)(n-толил)метилен)-3-метил-2H-пиррол-5-ил)-N,N-диметилен-1-амин 2.3.5: фиол. крист., 1.3 г (выход 65%), т.пл. ~ 230 °C с разложением.

^1H NMR (700 МГц, DMSO- d_6): δ 7.78 (д, J = 12.9 Гц, 1H, CH=CH), 7.30 (д, J = 7.9 Гц, 2H, Ar), 7.18 (д, J = 7.9 Гц, 2H, Ar), 6.70 (с, 1H, Ar), 5.79 (с, 1H, Ar), 5.65 (д, J = 13.2 Гц, 1H, CH=CH), 3.03 (уш.с., 4H, CH₃), 2.39 (с, 3H, CH₃), 2.32 (с, 3H, CH₃), 1.34 (с, 3H, CH₃), 1.25 (с, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (176 МГц, DMSO- d_6): δ 13.3, 13.7, 14.6, 20.9, 40.0, 88.4, 116.8, 118.3, 128.9, 129.2, 130.5, 130.6, 132.5, 133.1, 137.6, 141.9, 143.2, 152.4, 160.0.

HRMS (m/z) вычислено для $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{BF}_2\text{N}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 394.2261, найдено 394.2271.



Получение функционализированных производных (общая методика)

Соответствующие енамин (3.5 ммоль) и азид (35 ммоль) растворяли в 50 мл ДМСО. К полученной смеси добавляли 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол (0.3 мг, 0.001 ммоль) и 0.5 мл уксусной кислоты и перемешивали при 120 °С в течение 48 часов. Затем полученную смесь разбавляли этилацетатом (100 мл), промывали водой (3 × 50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (3 × 50 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOH/CHCl₃/AcOH градиент от 1:100:1 до 5:100:1).

(Z)-4-(4-(4-(2-(Дифторборил)-4-(диметиламино)бензилиден)-1-метил-5-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)бутановая кислота 2.3.2a: красн. крист., 0.29 г (выход 19%), т.пл. ~ 210 °С с разложением.

¹H NMR (700 МГц, DMSO-*d*₆): δ 9.14 (с, 1H, Ar), 7.64 (с, 1H, Ar-CH), 7.50 (д, J = 8.7 Гц, 1H, Ar), 6.91 (с, 1H, Ar), 6.71 (дд, J = 8.7, 2.4 Гц, 1H, Ar), 4.65 (т, J = 7.1 Гц, 2H, CH₂), 3.60 (с, 3H, CH₃), 3.10 (с, 6H, CH₃), 2.32 (т, J = 7.3 Гц, 2H, CH₂), 2.11 (ш, J = 7.2 Гц, 2H, CH₂).

¹³C NMR (176 МГц, DMSO-*d*₆): δ 25.4, 29.7, 30.2, 39.7, 49.3, 111.3, 114.4, 121.5, 121.8, 131.3, 131.7, 132.9, 134.7, 148.8, 153.1, 162.3, 173.4.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₉H₂₂BF₂N₆O₃ [M+H]⁺ 431.1809, найдено 431.1813.

(Z)-4-(4-(4-(2-(Дифторборил)-4-(диэтиламино)бензилиден)-1-метил-5-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)бутановая кислота 2.3.2b: красн. крист., 0.24 г (выход 15%), т.пл. ~ 200 °С с разложением.

¹H NMR (700 МГц, DMSO-*d*₆): δ.22 (уш.с., 1H, COOH), 9.15 (с, 1H, Ar), 7.62 (с, 1H, Ar-CH), 7.49 (д, J = 8.8 Гц, 1H, Ar), 6.88 (с, 1H, Ar), 6.71 (дд, J = 8.7, 2.7 Гц, 1H, Ar), 4.65 (т, J = 7.2

Гц, 2H, CH₂), 3.61 (с, 3H, CH₃), 3.49 (кв, J = 7.2 Гц, 4H, CH₂), 2.32 (т, J = 7.3 Гц, 2H, CH₂), 2.11 (п, J = 7.2 Гц, 2H, CH₂), 1.16 (т, J = 7.0 Гц, 6H, CH₃).

¹³C NMR (201 МГц, DMSO-*d*₆): δ 12.6, 25.4, 29.7, 30.2, 44.2, 49.3, 111.0, 114.1, 121.1, 121.4, 131.3, 131.6, 132.9, 135.1, 148.3, 151.0, 162.2, 173.4.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₁H₂₆BF₂N₆O₃ [M+H]⁺ 459.2122, найдено 459.2123.

4-(4-(7-(Диэтиламино)-2-оксо-2H-хромен-4-ил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)бензойная кислота 2.3.4: желт. крист., 1.2 г (выход 86%), т.пл. = 330-333 °С.

¹H NMR (700 МГц, DMSO-*d*₆): δ 9.63 (с, 1H, COOH), 8.34 (д, J = 9.2 Гц, 1H, Ar), 8.19 (д, J = 8.7 Гц, 2H, Ar), 8.15 (д, J = 8.7 Гц, 2H, Ar), 6.78 (дд, J = 9.2, 2.6 Гц, 1H, Ar), 6.61 (д, J = 2.6 Гц, 1H, Ar), 6.47 (с, 1H, Ar), 3.47 (кв, J = 7.1 Гц, 4H, CH₂), 1.15 (т, J = 7.1 Гц, 6H, CH₃).

¹³C NMR (176 МГц, DMSO-*d*₆): δ 12.3, 44.0, 97.1, 105.1, 105.9, 108.9, 120.1, 124.4, 128.3, 131.1, 139.0, 142.7, 143.6, 150.6, 156.6, 160.7.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₂H₂₁N₄O₄ [M+H]⁺ 405.1557, найдено 405.1575.

(Z)-4-(4-(2-((1-(Дифторборил)-3,5-диметил-1H-пиррол-2-ил)(*n*-толил)метил)-3-метил-2H-пиррол-5-ил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)бензоат 2,5-диоксопирролидин-1-ила 2.3.6

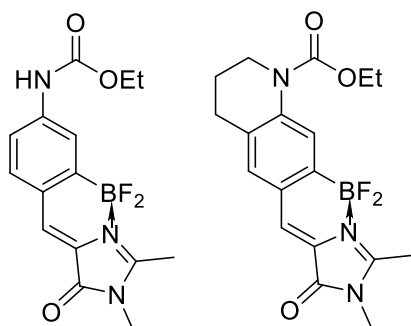
По общей методике получали (Z)-4-(4-(2-((1-(дифторборанил)-3,5-диметил-1H-пиррол-2-ил)(*n*-толил)метил)-3-метил-2H-пиррол-5-ил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)бензойную кислоту, из реакционной смеси выделяли с помощью флеш-хроматографии (CHCl₃/EtOH 20:1). Полученный продукт (3.5 ммоль), N-гидроксисукцинимид (0.4 г, 3.5 ммоль), *N,N,N',N'* – тетраметил-*O*-(1H-бензотриазол-1-ил)уридий гексафторфосфат (НВТУ) (1.9 г, 5.25 ммоль) и триэтиламин (0.5 мл, 3.5 ммоль) растворяли в 15 мл абсолютного ТГФ и перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Затем смесь упаривали и полученный остаток растворяли в этилацетате (25 мл), промывали водой (2 × 10 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 10 мл). Раствор высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 100:1): фиол. крист., 0.4 г (выход 19%), т.пл. ~ 200 °С с разложением.

¹H NMR (700 МГц, DMSO-*d*₆): δ 9.04 (с, 1H, Ar), 8.36 (д, J = 8.6 Гц, 2H, Ar), 8.25 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 7.43 (д, J = 7.7 Гц, 2H, Ar), 7.33 (д, J = 7.9 Гц, 2H, Ar), 7.02 (с, 1H, Ar), 6.35 (с, 1H, Ar), 2.93 (уш.с., 4H, CH₂), 2.57 (с, 3H, CH₃), 2.44 (с, 3H, CH₃), 1.48 (с, 3H, CH₃), 1.43 (с, 3H, CH₃).

¹³C NMR (201 МГц, CDCl₃): δ 14.2, 14.7, 14.9, 25.7, 60.4, 120.4, 120.8, 121.9, 122.4, 125.0, 127.8, 129.9, 131.7, 132.4, 132.9, 132.9, 139.2, 141.1, 141.4, 142.2, 142.7, 142.9, 145.2, 158.0, 160.9, 167.0.

HRMS (m/z) вычислено для C₃₂H₂₈BF₂N₆O₄ [M+H]⁺ 609.2228, найдено 609.8134.

3.2.6 Получение карбаматных производных хромофора GFP



Синтез карбаматов 2.4.2 и 2.4.3 (общая методика)

Соответствующий амин (1 ммоль) растворяли в 10 мл ТГФ. Затем к раствору добавляли 3 мл насыщенного раствора карбоната калия и прикапывали этилхлорформиат (0.5 мл) в течение 10 минут. Полученную реакционную смесь перемешивали при 40 °С в течение 3 часов. Затем реакционную смесь разбавляли этилацетатом (150 мл), промывали водой (2 × 50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 50 мл). Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 20:1).

(Z)-Этиловый эфир (3-(дифторборил)-4-((1,2-диметил-5-оксо-1H-имидазол-4(5H)-илметилиден)фенил)карбаминовой кислоты 2.4.2: зел. крист., 0.24 г (выход 72%), т.пл. ~ 300 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 9.91 (с, 1H, NH), 7.68 (с, 1H, CH-Ar), 7.57-7.53 (м, 3H), 4.15 (кв, J = 7.1, 2H, CH₂), 3.22 (с, 3H, CH₃), 2.73 (с, 3H, CH₃), 1.26 (т, J = 7.1, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР(176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 169.4, 165.8, 162.8, 153.3, 132.7, 128.3, 127.5, 125.2, 120.7, 116.9, 60.4, 26.5, 14.4, 12.9.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₅H₁₇BF₂N₃O₃ [M+H]⁺ 336.1331, найдено 336.1323

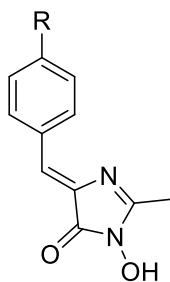
(Z)-7-(Дифторборил)-6-((1,2-диметил-5-оксо-3,4-дигидрохинолин-1-ил)метилиден)-1-этоксикарбонил-1(2H)-3,4-дигидрохинолин 2.4.3: зел. крист., 0.32 г (выход 86%), т.пл. = 208-211 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7.93 (с, 1H, Ar), 7.55 (с, 1H, Ar), 7.37 (с, 1H, Ar), 4.19 (кв, J = 7.1, 2H, CH₂), 3.72-3.70 (м, 2H, CH₂), 3.22 (с, 3H, CH₃), 2.73-2.70 (м, 5H, CH₃, CH₂), 1.88-1.83 (м, 2H, CH₂), 1.26 (т, J = 7.1, 2H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 166.1, 166.0, 162.9, 153.9, 141.1, 131.7, 128.9, 128.1, 126.0, 125.9, 51.6, 44.9, 26.6, 26.5, 22.6, 14.2, 13.0.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₈H₂₁BF₂N₃O₃ [M+H]⁺ 376.1644, найдено 376.1634

3.2.7 Получение N-гидроксипроизводных хромофора GFP



(Z)-4-арилиден-1-гидрокси-1H-имидазол-5(4H)-оны 2.4.6 (общая методика)

К раствору соответствующего оксазолон (0.05 моль) в ацетонитриле (100 мл) при перемешивании добавляли гидрохлорид гидроксиламина (7.99 г, 0.115 моль) и триэтиламин (8.4 мл, 0.115 моль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем реакционную смесь упаривали и растворяли в ДМФ (150 мл). К полученному раствору добавляли карбонат калия (15.87 г, 0.115 моль) и карбонат цезия (3.84 г, 0.0115 моль). Затем полученную смесь кипятили в течение 5-10 мин. По окончании реакции смесь упаривали. Сухой остаток растворяли в 300 мл воды и подкисляли соляной кислотой до pH = 5. Затем водный слой экстрагировали этилацетатом (2 × 150 мл), промывали водой (1 × 50 мл), и насыщенным раствором хлорида натрия (1 × 50 мл). Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 10:1).

(Z)-4-Бензилиден-1-гидрокси-2-метил-1H-имидазол-5(4H)-он 2.4.6a: желт. крист., 3.43 г (выход 34%), т.пл. = 205-208 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10.92 (с, 1H, OH), 8.21 (д, J = 7.3 Гц, 2H, Ar), 7.46-7.41(м, 3H, Ar), 7.03 (с, 1H, CH-Ar), 2.32 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 165.0, 162.3, 135.7, 133.8, 132.1, 130.2, 128.6, 126.0, 13.7.

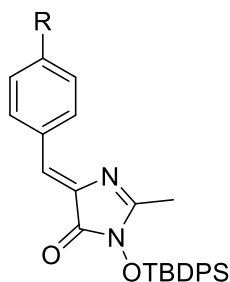
HRMS (m/z) вычислено для C₁₁H₁₁N₂O₂ [M+H]⁺ 203.0821, найдено 203,0813.

(Z)-4-(4-Гидроксибензилиден)-1-гидрокси-2-метил-1H-имидазол-5(4H)-он 2.4.6b: желт. крист., 2.83 г (выход 26%), т.пл. ~ 280 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10.8 (уш.с., 1H, OH), 10.1 (уш.с., 1H, OH), 8.07 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 6.94 (с, 1H, CH-Ar), 6.84 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 2.28 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 165.0, 159.9, 159.8, 134.4, 133.0, 126.8, 125.1, 115.8, 13.6.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₁H₁₁N₂O₃ [M+H]⁺ 219.0770, найдено 219.0755.



(Z)-1-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-4-арилиден-2-метил-1H-имидазол-5(4H)-оны

2.4.7 (общая методика)

Раствор соответствующего N-гидроксиимидазолон (5 ммоль), дифенилтретбутилсилил хлорида (6 или 12 ммоль), диизопропилэтиламина (7.5 или 15 ммоль) и имидазола (52 мг, 0.5 ммоль) в абсолютном тетрагидрофуране (100 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Затем полученную смесь упаривали и сухой остаток растворяли в 150 мл хлороформа. Полученный раствор промывали разбавленной соляной кислотой (5%, 100 мл), водой (2 × 100 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 100 мл). Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃).

(Z)-4-Бензилиден-1-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-метил-1H-имидазол-5(4H)-он

2.4.7a: желт. крист., 1.8 г (выход 83%), т.пл. = 135-139 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, CDCl₃): δ 8.02 (д, J = 7.0 Гц, 2H, Ar), 7.79 (д, J = 7.9 Гц, 4H, Ar), 7.45 (т, J = 7.5 Гц, 2H, Ar), 7.41 (т, J = 7.7 Гц, 4H, Ar), 7.39-7.33 (м, 3H, Ar), 6.96 (с, 1H, CH-Ar), 2.06 (с, 3H, CH₃), 1.27 (с, 9H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, CDCl₃): δ 165.0, 160.7, 136.1, 134.9, 133.9, 132.2, 130.7, 130.6, 130.1, 128.6, 127.9, 127.7, 26.9, 19.7, 14.9.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₇H₂₉N₂O₂Si [M+H]⁺ 441.1998, найдено 441.2005.

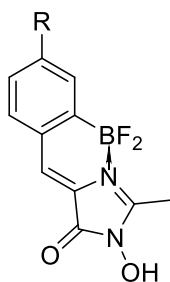
(Z)-1-((Трет-бутилдифенилсилил)окси)-4-(4-((трет-

бутилдифенилсилил)окси)бензилиден)-2-метил-1H-имидазол-5(4H)-он 2.4.7b: желт. крист., 2.63 г (выход 76%), т. пл. = 168-171 °С.

¹H ЯМР (700 МГц, CDCl₃): δ 7.79 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 7.75 (д, J = 7.9 Гц, 4H, Ar), 7.70 (д, J = 7.9 Гц, 4H, Ar), 7.47-7.42 (м, 4H, Ar), 7.40-7.34 (м, 8H, Ar), 6.84 (с, 1H, CH-Ar), 6.75 (д, J = 8.8 Гц, 2H, Ar), 1.99 (с, 3H, CH₃), 1.23 (с, 9H, CH₃), 1.10 (с, 9H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, CDCl₃): δ 165.0, 159.3, 157.7, 136.2, 135.4, 133.9, 133.1, 132.4, 130.7, 130.6, 130.0, 128.0, 127.9, 127.7, 127.2, 120.1, 26.9, 26.4, 19.7, 19.4, 14.8.

HRMS (m/z) вычислено для C₄₃H₄₇N₂O₃Si₂ [M+H]⁺ 695.3125, найдено 695.3123.



**(Z)-4-(2-(Дифторборил)бензилиден)-1-гидрокси-2-метил-1H-имидазол-5(4H)-он
(2.4.4a)**

Получили по общей методике **В** из 1.3 г имидазолонна **2.4.7a**: желт. крист., 0.17 г (выход 23%), т.пл. ~ 250 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 12.2 (уш.с., 1H, OH), 7.70 (с, 1H, CH-Ar), 7.63 (д, J = 7.7 Гц, 1H, Ar), 7.59 (д, J = 7.2 Гц, 1H, Ar), 7.46 (т, J = 7.2 Гц, 1H, Ar), 7.37 (т, J = 7.5 Гц, 1H, Ar), 2.70 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 164.5, 159.0, 132.8, 131.7, 131.6, 131.3, 129.4, 127.8, 124.7, 11.4.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₁H₉BF₂N₂O₂ [M-F]⁺ 231.0741, найдено 231.0728.

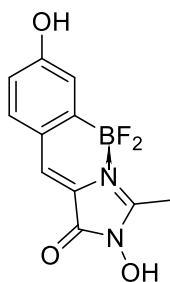
(Z)-4-(4-((Трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-(дифторборил)бензилиден)-1-гидрокси-2-метил-1H-имидазол-5(4H)-он (2.4.4b)

Получили по общей методике **В** из 2 г имидазолонна **2.4.7b**: оранж. крист., 0.38 г (выход 25%), т.пл. ~ 200 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8.18 (д, J = 7.0 Гц, 4H, Ar), 7.58 (с, 1H, CH-Ar), 7.50-7.42 (м, 7H, Ar), 7.00 (д, J = 1.5 Гц, 1H, Ar), 6.67 (дд, J = 8.3, 1.5 Гц, 1H, Ar), 2.62 (с, 3H, CH₃), 1.05 (с, 9H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 162.9, 158.7, 158.6, 134.9, 134.0, 131.7, 130.3, 129.5, 128.1, 126.7, 122.9, 122.4, 118.9, 26.2, 18.9, 11.2.

HRMS (m/z) вычислено для C₂₇H₂₇BF₂N₂O₃Si [M-F]⁺ 485.1868, найдено 485.1865.



(Z)-4-(4-Гидрокси-2-(дифторборил)бензилиден)-1-гидрокси-2-метил-1*H*-имидазол-5(4*H*)-он 2.4.4с

К раствору имидазолонна **2.4.4b** (0.2 ммоль) в этилацетате (50 мл) добавляли ТБАФ (100 мг, 0.32 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут. Затем реакционную смесь нейтрализовывали 1 мл уксусной кислоты, промывали водой (2 × 20 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (2 × 20 мл). Растворитель высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (CHCl₃/EtOH 5:1): оранж. крист., 41 мг (выход 78%), т.пл. ~ 250 °С с разложением.

¹H ЯМР (700 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 12.0 (уш.с., 1H, OH), 10.3 (уш.с., 1H, OH), 7.62 (с, 1H, CH-Ar), 7.51 (д, J = 8.4 Гц, 1H, Ar), 7.01 (д, J = 1.6 Гц, 1H, Ar), 6.75 (дд, J = 8.3, 2.4 Гц, 1H, Ar), 2.66 (с, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (176 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 161.8, 161.6, 158.7, 134.9, 130.6, 124.7, 121.6, 118.5, 115.2, 11.2.

HRMS (m/z) вычислено для C₁₁H₉BF₂N₂O₃ [M-F]⁺ 247.0690, найдено 247.0675.

Выводы

1. Синтезированы флуоресцентные аналоги хромофоров белков Sirius и CFP. Показано ключевое влияние подвижности бензилиденового фрагмента на флуоресцентные свойства этих хромофоров.
2. Получены флуоресцентные аналоги хромофора белка Kaede. Синтезирован ряд производных с различными заместителями во втором и четвертом положениях имидазолана. Показано, что подвижность заместителей в этих положениях существенно влияет на флуоресцентные свойства.
3. Синтезирован ряд аминных аналогов конформационно зафиксированного хромофора GFP, содержащих на атоме азота разные заместители. Предложены подходы, способствующие стабилизации квантового выхода флуоресценции.
4. Получен ряд производных хромофора GFP с увеличенной системой сопряженных связей. Установлено, что подобная модификация приводит к заметному батохромному смещению спектров поглощения и испускания.
5. На основе реакции [2+3] циклоприсоединения азидов к терминальным енаминам разработан удобный метод введения функциональных групп в молекулу флуоресцентных красителей.
6. Показана перспективность использования синтетических аналогов хромофора GFP в качестве основы для создания флуоресцентных сенсоров.

Благодарности

Автор выражает благодарность своему научному руководителю к.х.н. Баранову Михаилу Сергеевичу за помощь и полезные советы на протяжении всего исследования. Автор благодарит коллектив группы Химии гетероциклических соединений за помощь в проведении работы и создание неповторимой рабочей атмосферы. Также автор благодарит Ямпольского Илью Викторовича, Царькову Александру Сергеевну, Осипову Зинаиду Михайловну и других сотрудников лаборатории Химии метаболических путей, в дружеском коллективе которых проводилась часть работы. Автор благодарит руководителя Лаборатории биофотоники д.б.н. Лукьянова Константина Анатольевича и всех сотрудников за помощь в проведении экспериментов с привлечением спектроскопии. Автор благодарит коллектив Лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии, в том числе к.ф.-м.н. Минеева Константина Сергеевича, за регистрацию спектров ядерного магнитного резонанса.

Список сокращений и условных обозначений

Вос	трет-бутоксикарбонил
BODIPY	BoronDiPyromethene
CFP	циановый флуоресцентный белок
GFP	зеленый флуоресцентный белок
HOBT	N-гидроксibenзотриазол
HRMS	масс-спектрометрия высокого разрешения
ICT	внутримолекулярный перенос заряда (intramolecular charge transfer)
KFL	Keio Fluors
MW	микроволновое излучение
PICT	внутримолекулярный перенос заряда в планарном состоянии (planar intramolecular charge transfer)
Py	пиридин
SNARFs	Seminaphthorhodafluores
SNAFLs	Seminaphthofluoresceines
TBAB	тетра-бутиламмоний бромид
TBDPS	трет-бутилдифенилсиллил
TICT	внутримолекулярный перенос заряда в свернутом состоянии (twisted intramolecular charge transfer)
ДБУ, DBU	дiazобикаклоундецен
ДИПЭА, DIPEA	диизопропилэтиламин
ДМСО, DMSO	диметилсульфоксид
ДМАП, DMAP	4-диметиламинопиридин
ДМФ, DMF	диметилформамид
ДЦК, DCC	дициклогексилкарбодиимид
Имидазолон	5-арилиден-3,5-дигидро-4 <i>H</i> -имидазол-4-он
КВФ	квантовый выход флуоресценции
МС, MS	молекулярные сита
Насыщенный имидазолон	1 <i>H</i> -имидазол-5(4 <i>H</i>)-он
Оксазолон	5-арилиден-3,5-дигидро-4 <i>H</i> -оксазол-4-он
ТБАФ	тетрабутиламмоний фторид
ТГФ, THF	тетрагидрофуран
ТСХ	тонкослойная хроматография
ЯМР	ядерный магнитный резонанс

Также применяются типичные сокращения для названий карбонильных (Et, Pr и т.п.) и прочих (Bn, Ph, Ar, Ts и т.п.) радикалов.

Список литературы

1. Abbas S.E.-S., Aly E.I., Awadallah F.M., Mahmoud W.R. 4-Substituted-1-phenyl-1 *H* - pyrazolo[3,4- *d*]pyrimidine Derivatives: Design, Synthesis, Antitumor and EGFR Tyrosine Kinase Inhibitory Activity // *Chem. Biol. Drug Des.* 2015. Т. 85. № 5. С. 608–622.
2. Abbas S.E., Gawad N.M.A., Georgey H.H., Abdullah J.H. New quinazolinone derivatives: Synthesis, anti-inflammatory and antitumor activities // *Int. J. ChemTech Res.* 2010. Т. 2. № 3. С. 1560–1578.
3. Abu-Melha S. Synthesis, antimicrobial evaluation and spectroscopic characterization of novel imidazolone, triazole and triazinone derivatives // *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2012. Т. 96. С. 898–905.
4. Amareshwar V., Mishra N.C., Ila H. 2-Phenyl-4-bis(Methylthio)Methyleneoxazol-5-One: Versatile Template for Diversity Oriented Synthesis of Heterocycles // *Org. Biomol. Chem.* 2011. Т. 9. № 16. С. 5793–5801.
5. Aoife G., John K., Caroline O., Tony K., William M.G., Donal F.O. In Vitro Demonstration of the Heavy-Atom Effect for Photodynamic Therapy // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. Т. 126. № 34. С. 10619–10631.
6. Atia A.J.K. Synthesis and antibacterial activities of new metronidazole and imidazole derivatives // *Molecules.* 2009. Т. 14. № 7. С. 2431–2446.
7. Atia A.J.K., Al-Marjani M.F., Qaban M.A. Synthesis of New Heterocyclic Compounds Derived from 3-Chlorobenzo[b]thiophene-2-carbonyl chloride // *World J. Pharm. Res.* 2015. Т. 4. № 6. С. 2390–2407.
8. Awadallah F.M., Abou-Seri S.M., Abdulla M.M., Georgey H.H. Design and synthesis of potent 1,2,4-trisubstituted imidazolinone derivatives with dual p38 α MAPK and ERK1/2 inhibitory activity // *Eur. J. Med. Chem.* 2015. Т. 94. С. 397–404.
9. Awuah S.G., Polreis J., Biradar V., You Y. Singlet oxygen generation by novel NIR BODIPY dyes // *Org. Lett.* 2011. Т. 13. № 15. С. 3884–3887.
10. Azuma E., Nakamura N., Kuramochi K., Sasamori T., Tokitoh N., Sagami I., Tsubaki K. Exhaustive Syntheses of Benzene-ring Expanded Fluorescein Compounds and Their Functions // *J. Org. Chem.* 2012. Т. 77. № 7. С. 3492–3500.
11. Bakulev V.A., Efimov I. V., Belyaev N.A., Rozin Y.A., Volkova N.N., El'tsov O.S. Novel method for the synthesis of 4-(azol-5-yl)-1,2,3-triazoles // *Chem. Heterocycl. Compd.* 2012. Т. 47. № 12. С. 1593–1595.
12. Baldridge A., Amador A., Tolbert L.M. Fluorescence turn on by cholate aggregates // *Langmuir.* 2011. Т. 27. № 7. С. 3271–3274.

13. Baldrige A., Kowalik J., Tolbert L.M. Efficient synthesis of new 4-arylideneimidazolin-5-ones related to the GFP chromophore by 2+3 cyclocondensation of arylideneimines with imidate ylides // *Synthesis (Stuttg)*. 2010. № 14. C. 2424–2436.
14. Baldrige A., Solntsev K.M., Song C., Tanioka T., Kowalik J., Hardcastle K., Tolbert L.M. Inhibition of twisting of a green fluorescent protein-like chromophore by metal complexation // *Chem. Commun.* 2010. T. 46. № 31. C. 5686–5688.
15. Baldrige A., Feng S., Chang Y.T., Tolbert L.M. Recapture of GFP chromophore fluorescence in a protein host // *ACS Comb. Sci.* 2011a. T. 13. № 3. C. 214–217.
16. Baldrige A., Samanta S.R., Jayaraj N., Ramamurthy V., Tolbert L.M. Steric and Electronic Effects in Capsule-Confined Green Fluorescent Protein Chromophores // *J. Am. Chem. Soc.* 2011b. T. 133. № 4. C. 712–715.
17. Baranov M.S., Lukyanov K.A., Borissova A.O., Shamir J., Kosenkov D., Slipchenko L. V., Tolbert L.M., Yampolsky I. V., Solntsev K.M. Conformationally locked chromophores as models of excited-state proton transfer in fluorescent proteins // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. T. 134. № 13. C. 6025–6032.
18. Baranov M.S., Solntsev K.M., Lukyanov K.A., Yampolsky I. V. A synthetic approach to GFP chromophore analogs from 3-azidocinnamates. Role of methyl rotors in chromophore photophysics // *Chem. Commun.* 2013. T. 49. № 51. C. 5778–5780.
19. Baranov M.S., Solntsev K.M., Baleeva N.S., Mishin A.S., Lukyanov S.A., Lukyanov K.A., Yampolsky I. V. Red-Shifted Fluorescent Aminated Derivatives of a Conformationally Locked GFP Chromophore // *Chem. - A Eur. J.* 2014. T. 20. № 41. C. 13234–13241.
20. Baruah M., Qin W., Flors C., Hofkens J., A. L. Vallée R., Beljonne D., Auweraer M. Van der, M. De Borggraeve W., Boens N. Solvent and pH Dependent Fluorescent Properties of a Dimethylaminostyryl Borondipyrromethene Dye in Solution // *J. Phys. Chem. A.* 2006. T. 110. № 18. C. 5998–6009.
21. Barucha-Kraszewska J., Kraszewski S., Ramseyer C. Will C-Laurdan Dethrone Laurdan in Fluorescent Solvent Relaxation Techniques for Lipid Membrane Studies? // *Langmuir.* 2013. T. 29. № 4. C. 1174–1182.
22. Batog L. V., Rozhkov V.Y., Strelenko Y.A., Lebedev O. V., Khmel'nitskii L.I. Synthesis of (1,2,3-triazol-1-yl)furazans. 2. Reaction of azidofurazans with morpholinonitroethene // *Chem. Heterocycl. Compd.* 2000. T. 36. № 3. C. 343–345.
23. Beija M., Afonso C.A.M., Martinho J.M.G. Synthesis and applications of Rhodamine derivatives as fluorescent probes // *Chem. Soc. Rev.* 2009. T. 38. № 8. C. 2410–2433.
24. Bellier Q., Dalier F., Jeanneau E., Maury O., Andraud C. Thiophene-substituted aza-bodipy

as a strategic synthon for the design of near-infrared dyes // *New J. Chem.* 2012. T. 36. № 3. C. 768–773.

25. Bellier Q., Pégaz S., Aronica C., Guennic B. Le, Andraud C., Maury O. Near-Infrared Nitrofluorene Substitued Aza-Boron-dipyrromethenes Dyes // *Org. Lett.* 2011. T. 13. № 1. C. 22–25.

26. Bharadwaj S., Jain K., Parashar B., Gupta G.D., Sharma V.K. Microwave Assisted Synthesis of 4-(substituted benzylidene)-1-(5-mercapto-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-2-phenyl-1 H-imidazol-5(4H)-one // *Asian J. Biochem. Pharm. Res.* 2011. T. 1. № 1. C. 139–146.

27. Bhardwaj S., Parashar N., Manisha, Gurg V. Synthesis and pharmacological properties of 4-(Substitutedbenzylidene)-2-phenyl-1-(5-(pyridin-4-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-1H-imidazol-5(4H)-one // *J. Chem. Biol. Phys. Sci.* 2011. T. 1. № 1. C. 50–59.

28. Bhardwaj S., Manisha, Parashar B. Green Chemical approach to synthesize 4-(Substitutedbenzylidene)-2-phenyl-1-(5-phenylthiazol-2-yl)-1H-imidazol-5(4H)-one and its Antimicrobial studies // *Int. J. Green Herb. Chem.* 2012. T. 1. № 1. C. 1–8.

29. Bhatt P.V., Wadia D.N., Patel R.M., Patel P.M. Synthesis of some novel imidazolinone derivatives with dibenzo (b,f)azepine nucleus // *Asian J. Chem.* 2006. T. 18. № 1. C. 1248–1254.

30. Bishnoi A., Srivastava K., Singh S., Mani Tripathi C. Facile synthesis of 3-(1-(4'-(3-chloro-2-(substituted phenyl)-4-oxoazetid-1-yl)biphenyl-4-yl)-5-oxo-2-phenyl-1H-imidazol-4(5H)-ylidene)indolin-2-ones and 3-(1-(3-chloro-2-(substituted phenyl)-4-oxoazetid-1-yl)-5-oxo-2-phenyl-1H-imidazol-4(5H)-ylidene) // *Eur. J. Chem.* 2011. T. 2. № 3. C. 359–364.

31. Bishnoi A., Srivastava K., Tripathi C.K.M. Antimicrobial activity of 1-[p{3'-(2'-aryl-4-oxo-1',3'-thiazolyl)} diphenyl]/[3'-(2'-aryl-4-oxo-1',3'-thiazolyl)]-2-phenyl-4-cyclohexylidene imidazol-5-ones // *Indian J. Chem.* 2006. T. 45B. C. 2136–2139.

32. Brakemann T., Stiel A.C., Weber G., Andresen M., Testa I., Grotjohann T., Leutenegger M., Plessmann U., Urlaub H., Eggeling C., Wahl M.C., Hell S.W., Jakobs S. A reversibly photoswitchable GFP-like protein with fluorescence excitation decoupled from switching // *Nat. Biotechnol.* 2011. T. 29. № 10. C. 942–947.

33. Burghart B., Kim H., Welch M.B., Thoresen L.H., Reibenspies J., Burgess K. 3,5-Diaryl-4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY) Dyes: Synthesis, Spectroscopic, Electrochemical, and Structural Properties // *J. Org. Chem.* 1999. T. 64. № 21. C. 7813–7819.

34. Buyukcakir O., Bozdemir O.A., Kolemen S., Erbas S., Akkaya E.U. Tetrastyril-Bodipy Dyes: Convenient Synthesis and Characterization of Elusive Near IR Fluorophores // *Org. Lett.* 2009. T. 11. № 20. C. 4644–4647.

35. Calitree B., Donnelly D.J., Holt J.J., Gannon M.K., Nygren C.L., Sukumaran D.K., Autschbach J., Detty M.R. Tellurium analogues of rosamine and rhodamine dyes: Synthesis, structure,

125Te NMR, and heteroatom contributions to excitation energies // *Organometallics*. 2007. T. 26. № 25. C. 6248–6257.

36. Chai X., Cui X., Wang B., Yang F., Cai Y., Wu Q., Wang T. Near-Infrared Phosphorus-Substituted Rhodamine with Emission Wavelength above 700nm for Bioimaging // *Chemistry (Easton)*. 2015. T. 21. № 47. C. 16754–16758.

37. Chatterjee T., Roy D., Das A., Ghosh A., Bag P.P., Mandal P.K. Chemical tweaking of a non-fluorescent GFP chromophore to a highly fluorescent coumarinic fluorophore: application towards photo-uncaging and stem cell imaging // *RSC Adv*. 2013. T. 3. № 46. C. 24021–24024.

38. Chatterjee T., Mandal M., Gude V., Bag P.P., Mandal P.K. Strong Electron Donation Induced Differential Nonradiative Decay Pathways for para and meta GFP Chromophore Analogues // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015. T. 17. № 32. C. 20515–20521.

39. Chavez F., Pavy C., Williamson T., Cleary T. A Practical and Efficient Synthesis of 2,5-Disubstituted-3,5-dihydro-imidazol-4-ones from Oxazolones // *Synth. Commun.* 2012. T. 42. № 22. C. 3321–3327.

40. Chen J., Burghart A., Derecskei-Kovacs A., Burgess K. 4,4-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY) dyes modified for extended conjugation and restricted bond rotations // *J. Org. Chem.* 2000. T. 65. № 10. C. 2900–2906.

41. Chen J., Mizumura M., Shinokubo H., Osuka A. Functionalization of Boron Dipyrin (BODIPY) Dyes through Iridium and Rhodium Catalysis: A Complementary Approach to α - and β -Substituted BODIPYs // *Chem. - A Eur. J.* 2009. T. 15. № 24. C. 5942–5949.

42. Chen K.Y., Cheng Y.M., Lai C.H., Hsu C.C., Ho M.L., Lee G.H., Chou P.T. Ortho green fluorescence protein synthetic chromophore; excited-state intramolecular proton transfer via a seven-membered-ring hydrogen-bonding system // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. T. 129. № 15. C. 4534–4535.

43. Chen X., Pradhan T., Wang F., Kim J.S., Yoon J. Fluorescent chemosensors based on spiroring-opening of xanthenes and related derivatives // *Chem. Rev.* 2012. T. 112. № 3. C. 1910–1956.

44. Chevalier A., Renard P.Y., Romieu A. Straightforward access to water-soluble unsymmetrical sulfoxanthene dyes: application to the preparation of far-red fluorescent dyes with large stokes' shifts // *Chemistry (Easton)*. 2014. T. 20. № 27. C. 8330–8337.

45. Chevalier A., Renault K., Boschetti F., Renard P.Y., Romieu A. Rapid synthesis of unsymmetrical sulforhodamines through nucleophilic amination of a monobrominated sulfoxanthene dye // *European J. Org. Chem.* 2015. T. 2015. № 1. C. 152–165.

46. Chuang W.-T., Chen B.-S., Chen K.-Y., Hsieh C.-C., Chou P.-T. Fluorescent protein red Kaede chromophore; one-step, high-yield synthesis and potential application for solar cells // *Chem.*

Commun. 2009. № 45. C. 6982–6984.

47. Chuang W.-T., Hsieh C.-C., Lai C.-H., Lai C.-H., Shih C.-W., Chen K.-Y., Hung W.-Y., Hsu Y.-H., Chou P.-T. Excited-state intramolecular proton transfer molecules bearing o-hydroxy analogues of green fluorescent protein chromophore // *J. Org. Chem.* 2011. T. 76. № 20. C. 8189–8202.

48. Chung C., Srikun D., Lim C.S., Chang C.J., Cho B.R. A two-photon fluorescent probe for ratiometric imaging of hydrogen peroxide in live tissue // *Chem. Commun.* 2011. T. 47. № 34. C. 9618–9620.

49. Clark T.B., Orr M.E., Flynn D.C., Goodson T. Synthesis and optical properties of two-photon absorbing GFP-type probes // *J. Phys. Chem. C.* 2011. T. 115. № 15. C. 7331–7338.

50. Deng H., Su Y., Hu M., Jin X., He L., Pang Y., Dong R., Zhu X. Multicolor Fluorescent Polymers Inspired from Green Fluorescent Protein // *Macromolecules.* 2015. T. 48. № 16. C. 5969–5979.

51. Desai N.C., Joshi V. V., Rajpara K.M., Vaghani H. V., Satodiya H.M. Microwave-assisted synthesis and antimicrobial screening of new imidazole derivatives bearing 4-thiazolidinone nucleus // *Med. Chem. Res.* 2013. T. 22. № 4. C. 1893–1908.

52. Descalzo A.B., Xu H.J., Xue Z.L., Hoffmann K., Shen Z., Weller M.G., You X.Z., Rurack K. Phenanthrene-fused boron-dipyrromethenes as bright long-wavelength fluorophores // *Org. Lett.* 2008. T. 10. № 7. C. 1581–1584.

53. Dhingra A.K., Chopra B., Dass R., Mittal S.K., Dhingra A.K., Chopra B., Dass R., Mittal S.K. Synthesis, antimicrobial and anti-inflammatory activities of some novel 5-substituted imidazolone analogs // *Chinese Chem. Lett.* 2016. T. 27. № 5. C. 707–710.

54. Dong J., Solntsev K.M., Tolbert L.M. Solvatochromism of the green fluorescence protein chromophore and its derivatives // *J. Am. Chem. Soc.* 2006. T. 128. № 37. C. 12038–12039.

55. Dong J., Solntsev K.M., Tolbert L.M. Activation and tuning of green fluorescent protein chromophore emission by alkyl substituent-mediated crystal packing // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. T. 131. № 2. C. 662–670.

56. Dong J., Solntsev K.M., Poizat O., Tolbert L.M. The meta-green fluorescent protein chromophore // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. T. 129. № 33. C. 10084–10085.

57. Dong J., Abulwerdi F., Baldrige A., Kowalik J., Solntsev K.M., Tolbert L.M. Isomerization in Fluorescent Protein Chromophores Involves Addition / Elimination // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. T. 130. № 43. C. 14096–14098.

58. Duan Y., Liu M., Sun W., Wang M., Liu S., Li Q. Recent Progress on Synthesis of Fluorescein Probes // *Mini. Rev. Org. Chem.* 2009. T. 6. № 1. C. 35–43.

59. El-Araby M., Omar A., Hassanein H.H., El-Helby A.G.H., Abdel-Rahman A.A. Design,

synthesis and in vivo anti-inflammatory activities of 2,4-diaryl-5-4H-imidazolone derivatives // *Molecules*. 2012. T. 17. № 10. C. 12262–12275.

60. El-Barbary A.A., El-Shehawy A.A., Abdo N.I. Synthesis and Antimicrobial Activities of Some 6-Methyl-3-Thioxo-2,3-Dihydro-1,2,4-Triazine Derivatives // *Phosphorus. Sulfur. Silicon Relat. Elem.* 2014. T. 189. № 3. C. 400–409.

61. Farag A.A., Khalifa E.M., Sadik N.A., Abbas S.Y., Al-Sehemi A.G., Ammar Y.A. Synthesis, characterization, and evaluation of some novel 4(3H)-quinazolinone derivatives as anti-inflammatory and analgesic agents // *Med. Chem. Res.* 2013. T. 22. № 1. C. 440–452.

62. Flocks M., Miller J., Chao P. Retinal circulation time with the aid of fundus cinephotography // *Am. J. Ophthalmol.* 1959. T. 48. № 1, Part 2. C. 3–10.

63. Fozooni S., Tikdari A.M. Microwave-assisted graphite-support synthesis of imidazolones // *Catal. Letters*. 2008. T. 120. № 3–4. C. 303–306.

64. Frizler M., Yampolsky I. V., Baranov M.S., Stirnberg M., Gütschow M. Chemical introduction of the green fluorescence: imaging of cysteine cathepsins by an irreversibly locked GFP fluorophore // *Org. Biomol. Chem.* 2013. T. 11. № 35. C. 5913–5921.

65. Fu M., Xiao Y., Qian X., Zhao D., Xu Y. A design concept of long-wavelength fluorescent analogs of rhodamine dyes: replacement of oxygen with silicon atom // *Chem. Commun.* 2008. № 15. C. 1780–1782.

66. Gabe Y., Ueno T., Urano Y., Kojima H., Nagano T. Tunable design strategy for fluorescence probes based on 4-substituted BODIPY chromophore: improvement of highly sensitive fluorescence probe for nitric oxide // *Anal. Bioanal. Chem.* 2006. T. 386. № 3. C. 621–626.

67. Gabillet S., Loreau O., Specklin S., Rasalofonjatovo E., Taran F. A phosphine-catalyzed preparation of 4-Arylidene-5-imidazolones // *J. Org. Chem.* 2014. T. 79. № 20. C. 9894–9898.

68. Galangau O., Dumas-Verdes C., Méallet-Renault R., Clavier G. Rational design of visible and NIR distyryl-BODIPY dyes from a novel fluorinated platform // *Org. Biomol. Chem.* 2010. T. 8. № 20. C. 4546–4553.

69. Gannon M.K., Holt J.J., Bennett S.M., Wetzel B.R., Loo T.W., Bartlett M.C., Clarke D.M., Sawada G.A., Higgins W., Tomblin G., Raub T.J., Detty M.R. Rhodamine Inhibitors of P-Glycoprotein: An Amide / Thioamide “ Switch ” for ATPase Activity // *J. Med. Chem.* 2009. T. 52. № 10. C. 3328–3341.

70. Garner A.L., Koide K. Oxidation state-specific fluorescent method for palladium(II) and platinum(IV) based on the catalyzed aromatic claisen rearrangement // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. T. 130. № 49. C. 16472–16473.

71. Georgey H. Synthesis, cytotoxic activity and 2D-QSAR study of some imidazoquinazoline

derivatives // *Molecules*. 2014. T. 19. № 3. C. 3777–3792.

72. Ghodbane A., Brett Fellows W., Bright J.R., Ghosh D., Saffon N., Tolbert L.M., Fery-Forgues S., Solntsev K.M. Effects of the benzoxazole group on green fluorescent protein chromophore crystal structure and solid state photophysics // *J. Mater. Chem. C*. 2016. T. 4. № 14. C. 2793–2801.

73. Gong X., Yang H., Liu H., Jiang Y., Zhao Y., Fu H. Simple and efficient copper-catalyzed approach to 2,4-disubstituted imidazolones // *Org. Lett.* 2010. T. 12. № 14. C. 3128–3131.

74. Gosling S., Rollin P., Tatibouët A. Thiohydantoins: Selective N- and S-functionalization for Liebeskind-Srogl reaction study // *Synthesis (Stuttg)*. 2011. № 22. C. 3649–3660.

75. Goze C., Ulrich G., Mallon L.J., Allen B.D., Harriman A., Ziesel R. Synthesis and photophysical properties of borondipyrromethene dyes bearing aryl substituents at the boron center // *J. Am. Chem. Soc.* 2006. T. 128. № 31. C. 10231–10239.

76. Grimm J.B., Lavis L.D. Synthesis of rhodamines from fluoresceins using pd-catalyzed c-n cross-coupling // *Org. Lett.* 2011. T. 13. № 24. C. 6354–6357.

77. Grimm J.B., Sung A.J., Legant W.R., Hulamm P., Matlosz S.M., Betzig E., Lavis L.D. Carbofluoresceins and Carborhodamines as Scaffolds for High-Contrast Fluorogenic Probes // *ACS Chem. Biol.* 2013. T. 8. № 6. C. 1303–1310.

78. Grimm J.B., English B.P., Chen J., Slaughter J.P., Zhang Z., Revyakin A., Patel R., Macklin J.J., Normanno D., Singer R.H., Lionnet T., Lavis L.D. A general method to improve fluorophores for live-cell and single-molecule microscopy // *Nat. Methods*. 2015. T. 12. № 3. C. 244–250.

79. Grimm J.B., English B.P., Choi H., Muthusamy A.K., Mehl B.P., Dong P., Brown T.A., Lippincott-Schwartz J., Liu Z., Lionnet T., Lavis L.D. Bright photoactivatable fluorophores for single-molecule imaging // *Nat. Methods*. 2016. T. 13. № 12. C. 985–988.

80. Habuchi S., Kim H.-B., Noboru K. Water Structures in Ion-Exchange Resin Particles: Solvation Dynamics of Nile Blue A // *Anal. Chem.* 2001. T. 73. № 2. C. 366–372.

81. Hamama W.S., Gouda M.A., Badr M.H., Zoorob H.H. Synthesis of Some New Fused and Binary 1,3,4-Thiadiazoles as Potential Antitumor and Antioxidant Agents // *J. Heterocycl. Chem.* 2013. T. 50. № 4. C. 787–794.

82. Han K.Y., Leslie B.J., Fei J., Zhang J., Ha T. Understanding the photophysics of the Spinach-DFHBI RNA aptamer-fluorogen complex to improve live-cell RNA imaging // *J. Am. Chem. Soc.* 2013. T. 135. № 50. C. 19033–19038.

83. Hassanein H.H., Khalifa M.M., El-Samaloty O.N., El-Rahim M.A., Taha R.A., Ismail M.M.F. Synthesis and biological evaluation of novel imidazolone derivatives as potential COX-2 inhibitors // *Arch. Pharm. Res.* 2008. T. 31. № 5. C. 562–568.

84. Hayashi Y., Obata N., Tamaru M., Yamaguchi S., Matsuo Y., Saeki A., Seki S., Kureishi Y.,

Saito S., Yamaguchi S., Shinokubo H. Facile Synthesis of Biphenyl-Fused BODIPY and Its Property // *Org. Lett.* 2012. T. 14. № 3. C. 866–869.

85. Hsu Y.-H., Chen Y.-A., Tseng H.-W., Zhang Z., Shen J.-Y., Chuang W.-T., Lin T.-C., Lee C.-S., Hung W.-Y., Hong B.-C., Liu S.-H., Chou P.-T. Locked ortho - and para -Core Chromophores of Green Fluorescent Protein; Dramatic Emission Enhancement via Structural Constraint // *J. Am. Chem. Soc.* 2014. T. 136. № 33. C. 11805–11812.

86. Huang G., Zhang G., Wu Y., Liao Q., Fu H., Zhang D. Modification of the Green Fluorescent Protein Chromophore with Large Aromatic Moieties: Photophysical Study and Solid-State Emission // *Asian J. Org. Chem.* 2012a. T. 1. № 4. C. 352–358.

87. Huang G.J., Yang J.S. The N-arylamino conjugation effect in the photochemistry of fluorescent protein chromophores and aminostilbenes // *Chem. - An Asian J.* 2010. T. 5. № 9. C. 2075–2085.

88. Huang G.J., Ho J.H., Prabhakar C., Liu Y.H., Peng S.M., Yang J.S. Site-selective hydrogen-bonding-induced fluorescence quenching of highly solvatofluorochromic GFP-like chromophores // *Org. Lett.* 2012b. T. 14. № 19. C. 5034–5037.

89. Ikejiri M., Tsuchino M., Chihara Y., Yamaguchi T., Imanishi T., Obika S., Miyashita K. Design and Concise Synthesis of a Novel Type of Green Fluorescent Protein Chromophore Analogue // *Org. Lett.* 2012. T. 14. № 17. C. 4406–4409.

90. Ikejiri M., Matsumoto K., Hasegawa H., Yamaguchi D., Tsuchino M., Chihara Y., Yamaguchi T., Mori K., Imanishi T., Obika S., Miyashita K. Synthesis and fluorescence properties of 4-diarylmethylene analogues of the green fluorescent protein chromophore // *Tetrahedron.* 2015. T. 71. № 30. C. 4987–4998.

91. Jia Q., Yang G., Chen L., Du Z., Wei J., Zhong Y., Wang J. A Facile One-Pot Metal-Free Synthesis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles // *European J. Org. Chem.* 2015. T. 2015. № 16. C. 3435–3440.

92. Jiang X.-D., Zhang H., Zhang Y., Zhao W. Development of non-symmetric thiophene-fused BODIPYs // *Tetrahedron.* 2012. T. 68. № 47. C. 9795–9801.

93. Jiao C., Huang K.-W., Wu J. Perylene-Fused BODIPY Dye with Near-IR Absorption/Emission and High Photostability // *Org. Lett.* 2011. T. 13. № 4. C. 632–635.

94. Jiao L., Yu C., Liu M., Wu Y., Cong K., Meng T., Wang Y., Hao E. Long wavelength red fluorescent dyes from 3,5-diiodo-BODIPYs // *Org. Biomol. Chem.* 2010a. T. 8. № 11. C. 2517–2519.

95. Jiao L., Yu C., Liu M., Wu Y., Cong K., Meng T., Wang Y., Hao E. Synthesis and functionalization of asymmetrical benzo-fused BODIPY dyes // *J. Org. Chem.* 2010b. T. 75. № 17. C. 6035–6038.

96. Kamino S., Murakami M., Tanioka M., Shirasaki Y., Watanabe K., Horigome J., Ooyama Y., Enomoto S. Design and syntheses of highly emissive aminobenzopyrano-xanthene dyes in the visible and far-red regions // *Org. Lett.* 2014. T. 16. № 1. C. 258–261.
97. Kamino S., Horio Y., Komeda S., Minoura K., Ichikawa H., Horigome J., Tatsumi A., Kaji S., Yamaguchi T., Usami Y., Hirota S., Enomoto S., Fujita Y. A new class of rhodamine luminophores: design, syntheses and aggregation-induced emission enhancement // *Chem. Commun. (Camb)*. 2010. T. 46. № 47. C. 9013–9015.
98. Katritzky A.R., Yoshioka-Tarver M., El-Gendy B.E.D.M., Hall C.D. Synthesis and photochemistry of pH-sensitive GFP chromophore analogs // *Tetrahedron Lett.* 2011. T. 52. № 17. C. 2224–2227.
99. Kee H.L., Kirmaier C., Yu L., Thamyongkit P., Youngblood W.J., Calder M.E., Ramos L., Noll B.C., Bocian D.F., Scheidt W.R., Birge R.R., Lindsey J.S., Holten D. Structural Control of the Photodynamics of Boron - Dipyrrin Complexes // *J. Phys. Chem. B.* 2005. T. 109. № 43. C. 20433–20443.
100. Khalifa M.M., Abdelbaky N.A. Synthesis of new imidazolyl acetic acid derivatives with anti-inflammatory and analgesic activities // *Arch. Pharm. Res.* 2008. T. 31. № 4. C. 419–423.
101. Khalifa M.M.A., Baset M.A., El-Eraky W. Synthesis and anticonvulsant activity of novel imidazol“5(4H)”one and 5-oxo-4,5-dihydroimidazol-1-yl)propanamide derivatives // *Med. Chem. Res.* 2012. T. 21. № 12. C. 4447–4454.
102. Khan K.M., Mughal U.R., Khan S., Khan S., Perveen S., Choudhary M.I. Synthesis and Antibacterial and Antifungal Activity of 5-Substituted Imidazolones // *Lett. Drug Des. Discov.* 2009. T. 6. № 1. C. 69–77.
103. Khan K.M., Mughal U.R., Ambreen N., Samreen, Perveen S., Choudhary M.I. Synthesis and leishmanicidal activity of 2,3,4-substituted-5-imidazolones // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2010. T. 25. № 1. C. 29–37.
104. Kim H.N., Lee M.H., Kim H.J., Kim J.S., Yoon J. A new trend in rhodamine-based chemosensors: application of spirolactam ring-opening to sensing ions // *Chem. Soc. Rev.* 2008. T. 37. № 8. C. 1465–1472.
105. Kiselyov A.S., Semenova M., Semenov V. V. (1,2,3-Triazol-4-yl)benzenamines: synthesis and activity against VEGF receptors 1 and 2 // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009. T. 19. № 5. C. 1344–1348.
106. Koide K., Song F., Groh E.D. De, Garner A.L., Mitchell V.D., Davidson L.A., Hukriede N.A. Scalable and concise synthesis of dichlorofluorescein derivatives displaying tissue permeation in live zebrafish embryos // *ChemBioChem.* 2008. T. 9. № 2. C. 214–218.

107. Koide Y., Urano Y., Hanaoka K., Terai T., Nagano T. Evolution of group 14 rhodamines as platforms for near-infrared fluorescence probes utilizing photoinduced electron transfer // *ACS Chem. Biol.* 2011. T. 6. № 6. C. 600–608.
108. Koide Y., Urano Y., Hanaoka K., Piao W., Kusakabe M., Saito N., Terai T., Okabe T., Nagano T. Development of NIR Fluorescent Dyes Based on Si – rhodamine for in Vivo Imaging // *J. Am. Chem. Soc.* 2012a. T. 134. № 11. C. 5029–5031.
109. Koide Y., Kawaguchi M., Urano Y., Hanaoka K., Komatsu T., Abo M., Terai T., Nagano T. A reversible near-infrared fluorescence probe for reactive oxygen species based on Te–rhodamine // *Chem. Commun.* 2012b. T. 48. № 25. C. 3091–3093.
110. Kolmakov K., Belov V.N., Bierwagen J., Ringemann C., Müller V., Eggeling C., Hell S.W. Red-emitting rhodamine dyes for fluorescence microscopy and nanoscopy // *Chem. - A Eur. J.* 2010. T. 16. № 1. C. 158–166.
111. Kowada T., Yamaguchi S., Fujinaga H., Ohe K. Near-infrared BODIPY dyes modulated with spirofluorene moieties // *Tetrahedron.* 2011. T. 67. № 17. C. 3105–3110.
112. Kowada T., Yamaguchi S., Ohe K. Highly Fluorescent BODIPY Dyes Modulated with Spirofluorene Moieties // *Org. Lett.* 2010. T. 12. № 2. C. 296–299.
113. Kryman M.W., Schamerhorn G.A., Yung K., Sathyamoorthy B., Sukumaran D.K., Ohulchanskyy T.Y., Benedict J.B., Detty M.R. Organotellurium fluorescence probes for redox reactions: 9-aryl-3,6-diaminotelluroxanthylum dyes and their telluroxides // *Organometallics.* 2013. T. 32. № 15. C. 4321–4333.
114. Kryman M.W., Schamerhorn G.A., Hill J.E., Calitree B.D., Davies K.S., Linder M.K., Ohulchanskyy T.Y., Detty M.R. Synthesis and properties of heavy chalcogen analogues of the texas reds and related rhodamines // *Organometallics.* 2014. T. 33. № 10. C. 2628–2640.
115. Kryman M.W., McCormick T.M., Detty M.R. Longer-Wavelength-Absorbing, Extended Chalcogenorhodamine Dyes // *Organometallics.* 2016. T. 35. № 11. C. 1944–1955.
116. Kucherak O.A., Oncul S., Darwich Z., Yushchenko D.A., Arntz Y., Didier P., Mély Y., Klymchenko A.S. Switchable Nile Red-Based Probe for Cholesterol and Lipid Order at the Outer Leaflet of Biomembranes // *J. Am. Chem. Soc.* 2010. T. 132. № 13. C. 4907–4916.
117. Kushida Y., Nagano T., Hanaoka K. Silicon-substituted xanthene dyes and their applications in bioimaging // *Analyst.* 2015. T. 140. № 3. C. 685–695.
118. Lefevre C., Kang H.C., Haugland R.P., Malekzadeh N., Arttamangkul S., Haugland R.P. Texas Red-X and Rhodamine Red-X, New Derivatives of Sulforhodamine 101 and Lissamine Rhodamine B with Improved Labeling and Fluorescence Properties // *Bioconjugate Chem.* 1996. T. 7. № 4. C. 482–489.

119. Lerestif J.M., Bazureau J.P., Hamelin J. Cycloaddition with stabilized imidates as potential azomethines ylides: A new route to 2-imidazoline and 4-yliden-s-imidazolinone // *Tetrahedron Lett.* 1993. T. 34. № 29. C. 4639–4642.
120. Lill A.P., Rödl C.B., Steinhilber D., Stark H., Hofmann B. Development and evaluation of ST-1829 based on 5-benzylidene-2-phenylthiazolones as promising agent for anti-leukotriene therapy // *Eur. J. Med. Chem.* 2015. T. 89. C. 503–523.
121. Lissi E.A., Abuin E.B., Rubio M.A., Cerón A. Fluorescence of Prodan and Laurdan in AOT/Heptane/Water Microemulsions: Partitioning of the Probes and Characterization of Microenvironments // *Langmuir.* 2000. T. 16. № 1. C. 178–181.
122. Liu J., Sun Y.Q., Zhang H., Shi H., Shi Y., Guo W. Sulfone-rhodamines: A new class of near-infrared fluorescent dyes for bioimaging // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2016. T. 8. № 35. C. 22953–22962.
123. Liu J., Diwu Z., Leung W.-Y., Lu Y., Patch B., Haugland R.P. Rational design and synthesis of a novel class of highly fluorescent rhodamine dyes that have strong absorption at long wavelengths // *Tetrahedron Lett.* 2003. T. 44. № 23. C. 4355–4359.
124. Lobo B.C., Abelt C.J. Does PRODAN Possess a Planar or Twisted Charge-Transfer Excited State? Photophysical Properties of Two PRODAN Derivatives // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. T. 107. № 50. C. 10938–10943.
125. Lokhandwala S., Parekh N.M. Synthesis and microbial studies of imidazolone based azetidione analogues // *Der Pharma Chem.* 2014. T. 6. № 6. C. 139–142.
126. Lokhandwala S., Rai S. Synthesis And In Vitro Microbial Evaluation Of Some Novel Imidazol-5-one Derivatives // *Int. J. ChemTech Res.* 2013. T. 5. № 5. C. 2609–2613.
127. Lu C., Guo Y., Li J., Yao M., Liao Q., Xie Z., Li X. Design, synthesis, and evaluation of resveratrol derivatives as A β 1–42 aggregation inhibitors, antioxidants, and neuroprotective agents // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012. T. 22. № 24. C. 7683–7687.
128. Lu H., Shimizu S., Mack J., Shen Z., Kobayashi N. Synthesis and Spectroscopic Properties of Fused-Ring-Expanded Aza-Boradiazaindacenes // *Chem. - An Asian J.* 2011. T. 6. № 4. C. 1026–1037.
129. McCusker E.O.B., Scheidt K.A. Enantioselective N-heterocyclic carbene catalyzed annulation reactions with imidazolidinones // *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2013. T. 52. № 51. C. 13616–13620.
130. Mesaik M.A., Khan K.M., Rahat S., Zia-Ullah, Choudhary M.I., Murad S., Abdullah N.R., Ismail Z., Atta-Ur-Rahman, Ahmad A., Siddiqui R.A. Immunomodulatory properties of synthetic imidazolone derivatives // *Lett. Drug Des. Discov.* 2005. T. 2. № 6. C. 490–496.

131. Mistry R.N., Desai K.R. Studies on Synthesis of Some Novel Heterocyclic Azlactone Derivatives and Imidazolinone Derivatives and their Antimicrobial Activity // *E-Journal Chem.* 2005. T. 2. № 1. C. 42–51.
132. Mohamed M.S., Mahmoud R.K., Sayed A.I., El-araby M.E. Potent Anticonvulsant 1H-Imidazol-5(4H)-One Derivatives with Low Neurotoxicity // *Open J. Med. Chem.* 2012. T. 2. № 2. C. 24–29.
133. Mokale S.N., Lokwani D., Shinde D.B. Synthesis, biological activity and docking study of imidazol-5-one as novel non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors // *Bioorg. Med. Chem.* 2012. T. 20. № 9. C. 3119–3127.
134. Mokale S.N., Lokwani D.K., Shinde D.B. Synthesis, in-vitro reverse transcriptase inhibitory activity and docking study of some new imidazol-5-one analogs // *Med. Chem. Res.* 2014. T. 23. № 8. C. 3752–3764.
135. Moorkoth S., Srinivasan K.K., Gopalan Kutty N., Joseph A., Naseer M. Synthesis and evaluation of a series of novel imidazolidinone analogues of 6-aminoflavone as anticancer and anti-inflammatory agents // *Med. Chem. Res.* 2013. T. 22. № 10. C. 5066–5075.
136. Moorthy N.S., Saxena V., Karthikeyan C., Trivedi P. Synthesis, in silico metabolic and toxicity prediction of some novel imidazolinones derivatives as potent anticonvulsant agents // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2012. T. 27. № 2. C. 201–207.
137. Mottram L.F., Boonyarattanakalin S., Kovel R.E., Peterson B.R. The Pennsylvania Green fluorophore: A hybrid of Oregon Green and Tokyo Green for the construction of hydrophobic and pH-insensitive molecular probes // *Org. Lett.* 2006. T. 8. № 4. C. 581–584.
138. Mottram L.F., Forbes S., Ackley B.D., Peterson B.R. Hydrophobic analogues of rhodamine B and rhodamine 101: potent fluorescent probes of mitochondria in living *C. elegans* // *Beilstein J. Org. Chem.* 2012. T. 8. № 1. C. 2156–2165.
139. Naganagowda G., Thamyongkit P., Petsom A. Synthesis and Antimicrobial Activity of Oxazolone, Imidazolone and Triazine Derivatives Containing Benzothiophene // *J. Korean Chem. Soc.* 2011. T. 55. № 5. C. 794–804.
140. Nakamura M., Tahara H., Takahashi K., Nagata T., Uoyama H., Kuzuhara D., Mori S., Okujima T., Yamada H., Uno H. π -Fused bis-BODIPY as a candidate for NIR dyes // *Org. Biomol. Chem.* 2012. T. 10. № 34. C. 6840–6849.
141. Ni Y., Zeng W., Huang K.-W., Wu J. Benzene-fused BODIPYs: synthesis and the impact of fusion mode // *Chem. Commun.* 2013. T. 49. № 12. C. 1217–1219.
142. Nies P. van, Nourian Z., Kok M., Wijk R. van, Moeskops J., Westerlaken I., Poolman J.M., Eelkema R., Esch J.H. van, Kuruma Y., Ueda T., Danelon C. Unbiased Tracking of the Progression of

mRNA and Protein Synthesis in Bulk and in Liposome-Confined Reactions // *ChemBioChem*. 2013. T. 14. № 15. C. 1963–1966.

143. Norton E.W., Gass J.D., Smith J.L., Curtin V.T., David N.J., Justice J. Macular diseases: diagnosis. Fluorescein in the study of macular disease // *Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol.* 1965. T. 69. C. 631–642.

144. Novotny H.R., Alvis D.L. A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina // *Circulation*. 1961. T. 24. C. 82–86.

145. Ohulchanskyy T.Y., Donnelly D.J., Detty M.R., Prasad P.N. Heteroatom substitution induced changes in excited-state photophysics and singlet oxygen generation in chalcogenoxanthylum dyes: Effect of sulfur and selenium substitutions // *J. Phys. Chem. B*. 2004. T. 108. № 25. C. 8668–8672.

146. Okujima T., Tomimori Y., Nakamura J., Yamada H., Uno H., Ono N. Synthesis of p-expanded BODIPYs and their fluorescent properties in the visible-near-infrared region // *Tetrahedron*. 2010. T. 66. № 34. C. 6895–6900.

147. Oumouch S., Bourotte M., Schmitt M., Bourguignon J.J. An expeditious synthesis of 2,4-disubstituted 2-imidazolin-5-ones // *Synthesis (Stuttg)*. 2005. № 1. C. 25–27.

148. Paige J.S., Wu K.Y., Jaffrey S.R. RNA Mimics of Green Fluorescent Protein // *Science (80- .)*. 2011. T. 333. C. 642–646.

149. Parab R.H., Chudasama C.J., Patel H.N., Dixit B.C., Desai D.J. Synthesis, Characterization and Biological Evaluation of Quinoline Based Imidazole Derivatives // *Asian J. Chem*. 2010. T. 22. № 10. C. 7641–7647.

150. Parab R.H., Dixit B.C., Desai D.J. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Imidazole Derivatives // *Asian J. Chem*. 2011. T. 23. № 6. C. 2725–2728.

151. Pastierik T., Šebej P., Medalová J., Štacko P., Klán P. Near-infrared fluorescent 9-phenylethynylpyronin analogues for bioimaging // *J. Org. Chem*. 2014. T. 79. № 8. C. 3374–3382.

152. Patel K., Jayachandran E., Shah R., Javali V., Sreenivasa G.M. Synthesis, characterization and anthelmintic activity (perituma posthuma) of new oxadiazole incorporated with imidazole and pyrazole // *Int. J. Pharma Bio Sci*. 2010. T. 1. № 3. C. 1–13.

153. Patel N.B., Patel H.R. Design and Synthesis of New Imidazolinone Derivatives as Potential Antifungal Agents // *J. Heterocycl. Chem*. 2011. T. 48. № 2. C. 373–380.

154. Peng H., Chen W., Cheng Y., Hakuna L., Strongin R., Wang B., Peng H., Chen W., Cheng Y., Hakuna L., Strongin R., Wang B. Thiol Reactive Probes and Chemosensors // *Sensors*. 2012. T. 12. № 11. C. 15907–15946.

155. Peng T., Yang D. Construction of a library of rhodol fluorophores for developing new

fluorescent probes // *Org. Lett.* 2010. T. 12. № 3. C. 496–499.

156. Poirel A., Nicola A. De, Ziessel R. Oligothiényl-BODIPYs: Red and Near-Infrared Emitters // *Org. Lett.* 2012. T. 14. № 22. C. 5696–5699.

157. Prüger B., Bach T. Synthesis of model chromophores related to the gold fluorescent protein (GdFP) // *Synthesis (Stuttg.)* 2007. № 7. C. 1103–1106.

158. Rafiq S., Rajbongshi B.K., Nair N.N., Sen P., Ramanathan G. Excited State Relaxation Dynamics of Model Green Fluorescent Protein Chromophore Analogs: Evidence for Cis - Trans Isomerism // *J. Phys. Chem. A* 2011. T. 115. № 47. C. 13733–13742.

159. Raghavendra P., Veena G., Arun Kumar G., Raj Kumar E., Sangeetha N., Sirivennela B., Smarani S., Praneeth Kumar H., Suthakaran R. Microwave synthesis and anti-inflammatory evaluation of some new imidazolo quinoline analogs // *Rasayan J. Chem.* 2011. T. 4. № 1. C. 91–102.

160. Rajbongshi B.K., Nair N.N., Nethaji M., Ramanathan G. Segregation into chiral enantiomeric conformations of an achiral molecule by concomitant polymorphism // *Cryst. Growth Des.* 2012. T. 12. № 4. C. 1823–1829.

161. Rao A.S., Kim D., Wang T., Kim K.H., Hwang S., Ahn K.H. Reaction-Based Two-Photon Probes for Mercury Ions: Fluorescence Imaging with Dual Optical Windows // *Org. Lett.* 2012. T. 14. № 10. C. 2598–2601.

162. Rathore D.K., Sharma V.K. Environmental Benign Synthesis, Characterization and Prediction of Biological activity of some Novel Imidazole Derivatives by Computer System PASS // *Int. J. ChemTech Res.* 2014. T. 6. № 2. C. 891–898.

163. Reddy V.R., Rao N.R., Reddy R.R., Suthakaran R. Microwave Assisted Synthesis, Characterization and Pharmacological Evaluation of Imidazolo Quinazoline-4-one Derivatives // *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2014. T. 29. № 2. C. 1–4.

164. Riedl J., Ménová P., Pohl R., Orság P., Fojta M., Hocek M. GFP-like fluorophores as DNA labels for studying DNA-protein interactions // *J. Org. Chem.* 2012. T. 77. № 18. C. 8287–8293.

165. Rihn S., Retailleau P., Bugsaliewicz N., Nicola A. De, Ziessel R. Versatile synthetic methods for the engineering of thiophene-substituted Bodipy dyes // *Tetrahedron Lett.* 2009. T. 50. № 50. C. 7008–7013.

166. Rohand T., Qin W., Boens N., Dehaen W. Palladium-Catalyzed Coupling Reactions for the Functionalization of BODIPY Dyes with Fluorescence Spanning the Visible Spectrum // *European J. Org. Chem.* 2006. T. 2006. № 20. C. 4658–4663.

167. Rurack K., Kollmannsberger M., Daub J. Molecular Switching in the Near Infrared (NIR) with a Functionalized Boron-Dipyrromethene Dye // *Angew. Chemie Int. Ed.* 2001. T. 40. № 2. C. 385–387.

168. Sadula A., Peddaboina U.R., Subhashini N.J P. Synthesis and characterization of novel chalcone linked imidazolones as potential antimicrobial and antioxidant agents // *Med. Chem. Res.* 2015. T. 24. № 2. C. 851–859.
169. Salim M.M., Owens E.A., Gao T., Lee J.H., Hyun H., Choi H.S., Henary M. Hydroxylated near-infrared BODIPY fluorophores as intracellular pH sensors // *Analyst.* 2014. T. 139. № 19. C. 4862–4873.
170. Samanta S.R., Silva J.P. Da, Baldrige A., Tolbert L.M., Ramamurthy V. A latent reaction in a model GFP chromophore revealed upon confinement: Photohydroxylation of ortho -halo benzylidene-3-methylimidazolidiones via an electrocyclization process // *Org. Lett.* 2014. T. 16. № 12. C. 3304–3307.
171. Sathe B.S., Jaychandran E., Jagtap V.A., Deshmukh S.D. Synthesis and antifungal screening of fluorobenzothiazoloimidazole derivatives // *Der Pharma Chem.* 2011a. T. 3. № 2. C. 305–309.
172. Sathe B.S., Jaychandran E., Sreenivasa G.M., Jagtap V.A. Antimycobacterial activity of some synthesized fluorinated benzothiazoloimidazole compounds // *E-Journal Chem.* 2011b. T. 8. № 2. C. 830–834.
173. Sathe B.S., Jaychandran E., Jagtap V.A., Sreenivasa G.M. Antimycobacterial activity of some synthesized 2-[21-phenyl-41-benzylidenyl-51-oxo-imidazoline-1-ylamino]-6-fluoro-7-substituted-1,3-benzothiazoles // *Int. J. Pharma Bio Sci.* 2010. T. 1. № 4. C. 139–143.
174. Savarese M., Aliberti A., Santo I. De, Battista E., Causa F., Netti P.A., Rega N. Fluorescence Lifetimes and Quantum Yields of Rhodamine Derivatives : New Insights from Theory and Experiment // *J. Phys. Chem. A.* 2012. T. 116. № 28. C. 7491–7497.
175. Sawant S.D., Barvrkar A.A., Chabukswar A.R., Sarak S.D. Molecular docking and synthesis of 8-substituted 3,4-dihydro-6-methyl-4-(2,4- dinitrophenyl)imidazo[1,5-b][1,2,4]triazin-2(8H)-one derivatives as novel antiasthmatic agents Sanjay // *J. Appl. Chem.* 2013. T. 2. № 3. C. 372–384.
176. Shafi P.M., Sobha T.D., Basheer P.A.M., Waibel R. Synthesis and reactions of 4-(aminoaryl)-methylene-2-aryl-2-imidazolin-5-ones // *Indian J. Chem.* 2005. T. 44B. C. 1298–1300.
177. Shameer H., Nageswara R.R., Vijay Kumar M.M.J., Jayachandran E., Sreenivasa G.M. Synthesis, characterization and anti-inflammatory activity of novel N-substituted tetrazoles // *Indian J. Res. Pharm. Biotechnol.* 2011. T. 1. № 1. C. 50–53.
178. Shen S., Yu J., Lu Y., Zhang S., Yi X., Gao B. Near-infrared probes based on fluorinated Si-rhodamine for live cell imaging // *RSC Adv.* 2017. T. 7. № 18. C. 10922–10927.
179. Shen X., Huang G., Li K., Zhang G., Zhang D. Tuning the solid-state emission of the

analogous GFP chromophore by varying alkyl chains in the imidazolinone ring // *Sci. China Chem.* 2013. T. 56. № 9. C. 1197–1203.

180. Shen Z., Röhr H., Rurack K., Uno H., Spieles M., Schulz B., Reck G., Ono N. Boron-diindomethene (BDI) dyes and their tetrahydrobicyclo precursors - En route to a new class of highly emissive fluorophores for the red spectral range // *Chem. - A Eur. J.* 2004. T. 10. № 19. C. 4853–4871.

181. Shi F., Zeng X.-N., Wu F.-Y., Yan S., Zheng W.-F., Tu S.-J. Efficient Microwave-Assisted Synthesis and Antioxidant Activity of 4-Arylidene-2-phenyl-1H-imidazol-5(4H)-ones // *J. Heterocycl. Chem.* 2012. T. 49. № 1. C. 59–63.

182. Sibrian-Vazquez M., Escobedo J.O., Lowry M., Fronczek F.R., Strongin R.M. Field effects induce bathochromic shifts in xanthene dyes // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. T. 134. № 25. C. 10502–10508.

183. Singh A., Rajbongshi B.K., Ramanathan G. Introduction of an electron push-pull system yields a planar Red Kaede fluorescence protein chromophore analogue stabilized by a C = O... π interaction // *J. Chem. Sci.* 2015. T. 127. № 5. C. 941–948.

184. Song F., Garner A.L., Koide K. A highly sensitive fluorescent sensor for palladium based on the allylic oxidative insertion mechanism // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. T. 129. № 41. C. 12354–12355.

185. Song W., Strack R.L., Svensen N., Jaffrey S.R. Plug-and-Play Fluorophores Extend the Spectral Properties of Spinach // *J. Am. Chem. Soc.* 2014. T. 136. № 4. C. 1198–1201.

186. Srinivas K., Sreenivasa G.M., Jayachandran E., Sreenivasa Rao D. Synthesis and Pharmacological Screening of Bio-active Molecule Fluorobenzothiazole Comprising Sulfonamido Imidazolinone Derivatives // *Asian J. Chem.* 2007. T. 19. № 6. C. 4193–4202.

187. Stafforst T., Diederichsen U. Synthesis of Alaninyl and N-(2-Aminoethyl)glycinyl Amino Acid Derivatives Containing the Green Fluorescent Protein Chromophore in Their Side Chains for Incorporation into Peptides and Peptide Nucleic Acids // *European J. Org. Chem.* 2007. T. 2007. № 6. C. 899–911.

188. Suthakaran R., Venkaiaiah S., Kavimani P., Suganthi K. Synthesis and antimicrobial activity of 3-(2-oxo-2-phenyl imidazol-1-yl)ethyl)-6,8- un / dibromo substituted-2-substituted quinazoline-(3H)-one // *Rasayan J. Chem.* 2008. T. 1. № 1. C. 22–29.

189. Swamy K.M.K., Lee Y.J., Lee H.N., Chun J., Kim Y., Kim S.J., Yoon J. A new fluorescein derivative bearing a boronic acid group as a fluorescent chemosensor for fluoride ion // *J. Org. Chem.* 2006. T. 71. № 22. C. 8626–8628.

190. Swamy K.M.K., Kim H.N., Soh J.H., Kim Y., Kim S.-J., Yoon J. Manipulation of fluorescent and colorimetric changes of fluorescein derivatives and applications for sensing silver ions

// *Chem. Commun. (Camb)*. 2009. № 10. C. 1234–1236.

191. Tahtaoui C., Thomas C., Rohmer F., Klotz P., Duportail G., Mély Y., Bonnet D., Hibert M. Convenient Method To Access New 4,4-Dialkoxy- and 4,4-Diaryloxy-diazas-indacene Dyes: Synthesis and Spectroscopic Evaluation // *J. Org. Chem.* 2007. T. 72. № 1. C. 269–272.

192. Tou S.-L., Huang G.-J., Chen P.-C., Chang H.-T., Tsai J.-Y., Yang J.-S. Aggregation-induced emission of GFP-like chromophores via exclusion of solvent-solute hydrogen bonding // *Chem. Commun. (Camb)*. 2014. T. 50. C. 620–622.

193. Umezawa K., Nakamura Y., Makino H., Citterio D., Suzuki K. Bright, color-tunable fluorescent dyes in the visible-near-infrared region // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. T. 130. № 5. C. 1550–1551.

194. Umezawa K., Matsui A., Nakamura Y., Citterio D., Suzuki K. Bright, color-tunable fluorescent dyes in the Vis/NIR region: establishment of new ‘tailor-made’ multicolor fluorophores based on borondipyrromethene // *Chemistry*. 2009. T. 15. № 5. C. 1096–1106.

195. Uno S., Kamiya M., Yoshihara T., Sugawara K., Okabe K., Tarhan M.C., Fujita H., Funatsu T., Okada Y., Tobita S., Urano Y. A spontaneously blinking fluorophore based on intramolecular spirocyclization for live-cell super-resolution imaging // *Nat. Chem.* 2014. T. 6. № 8. C. 681–689.

196. Uppal T., Hu X., Fronczek F.R., Maschek S., Bobadova-Parvanova P., Vicente M.G.H. Synthesis, computational modeling, and properties of benzo-appended BODIPYs // *Chemistry*. 2012. T. 18. № 13. C. 3893–3905.

197. Voosala C., Yellajyosula L.N.M., Uppuleti V.P., Kilaru P.S. Efficient Synthesis of 5(4H)-Imidazolones and in vitro Antifungal Activity Studies Against Selected Phytopathogens // *Asian J. Chem.* 2014. T. 26. № 10. C. 2873–2876.

198. Wakamiya A., Murakami T., Yamaguchi S. Benzene-fused BODIPY and fully-fused BODIPY dimer: impacts of the ring-fusing at the b bond in the BODIPY skeleton // *Chem. Sci.* 2013. T. 4. № 3. C. 1002–1007.

199. Wang B., Chai X., Zhu W., Wang T., Wu Q. A general approach to spirolactonized Si-rhodamines // *Chem. Commun. (Camb)*. 2014. T. 50. № 92. C. 14374–14377.

200. Wang H., Lu Z., Lord S.J., Willets K.A., Bertke J.A., Bunge S.D., Moerner W.E., Twieg R.J. The influence of tetrahydroquinoline rings in dicyanomethylenedihydrofuran (DCDHF) single-molecule fluorophores // *Tetrahedron*. 2007. T. 63. № 1. C. 103–114.

201. Wang J., Wu Q., Wang S., Yu C., Li J., Hao E., Wei Y., Mu X., Jiao L. Conformation-Restricted Partially and Fully Fused BODIPY Dimers as Highly Stable Near-Infrared Fluorescent Dyes // *Org. Lett.* 2015. T. 17. № 21. C. 5360–5363.

202. Wang T., Zhao Q.-J., Hu H.-G., Yu S.-C., Liu X., Liu L., Wu Q.-Y. Spirolactonized Si-

rhodamine: a novel NIR fluorophore utilized as a platform to construct Si-rhodamine-based probes // *Chem. Commun.* 2012. T. 48. C. 8781–8783.

203. Wang Y.-W., Descalzo A.B., Shen Z., You X.-Z., Rurack K. Dihydronaphthalene-Fused Boron-Dipyrromethene (BODIPY) Dyes: Insight into the Electronic and Conformational Tuning Modes of BODIPY Fluorophores // *Chem. - A Eur. J.* 2010. T. 16. № 9. C. 2887–2903.

204. Wang Y., Xie H., Pan Y.-R., Ding M.-W. Facile Synthesis of 4-Arylidene-1H-imidazol-5(4H)-ones by an Ugi–Aza-Wittig Sequence // *Synthesis (Stuttg.)* 2013. T. 46. № 3. C. 336–342.

205. Wenge U., Wagenknecht H.A. Synthetic GFP chromophore and control of excited-state proton transfer in DNA: An alternative concept for fluorescent DNA labels with large apparent Stokes' shifts // *Synthesis (Stuttg.)* 2011. T. 3. C. 502–508.

206. Wu L., Burgess K. Syntheses of Highly Fluorescent GFP-Chromophore Analogues // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. T. 130. № 12. C. 4089–4096.

207. Xia X., Piao X., Bong D. Bifacial Peptide Nucleic Acid as an Allosteric Switch for Aptamer and Ribozyme Function // *J. Am. Chem. Soc.* 2014. T. 136. № 20. C. 7265–7268.

208. Xiong X., Song F., Sun S., Fan J., Peng X. Red-Emissive Fluorescein Derivatives and Detection of Bovine Serum Albumin // *Asian J. Org. Chem.* 2013. T. 2. № 2. C. 145–149.

209. Yakubovskiy V.P., Shandura M.P., Kovtun Y.P. Boradipyrromethenecyanines // *European J. Org. Chem.* 2009. T. 2009. № 19. C. 3237–3243.

210. Yampolsky I. V., Kislukhin A.A., Amatov T.T., Shcherbo D., Potapov V.K., Lukyanov S., Lukyanov K.A. Synthesis and properties of the red chromophore of the green-to-red photoconvertible fluorescent protein Kaede and its analogs // *Bioorg. Chem.* 2008. T. 36. № 2. C. 96–104.

211. Yang Y., Lowry M., Xu X., Escobedo J.O., Sibrian-Vazquez M., Wong L., Schowalter C.M., Jensen T.J., Fronczek F.R., Warner I.M., Strongin R.M. Seminaphthofluorones are a family of water-soluble, low molecular weight, NIR-emitting fluorophores // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2008. T. 105. № 26. C. 8829–8834.

212. Yoshihara T., Druzhinin S.I., Zachariasse K.A. Fast Intramolecular Charge Transfer with a Planar Rigidized Electron Donor/Acceptor Molecule // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. T. 126. № 27. C. 8535–8539.

213. Youssef A.S.A., Kandeel K.A., Abou-Elmagd W.S.I., Haneen D.S.A. Action of Some Nitrogen and Carbon Nucleophiles on 4-Arylidene-1,3-oxazolones // *J. Heterocycl. Chem.* 2016. T. 53. № 1. C. 175–182.

214. Yu C., Xu Y., Jiao L., Zhou J., Wang Z., Hao E. Isoindole-BODIPY Dyes as Red to Near-Infrared Fluorophores // *Chem. - A Eur. J.* 2012. T. 18. C. 6437–6442.

215. Yu C., Wu Q., Wang J., Wei Y., Hao E., Jiao L. Red to Near-Infrared Isoindole BODIPY

Fluorophores: Synthesis, Crystal Structures, and Spectroscopic and Electrochemical Properties // *J. Org. Chem.* 2016. T. 81. № 9. C. 3761–3770.

216. Yu Y.-H., Descalzo A.B., Shen Z., Röhr H., Liu Q., Wang Y.-W., Speiles M., Li Y.-Z., Rurack K., You X.-Z. Mono- and Di(dimethylamino)styryl-Substituted Borondipyrromethene and Borondiindomethene Dyes with Intense Near-Infrared Fluorescence // *Chem. – An Asian J.* 2006. T. 1. № 1–2. C. 176–187.

217. Zeng L., Jiao C., Huang X., Huang K.-W., Chin W.-S., Wu J. Anthracene-Fused BODIPYs as Near-Infrared Dyes with High Photostability // *Org. Lett.* 2011. T. 13. № 22. C. 6026–6029.

218. Zhang M., Hao E., Zhou J., Yu C., Bai G., Wang F., Jiao L. Synthesis of pyrrolyldipyrinato BF₂ complexes by oxidative nucleophilic substitution of boron dipyrromethene with pyrrole // *Org. Biomol. Chem.* 2012. T. 10. № 10. C. 2139–2145.

219. Zhang X., Yu H., Xiao Y. Replacing Phenyl Ring with Thiophene: An Approach to Longer Wavelength Aza-dipyrromethene Boron Difluoride (Aza-BODIPY) Dyes // *J. Org. Chem.* 2012. T. 77. № 1. C. 669–673.

220. Zhao W., Carreira E.M. Conformationally Restricted Aza-Bodipy: A Highly Fluorescent, Stable, Near-Infrared-Absorbing Dye // *Angew. Chemie Int. Ed.* 2005. T. 44. № 11. C. 1677–1679.

221. Zhao W., Carreira E.M. Conformationally Restricted Aza-BODIPY: Highly Fluorescent, Stable Near-Infrared Absorbing Dyes // *Chem. - A Eur. J.* 2006. T. 12. № 27. C. 7254–7263.

222. Zhou Q., Wu F., Wu M., Tian Y., Niu Z. Confined chromophores in tobacco mosaic virus to mimic green fluorescent protein // *Chem. Commun. (Camb)*. 2015. T. 51. № 82. C. 15122–15124.

223. Ziessel R., Goze C., Ulrich G. Design and synthesis of alkyne-substituted boron in dipyrromethene frameworks // *Synthesis (Stuttg)*. 2007. № 6. C. 0936–0949.

224. Баранов М.С. Физико-химические свойства хромофора GFP и флуоресцентные красители на его основе: диссертация кандидата химических наук: 02.00.10 // Москва, 2013.