

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

Институт химии и инженерной экологии

(наименование института полностью)

Кафедра «Химия, химические процессы и технологии»

(наименование кафедры)

04.03.01 «Химия»

(код и наименование направления подготовки, специальности)

«Медицинская и фармацевтическая химия»

(наименование(профиль)/специализации)

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

на тему: Изучение флуоресцентных свойств некоторых производных
азагетероциклов

Студент

Н.А. Тюльпина

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

А.А. Голованов

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Консультанты

Н.В. Яценко

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Допустить к защите

Заведующий кафедрой д.х.н., профессор Г.И. Остапенко

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

(личная подпись)

« _____ » _____ 2017 г.

Тольятти 2017

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«ТОЛЬЯТТИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

КАФЕДРА «ХИМИЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ И ПРОЦЕССЫ»

Утверждаю: _____
(подпись)

Зав. кафедрой Г.И. Остапенко

«__» _____ 20__ г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение бакалаврской работы

Студенту Тюльпиной Наталье Александровне

1. Тема квалификационной работы

Изучение флуоресцентных свойств некоторых производных азаетероциклов

2. Срок сдачи студентом готовой работы: 29 июня 2017 года

3. Исходные данные к работе (литературные источники, программное обеспечение): спектрофотометр UNICO 2800 UV/VIS, спектрофлуорофотометр SHIMADZU RF-6000, пакет программ ChemBioDraw Professional 16.0.

4. Содержание текстового документа (перечень подлежащих разработке вопросов)

4.1. Подготовить литературный обзор с целью изучения основных классов флуорофоров, и основных характеристиках флуоресценции.

4.2. Выполнить синтез ранее неизвестных производных 2-метокси-4-стирилникотинонитрила.

- 4.3. Проанализировать полученные результаты, сделать выводы о влиянии функциональных групп и природы растворителя на флуоресценцию.
- 4.4. Подготовить аннотацию на английском языке (консультант по разделу к.ф.н. Н.В. Яценко)
5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей): структурные формулы исследованных соединений, спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , ИК спектры, УФ – спектры, спектры флуоресценции, таблицы с расчетными данными, презентация.
6. Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы 15 марта 2017 года

Руководитель _____
(подпись, дата)

Задание принял к исполнению

(подпись, дата)

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ТОЛЬЯТТИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ
КАФЕДРА «ХИМИЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И ТЕХНОЛОГИИ»

УТВЕРЖДАЮ: _____
(подпись)

Зав. Кафедрой Остапенко Г.И.

«__» _____ 2016 г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН
бакалаврской работы

Студента: Тюльпиной Натальи Александровны

по теме: Изучение флуоресцентных свойств некоторых производных
азагетероциклов

Наименование раздела работы	Плановый срок выполнения раздела	Фактический срок выполнения раздела	Отметка о выполнении	Подпись руководителя
Подбор литературных источников и написание раздела «Литературный обзор»	15.04.2017 г.			
Выполнение экспериментальной части работы	20.04.2017 г.			
Написание раздела «Экспериментальная часть»	15.05.2017 г.			
Написание остальных разделов	30.05.2017 г.			
Верстка работы, проверка научным руководителем	05.06.2017 г.			
Проверка ВКР в системе «Антиплагиат.ВУЗ»	7.06.2017 г. 16.06.2017 г.			
Верстка и переплетение пояснительной записки	Первая неделя июня 2016 г.			
Оформление демонстрационного материала и устного доклада	За пять дней до защиты ВКР			

Руководитель выпускной
квалификационной работы

_____ (подпись)

А.А. Голованов
(И.О. Фамилия)

Задание принял к исполнению

_____ (подпись)

Н.А. Тюльпина
(И.О. Фамилия)

АННОТАЦИЯ

Выпускная квалификационная работа изложена на 75 страницах, включает в себя 59 рисунков, 7 таблиц, 5 схем. Список литературы - 53 источника.

Объектами исследования в данной работе являются производные 2-метокси-4-стирилникотинонитрила и 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила.

Предметом исследования данной работы является определение фотофизических характеристик производных 2-метокси-4-стирилникотинонитрила и 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила (коэффициент экстинкции, сдвиг Стокса, относительный квантовый выход).

Целью данной работы является синтез и получение сведений о флуоресцентных свойствах производных 2-метокси-4-стирилникотинонитрила и 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила.

В литературном обзоре изложена информация об основных классах флуорофоров, основных характеристиках флуоресценции и применении флуоресценции во многих сферах деятельности человека.

В экспериментальной части приведены методики исследования флуоресцентных свойств и синтеза производных 2-метокси-4-стирилникотинонитрила и 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила

В обсуждении приведены полученные результаты по исследованию флуоресцентных свойств производных азаетероциклов. Проанализированы составы исследуемых производных азаетероциклов, посредством ЯМР и ИК-спектроскопии.

ABSTRACT

This diploma paper deals with the study of the fluorescent properties of certain azaheterocyclic derivatives.

The aim of the work is to study and determine the dependence of the photophysical properties of azaheterocyclic derivatives on their structure and the nature of the solvent, and to obtain data on their structure.

The object of the diploma paper is the azachotrocycles derivatives.

The subject of the diploma paper is determination of photophysical characteristics of azaheterocyclic derivatives (extinction coefficient, stokes shift, relative quantum yield).

The first part of the project gives detailed information about the main classes of fluorophores, fluorescence characteristics, the advantages of fluorescence analysis and the use of fluorescence in many areas of human activity.

The second part of the project gives detailed information on reagents, equipment, methods of synthesis and investigation of the fluorescent properties of the test compounds.

To study the fluorescent properties, two solvents were chosen: ethyl alcohol and chloroform. Quinine sulfate in 0,1 M sulfuric acid was used as a standard for determining the relative quantum yield of fluorescence.

The results of studies on the fluorescence properties of azaheterocyclic derivatives are discussed in the final part of the graduation work.

Содержание	
ВВЕДЕНИЕ.....	8
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	10
1.1 Флуоресценция	10
1.1.1 Диаграмма Яблонского.....	11
1.1.2 Характеристики флуоресценции	12
1.1.2.1 Сдвиг Стокса	12
1.1.2.2 Квантовый выход и время жизни флуоресценции	13
1.1.2.3 Тушение флуоресценции	14
1.1.2.4 Спектр флуоресценции	15
1.2 Флуорофоры.....	15
1.2.1 Природные флуорофоры	16
1.2.2 Искусственные флуорофоры.....	19
1.3 Применение флуоресценции	21
1.4 Преимущества флуоресцентных методов анализа.....	24
2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	26
2.1 Синтез производных 2-метокси-4-стирилникотинитрила	26
2.2 Синтез 1,2,3-триазольных производных никотинитрила	28
2.3 Фотофизические свойства производных азаетероциклов	29
3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	38
3.1. Реагенты, оборудование и методика исследования	38
3.2 Синтез исследуемых производных азаетероциклов.....	39
3.2.1 Общая методика получения 2-метокси-4-стирилникотинитрилов	39
3.2.2 Общая методика получения 1,2,3-триазольных производных никотинитрила.....	41
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	43
Приложения	51

ВВЕДЕНИЕ

Быстрое развитие современной науки обуславливает потребность в поиске новых материалов с уникальными свойствами и усовершенствовании существующих.

Одним из важных направлений исследований является получение материалов, с определенными свойствами, используемых в качестве флуоресцентных зондов и меток.

Флуориметрия неотъемлемый инструмент, используемый для наблюдения за протеканием химической реакции, исследования реакций протекающих с образованием электронно-возбужденных состояний.

На сегодняшний день флуоресцентный анализ широко применяется в биологии, является чувствительным и специфическим методом. Известно большое количество органических соединений, способных флуоресцировать. Данные вещества называют флуорофорами. Обладая рядом флуоресцентных свойств, флуорофоры применяются во многих сферах деятельности человека. Немаловажное значение играет использование их в медицине.

Большая часть разрабатываемых методик направлена на получение изображения злокачественных новообразований, тканей и органов, изучение молекулярной структуры опухолевых клеток, с помощью регистрации аутофлуоресценции, и специфического окрашивания исследуемых объектов флуоресцентными контрастными агентами. Эти методы позволяют обнаружить место локализации опухоли в организме, оценить уровень экспрессии белков и активность отдельных клеток и процессов, влияющих на поведение опухоли и её отклик на действие терапевтических препаратов.

Возможность применения флуорофора определяется его химическими (растворимость, реакционная способность, стабильность) и фотофизическими (время жизни в возбужденном состоянии, коэффициент экстинкции, квантовый выход, максимум возбуждения, максимум излучения) свойствами.

Целью данной работы является синтез и получение сведений о флуоресцентных свойствах производных 2-метокси-4-стирилникотинонитрила и 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Синтез производных 2-метокси-4-стирилникотинонитрила и 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила.
2. Получение данных о строении синтезируемых соединений.
3. Изучение и установление зависимости фотофизических свойств производных азаетероциклов от их строения и полярности растворителя.

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Флуоресценция

Флуоресценция – это физическое явление, при котором происходит излучение света химическим веществом, находящимся в возбужденном состоянии, при переходе в основное состояние.

При обычных условиях большая часть молекул находится в основном электронном состоянии. Поглощая кванты электромагнитного излучения, молекулы переходят в возбуждённое состояние. Это соответствует переходу электрона с высшей занятой на наиболее низкую свободную молекулярную орбиталь [1]. Основное электронное состояния обозначают S_0 , а возбуждённое электронное состояние S_1 . Возбуждение многих флуорофоров ($S_0 \rightarrow S_1$) происходит воздействием коротковолнового УФ света (длина волны 300—400 нм) или видимого света (длина волны 400—800 нм). После того как флуорофор перешел в возбуждённое состояние происходит релаксация — процесс, в результате которого молекула теряет часть собственной энергии, опускаясь до наиболее низкого колебательного подуровня электронного уровня [2]. При нормальных условиях, в жидкой среде этот процесс происходит примерно за несколько пикосекунд (10^{-12} с) [3]. Согласно правилу Каши переход в основное электронное состояние происходит с самого низкого колебательного подуровня электронного уровня S_1 , сопровождаясь флуоресценцией [4]. Вследствие потери энергии во время релаксации, флуоресцентное излучение имеет меньшую энергию чем свет, который поглощается во время возбуждения [5].

1.1.1 Диаграмма Яблонского

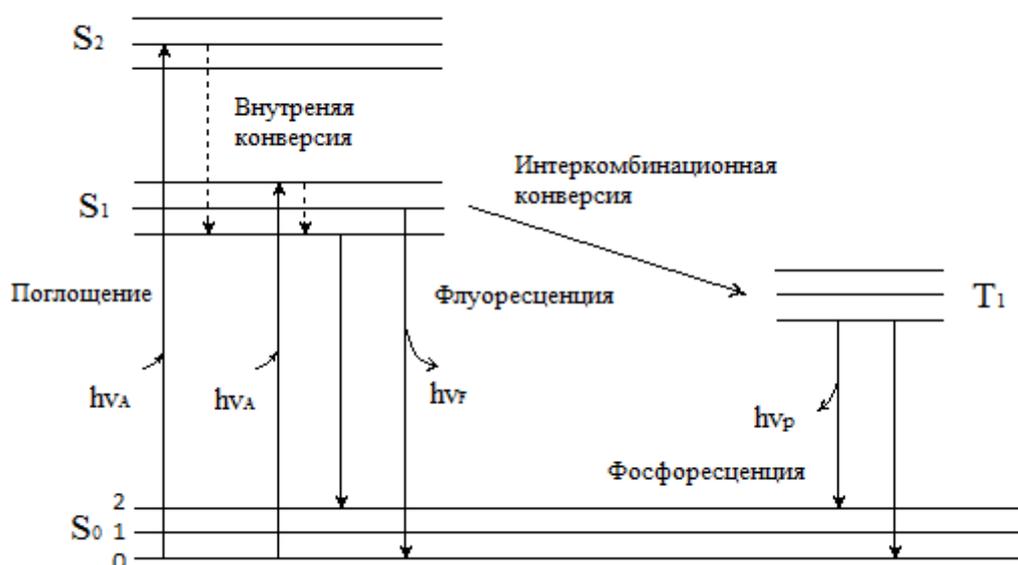


Рис. 1 Диаграмма Яблонского

Процессы, происходящие между поглощением и излучением света, обычно иллюстрируются диаграммой Яблонского. Диаграмма Яблонского часто используется для обсуждения поглощения и излучения света.

Классическая диаграмма Яблонского показана на рисунке 1. Основное синглетное, первое и второе электронные состояния изображаются соответственно S_0 , S_1 и S_2 . Переходы между состояниями изображаются вертикальными линиями, чтобы продемонстрировать мгновенную природу поглощения света. Для многих флуорофоров спектр поглощения является зеркальным отражением спектра излучения [6]. Это связано с правилом Франка-Кондона, который гласит, что электронные переходы являются вертикальными, т.е. изменения энергии без изменения расстояния, на диаграмме Яблонского можно представить вертикальной линией [9]. Это означает, что ядро не движется, а уровни колебаний возбужденного состояния напоминают уровни колебаний основного состояния.

При комнатной температуре тепловая энергия недостаточна для значительного заполнения возбужденных колебательных состояний.

Поглощение и излучение происходят в основном из молекул с наименьшей колебательной энергией [1]. Большая разность энергий между уровнями S_0 и S_1 возбужденных состояний является слишком большим для теплового заселения S_1 [3]. По этой причине используется свет, а не тепло, чтобы вызвать флуоресценцию. После поглощения света обычно происходит несколько процессов. Флуорофор возбуждают до более высокого колебательного уровня состояний S_1 , либо S_2 . За редкими исключениями молекулы в конденсированных системах быстро расслабляются до самого низкого колебательного уровня состояния S_1 [3]. Этот процесс происходит за 10^{-12} с и называется внутренней конверсией. Поскольку время затухания флуоресценции обычно составляет 10^{-8} с, внутренняя конверсия обычно завершается до полного излучения. Следовательно, излучение флуоресценции возникает из термически равновесного возбужденного состояния, то есть в низкоэнергетическом колебательном состоянии S_1 [7].

1.1.2 Характеристики флуоресценции

1.1.2.1 Сдвиг Стокса

Испускаемый флуоресценцией свет имеет большую длину волны и меньшую энергию, чем поглощенный свет [8]. Это явление известно, как сдвиг Стокса, он происходит из-за потери энергии между временем поглощения и испускания фотона.

Основная причина возникновения сдвига Стокса - быстрая релаксация до самого низкого колебательного уровня энергии возбужденного состояния S_1 [3]. Другим фактором является то, что при излучении флуоресценции происходит переход на возбужденные колебательные уровни состояния S_0 , что приводит к потере колебательной энергии [7].

Сдвиг Стокса может быть увеличен из-за влияния растворителя на флуорофор и реакциям в возбужденных состояниях [3].

1.1.2.2 Квантовый выход и время жизни флуоресценции

Время жизни и квантовый выход флуоресценции являются наиболее важными характеристиками флуорофора. Квантовый выход флуоресценции – это отношение количества испущенных фотонов к количеству поглощенных фотонов:

$$Q = \frac{N_{em}}{N_{abs}}$$

Квантовый выход флуоресценции показывает, с какой эффективностью протекает процесс флуоресценции. Вещества с наибольшими квантовыми выходами, приближающимися к единице, например родамины, показывают самые яркие излучения [1].

Значения квантового выхода и времени жизни лучше всего представлены на упрощенной диаграмме Яблонского (рис. 2)

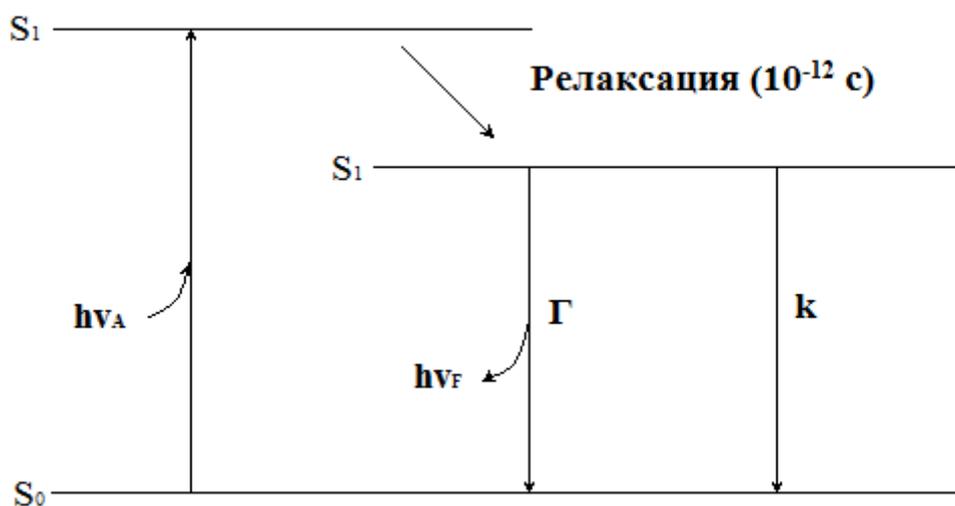


Рис. 2 Упрощенная диаграмма Яблонского

Константа скорости безызлучательной дезактивации в основном состоянии (k) и константа скорости излучательной дезактивации флуорофора (Γ) соответствуют уменьшению заселенности возбужденного состояния [7]. Доля молекул флуорофора, распавшихся за счет излучения, определяется формулой:

$$Q = \frac{\Gamma}{\Gamma + k}$$

Если константа скорости испускания значительно меньше константы скорости безызлучательной дезактивации, т.е. $\Gamma \gg k$, то квантовый выход флуоресценции близок к единице [1]. Из-за Стоксовых потерь энергетический выход флуоресценции всегда меньше единицы.

Время жизни возбужденного состояния вычисляется как среднее время, в течении которого молекула была в возбужденном состоянии до возвращения в основное состояние [7]. В большинстве случаев время затухания флуоресценции примерно 10 нс.

Квантовый выход и время жизни флуоресценции изменяются под воздействием любых факторов, оказывающих большое влияние на константы скорости. Молекула может стать неспособной флуоресцировать из-за высокой скорости внутренней конверсии или небольшой скорости испускания [3].

1.1.2.3 Тушение флуоресценции

При наличии определённых соединений в растворе интенсивность флуоресценции значительно уменьшается, происходит тушение флуоресценции [7]. Соединения, вызывающие тушение флуоресценции называют гасителями. Например, кислород, галогены, амины и молекулы с дефицитом электрона, такие как акриламид, являются наиболее распространёнными гасителями [1]. Механизм тушения зависит от пары флуорофор-гаситель. Например, тушение индола акриламидом, вероятно, связано с переносом электрона из индола в акриламид, который не происходит в основном состоянии. Гашение галогенидами происходит из-за спин-орбитальной связи и межсистемного перехода в триплетное состояние [1].

Тушение может быть динамическим и статическим. При динамическом тушении образуется обычное возбуждённое состояние, разрушаемое

гасителем ещё до того, как происходит флуоресцентное излучение [1]. При статическом тушении флуорофор в основном электронном состоянии образует нефлуоресцентный комплекс с гасителем. Тушение органических флуорофоров применяется при разработке флуоресцентных зондов [9].

1.1.2.4 Спектр флуоресценции

Спектр испускания флуоресценции представляет собой зависимость интенсивности флуоресценции от длины волны, записанная при определенном значении длины волны возбуждения. В простом случае зависимость имеет вид асимметричной кривой с одним максимумом. Положение максимума излучения показывает, каким цветом флуоресцирует соединение. например, максимум флуоресценции примерно 650 нм соответствует красному свету, максимум при 450 нм соответствует синей флуоресценции [3]. Ширина спектра флуоресценции органических красителей составляет от нескольких десятков до нескольких сотен нанометров [3]. Ширина спектра флуоресценции квантовых точек меньше (несколько десятков нанометров) [10].

1.2 Флуорофоры

Флуорофор представляет собой флуоресцентное химическое соединение, которое может повторно излучать свет при возбуждении света. Флуорофоры содержат несколько объединенных ароматических групп или плоских циклических молекул с несколькими π – связями.

Флуорофор поглощает световую энергию определенной длины волны и испускает свет с большей длиной волны. Поглощение длины волн, эффективность переноса энергии, а также время до излучения зависят от структуры флуорофора и его химической окружающей среды, так как молекула в возбужденном состоянии взаимодействуют с окружающими молекулами [3].

В веществах, которые проявляют значительную флуоресценцию, электроны, как правило, делокализованы и формально находятся на сопряженных двойных связях. Одним из наиболее известных флуорофоров, является алкалоид коры хинного дерева – хинин **1**, его добавляют в тонизирующие напитки. Флуоресценцию хинина можно увидеть, посмотрев на стакан с тонизирующим напитком, выставленным на солнечный свет, раствор испускает голубой свет с длиной волны приблизительно 450 нм [7]. Явление флуоресценции зачастую может быть обусловлено какими-либо добавками. Например, в антифризе иногда наблюдается красно-оранжевой или зеленое свечение, по всей вероятности, это явление обусловлено присутствием флуоресцеина **2** или родамина **3** [7]. Многоядерные ароматические углеводороды, перилен **4** или антрацен **5**, также флуоресцируют, чем вероятно частично может определяться голубая флуоресценция бензина [11].

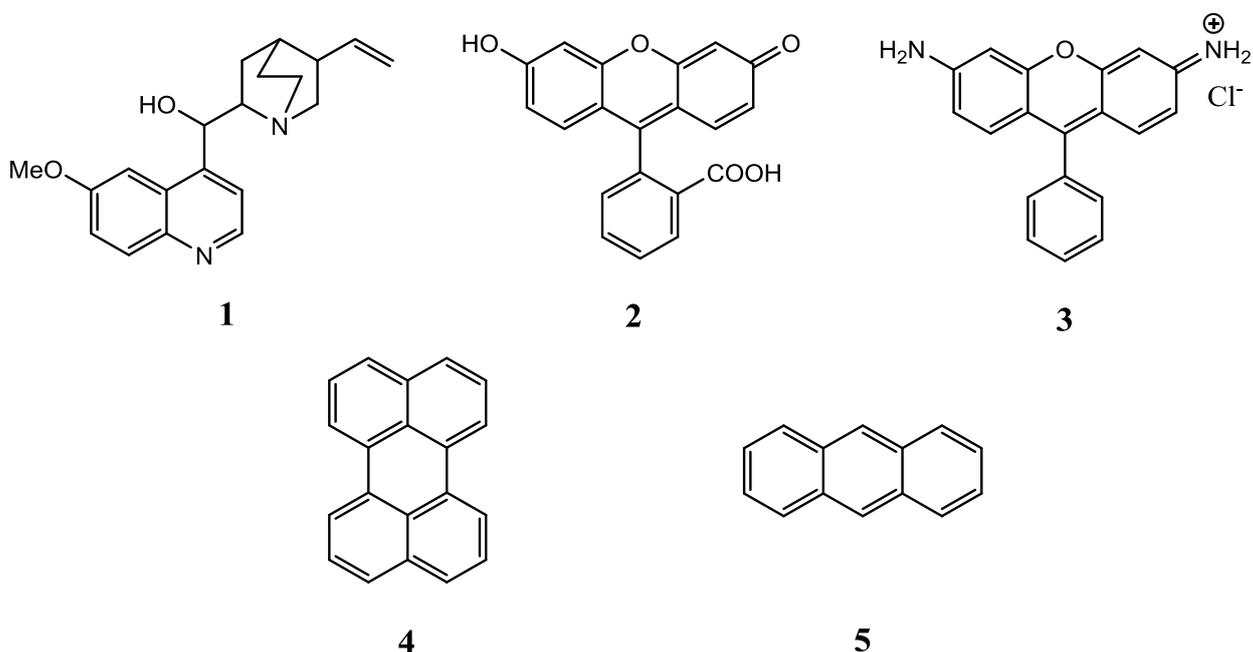


Рис.3 Типичные флуоресцирующие соединения

1.2.1 Природные флуорофоры

Природными или естественными флуорофорами являются молекулы биологических веществ, т. е. вещества, способные флуоресцировать в

определенном диапазоне длин волн при определенных условиях возбуждения, например белки [12].

Флуоресцировать в белках могут только ароматические аминокислоты, имеющие систему сопряженных двойных связей [13]. Среди 20 протеиногенных аминокислот флуоресцентные свойства имеют только лишь три аминокислоты: тирозин **6**, триптофан **7** и фенилаланин **8** [14]. Почти 90 % всей флуоресценции обусловлено наличием триптофановых остатков [3]. Природные флуорофоры, такие как тирозин и триптофан, содержатся практически во всех белках. Триптофан чувствителен к полярности окружающей среды, что активно используется в исследованиях конформационной динамики белков [3]. Флуоресценция белков содержащих в своем составе тирозин и фенилаланин, обусловлена только остатками тирозина, имеющего максимум спектра флуоресценции около 303 нм, а его интенсивность ниже, чем у триптофана [15]. Тирозин интенсивно флуоресцирует в растворе, но в белках флуоресценция слабее. Флуоресценцию фенилаланина можно наблюдать только у белков, не содержащих других ароматических аминокислот – триптофана и тирозина [16]. Спектр флуоресценции фенилаланина имеет максимум при 282 нм, квантовый выход ниже, чем у тирозина [7].

Если в состав белка входят все три аминокислоты, то в спектре флуоресценции проявляется только один триптофановый максимум [13]. Доля энергии возбуждения, полученная тирозиновыми остатками, может переходить на триптофанилы и флуоресцировать в качестве триптофанового компонента [17].

Также к природным флуорофорам относят коферменты, витамины, нуклеиновые кислоты, пигменты и продукты окисления. Пиримидиновые и пуриновые азотистые основания, входящие в состав РНК и ДНК, при нормальных условиях слабо флуоресцируют, с низким квантовым выходом [18]. Например, в кислой среде увеличивается флуоресценция растворов

нуклеиновых кислот [12]. Положение максимума флуоресценции различно для разных веществ, например максимум флуоресценции для ДНК совпадает с максимумом гуанина и составляет 358 нм [19]. При низкой температуре происходит увеличение интенсивности флуоресценции оснований нуклеиновых кислот [12].

Примером флуоресценции коферментов и витаминов служит флуоресценция пиридиннуклеотидов – никотинамидадениндинуклеотида в восстановленной форме НАДН (максимум флуоресценции при 470 нм в водном растворе) и витамина А (10) (в этаноле имеет максимум флуоресценции при 510 нм) [17].

Флуоресцирующей группой никотинамидадениндинуклеотида в восстановленной форме является восстановленное никотинамидное кольцо, его флуоресценция частично потушена из-за столкновений с остатком аденина [7]. В большинстве случаев квантовый выход флуоресценции увеличивается в четыре раза при связывании НАДН с белками [3]. Окисленная форма этого соединения не флуоресцирует.

К флуоресцирующим коферментам также относятся флавинодержащие соединения – рибофлавин 9, флавинмононуклеотид и флавинадениннуклеотид. В молекуле флавинадениннуклеотида так же, как и в случае НАДН, присутствует тушение люминесценции аденином [7]. Молекула флавинмононуклеотида в отличии от НАДН флуоресцирует только в окисленной форме. При связывании с белком флавиновое соединение обычно становится нефлуоресцентным. [1]

Нуклеиновые кислоты слабо флуоресцируют, поэтому их не используют в исследованиях из-за слабых интенсивностей. Существуют красители, которые связываются с ДНК, например акредины, они широко используются для визуализации и идентификации хромосом [3].

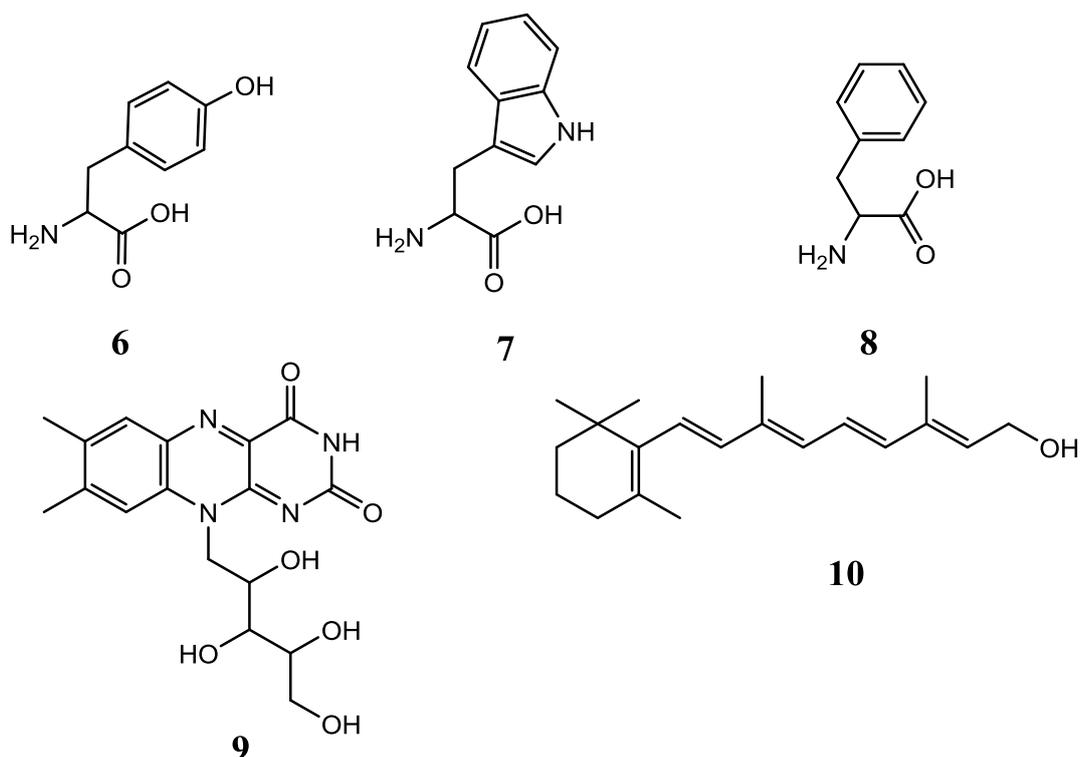


Рис.4 Природные флуорофоры

1.2.2 Искусственные флуорофоры

Искусственные флуорофоры добавляют к образцу для обеспечения флуоресценции, когда их не существует, или для изменения спектральных свойств образца. Искусственными флуорофоры также называют флуоресцентными зондами (флуорофор связывается с интересующей молекулой – мишенью нековалентными связями) и флуоресцентными метками (связывание происходит с ковалентными связями). [3]

Дансилхлорид **11** широко применяют в качестве метки для белков, когда проводят измерения поляризации [20]. На спектр испускания дансильной группы сильно оказывает влияние полярность растворителя. [7]

Липиды, как правило не флуоресцируют. Придание мембране флуоресцирующих свойств, заключается в распределении нерастворимого в воде вещества внутри неполярной области мембраны [21]. Такими зондами, как 9-винилантрацен **12**, 1,6-дифенилгексатриен **13** и перилен **14**, часто метят мембраны [7]. Эти нерастворимые в воде зонды встраиваются в гидрофобные участки мембран. Многоядерные незамещенные ароматические

углеводороды и 1,6-дифенилгексатриен малочувствительны к полярности растворителя. Зонды могут быть локализованы на определенных участках мембраны посредством целенаправленного изменения химической структуры [1]. Триметиламмониевая соль 1,6-дифенилгексатриена является одним из таких примеров. Считают, что заряженный атом азота приводит к локализации триметиламмониевой соли 1,6-дифенилгексатриена в области водно-липидной границы мембран [22].

Производные флуоресцеина и родамина широко применяют в качестве меток для белков. Эти красители имеют максимумы поглощения вблизи 480 и 600 нм и длины волны излучения от 510 до 615 нм, соответственно [3]. Родамины и флуоресцеины не чувствительны к полярности растворителя, и имеют высокий коэффициент экстинкции [1]. Меченные флуоресцеином и родамином иммуноглобулины являются коммерческими реактивами, их часто применяют в флуоресцентной микроскопии [7]. Причины выбора этих веществ: высокие квантовые выходы и длины волны поглощения и излучения, которые сводят к минимуму проблемы фоновой флуоресценции биологических образцов и устраняют необходимость в кварцевой оптике [3].

Красители BODIPY **15** были введены в качестве заменителей флуоресцеина и родамина. Эти красители основаны на необычном флуорофоре содержащем бор. В зависимости от строения красители могут иметь широкий диапазон длин волн излучения от 510 до 675 нм. [1] Красители BODIPY обладают дополнительным преимуществом - высокие квантовые выходы и коэффициенты экстинкции, и нечувствительность к полярности растворителя и pH [23]. Спектры излучения более узкие, чем у флуоресцеина и родаминов [3]. Недостатком красителей BODIPY является очень малый стоксов сдвиг (а значит склонность к реабсорбции) [24].

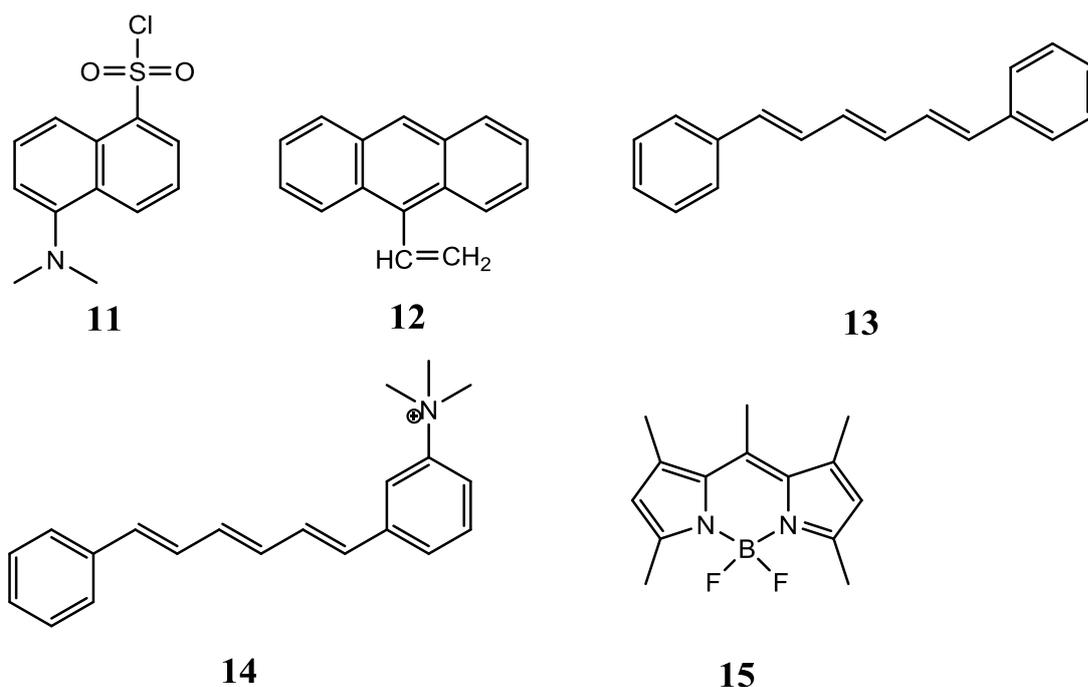


Рис. 5 Искусственные флуорофоры

1.3 Применение флуоресценции

Флуоресцирующие вещества применяют в лабораториях криминологии и судебной медицины. Как способ экспертизы, позволяющий обнаружить подделки, фальсификации и следы преступления [25]. Флуорофоры могут использоваться в химловушках, а также для нанесения пометок на деньги [26].

Отпечатки пальцев можно визуализировать с помощью флуоресцентных соединений, таких как нингидрин. Следы крови и другие вещества в некоторых случаях обнаруживаются флуоресцентными реагентами, такими как люминол, при взаимодействии со следами крови начинает светиться [27].

Флуоресцентные пигменты добавляют в краски, фломастеры, текстильные изделия, для получения ярких цветов. Флуоресцентные пигменты преобразуют ультрафиолет, содержащийся в искусственных источниках и естественном свете, в излучение необходимого диапазона, делая цвет более интенсивным [28].

Флуоресцентное проникающее вещество используется для обнаружения трещин и других дефектов на поверхности детали. Флуоресцентные красители используются для обнаружения утечек в системах жидкого и газового водопровода [29].

Флуоресцентные цвета часто применяются в вывесках, в частности дорожных знаков [30]. Флуоресцентные цвета, как правило, распознаются в более длинных диапазонах, чем их не флуоресцентные аналоги, причем флуоресцентный оранжевый цвет особенно заметен [31]. Это свойство привело к его частому применению в знаках безопасности и наклейках.

Флуоресцентные соединения часто используются для улучшения внешнего вида ткани и бумаги, вызывая эффект «отбеливания» [32]. Белая поверхность, обработанная оптическим отбеливателем, может излучать более видимый свет, делая поверхность ярче. Оптические отбеливатели используются в моющих средствах, косметике, одежде и бумаге [27].

С помощью исследования флуоресценции бензина проводят идентификацию бензина и установление октанового числа [11].

Для биотестирования природных вод используют метод фиксации замедленной флуоресценции. На основе фиксации замедленной флуоресценции хлорофилла микроводорослей в статье [33] авторы разработали методику оценки качества природных вод. Замедленная флуоресценция дает необходимую информацию о механизмах переноса электронов в первичных процессах фотосинтеза.

Флуоресцентный метод оценки обилия водорослей и концентрации хлорофилла широко применяется в гидробиологии и экологии. Этот метод применяют при работе с интактными клетками водорослей, и с экстрагированными из них растворами пигментов [34].

Флуоресценция широко применяется в различных прикладных медицинских и биологических исследованиях [1].

Флуоресценция для биофизиков стала чувствительным и быстрым методом исследования структуры, функций и динамики биологических макромолекул – белков [35] и нуклеиновых кислот [36].

С помощью флуоресценции в медицине делают иммуноферментные анализы, например анализы на гепатиты, герпес, ВИЧ [27].

Разрабатываются методы флуоресцентной диагностики на живой ткани при живом организме [37]. Например, были созданы флуоресцентные зонды, избирательно окрашивающие злокачественные опухоли и помогающие обнаруживать их во время томографии или эндоскопического обследования [22]. Кроме того на основе флуоресцентной окраски тканей были разработаны новые методики проведения хирургических операций по удалению злокачественных образований. За некоторое время до операции раковая опухоль избирательно окрашивается флуоресцентным красителем. Специальное оборудование во время операции регистрирует флуоресцентный сигнал, помогая хирургу более точно отличать здоровую и злокачественную ткань [38].

Применение онкологических маркеров дает возможность определять изменения в органах и тканях, выявляя опухоли и метастазы, на ранних стадиях заболевания, в режиме реального времени, не допуская гибели животных [39]. Высокая чувствительность детектирования, обусловленная сильной флуоресценцией цветных белков в живых организмах, и хорошее пространственное разрешение изображений дает возможность наблюдать ранний отклик опухоли на лечебную терапию, если наличие и размер опухоли, нельзя определить обычными методами [40]. С помощью определенных генетических манипуляций в живую клетку вводят генно-инженерные конструкции (плазмиды), они позволяют отслеживать, как в клетке проходят молекулярные процессы [41]. При изменении параметров, в клетке синтезируются специальные белки, которые отвечают за включение механизмов апоптоза. Признаком его начала становится одновременный синтез специальных и флуоресцирующих белков. Метод флуоресценции

используется для исследования ангиогенеза, метастазирования и отклика на лечебную терапию [42]. Этот метод позволяет определить множественные микрометастазы в легких, почках, печени, плевральной мембране, а также визуализировать единичные флуоресцирующие клетки, которые не определяются с помощью стандартных методов. Флуоресценция имеет большое преимущество, перед другими методами диагностики, ее преимуществом является отсутствие необходимости введения контрастирующих агентов, субстратов или ферментов. Таким образом, на результат и достоверность диагностики не влияют особенности распределения этих агентов в организме, а также ограничения, связанные с возможной токсичностью и их взаимодействием с терапевтическими препаратами.

В работе [43] ученые предлагают использовать искусственные флуорофоры для квантовой нанохирургии сетчатки глаза, например для лечения дистрофии сетчатки глаза путем стимуляции фоторецепторов.

Флуоресценцию также применяют в стоматологии. В статье [44] приведены данные по изучению флуоресценции пломбировочных материалов и твердых тканей зуба.

1.4 Преимущества флуоресцентных методов анализа

Есть возможность проводить диагностику с применением флуоресценции на живых клетках и организмах [45]. Биологические макромолекулы, вода и другие компоненты живых клеток не поглощают видимый флуоресцентный свет и не влияют на процессы, происходящие в клетке.

Изобретено большое количество биосовместимых флуорофоров и флуоресцентных зондов, особое значение имеют флуоресцентные белки. С помощью генной инженерии флуоресцентные белковые маркеры различных цветов могут присоединяться к протеинам у различных лабораторных организмов.

Поглощение света с короткими длинами волн составляет определённую проблему при визуализации флуоресценции в живых тканях. По этой причине в качестве лабораторного организма широкую популярность получила маленькая аквариумная рыбка Данио-рерио, являющаяся абсолютно прозрачной для видимого света. Это её свойство используют для лабораторных исследований с использованием флуоресцентных зондов и меток [46].

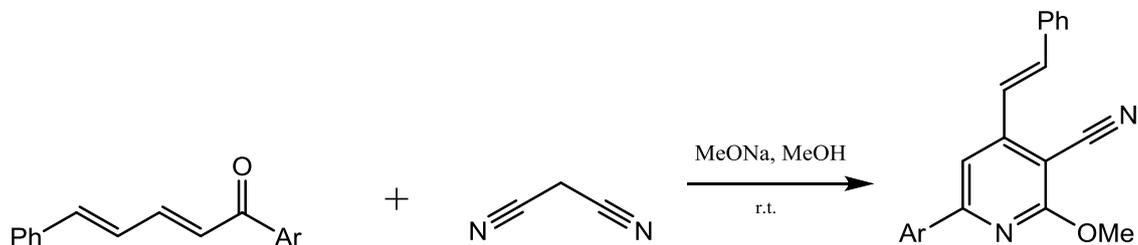
Флуоресценция, происходящая в наносекундной шкале времени, является очень быстрым процессом. Флуорофор за секунду способен излучить миллионы фотонов, каждый из них содержит информацию об окружении, в котором находится молекула перед излучением [9]. Поэтому флуоресценцию применяют для изучения быстрых процессов, например динамика и сворачивание отдельных белковых молекул [47].

Существует большое количество флуорофоров, характеризующихся определённым цветом флуоресценции. Это особенность даёт возможность для мультиплексной детекции, т.е. для наблюдения одновременно за несколькими объектами, если они закодированы флуорофорами с разными цветами излучения. При этом спектры излучения флуорофоров не должны перекрываться. При использовании флуорофоров с узкими спектрами, например квантовые точки, возможно одновременно следить за пятью внутриклеточными мишенями [48].

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

2.1 Синтез производных 2-метокси-4-стирилникотинитрила

Схема 1



Ar = Ph (**16**), 4-CH₃C₆H₄ (**17**), 4-CH₃OC₆H₄ (**18**), 4-C₂H₅OC₆H₄ (**19**), 4-FC₆H₄ (**20**), 2-C₄H₃S (**21**).

Стирилзамещенные пиридины были получены путем взаимодействия диеновых кетонов, растворенных в метиловом спирте, с полуторакратным избытком малонитрила и раствора метилата натрия при комнатной температуре и интенсивном перемешивании в течение 22 ч. [49].

Полученные продукты представляют собой белые кристаллические вещества. Выходы продуктов составили 29-56 %.

Состав и строение соединений **16**, **17**, **18**, **19**, **20**, **21** подтверждены данными, ИК спектрометрии, а также спектрами ЯМР.

В ИК спектрах производных 2-метокси-4-стирилникотинитрила присутствуют полосы, характерные для нитрильной группы (2219-2215 см⁻¹) и валентных колебаний связи C=C (1638-1633 см⁻¹), так как эти полосы присутствуют только в стирилникотинитрилах. Из спектра ЯМР соединения **18** видно, что вещество индивидуальное и это E-изомер.

Из спектра ЯМР соединения **19** видно, что это смесь веществ, причем, судя по области около 7.2 м.д. есть мажорный продукт с КССВ 16.25 Гц (E-изомер стирилпиридина) в стирильном фрагменте и минорный продукт с КССВ 16.5 Гц (т.е. это не Z-изомер).

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединения **18** (Таблица 1)

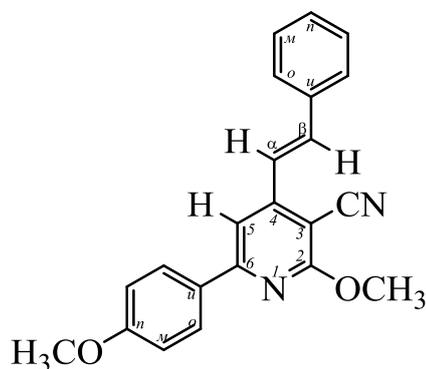


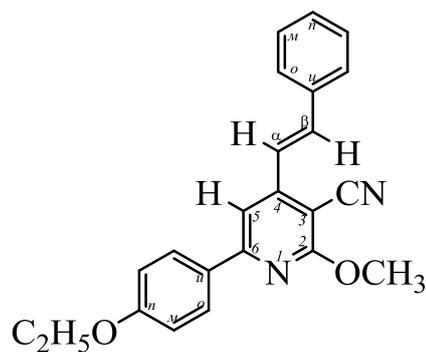
Таблица 1

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединения **18**

ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м.д. (J, Гц)					
H α	H β	C ^5H	OCH $_3$	H $_3\text{COC}_6\text{H}_4$	Ph
7.24д $^3J = 16.28$	7.92д	8.00с	4.07с	7.06д (H m), 8.20д (H o) $^3J = 8.97$ 3.82с (OCH $_3$)	7.38т (H n), 7.45т (H m), 7.66д (H o)

ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м.д.										
CH α	CH β	C 2	C 3	C 4	C 5	C 6	CN	OCH $_3$	H $_3\text{COC}_6\text{H}_4$	Ph
122.52	138.46	164.69	91.29	151.92	108.66	157.38	115.44	54.73	114.81(C m) 129.55(C o) 129.92(C n) 161.96(C n) OCH $_3$: 55.96	128.03(C o) 129.55(C m) 130.17(C n), 136.05 (C u)

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединения **19** (Таблица 2)



Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединения **19**

ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м.д. (J, Гц)					
H α	H β	C ^5H	OCH $_3$	H $_5\text{C}_2\text{OC}_6\text{H}_4$	Ph
7.21д $^3J = 16.53$	7.96д $^3J = 16.28$	8.01с	4.02с	7.00т (H m), 8.17д (H o) $^3J = 8.88$ OC $_2\text{H}_5$: 4.05т 1.32т	7.21д (H n), 7.42м (H m), 7.43м (H o)

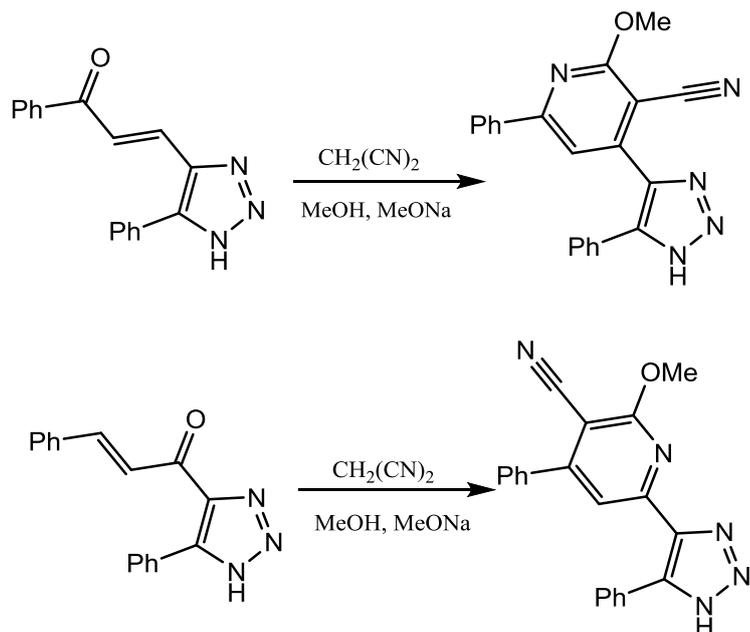
ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м.д.										
CH α	CH β	C 2	C 3	C 4	C 5	C 6	CN	OCH $_3$	H $_5\text{C}_2\text{OC}_6\text{H}_4$	Ph
122.26	129.52	164.55	91.15	148.79	108.23	159.94	115.05	53.47	114.89(C m) 129.61 (C o) 133.37 (C n) 161.14 (C p) OC $_2\text{H}_5$: 54,70 15,17	128.05(C o) 129.36(C m) 131.21(C n) 138.37(C p)

ИК спектры соединений производных 2-метокси-4-стирилникотинитрила **16-21**

№ соед.	ν , см $^{-1}$
16	2217 (C \equiv N), 1633 (C=C).
17	2218 (C \equiv N), 1637 (C=C), 2924, 2950 (-CH $_3$).
18	2216 (C \equiv N), 1638 (C=C).
19	2215 (C \equiv N), 1637 (C=C).
20	2219 (C \equiv N), 1636 (C=C), 1227 (C-F).
21	2216 (C \equiv N), 1633 (C=C), 691 (C $_4\text{H}_4\text{S}$).

2.2 Синтез 1,2,3-триазольных производных никотинитрила

1,2,3-триазольных производных никотинитрила были получены путем взаимодействия триазольного халкона, растворенного в метиловом спирте, малонитрила и раствора метилата натрия при комнатной температуре и интенсивном перемешивании в течение суток.



Полученные продукты представляют собой желтые кристаллические вещества. Выходы продуктов составили 70-75 %.

Состав и строение соединений **25**, **26** подтверждены данными, ИК спектрометрии. В ИК спектрах 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила присутствуют полосы, характерные для нитрильной группы (2226 см^{-1}) и группы NH гетероцикла (3436 см^{-1}).

2.3 Фотофизические свойства производных азагетероциклов

Изучены фотофизические свойства производных 2-метокси-4-стирилникотинонитрила и 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила. Для всех исследуемых соединений: производных 2-метокси-4-стирилникотинонитрила **16**, **17**, **18**, **19**, **20**, **21**, 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила **25**, **26**, и некоторых производных азагетероциклов **22**, **23**, **24** в спектре поглощения наблюдается два или три максимума, что может соответствовать отдельным электронным переходам в молекулах (Таблица 4).

Введение электронодонорных заместителей в структуру 2-метокси-4-стирилникотинитрилов приводит к смещению максимума излучения в длинноволновую область спектра при сравнении со спектром флуоресценции соединения **16**. А введение электроноакцепторных групп приводит к смещению максимума излучения в коротковолновую область спектра флуоресценции (Рисунок 6).

Наибольшие квантовые выходы флуоресценции отмечены у соединений **18**, **22** и **23** (Таблица 5). В ряду производных 2-метокси-4-стирилникотинитрилов наибольшее значение квантового выхода отмечено у соединения **18**. Вероятно, молекула **18** стабильна в основном и в возбужденном состоянии благодаря наличию заместителей, уменьшающих энергетическую щель электронного перехода.

Введение в бензольное кольцо электронодонорных заместителей увеличивает способность вещества флуоресцировать. Введение электроноакцепторных заместителей, уменьшает флуоресценцию. Галогены увеличивают скорость интеркомбинационной конверсии, уменьшая квантовый выход флуоресценции (Таблица 7).

Введение в состав 2-метокси-4-стирилникотинитрила тиофенового фрагмента **21** приводит к батохромному сдвигу полосы флуоресценции (до 46 нм) и значительно увеличивает квантовый выход флуоресценции (до 0,25) по сравнению с соединением **16** (Рис. 10).

По данным флуоресцентных свойств производных 2-метокси-4-стирилникотинитрила можно привести ряд электронодонорных заместителей по увеличению квантового выхода флуоресценции:



Все изученные производные 2-метокси-4-стирилникотинитрила имеют аномально большие стоксовы сдвиги (до 140 нм).

Таблица 4.

Фотофизические характеристики производных 2-метокси-4-стирилникотинитрила

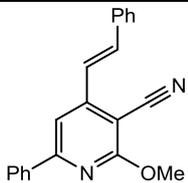
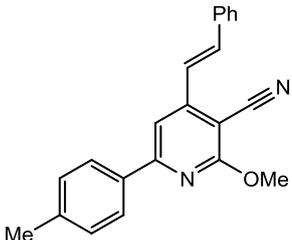
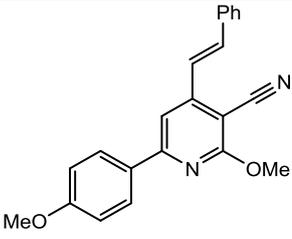
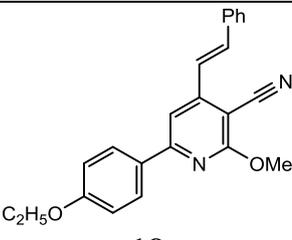
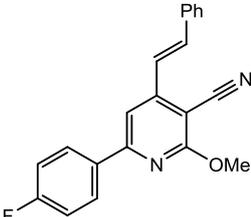
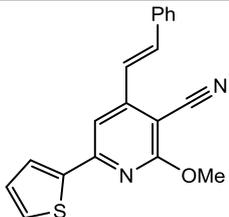
Соединение	Растворитель	λ_{abs}	ϵ	$\lg \epsilon$	λ_{em}	ν_{ss}
 16	EtOH	268	28750	4,46	384	116
	CHCl ₃	269 315	24045 21374	4,38 4,33	384	115
 17	EtOH	279 331	20054 19781	4,30 4,29	393	114
	EtOH	298 337 351	37096 31720 30107	4,57 4,50 4,48	436	138
 18	EtOH	301	32589	4,51	441	140
	EtOH	267 313	45238 41666	4,66 4,62	375	108
 19	EtOH	266 314	31132 25943	4,49 4,41	385	119
	EtOH	302 358	30833 28333	4,49 4,45	430	128
 20	EtOH	302	30833	4,49	430	128
	EtOH	302 358	30833 28333	4,49 4,45	430	128
 21	EtOH	302	30833	4,49	430	128
	EtOH	302 358	30833 28333	4,49 4,45	430	128

Таблица 5.

Фотофизические характеристики некоторых производных азагетероциклов

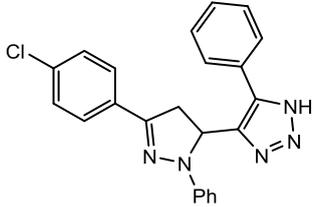
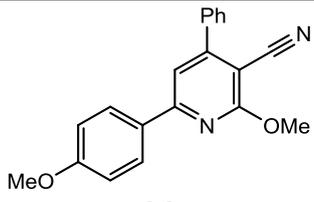
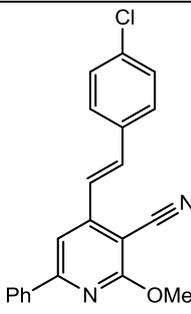
Соединение	Растворитель	λ_{abs}	ϵ	$\lg \epsilon$	λ_{em}	ν_{ss}
 22	EtOH	229	40495	4,61	458	98
		274	20661	4,32		
		360	28925	4,46		
 23	EtOH	274	35135	4,55	401	63
		338	51351	4,71		
	CHCl ₃	260	20329	4,31	388	47
		341	32967	4,52		
 24	EtOH	269	20783	4,32	376	107
		323	17469	4,24		

Таблица 6.

Фотофизические характеристики 1,2,3-триазольных производных
никотинитрила

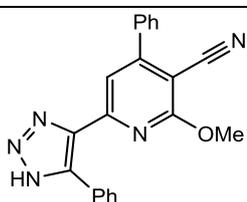
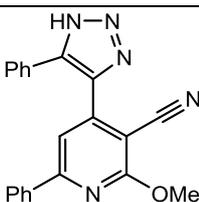
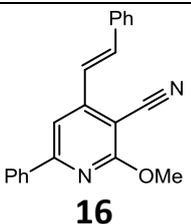
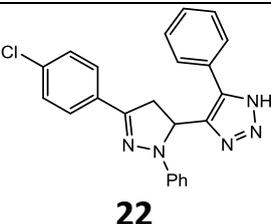
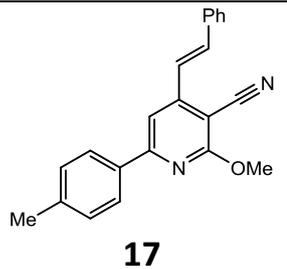
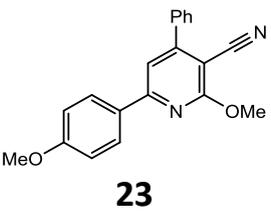
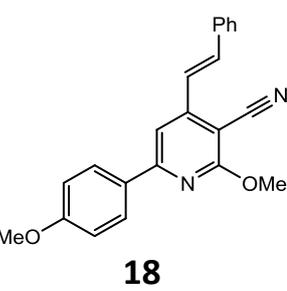
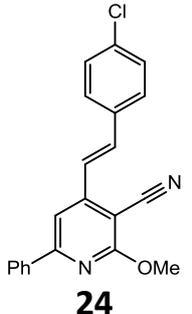
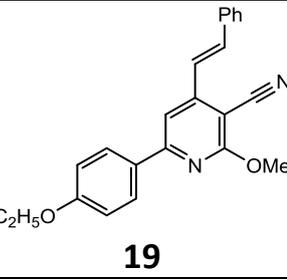
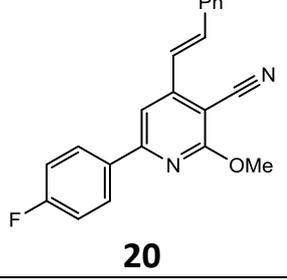
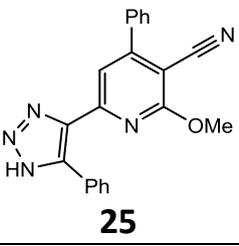
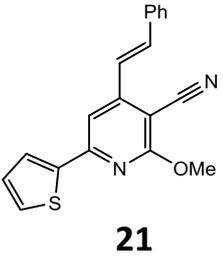
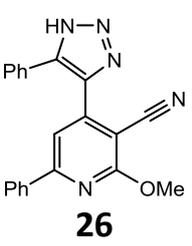
Соединение	Растворитель	λ_{abs}	ϵ	$\lg \epsilon$	λ_{em}	ν_{ss}
 25	EtOH	257	284153	5,45	396	139
		313	155737	5,19		
 26	EtOH	267	15686	4,19	363	96
		331	13725	4,14		

Таблица 7.

Квантовые выходы исследуемых соединений

Соединение	Растворитель	Q^f	Соединение	Растворитель	Q^f
 16	EtOH	0,05	 22	EtOH	0,32
	CHCl ₃	0,08			
 17	EtOH	0,15	 23	EtOH	0,43
				CHCl ₃	0,68
 18	EtOH	0,33	 24	EtOH	0,23
 19					
 20	EtOH	0,09	 25	EtOH	0,11
 21	CHCl ₃	0,08			
	EtOH	0,25	 26	EtOH	0,17

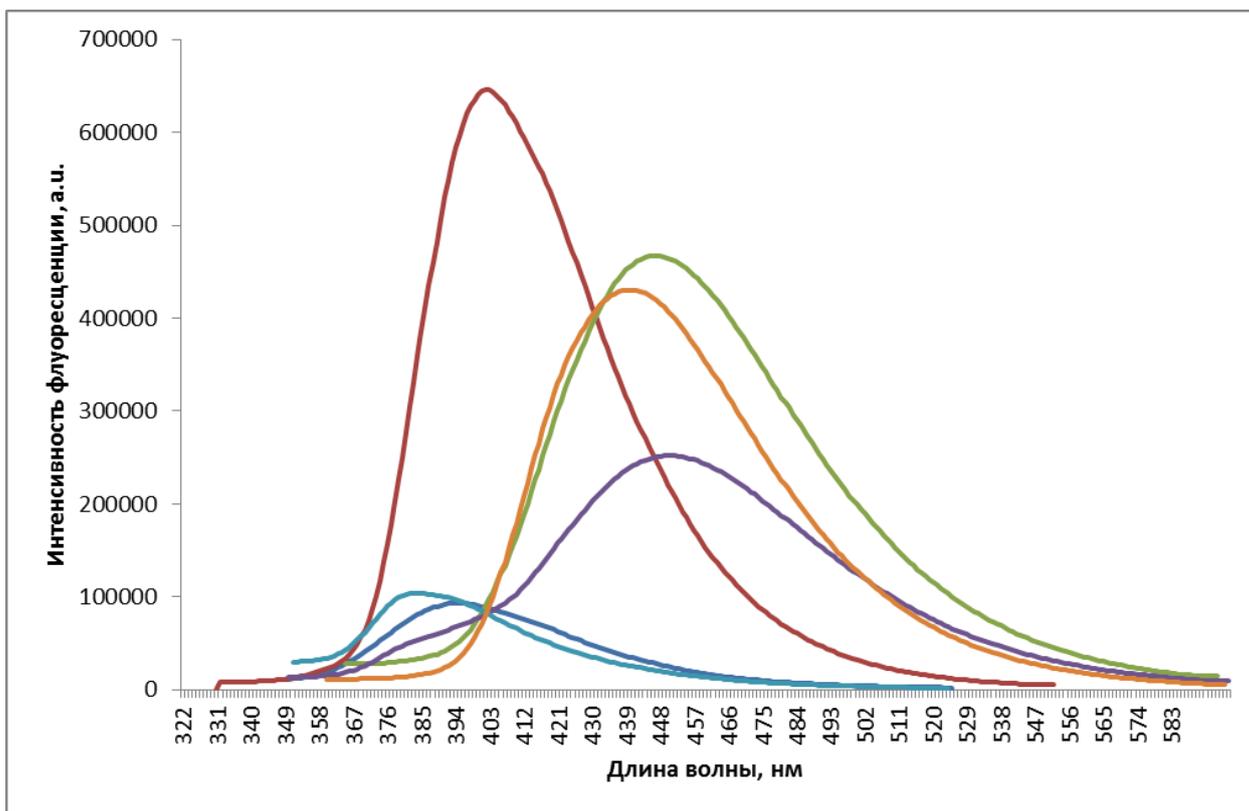


Рис. 6. Спектры флуоресценции производных 2-метокси-4-стирилникотинитрила: **16** (синий), **17** (красный), **18** (зеленый), **19** (фиолетовый), **20** (голубой), **21** (оранжевый) в этаноле.

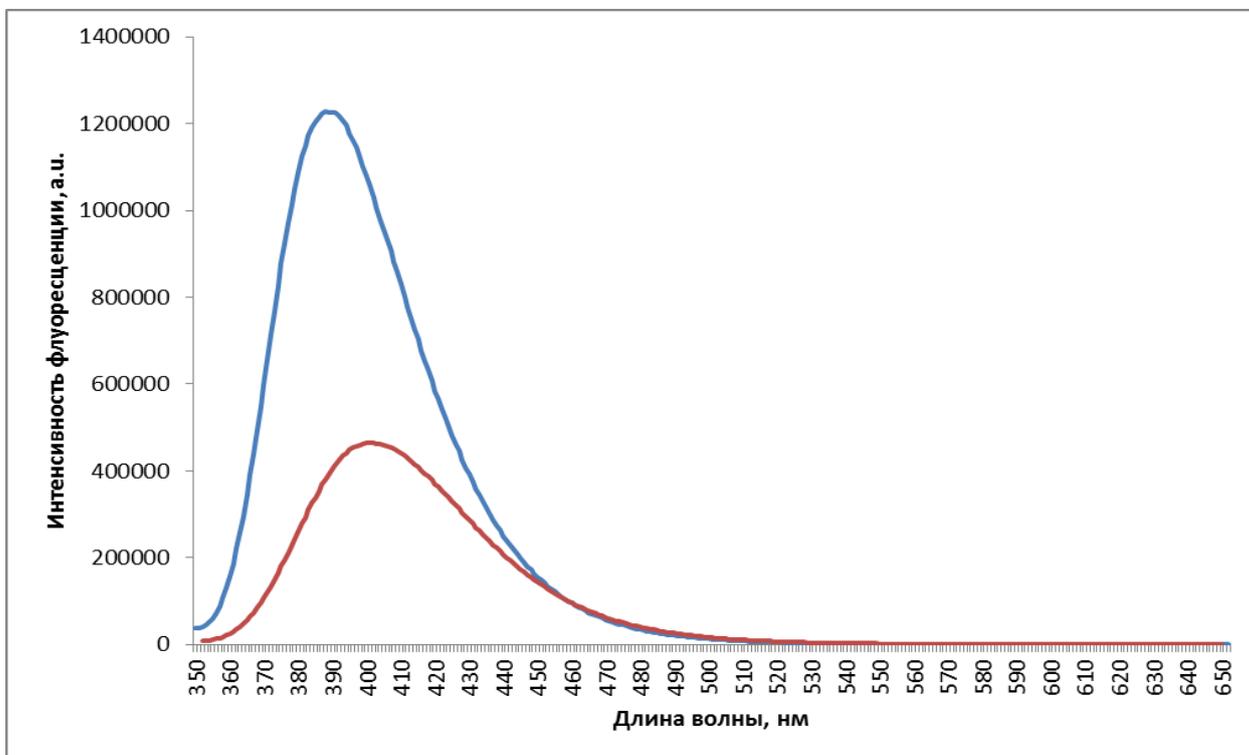


Рис. 7. Спектры флуоресценции соединения **23** в хлороформе (синий) и этаноле (красный).

Растворитель оказывает влияние на величину разности между λ_{\max} спектра поглощения вещества и спектра флуоресценции. При увеличении полярности растворителя эта разность, увеличивается (Таблица 4). Полярность растворитель также влияет на квантовый выход флуоресценции, увеличивая её или уменьшая (Таблица 7).

При уменьшении полярности растворителя спектр испускания сдвигается в сторону коротких длин волн. И наоборот, увеличение полярности растворителя приводит к смещению спектра испускания в длинноволновую сторону (Рис.7).

Соединение **20** иначе проявляет свои флуоресцентные свойства. При уменьшении полярности растворителя спектр испускания сдвигается в длинноволновую сторону (Рис.8). При увеличении полярности растворителя разность между λ_{\max} спектра поглощения вещества и спектра флуоресценции, уменьшается (Таблица 4). Возможно, это связано с тем, что фтор проявляет отрицательный индуктивный и положительный мезомерный эффекты.

Соединение **22** имеет развитую систему сопряженных связей, поэтому это соединение обладает высоким квантовым выходом.

Соединение **23** имеет малый стоксов сдвиг, а значит, у него есть склонность к реабсорбции.

Изучение флуоресцентных свойств 1,2,3-триазольных производных нитинонитрила показало, что нахождение триазольного фрагмента в 4 положении повышает квантовый выход флуоресценции по сравнению с нахождением этого фрагмента в 6 положении (Таблица 7). Большой стоксов сдвиг наблюдается у нитинонитрила с триазольным фрагментом в 6 положении (Таблица 6). Нахождение триазольного фрагмента в 4 положении приводит к гипсофлорному сдвигу и резкому снижению интенсивности флуоресценции (Рис. 9). Вероятно это происходит из-за того что нахождение триазольного фрагмента в 4 положении делает молекулу неплоской, затрудняя сопряжение между фрагментами.

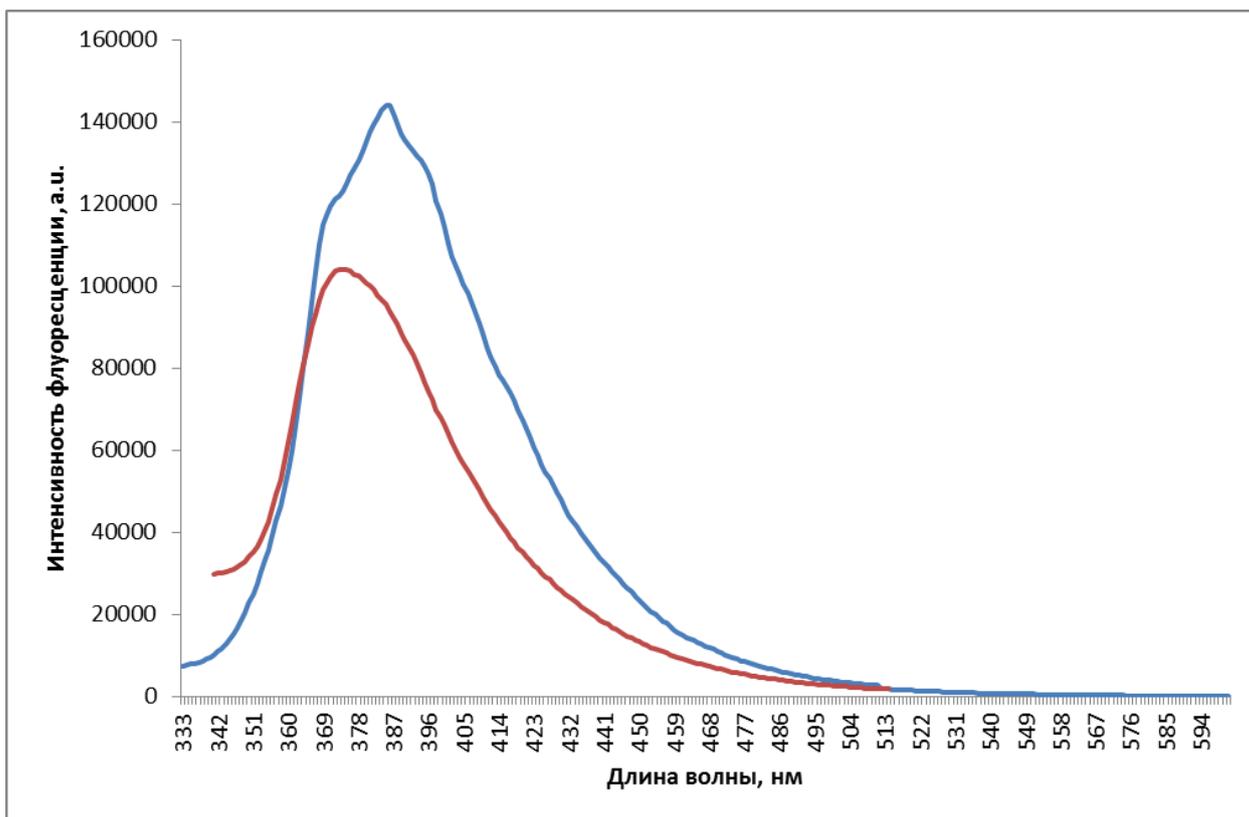


Рис. 8. Спектры флуоресценции соединения **20** в хлороформе (синий) и этаноле (красный).

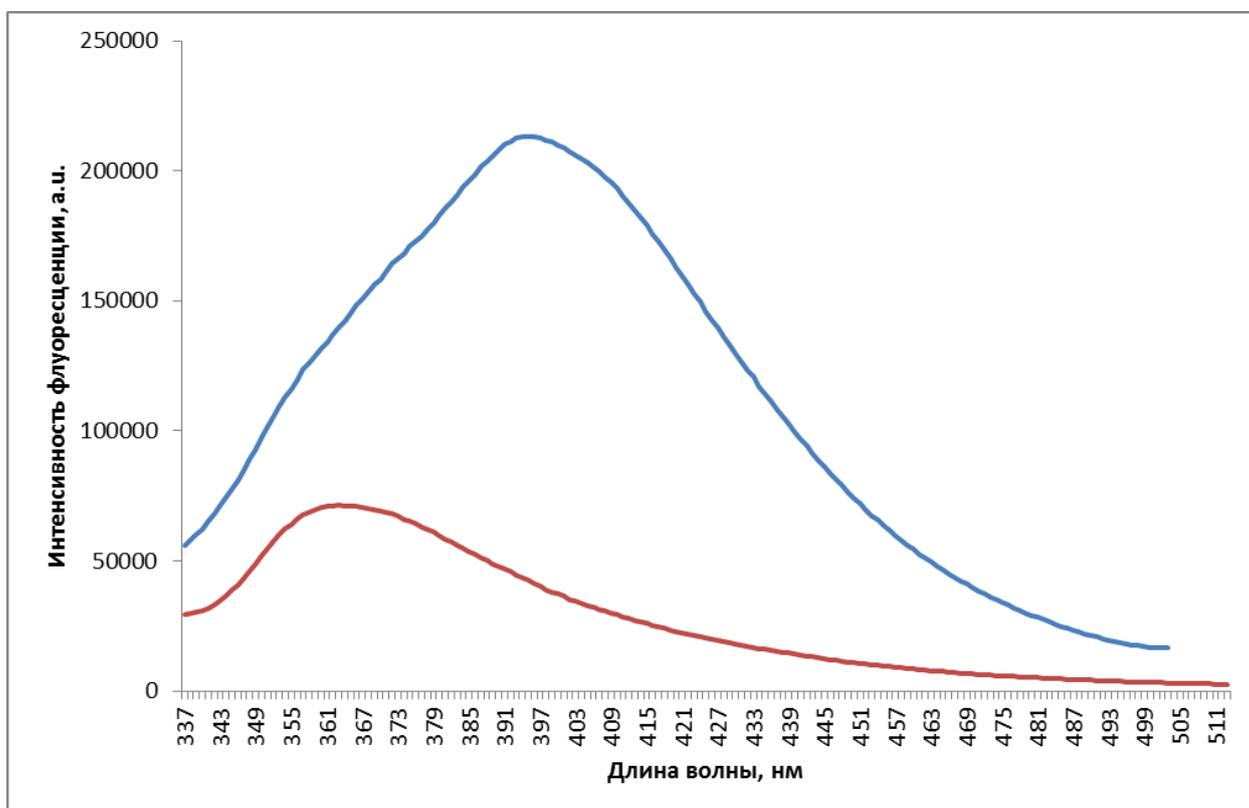


Рис. 9. Спектры флуоресценции соединений **26** (синий), **25** (красный).

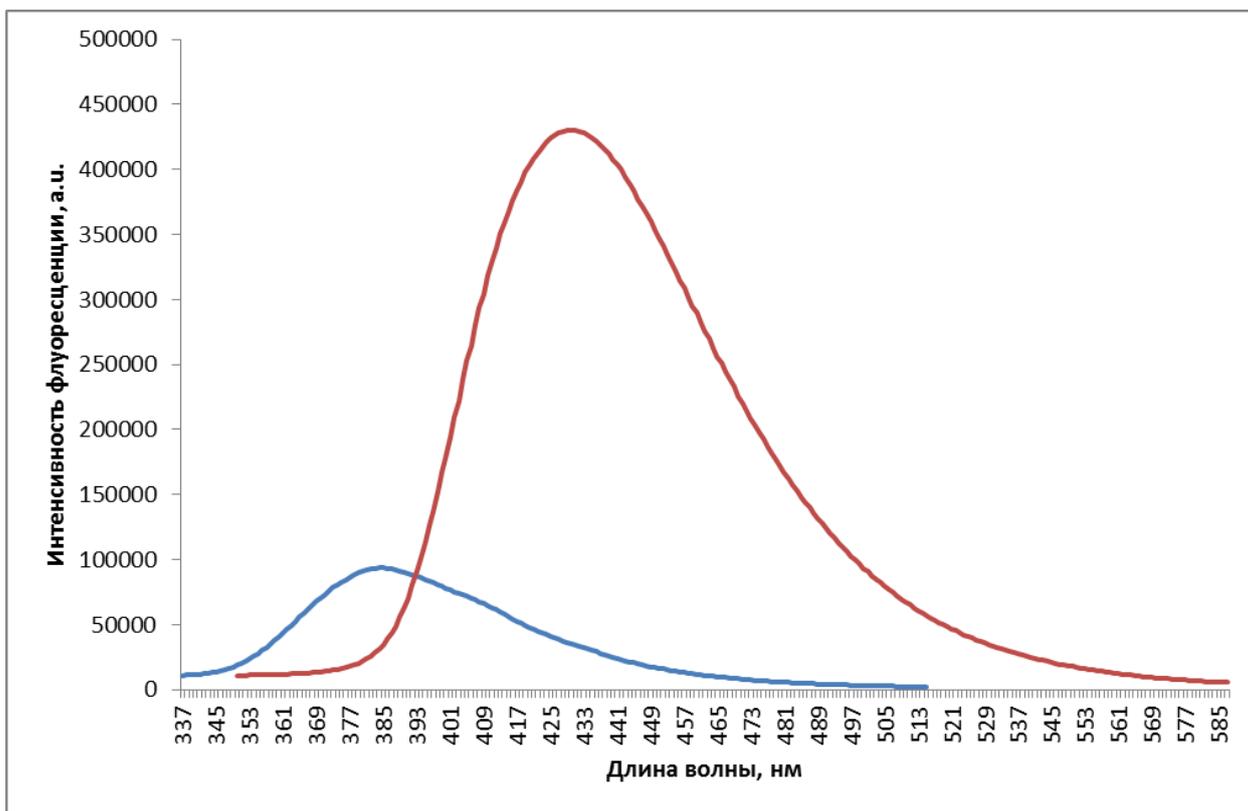


Рис. 10 Спектры флуоресценции соединений **16** (синий), **21** (красный).

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1. Реагенты, оборудование и методика исследования

Строение соединений подтверждено ИК, ЯМР ^1H и ^{13}C , контроль над ходом реакции осуществлялся с помощью ТСХ.

ИК спектры регистрировались на ИК фурье спектрометре ФСМ 1201 в таблетках КВг.

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C зарегистрированы на спектрометре Bruker AM-300 (300 и 75 МГц соответственно) ДМСО- d_6 и CDCl_3 .

Для ТСХ использовались пластинки Sorbfil и Silufol, элюент – этилацетат-циклогексан в соотношении 1:2, проявление парами йода.

Электронные спектры поглощения измерены на UNICO 2800 UV/VIS СПЕКТРОФОТОМЕТР в кварцевых кюветах $l = 1$ см в диапазоне длин волн от 400 до 210 нм, с максимальной интенсивность поглощения 0,25. Ошибка в определении положения максимумов пиков поглощения составляла ± 1 нм. Электронные спектры поглощения растворов строились в зависимости оптической плотности от длины волны. Расчет молярного коэффициента поглощения ϵ в максимумах поглощения проводили по формуле Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = \epsilon \times l \times c$$

где A – оптическая плотность, ϵ – молярный коэффициент поглощения, l - расстояние, пройденное светом в растворе, C – концентрация раствора.

Спектры флуоресценции зарегистрированы на приборе SHIMADZU RF-6000 СПЕКТРОФЛУОРОФОТОМЕТР в кварцевых кюветах $l = 1$ см, в диапазоне длин волн от 200 до 650 нм. Регистрация сигнала флуоресценции проводилась под углом 90° . Концентрации исследуемых веществ лежали в диапазоне от 10^{-7} до 10^{-6} моль/л. В качестве растворителей использовали: этиловый спирт и хлороформ. В качестве стандарта для определения относительного квантового выхода флуоресценции ($Q_{\text{отн}}^f$) использовали хинин сульфат (1×10^{-6} М) в 0,1 М H_2SO_4 (абсолютный квантовый выход $Q_{\text{ст}}^f =$

0,546) [50]. Расчет относительного квантового выхода ($Q_{\text{отн}}^f$) проводили по формуле [51]:

$$Q_{\text{отн}}^f = Q_{\text{ст}}^f \times \frac{D_{\text{ст}}}{D} \times \frac{n^2}{n_{\text{ст}}^2} \times \frac{S}{S_{\text{ст}}}$$

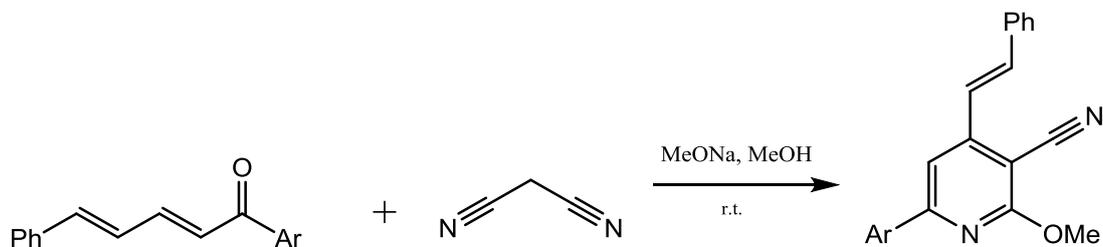
где $Q_{\text{отн}}^f$ – квантовый выход исследуемого образца, $Q_{\text{ст}}^f$ – квантовый выход стандарта, S – площадь под кривой спектра флуоресценции раствора образца, $S_{\text{ст}}$ – площадь под кривой спектра флуоресценции стандарта, D – оптическая плотность исследуемого образца, $D_{\text{ст}}$ – оптическая плотность раствора стандарта, n – показатель преломления растворителя (в котором растворен образец), $n_{\text{ст}}$ – показатель преломления растворителя (в котором растворен стандарт).

3.2 Синтез исследуемых производных азагетероциклов

3.2.1 Общая методика получения 2-метокси-4-стирилникотинитрилов

(Схема 3):

Схема 3



Ar = Ph, 4-CH₃C₆H₄, 4-CH₃O C₆H₄, 4-C₂H₅O C₆H₄, 4-FC₆H₄, 2-C₄H₃S

Исходные халконы получены по методике [52].

В колбу поместили малонитрил и раствор метилата натрия. К раствору добавили диеновый кетон растворенный в метиловом спирте. Смесь перемешивали в течение 22 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровали, промыли абсолютным метиловым спиртом и перекристаллизовывали из водного раствора этанола [49].

Полученные продукты представляют собой белые кристаллические вещества.

(E)-2-метокси-6-фенил-4-стирилникотинитрил. Выход 29 %. ИК спектр, ν , см^{-1} : 2217 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1633 ($\text{C}=\text{C}$). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 7.43 д (1H, J 7.50 Гц), 7.64д (1H, J 6.66 Гц), 7.70с (1H, C^5H), 4.18с (3H, OCH_3), 8.13-7.52м (C_6H_5). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 54.52, 92.94, 108.44, 115.17, 122.66, 127.34, 128.72, 128.92, 129.05, 129.80, 130.39, 135.40, 137.11, 151.55, 157.82, 164.95, 197.69.

(E)-2-метокси-6-метилфенил-4-стирилникотинитрил. Выход 32 %. ИК спектр, ν , см^{-1} : 2218 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1637 ($\text{C}=\text{C}$), 2924, 2950 ($-\text{CH}_3$). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 8.00д (1H, J 7.75 Гц), 7.31д (1H, J 9.32 Гц), 7.59 с (1H, C^5H), 4.11с (3H, OCH_3), 2.43с (3H, CH_3), 7.50-7.40м (C_6H_5). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 21.39, 54.29, 92.32, 107.76, 115.21, 122.50, 127.13, 127.60, 128.57, 128.91, 129.56, 134.66, 135.34, 136.74, 140.65, 151.19, 157.54, 164.68.

(E)-2-метокси-6-(4-метоксифенил)-4-стирилникотинитрил. Выход 56 %. ИК спектр, ν , см^{-1} : 2216 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1638 ($\text{C}=\text{C}$). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 7.24д (1H, J 16.28 Гц), 7.92д (1H, J 16.28 Гц), 8.00с (1H, C^5H), 4.07с (3H, OCH_3), 7.06д, (2H, J 8.97 Гц, $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$) 8.02д, (2H, J 8.97 Гц, $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 3.82с (3H, $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 7.38т (1H, Ph), 7.45т (2H, Ph), 7.66 д (2H, Ph). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 164.69, 161.96, 157.38, 151.92, 138.46, 136.05, 130.17, 129.92, 129.55, 128.03, 122.52, 115.44, 114.81, 108.66, 91.29, 54.73.

(E)-2-метокси-6-(4-этоксифенил)-4-стирилникотинитрил. Выход 42 %. ИК спектр, ν , см^{-1} : 2215 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1637 ($\text{C}=\text{C}$). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 7.21д (1H, J 16.53 Гц), 7.96д (1H, J 16.28 Гц), 8.01с (1H, C^5H), 4.02с (3H, OCH_3), 7.00т, (2H, $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$) 8.17д, (2H, J 8.88 Гц, $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 4.05т (3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 1.32т (3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 7.21д (1H, Ph), 7.42м (2H, Ph), 7.43 м (2H, Ph). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 15.17, 53.47,

54.70, 91.15, 108.23, 114.89, 115.06, 122.26, 128.05, 129.36, 129.52, 129.61, 131.21, 133.37, 138.37, 148.79, 159.94, 161.14, 164.55.

(E)-2-метокси-6-(4-фторфенил)-4-стирилникотинитрил. Выход 47%. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 2219 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1636 ($\text{C}=\text{C}$), 1227 ($\text{C}-\text{F}$).

(E)-2-метокси-6-(тиофен-2-ил)-4-стирилникотинитрил. Выход 32%. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 2216 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1633 ($\text{C}=\text{C}$), 691 ($\text{C}_4\text{H}_4\text{S}$).

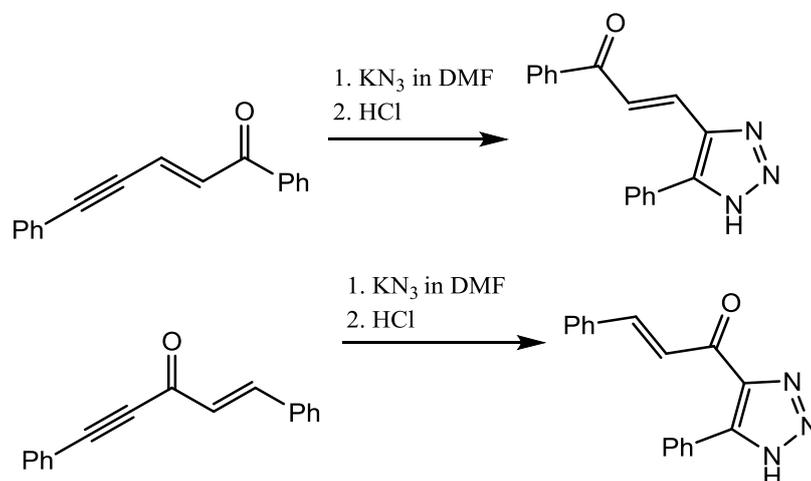
(E)-2-метокси-4-(4-хлорстирил)-6-фенилникотинитрил. ИК спектр ν , cm^{-1} : 2217 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1636 ($\text{C}=\text{C}$), 1068 ($\text{C}-\text{Cl}$).

3.2.2 Общая методика получения 1,2,3-триазольных производных никотинитрила

Получение целевых соединений велось в несколько стадий :

1) Синтез 1,2,3-триазольных халконов (Схема 4) [53]:

Схема 4

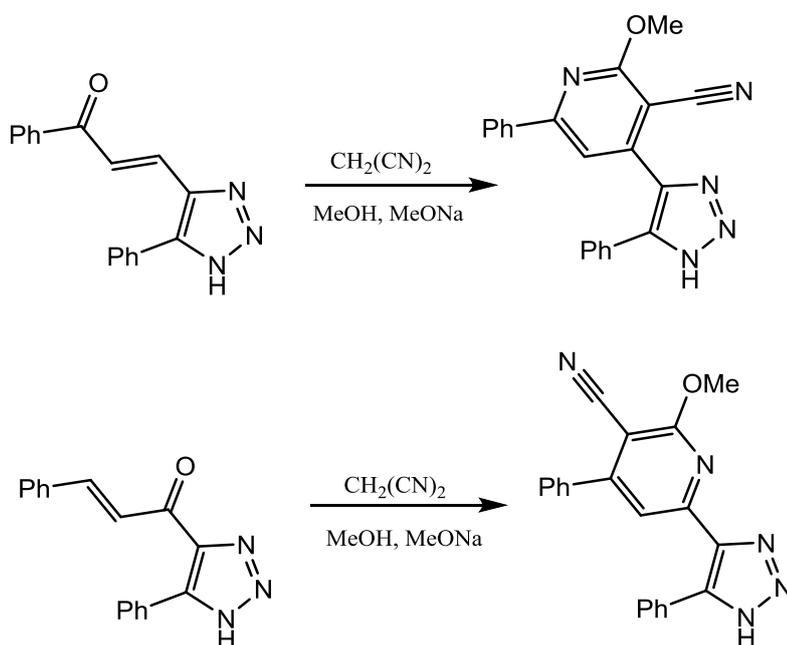


В колбу помещают эквивалентные количества ениона и азида калия, добавляют очищенный ДМФА. Колбу помещают на магнитную мешалку и оставляют реакционную смесь перемешиваться в течение ночи. После этого отгоняют ДМФА в вакууме масляного насоса. Остаток после отгонки растворяют в воде, раствор экстрагируют диэтиловым эфиром. К водному слою добавляют при охлаждении на ледяной бане HCl 1 : 2 до $\text{pH} = 4-5$.

Выпавший кристаллический осадок отфильтровывают на фильтре Шотта, промывают холодным 20%-ным этанолом и сушат. В случае если при добавлении HCl продукт выпадает в виде масла, его экстрагируют этилацетатом. Растворитель удаляют на водоструйном насосе. Получается кристаллический продукт.

2) Синтез 1,2,3-триазольных производных никотинонитрила (Схема 5):

Схема 5



В колбу помещают триазольный халкон, малонитрил и абсолютный метанол. Колбу помещают на магнитную мешалку и слегка нагревают до полного растворения халкона и малонитрила. К теплomu раствору добавляют раствор MeONa в метаноле. Колбу закрывают пробкой и реакционную смесь оставляют перемешиваться на ночь, затем контролируют состав реакционной смеси методом ТСХ. Реакцию необходимо вести до полной конверсии исходного 1,2,3-триазольного халкона. После того как весь халкон прореагирует, к реакционной смеси добавляют воду и осторожно добавляют по каплям HCl 1 : 2 до pH = 5-6. При этом выпадает осадок продукта реакции. Продукт отфильтровывают на фильтре Шотта, промывают

20%-ным этанолом, и сушат. Для получения аналитически чистого образца продукт перекристаллизовывают из смеси MeOH-вода.

**2-метокси-4-фенил-6-(5-фенил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)
никотинонитрил.** Выход 73 %. ИК спектр, ν , см⁻¹: 2226 (C≡N), 3436 (NH).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Получены ранее неописанные 2-метокси-4-стирилникотинитрилы. Соединения имеют выход от 29 до 56%.
2. Среди исследованных производных азагетероциклов, наиболее выраженные флуоресцентные свойства проявляют (Е)-2-метокси-6-(4-метоксифенил)-4-стирилникотинитрил, 2-метокси-6-(4-метоксифенил)-4-фенилникотинитрил и 4-(3-(4-хлорфенил)-1-фенил-4,5-дигидро-1*H*-пиразол-5-ил)-5-фенил-1*H*-1,2,3-триазол. Они имеют наибольшие значения квантовых выходов (до 0,43).
3. Введение в состав 2-метокси-4-стирилникотинитрила тиофенового фрагмента приводит к батохромному сдвигу полосы флуоресценции (до 46 нм) и значительно увеличивает квантовый выход флуоресценции (до 0,25).
4. Введение электронодонорных заместителей в бензольное кольцо приводит к смещению максимума излучения в длинноволновую область спектра. Введение электроноакцепторных заместителей приводит к смещению максимума излучения в коротковолновую область спектра флуоресценции.
5. Измерение в малополярных растворителях приводит к увеличению квантового выхода флуоресценции (до 0,68), и уменьшению стоксова сдвига.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lakowicz J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy // Springer Science Business Media. - 2006. - 954 p.
2. Медведев Е.А. Классификация флуоресцентных органических соединений // International scientific review. – 2016. - №12. - С. 9-11.
3. Суковатая И.Е. Фотобиофизика / И.Е. Суковатая, В.А. Кратасюк, В.В. Межевикин и др. // - Красноярск: ИПК СФУ. – 2008. – 438 с.
4. Беккер Г.О. Введение в фотохимию органических соединений // под ред. проф. Г. О. Беккера и проф. А. В. Ельцова., пер. с нем. – Л.: Химия. - 1976. - 384 с.
5. Valeur B. Molecular Fluorescence Principles and Applications // Wiley-VCH Verlag GmbH. – 2001. - 381 p.
6. Крам Д. Органическая химия / Д. Крам, Дж. Хэммонд // под ред. акад. А. Н. Несмеянова, пер. с англ. М. А. Виноградовой. - М.: Мир. - 1964. – 714 с.
7. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии // пер. с англ. - М.: Мир. – 1986. – 496 с.
8. Jameson D.M. Introduction to Fluorescence // CRC Press Taylor and Francis Group. – 2011. – 296 p.
9. Demchenko A.P. Introduction to Fluorescence Sensing // Springer Science Business Media B.V.. - 2009. – 586 p.
10. Ремпель С.В. Размеры и флуоресценция квантовых точек сульфида кадмия / С.В. Ремпель, А.А. Разводов, М.С. Небогатилов, Е.В. Шишкина и др. // Физика твердого тела. – 2013. - Т. 55. - Вып. 3. – С. 567-571.
11. Варехов А.Г. Флуоресцентный метод исследования и измерение октанового числа бензинов // НИИТТС : Техничко-технологические проблемы сервиса. – 2013. - №2 (24).

12. Иванова С.В. Использование флуоресцентных методов в медицине / С.В. Иванова, Л.Н. Кирпичёнок // ВГМУ Медицинские новости. – 2008. – № 12. – С. 56-61.
13. Конев С.В. Электронно-возбужденные состояния биополимеров // – Минск : Наука и техника. - 1965 . – 186 с.
14. Demchenko A. P. Ultraviolet Spectroscopy of Proteins // Springer. - 1986.
15. Калниня И.Э. Флуоресцентные методы исследования и клинической диагностики: сб. науч. трудов. / И.Э. Калниня, Р.К. Блума // – 1991. – № 1. – С. 29–39.
16. Бурштейн Э.А. Собственная люминесценция белка: итоги науки и техники // Биофизика – М.: ВИНТИ. – 1977. – Т.7. – 190 с.
17. Черницкий Е.А. Спектральный люминесцентный анализ в медицине / Е.А. Черницкий, Е.И. Слобожанина // – Минск: Наука и техника. - 1989. – 141 с.
18. Crespo-Hernandez, C. E. Ultrafast Excited-State Dynamics in Nucleic Acids / C. E. Crespo-Hernandez, B. Cohen, P. M. Hare, B.U. Kohler // Chemical Reviews. - 2004. - Vol.104. - №4. - pp. 1977—2020.
19. Умаров, М.Ф. Оптическая спектроскопия биоактивных препаратов: монография / М.Ф. Умаров, В.С. Горелик // – Вологда: ВоГУ. - 2014. – 147 с.
20. Мартынов В.И. Синтетические флуорофоры для визуализации биомолекул в живых системах / В. И. Мартынов, А. А. Пахомов, Н. В. Попова, И. Е. Деев, А. Г. Петренко // АСТА NATURAE. – 2016. - Т.8. - №4. – С. 37-51.
21. Александрова О. А. Наночастицы, наносистемы и их применение. Ч.1. Коллоидные квантовые точки // под ред. В. А. Мошникова, О. А. Александровой. - Уфа: Аэтерна. - 2015. – 236 с.
22. Kobayashi H. New Strategies for Fluorescent Probe Design in Medical Diagnostic Imaging / H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P.L. Choyke, Y. Urano // Chemical Reviews. – 2010. – Vol. 110. - №5. - pp. 2620—2640.

23. Boens, N. Fluorescent indicators based on BODIPY / N.Boens, V.Leen, W.Dehaen // *Chemical Society Reviews*. – 2012. – Vol. 41. - С. 1130—1172.
24. Акчурин И.О. Новые ИК-флуоресцентные BODIPY красители с необычно большим Стоксовым сдвигом / И.О. Акчурин, А.Ю.Бочков, В.Ф.Травень // *Успехи в химии и химической технологии*. – 2011. - Т.25. - №11. – С. 36-40.
25. Болотин Б.М. Органические люминофоры с аномально большим сдвигом Стокса // *Химическая промышленность сегодня*. – 2014. - №1. – С. 18-24.
26. Короткина Л.Г. Исследование красящих веществ, используемых для охраны объектов от посягательств / Л.Г. Короткина, И.Г. Эйхенбаум // *Экспертная практика и новые методы исследования*. М.: ВНИИСЭ. – 1977. - Вып. 21. - С. 15-23.
27. Болдырев И.А. Принести людям свет // *Химия и жизнь*. – 2012. - №1. – С. 1-10.
28. Венкатараман К. Аналитическая химия синтетических красителей // пер. с англ. – Л.: Химия. – 1979. – 575 с.
29. Габриеле Б. Флуоресцентный индикатор // Патент России № 2574452. 2016. Бюл. № 4.
30. Нурмухаметов Р.Н. Применение люминесцентных материалов для дорожных знаков и разметок / Р.Н. Нурмухаметов, Л.В. Волкова, Н.И. Кунавин, В.Г. Клименко // *Известия МГУ «МАМИ»*. - 2007. – №2. - С. 199-203.
31. Hawkins, H. G. Evaluation of Fluorescent Orange Signs/ H.G. Hawkins, P.J. Carlson, M. Elmquist // - 2000. – 57 p.
32. Уэйн Р., Основы и применения фотохимии // пер. с англ. – М.: Мир. - 1991. – 304 с.
33. Кушнарцева О.П. Применение метода регистрации замедленной флуоресценции хлорофилла микроводорослей для оценки качества

- природных вод / О.П. Кушнарева, И.В. Ефремов, Е.Н. Перекрестова // Вестник ОГУ. – 2011. - №12. - С. 404-406.
34. Осипов В.А. Использование флуоресценции хлорофилла «а» для биотестирования водной среды / В.А.Осипов, Г.М.Абдурахманов, А.А. Гаджиев, Л.Б. Братковская, Б.К.Заядан // Юг России: экология, развитие. – 2012. - №2. - С. 93-100.
35. Royer C. A. Probing Protein Folding and Conformational Transitions with Fluorescence / C.A. Royer // Chemical Reviews. - 2006. – Vol. 106. - №5. - pp. 1769—1784.
36. Millar D. P. Fluorescence studies of DNA and RNA structure and dynamics // Current Opinion in Structural Biology. - 1996. – Vol.6. - pp. 322—326.
37. Hilderbrand S. A. Near-infrared fluorescence: application to in vivo molecular imaging / S.A. Hilderbrand, R. Weissleder // Current Opinion in Chemical Biology. - 2010. – Vol. 14. - pp. 71-79.
38. Gioux S. Image-Guided Surgery using Invisible Near-Infrared Light: Fundamentals of Clinical Translation / S. Gioux, H. S. Choi, J.V. Frangioni // Molecular Imaging. - 2010. – Vol. 9. - №5. - pp. 237—255.
39. Rao, J. Fluorescence imaging in vivo: recent advances / J. Rao, A. Dragulescu-Andrasi, H. Yao // Current Opinion in Biotechnology. – 2007. – Vol. 18. - С. 17-25.
40. Hilderbrand, S. A.; Weissleder, R. Near-infrared fluorescence: application to in vivo molecular imaging / S. A. Hilderbrand, R.Weissleder // Current Opinion in Chemical Biology. – 2010. – Vol. 14. - pp. 71-79.
41. Yang I. Live bio-imaging with fully bio-compatible organic fluorophores / I. Yang, J. W. Lee, S. Hwang, J. E. Lee, et all // Journal of Photochemistry & Photobiology. – 2017. – Vol.166. – pp. 52–57.
42. Копицын Д. С. Методы оптического биоимиджинга в исследованиях онкологических заболеваний / Д. С. Копицын, А. В. Бескорвайный, М. С. Котелев, А. А. Новиков, Е. В. Иванов, Е. В. Винокуров // Башкирский химический журнал. – 2013. - Т. 20. - №4. – С. 64-71.

43. Чащин Г.В. Перспективы использования искусственных флуорофоров (квантовых точек) в офтальмологии / Г.В. Чащин, В.О. Пономарев, С.В. Носов, А.С. Барыбин, и др. // ВЕСТНИК ОГУ. – 2011. - №14. - С. 394-396.
44. Новак Н.В. Флуоресценция зубов и пломбировочных материалов // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – С. 67- 70.
45. Drummen Fluorescent Probes and Fluorescence (Microscopy) Techniques — Illuminating Biological and Biomedical Research // Molecules. – 2012. – Vol. 17. - pp. 14067-14090.
46. Ko, S. K. Zebrafish as a good vertebrate model for molecular imaging using fluorescent probes / S. K. Ko, X. Chen, J. Yoon, I. Shin // Chemical Society Reviews. – 2011. – Vol. 40. - №5. - pp. 2120—2130.
47. Haran, G. Single-molecule fluorescence spectroscopy of biomolecular folding // Journal of Physics: Condensed Matter. – 2003. – Vol. 15. - pp. 1292—1313.
48. Persson, F. Single molecule methods with applications in living cells / F. Persson, I. Barkefors, J. Elf // Current Opinion in Biotechnology. – 2013. Vol. 24. - №4. - pp. 737—744.
49. Al-Arab M.M. A Facile Synthesis of 6-Alkoxy-2,4-diaryl-5-cyanopyridine // Journal of Heterocyclic Chemistry. - 1989. – Vol.26. – pp. 1665- 1673.
50. O'Reilly J.E. Fluorescence experiments with quinine // Journal of Chemical Education. – 1975. – Vol.52. - №9. - pp. 610-612.
51. Goncalves e Silva F. R. Visible and Near-Infrared Luminescence of Lanthanide-Containing Dimetallic Triple-Stranded Helicates: Energy Transfer Mechanisms in the Sm^{III} and Yb^{III} Molecular Edifices / F. R. Goncalves e Silva, O. L. Malta, C. Reinhard, H.-U. Gudel, C. Piguet, et al. // Journal of Physical Chemistry. – 2002. – Vol. 106. – pp. 1670-1677.
52. Десенко С. М. Азагетероциклы на основе ароматических непредельных кетонов / С. М. Десенко, В. Д. Орлов // Харьков: Фолио. – 1998. – С. 108-110.

53. Голованов А.А. Азолилзамещенные 1,2,3-триазолы /А.А.Голованов, И.С.Один, В.В.Бекин, А.В.Вологжанина и др.// Журнал органической химии. - 2016. - Т. 52. - Вып. 3. –С. 434-440.

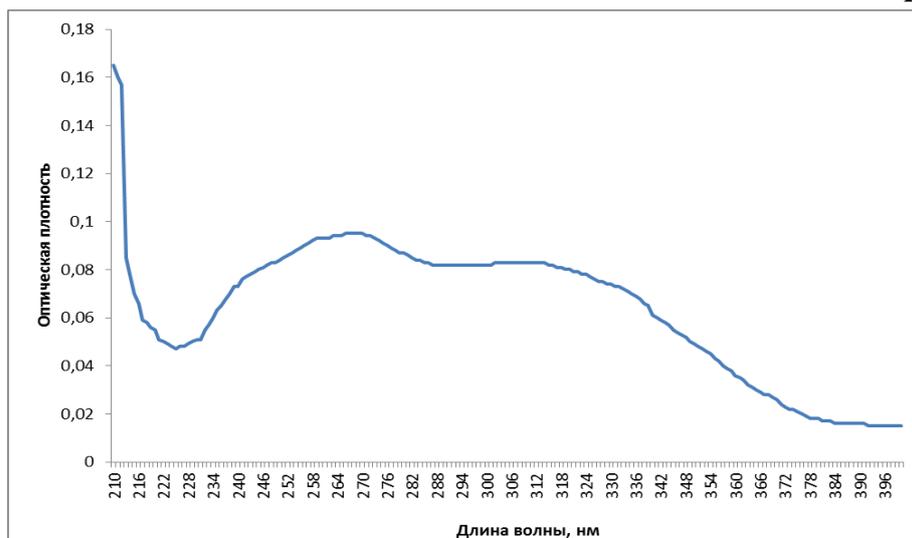


Рис. 11. УФ-спектр соединения 16 в этаноле

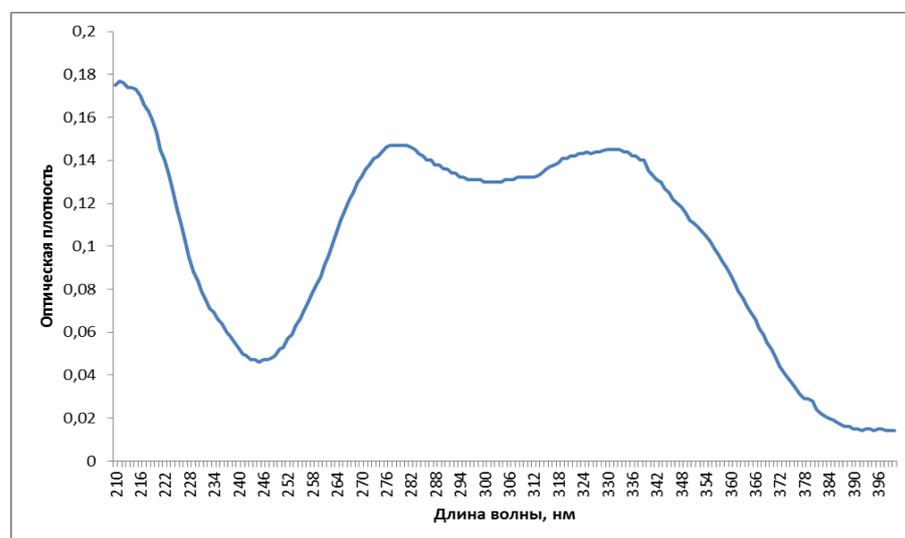


Рис. 12. УФ-спектр соединения 17 в этаноле

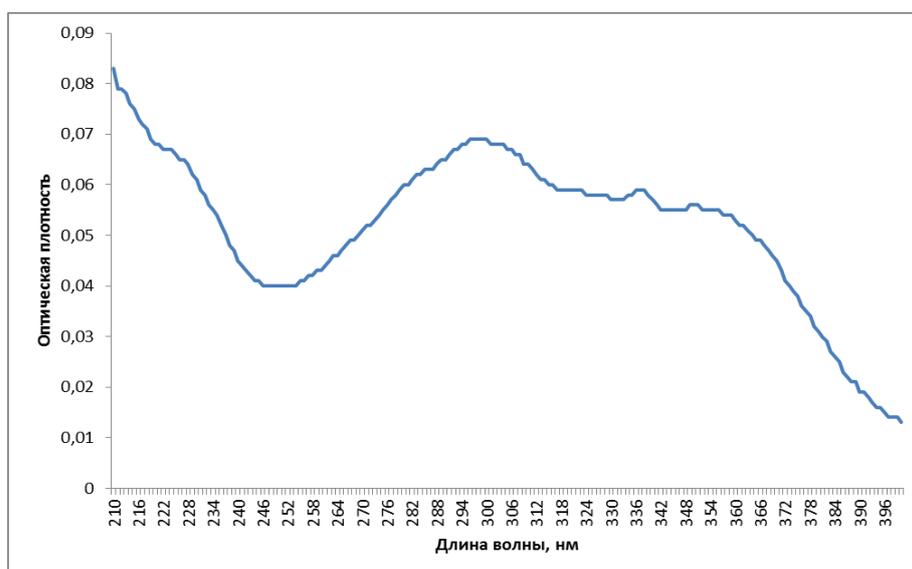


Рис. 13. УФ-спектр соединения 18 в этаноле

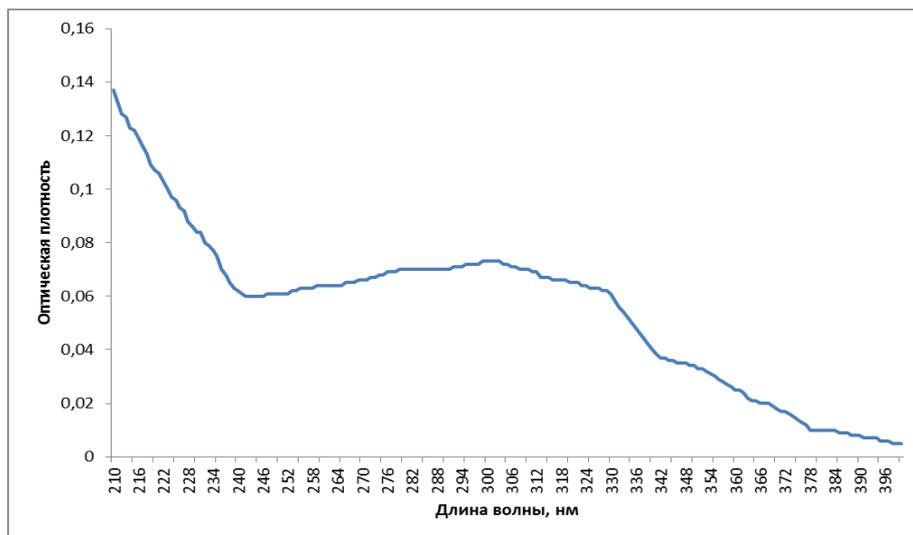


Рис. 14 . УФ-спектр соединения **19** в этаноле

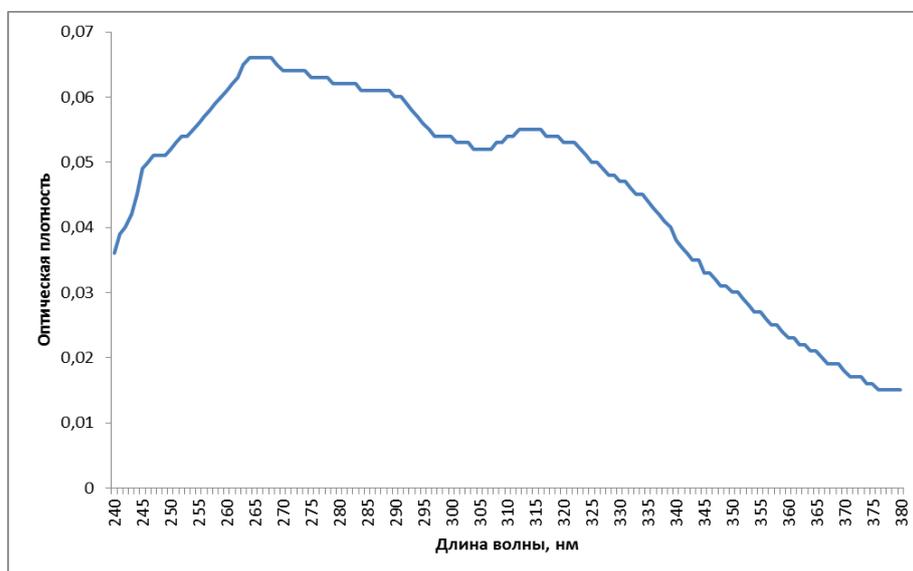


Рис. 15. УФ-спектр соединения **20** в хлороформе

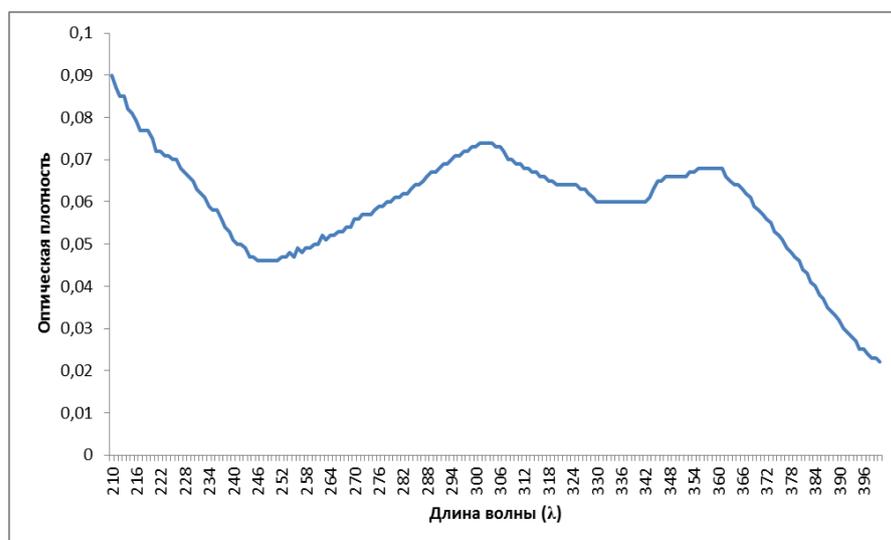


Рис. 16. УФ-спектр соединения **21** в этаноле

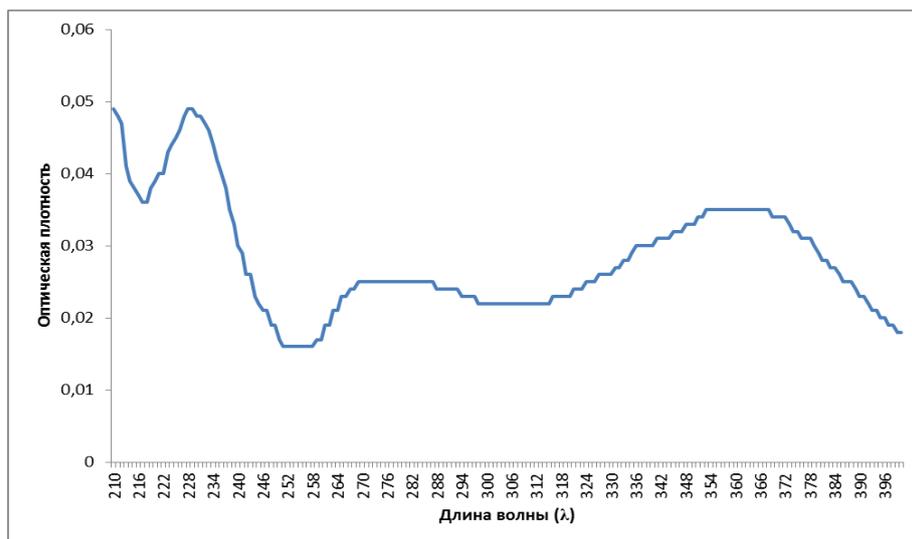


Рис. 17. УФ-спектр соединения **22** в этаноле

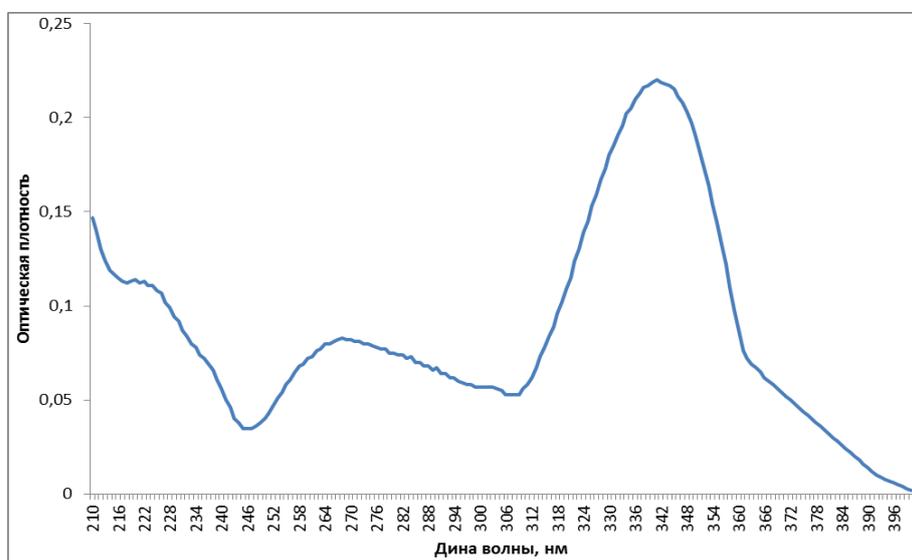


Рис. 18. УФ-спектр соединения **23** в этаноле

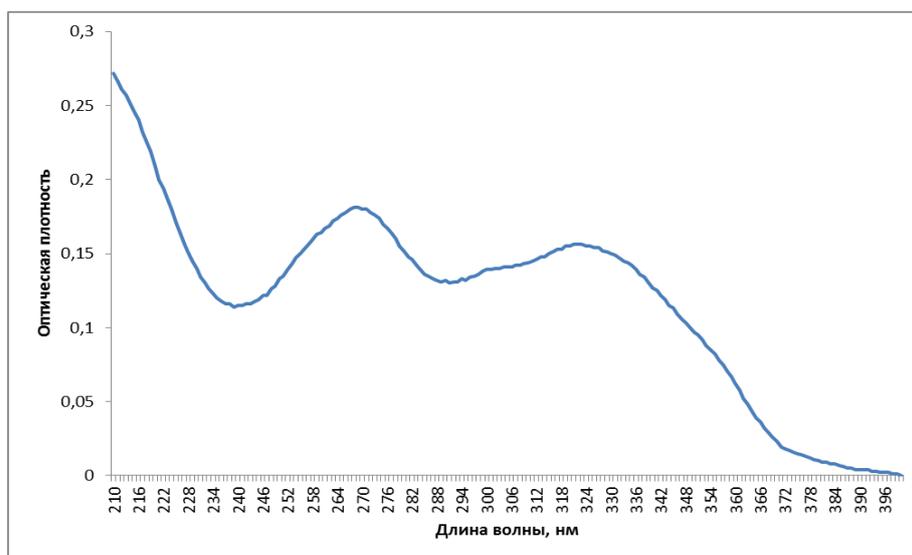


Рис. 19. УФ-спектр соединения **24** в этаноле

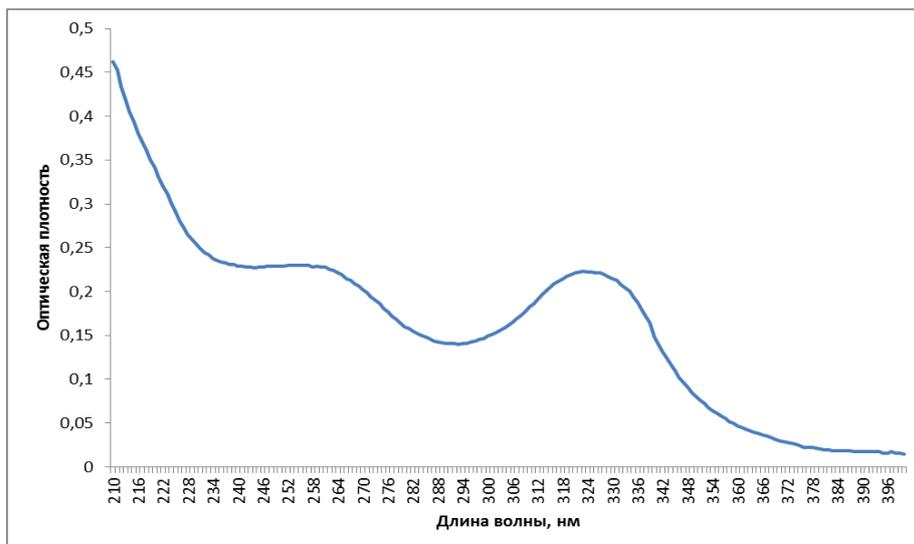


Рис. 20. УФ-спектр соединения **25** в этаноле

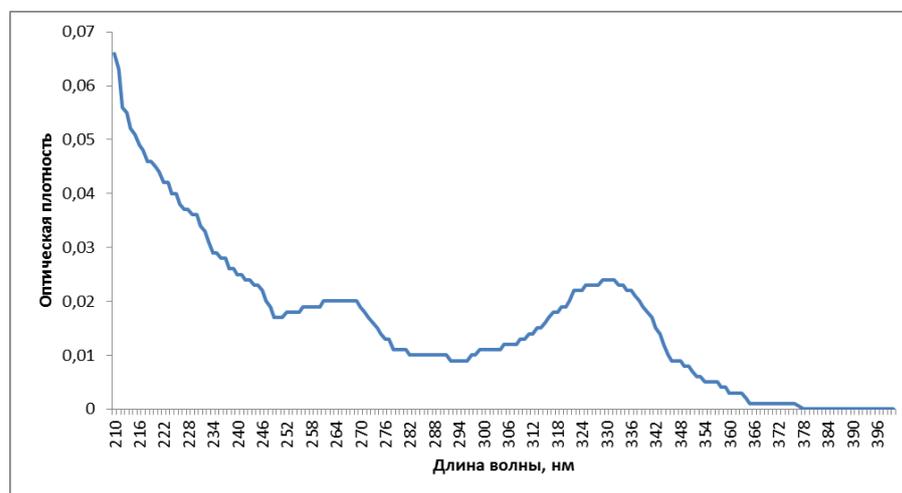


Рис. 21. УФ-спектр соединения **26** в этаноле

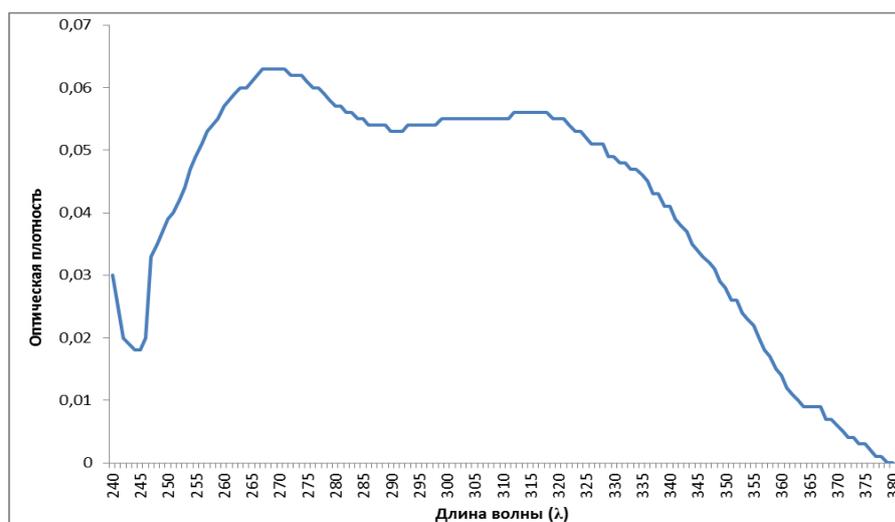


Рис. 22. УФ-спектр соединения **16** в хлороформе



Рис. 23. УФ-спектр соединения **20** в этаноле

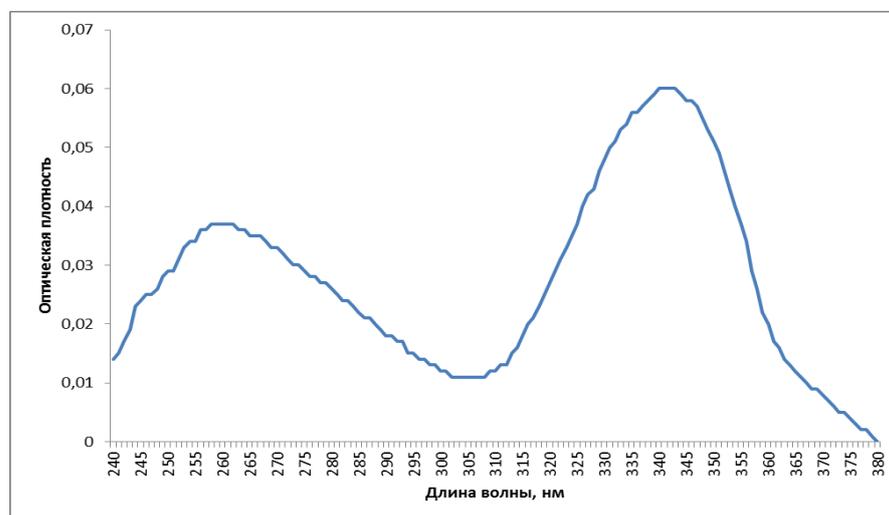


Рис. 24. УФ-спектр соединения **23** в хлороформе

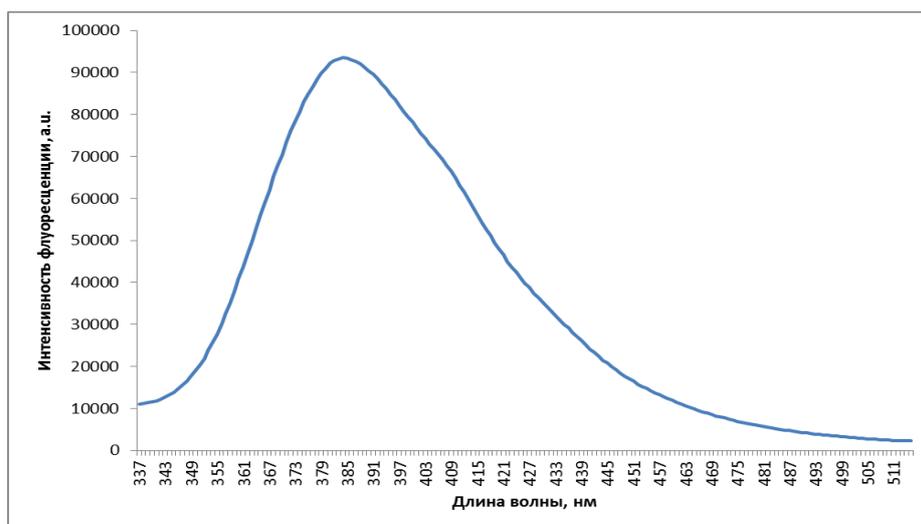


Рис. 25. Спектр флуоресценции соединения **16** в этаноле

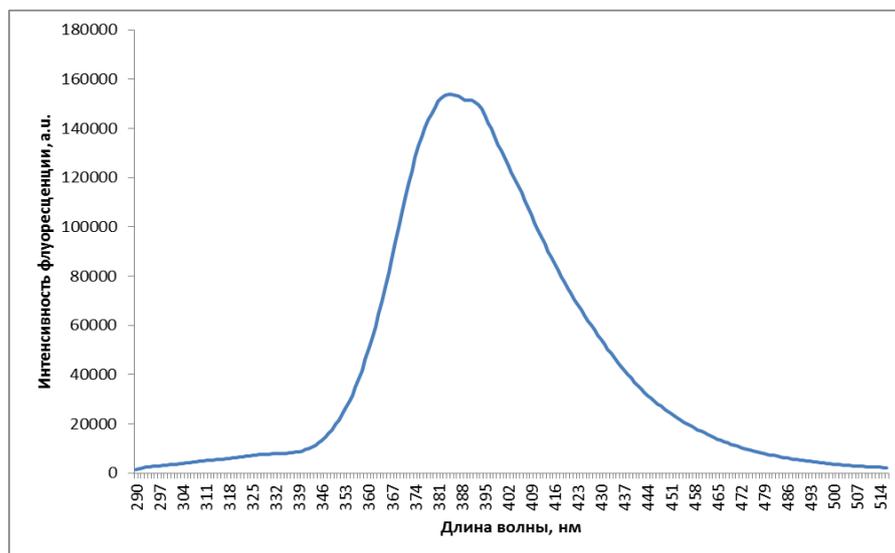


Рис. 26. Спектр флуоресценции соединения **17** в этаноле

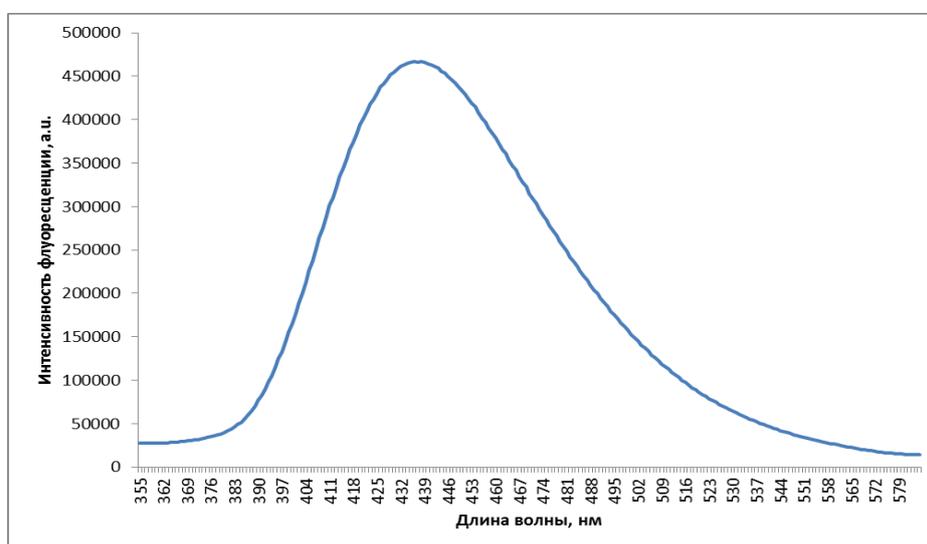


Рис. 27. Спектр флуоресценции соединения **18** в этаноле

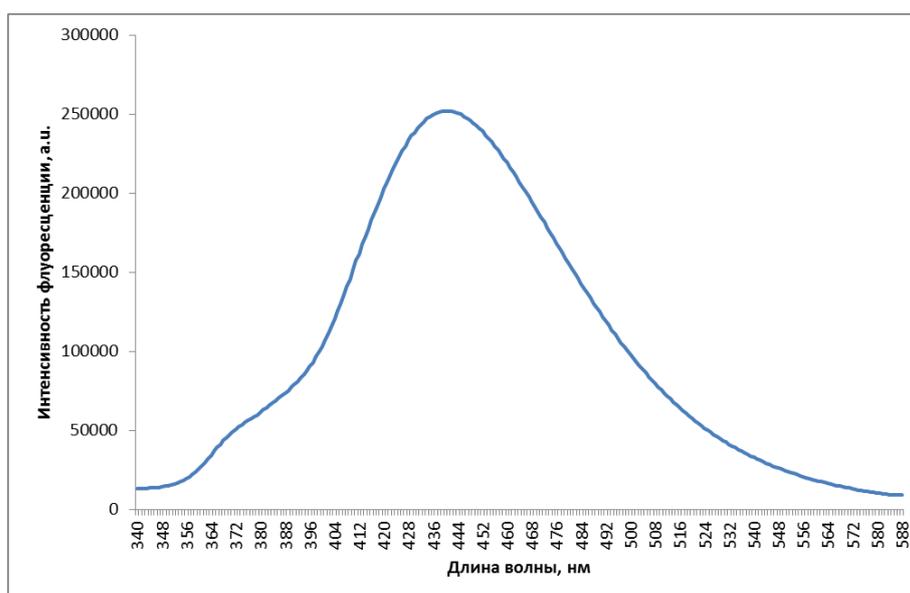


Рис. 28. Спектр флуоресценции соединения **19** в этаноле

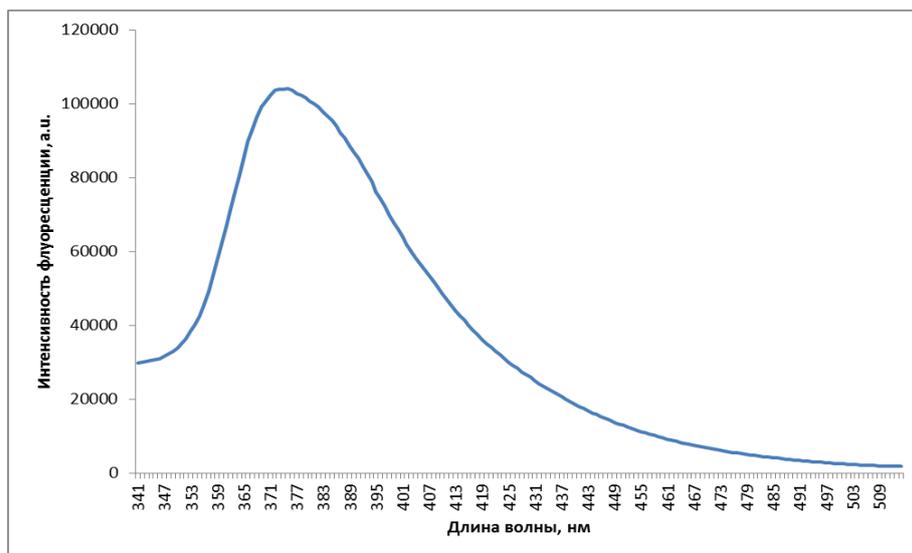


Рис. 29. Спектр флуоресценции соединения **20** в этаноле

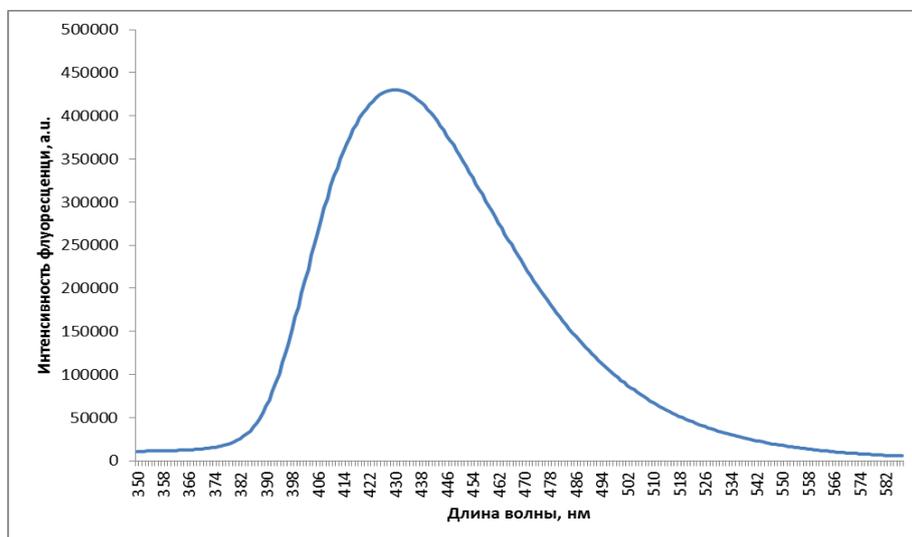


Рис. 30. Спектр флуоресценции соединения **21** в этаноле

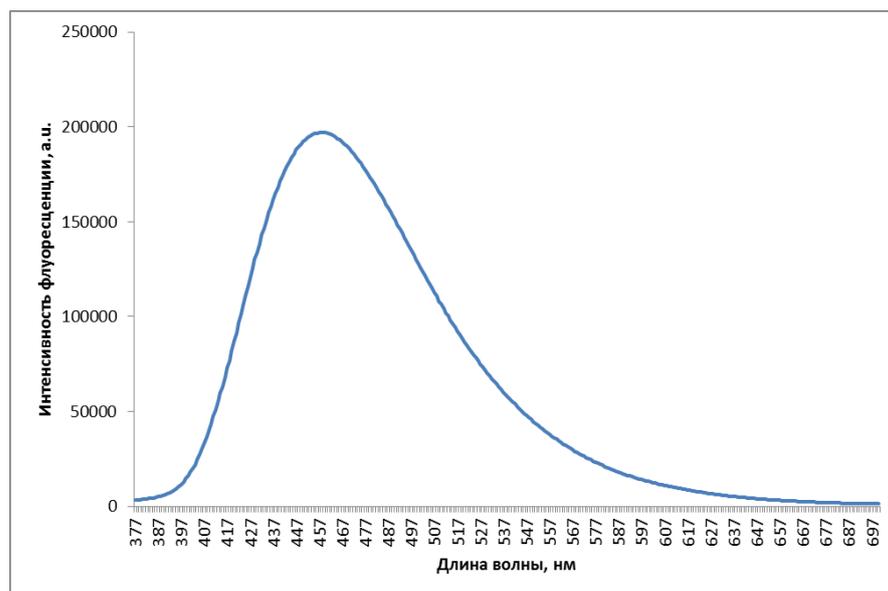


Рис. 31. Спектр флуоресценции соединения **22** в этаноле

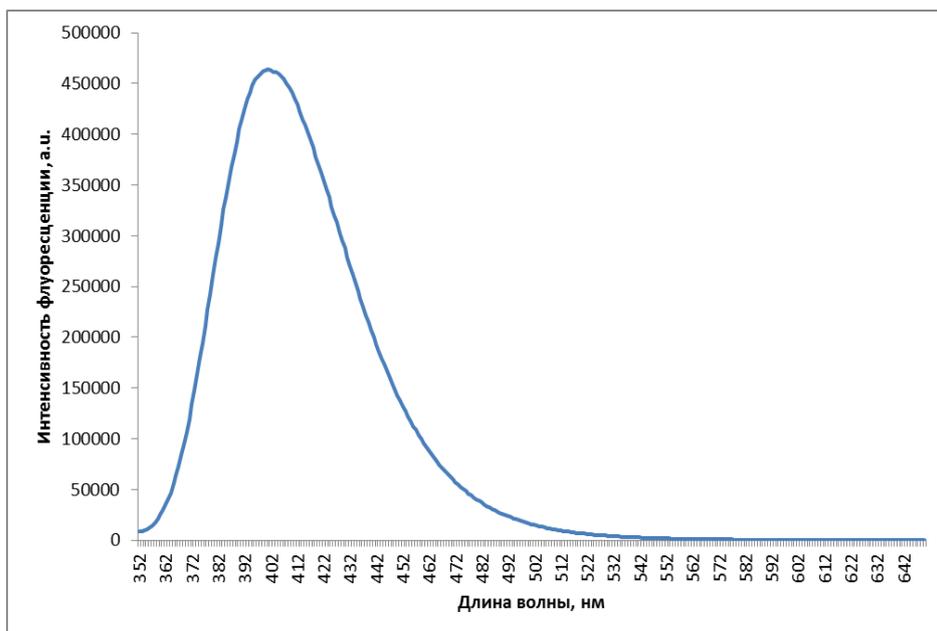


Рис. 32. Спектр флуоресценции соединения **23** в этаноле

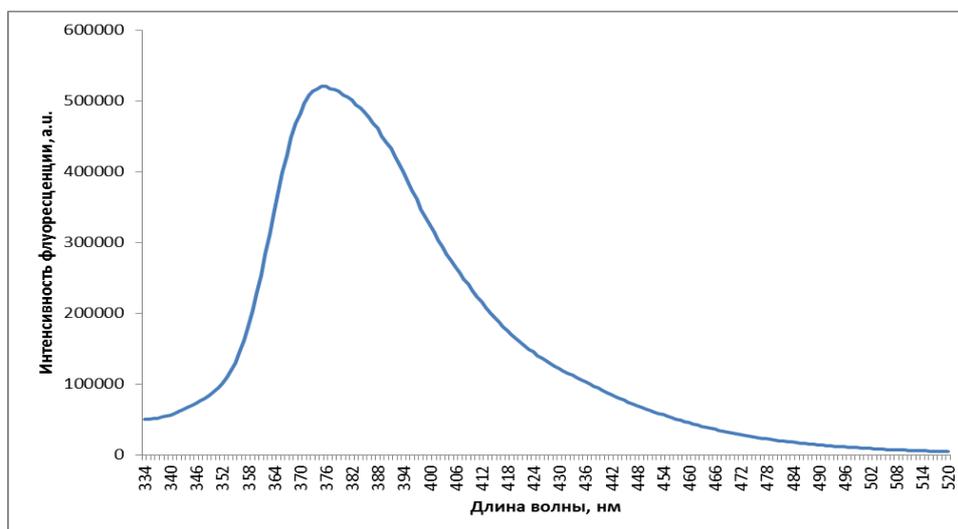


Рис. 33. Спектр флуоресценции соединения **24** в этаноле

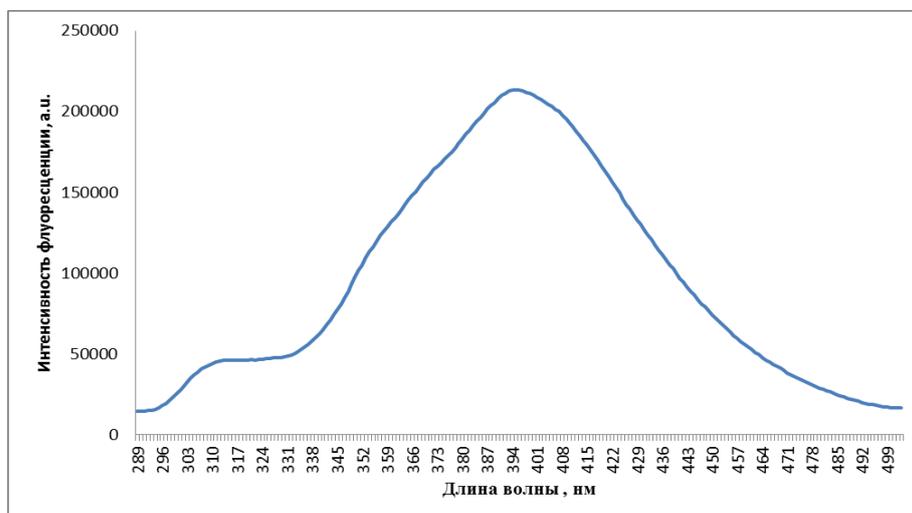


Рис. 34. Спектр флуоресценции соединения **25** в этаноле

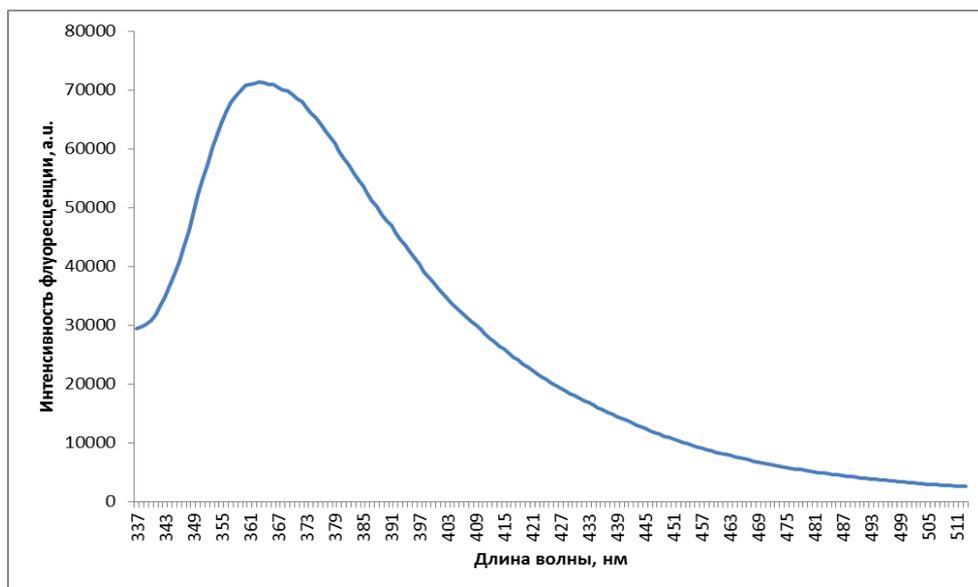


Рис. 35. Спектр флуоресценции соединения **26** в этаноле

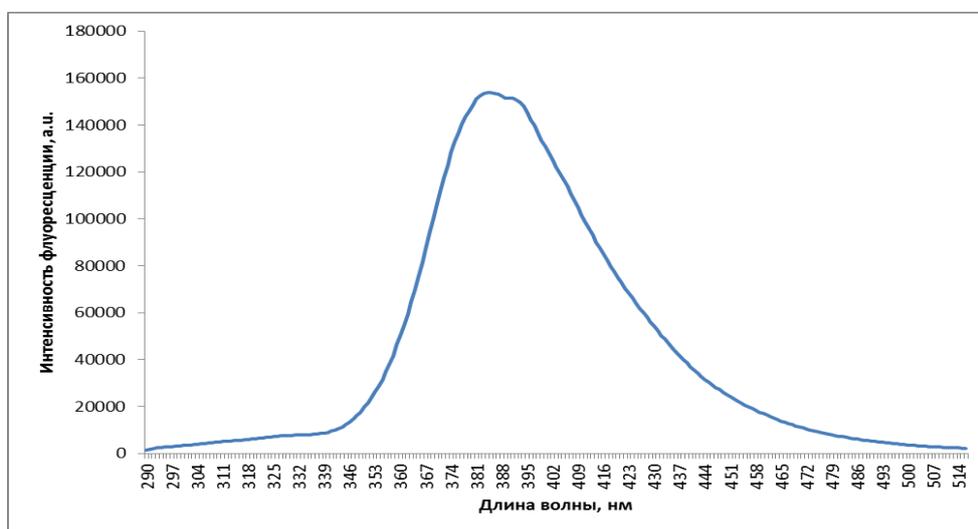


Рис. 36. Спектр флуоресценции соединения **16** в хлороформе

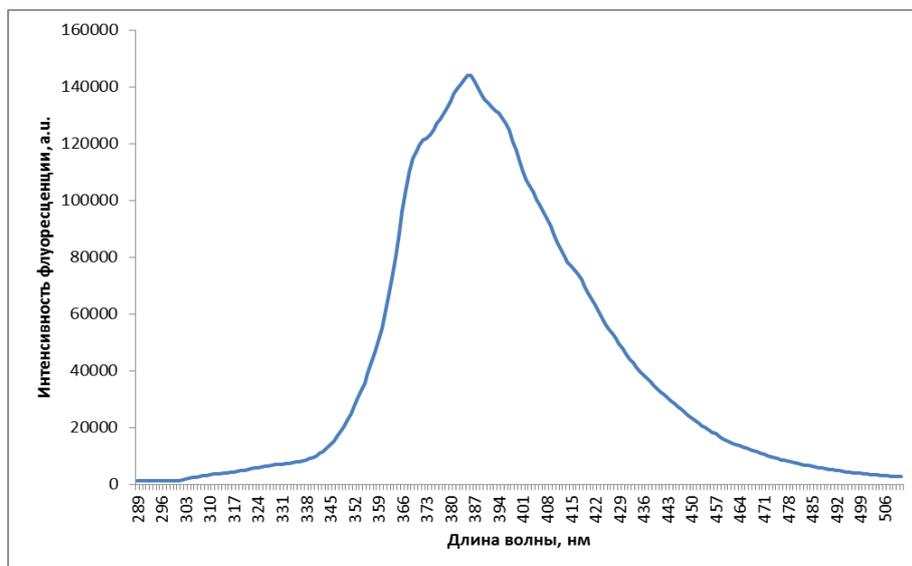


Рис. 37. Спектр флуоресценции соединения **20** в хлороформе

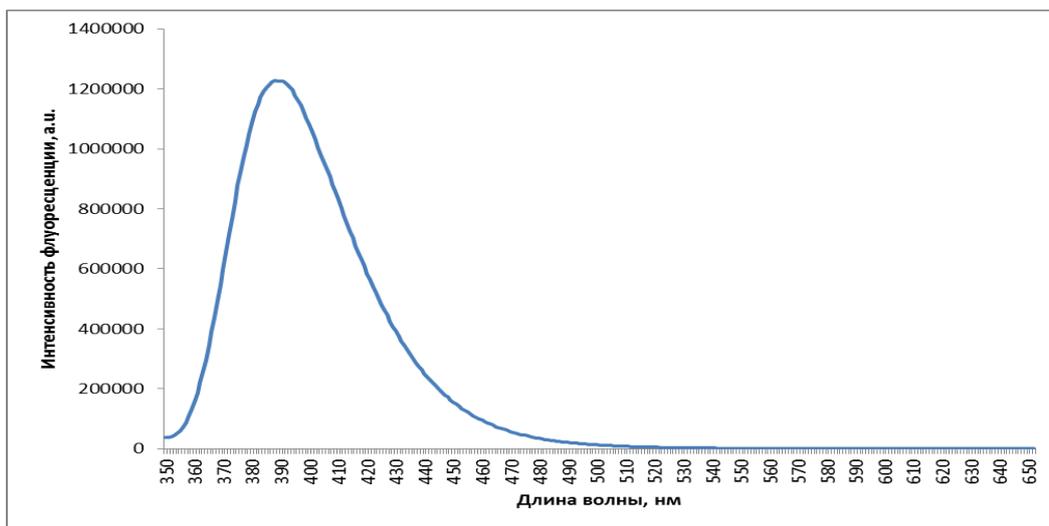


Рис. 38. Спектр флуоресценции соединения **23** в хлороформе

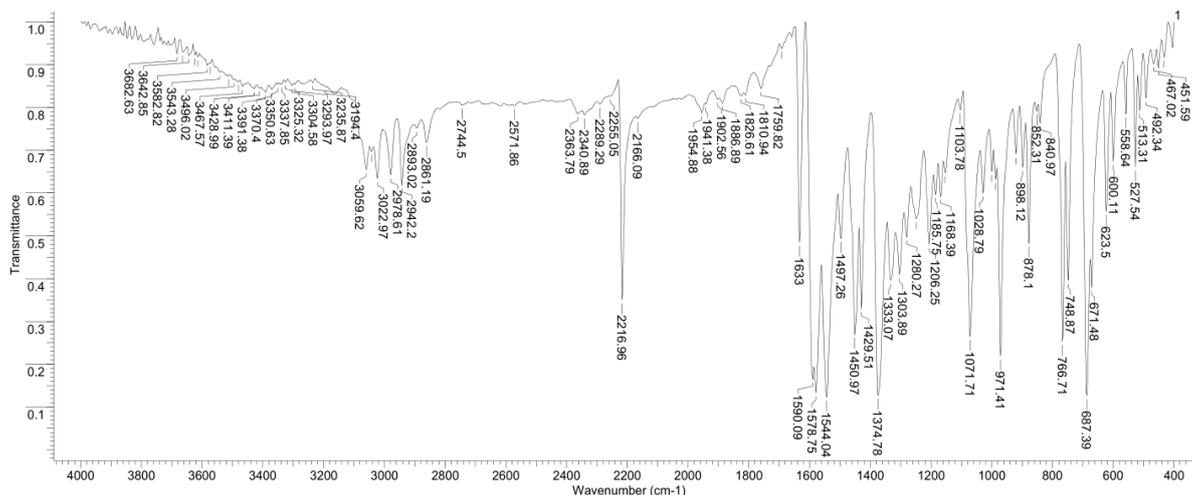


Рис. 39. ИК-спектр соединения **16**

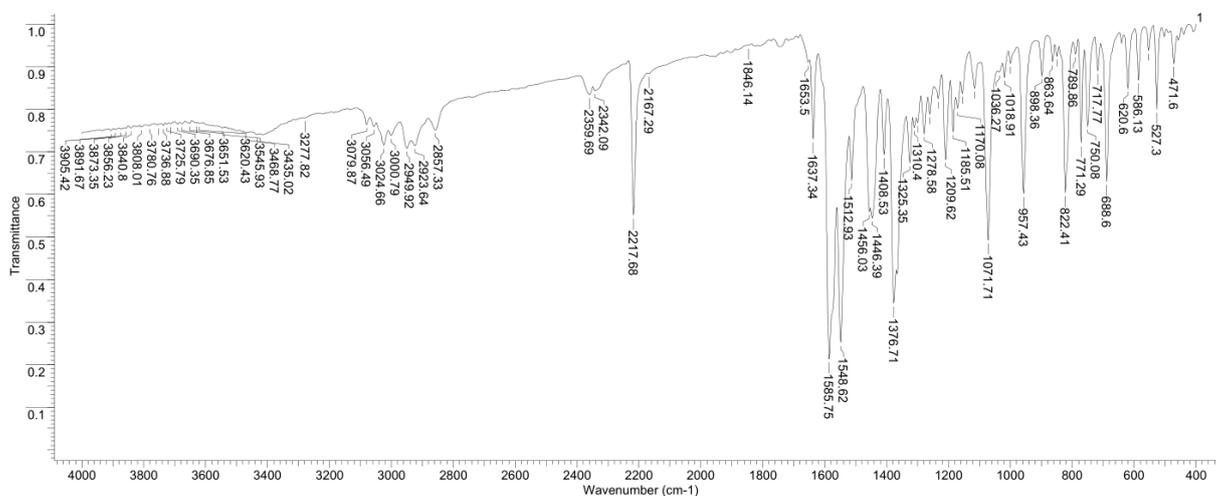


Рис. 40. ИК-спектр соединения **17**

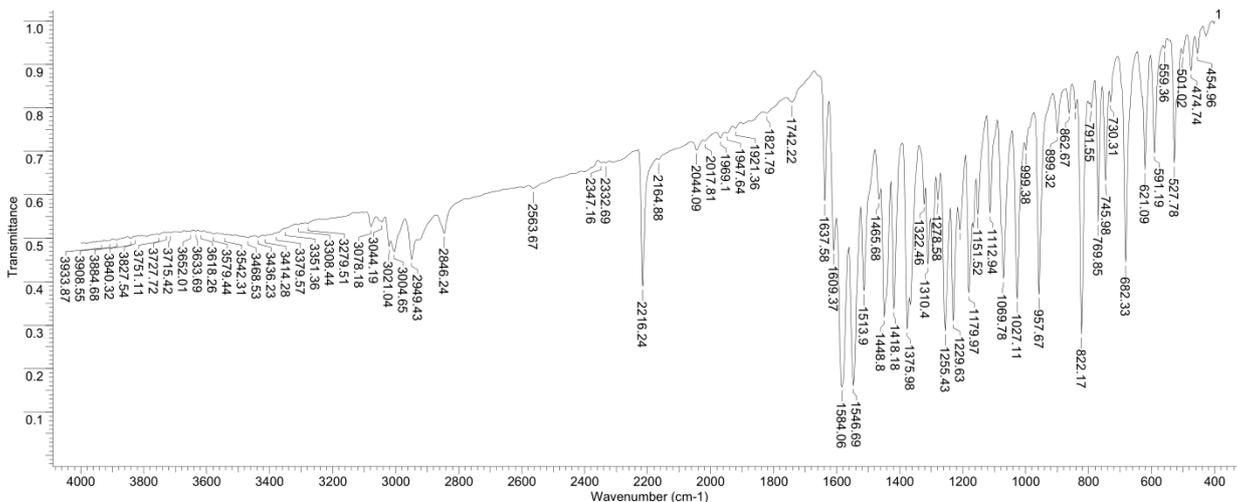


Рис. 41. ИК-спектр соединения 18

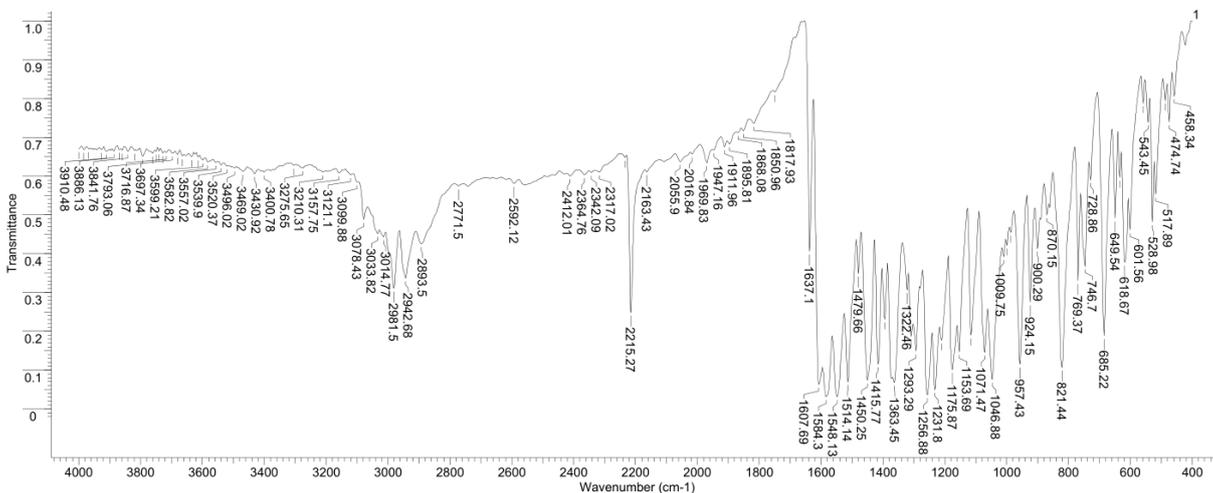


Рис. 42. ИК-спектр соединения 19

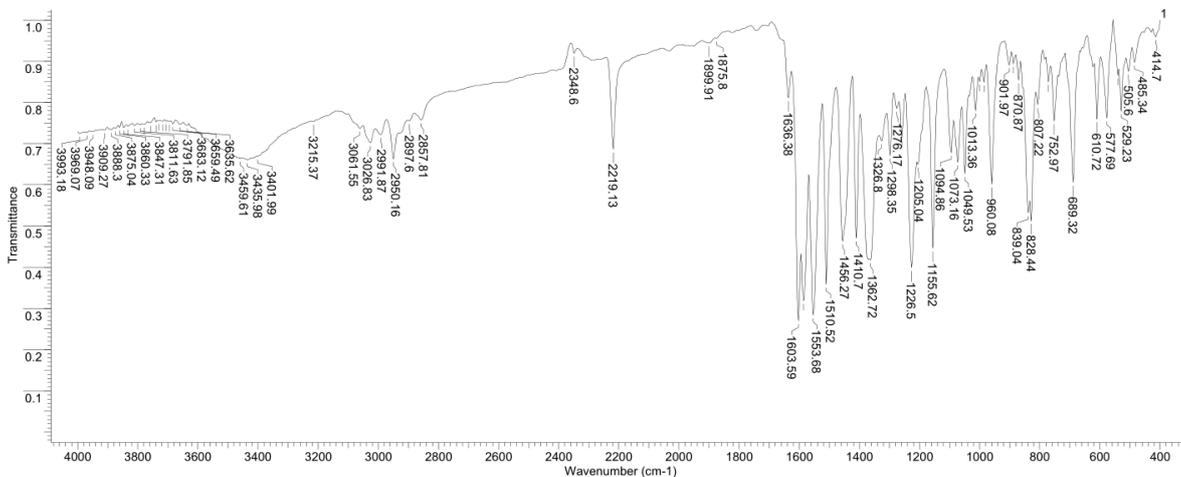


Рис. 43. ИК-спектр соединения 20

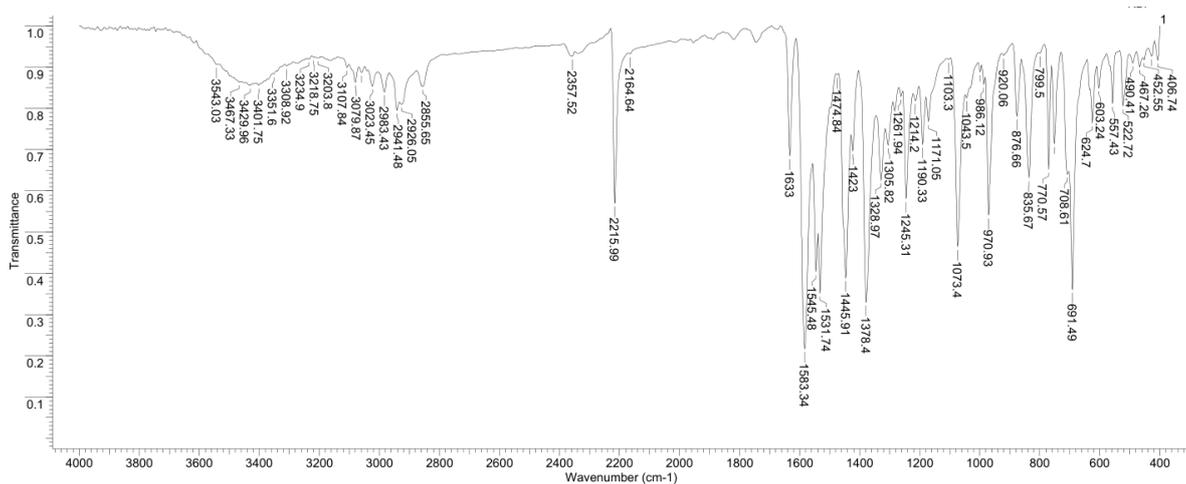


Рис. 44. ИК-спектр соединения 21

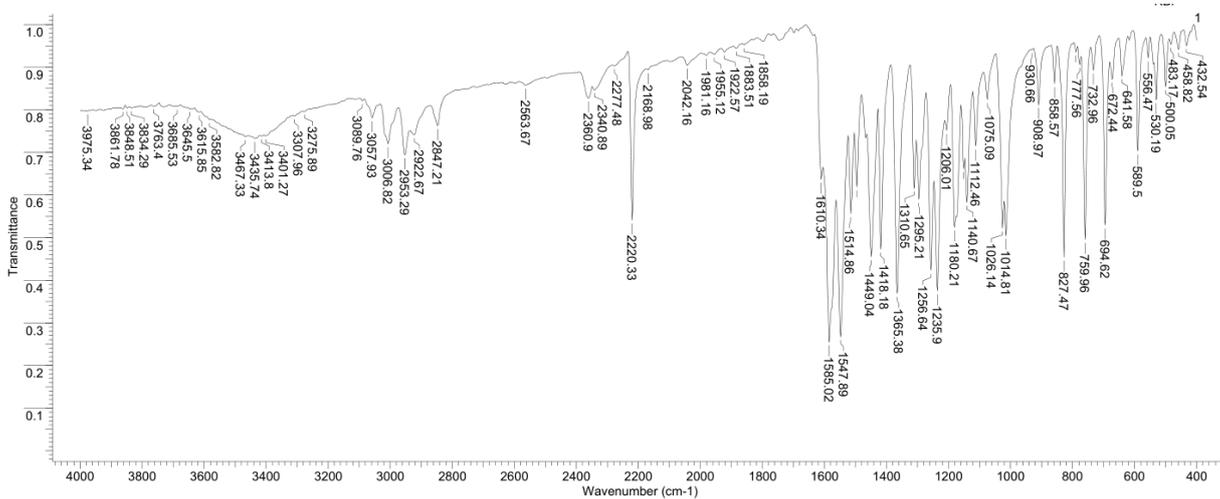
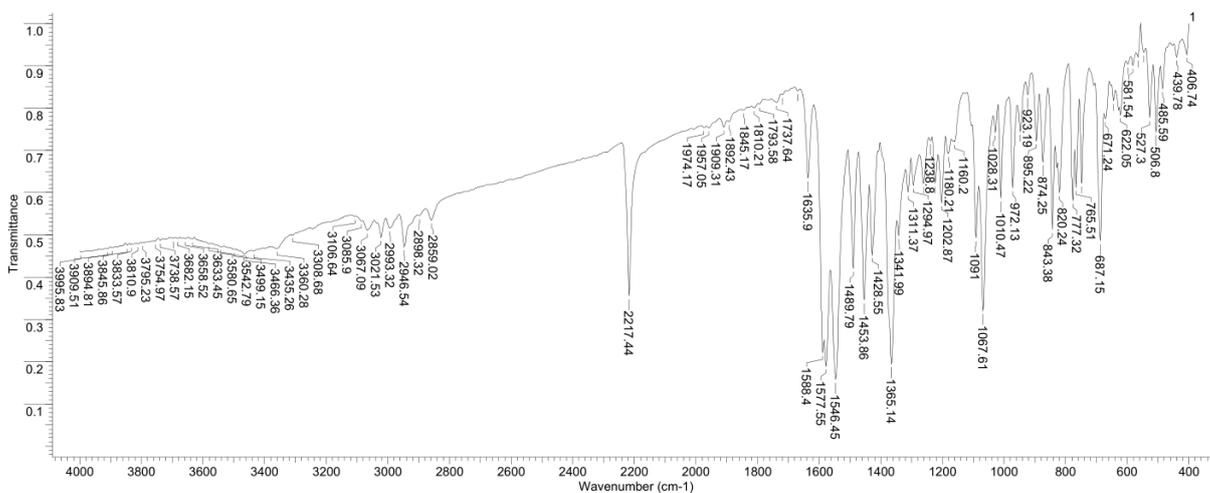


Рис. 45. ИК-спектр соединения 23



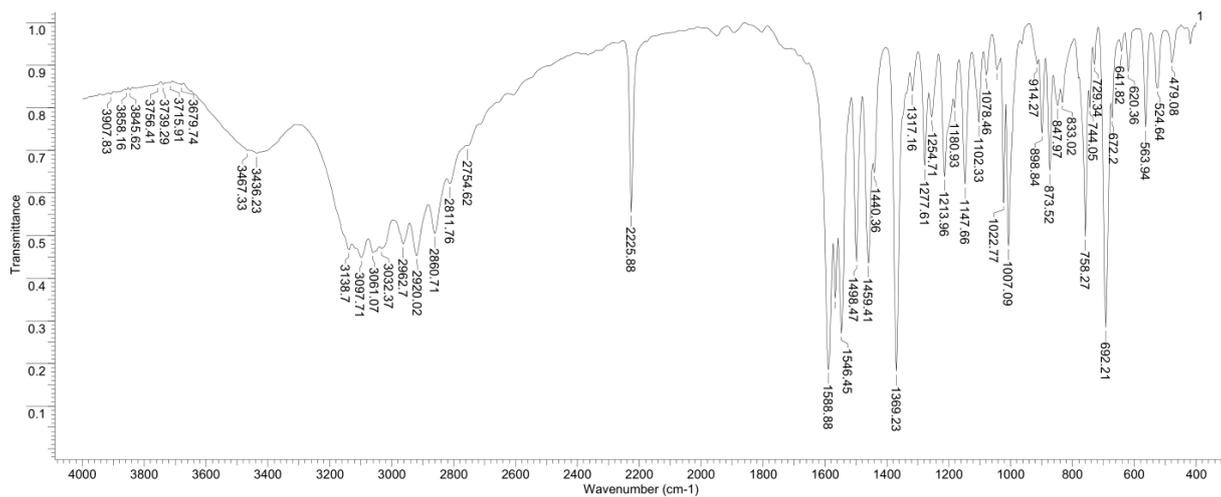


Рис. 47. ИК-спектр соединения 25

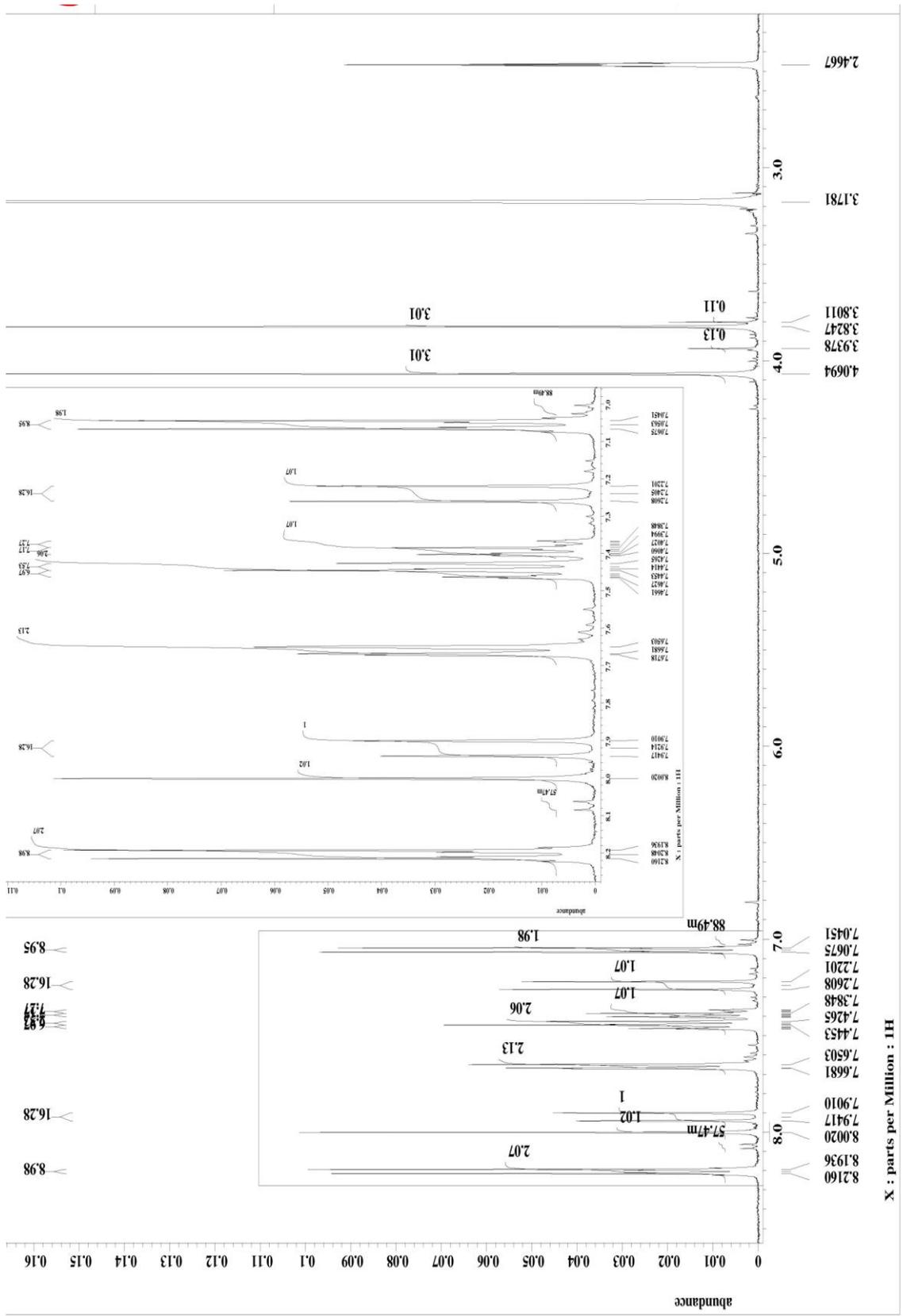


Рис.48. Спектр ЯМР ¹H соединения 18

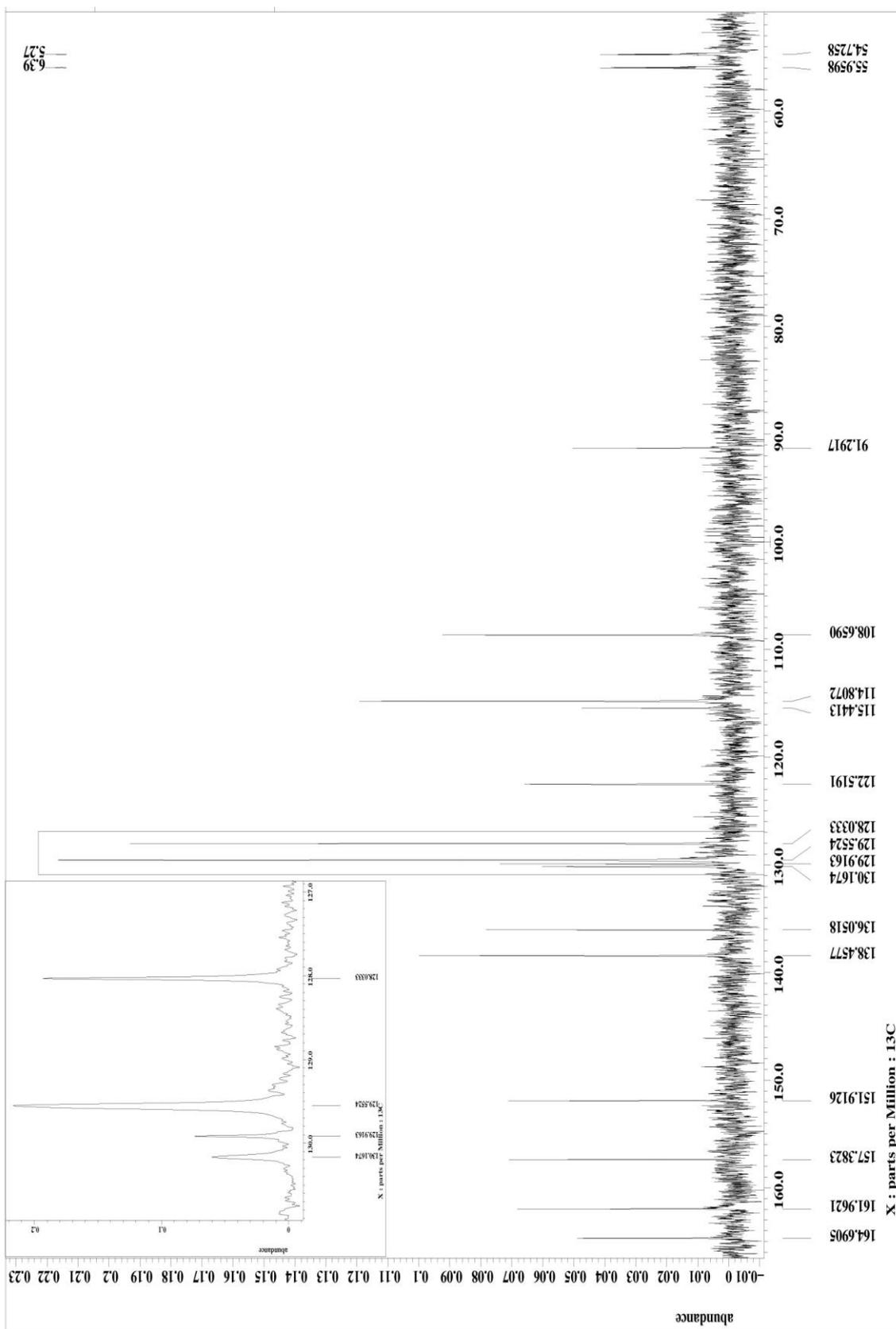


Рис.49. Спектр ЯМР ^{13}C соединения **18**

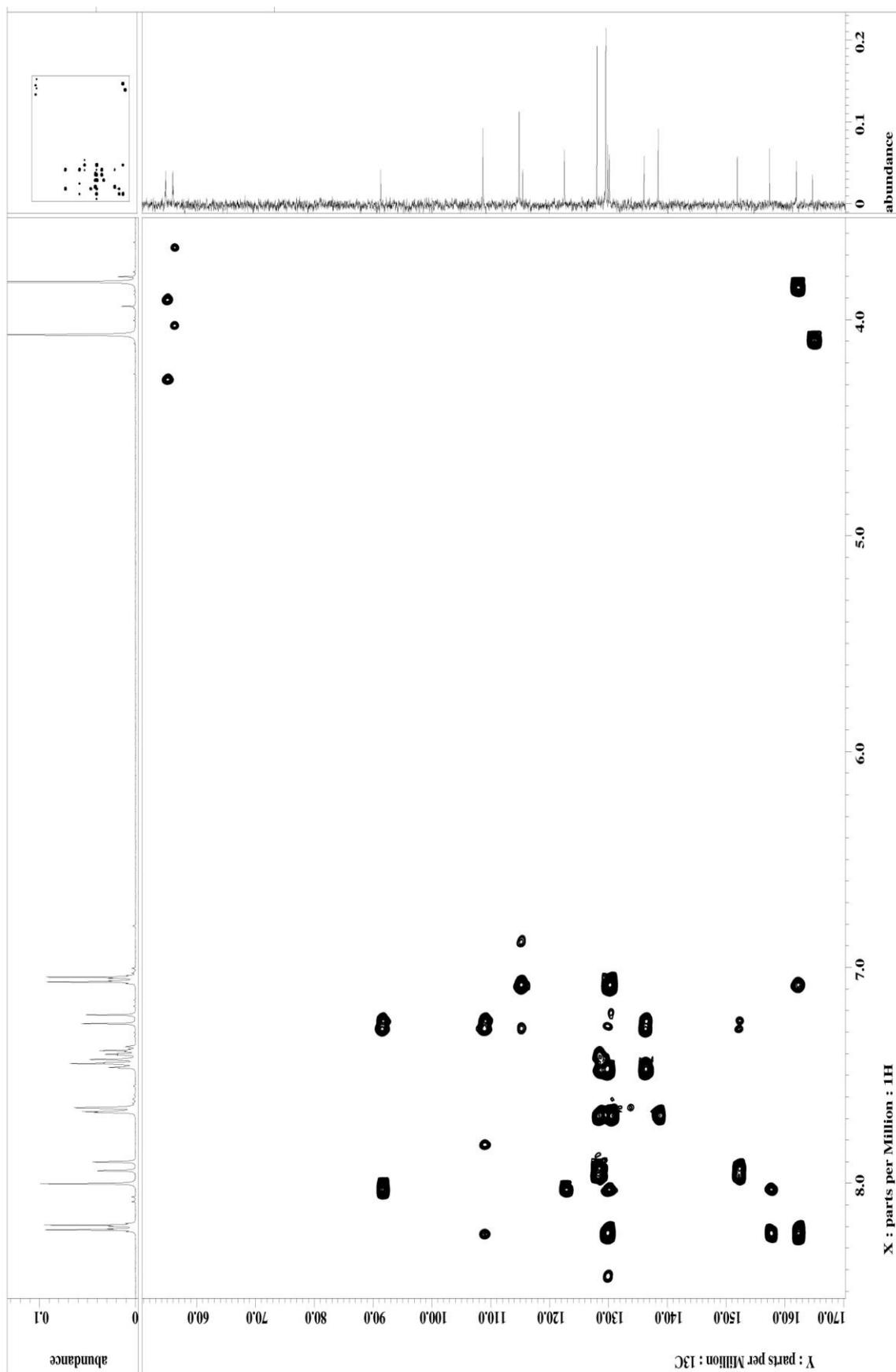


Рис. 50. Двухмерный спектр ЯМР НМВС соединения 18

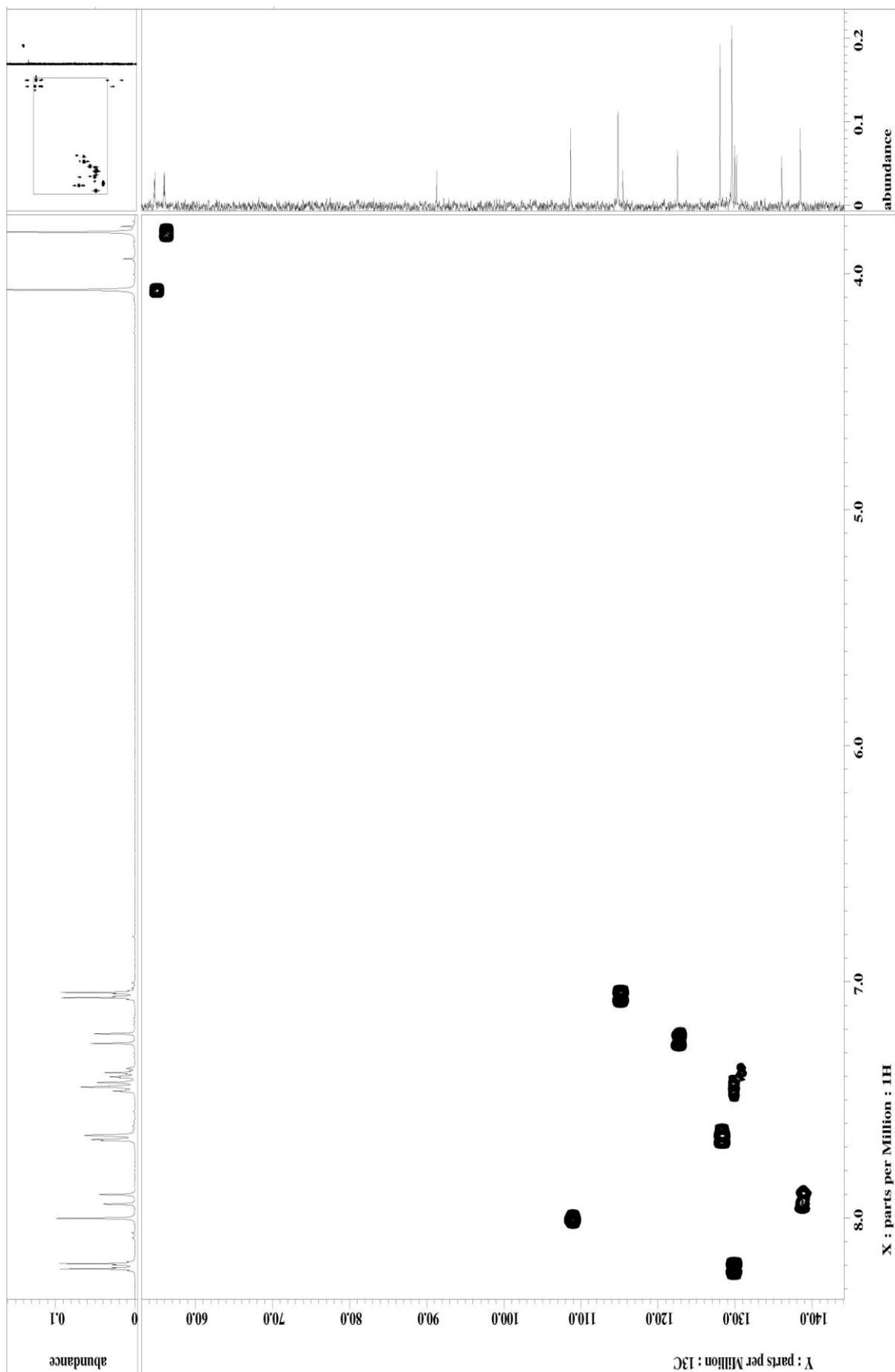


Рис. 51. Двухмерный спектр ЯМР НМРС соединения **18**

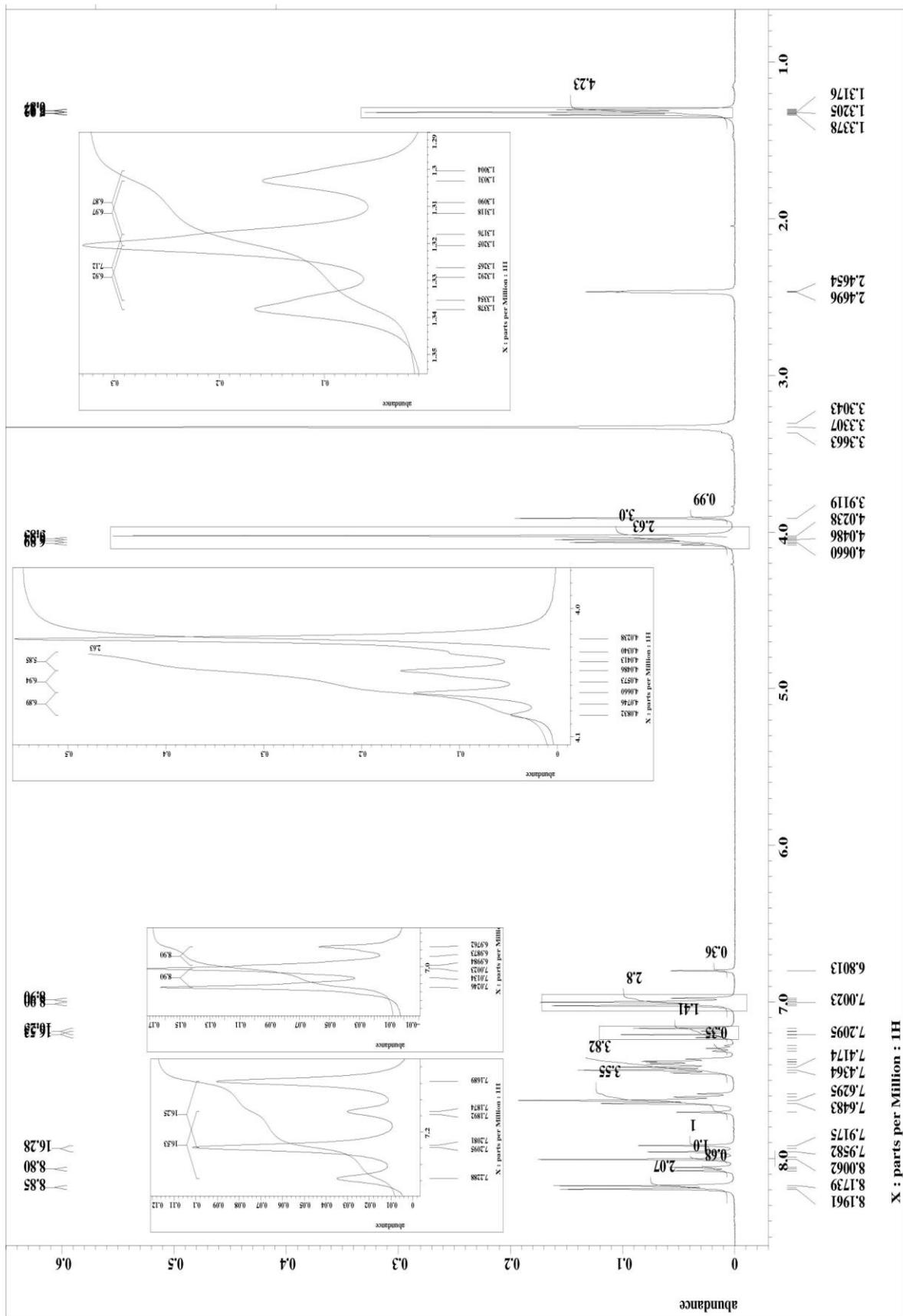


Рис. 52. Спектр ЯМР ^1H соединения 19

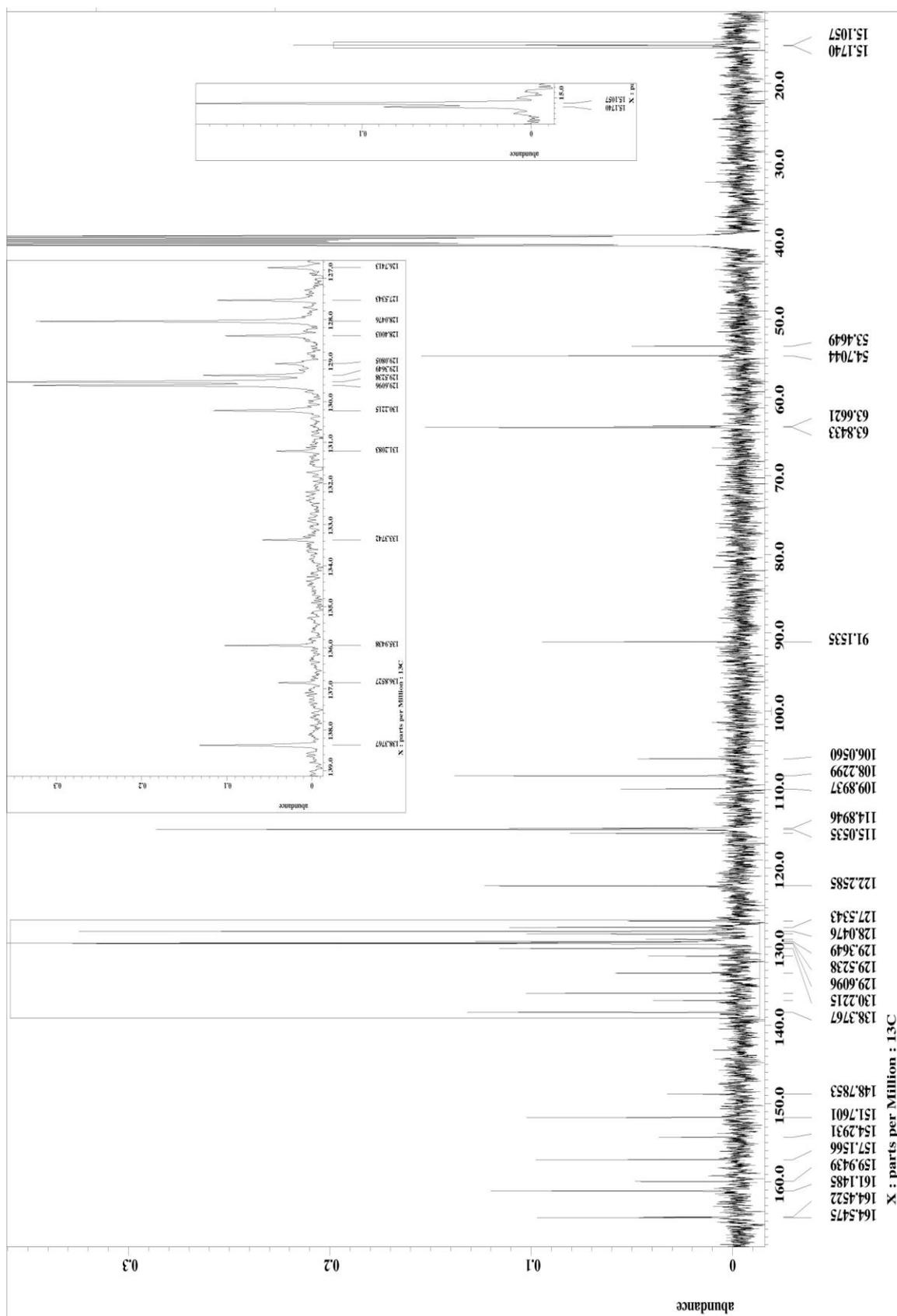


Рис. 53. Спектр ЯМР ^{13}C соединения 19

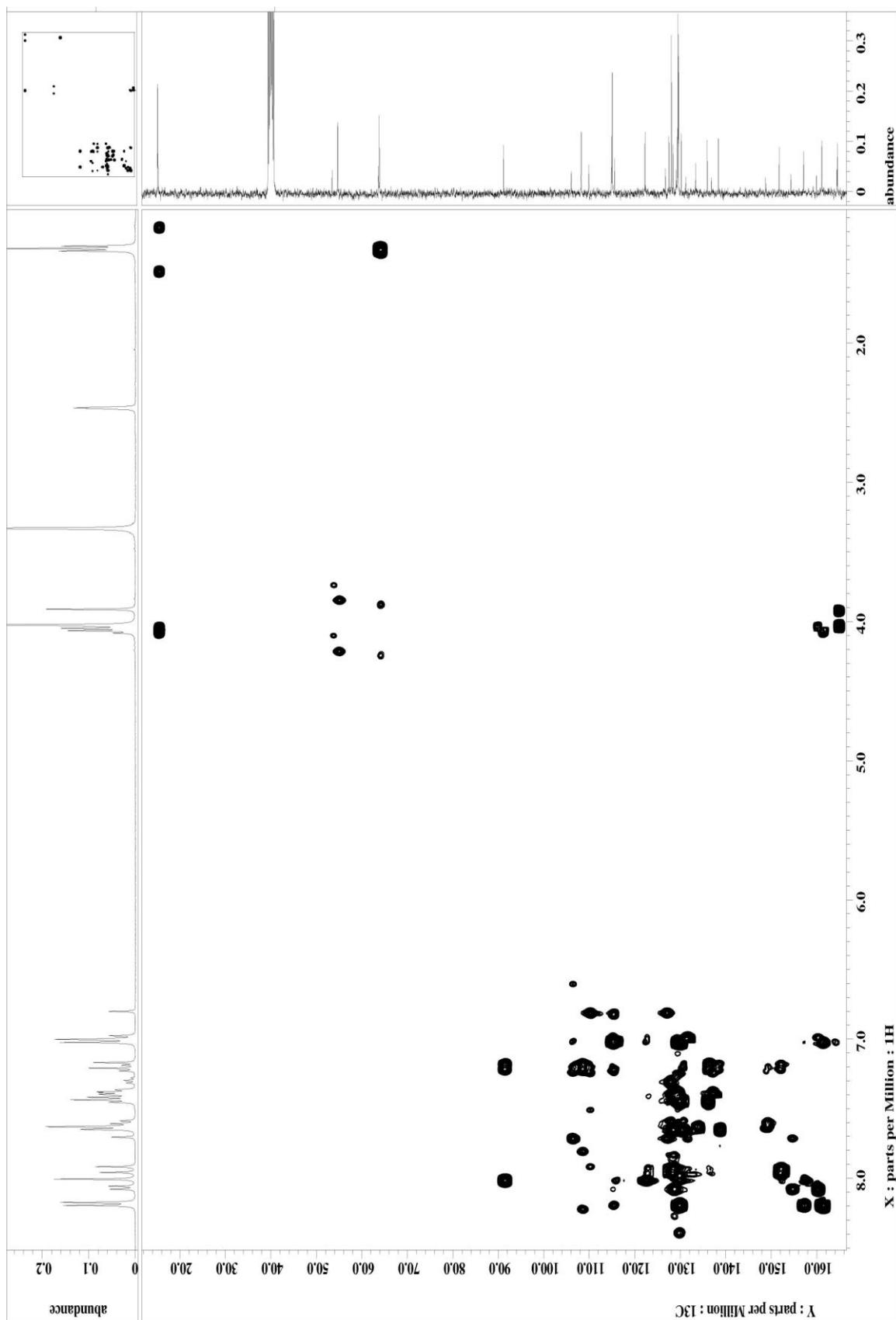


Рис. 54. Двухмерный спектр ЯМР НМВС соединения **19**

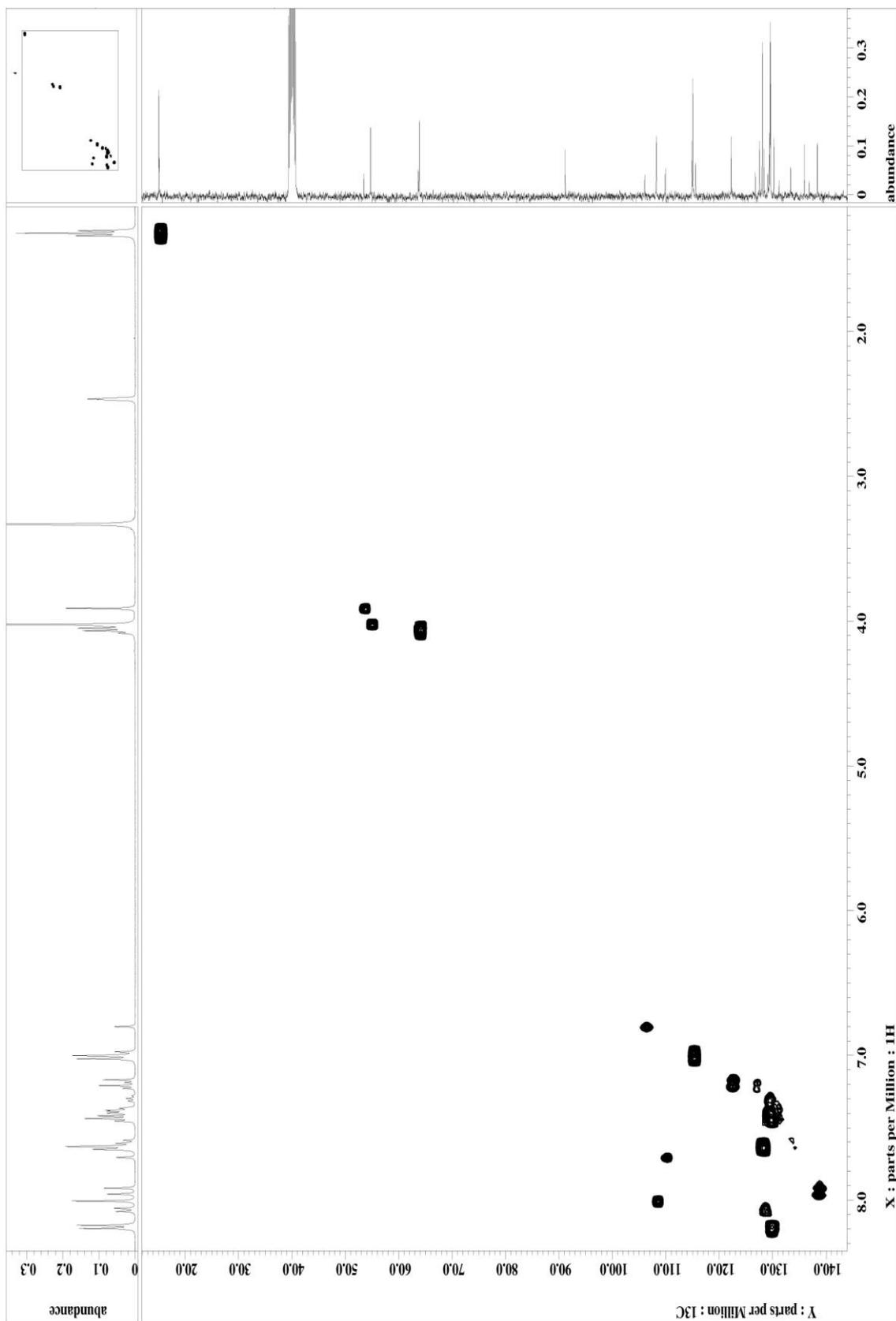


Рис. 55. Двухмерный спектр ЯМР НМРС соединения 19

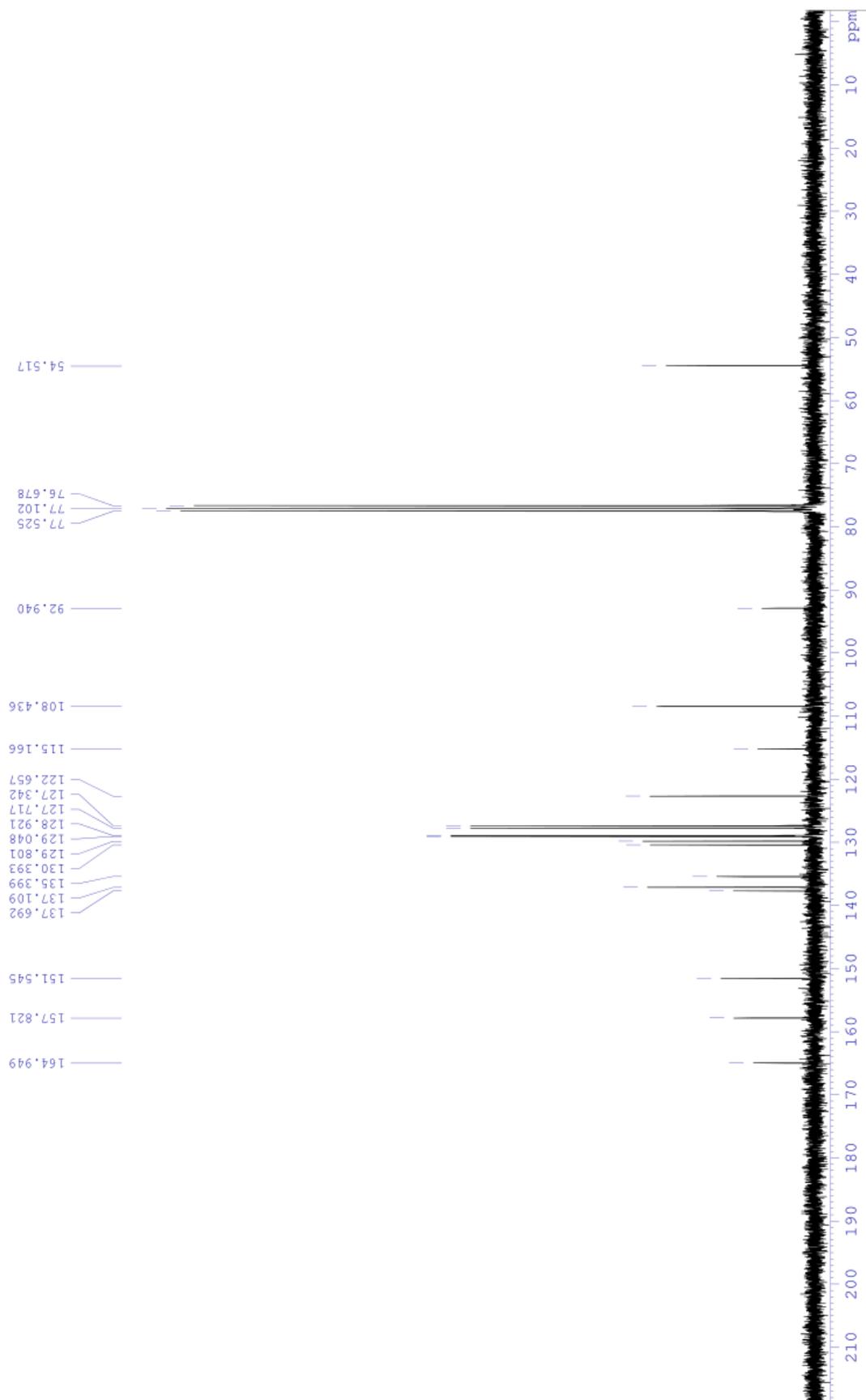


Рис. 56. Спектр ЯМР ^{13}C соединения **16**

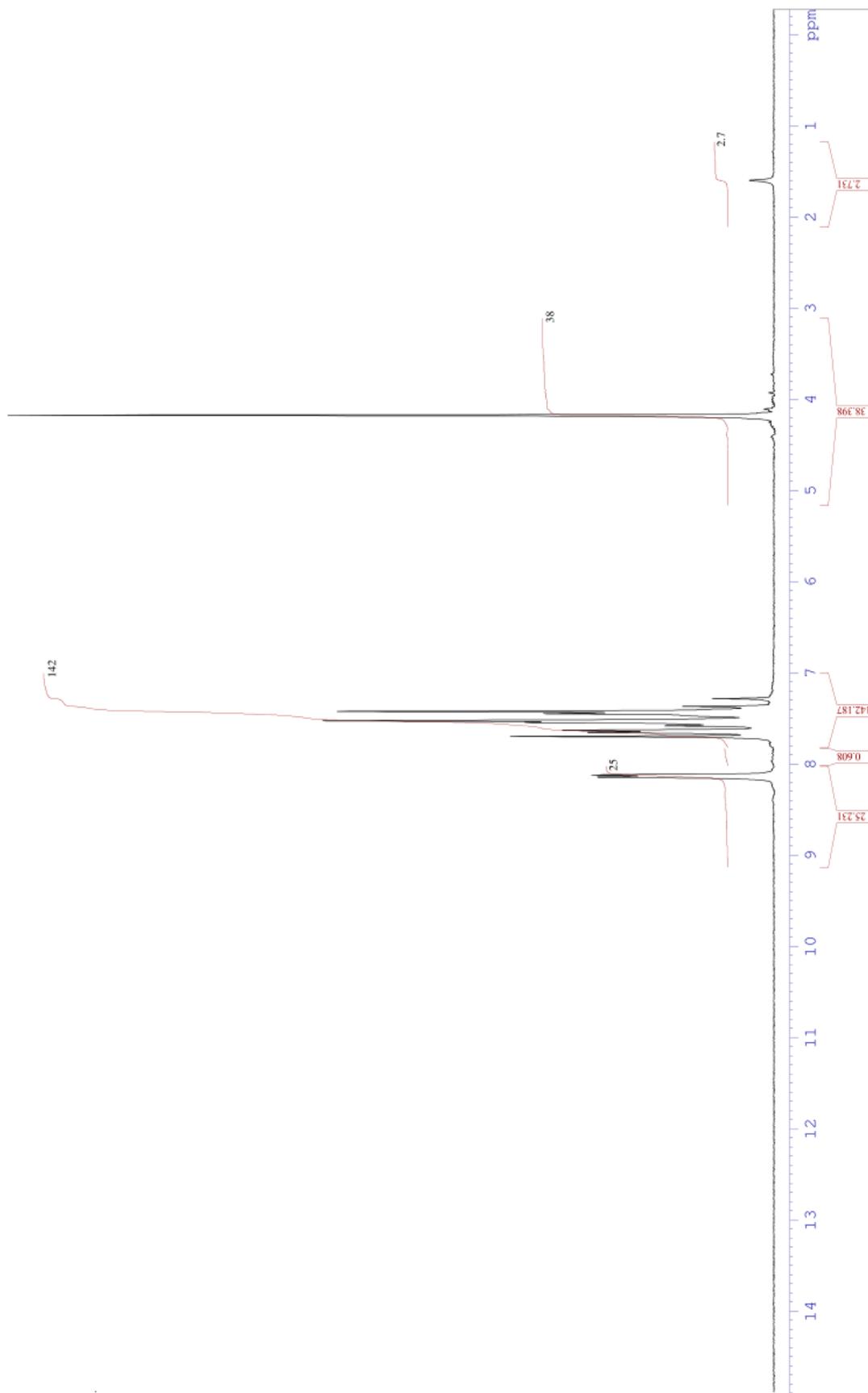


Рис. 57. Спектр ЯМР ^1H соединения **16**

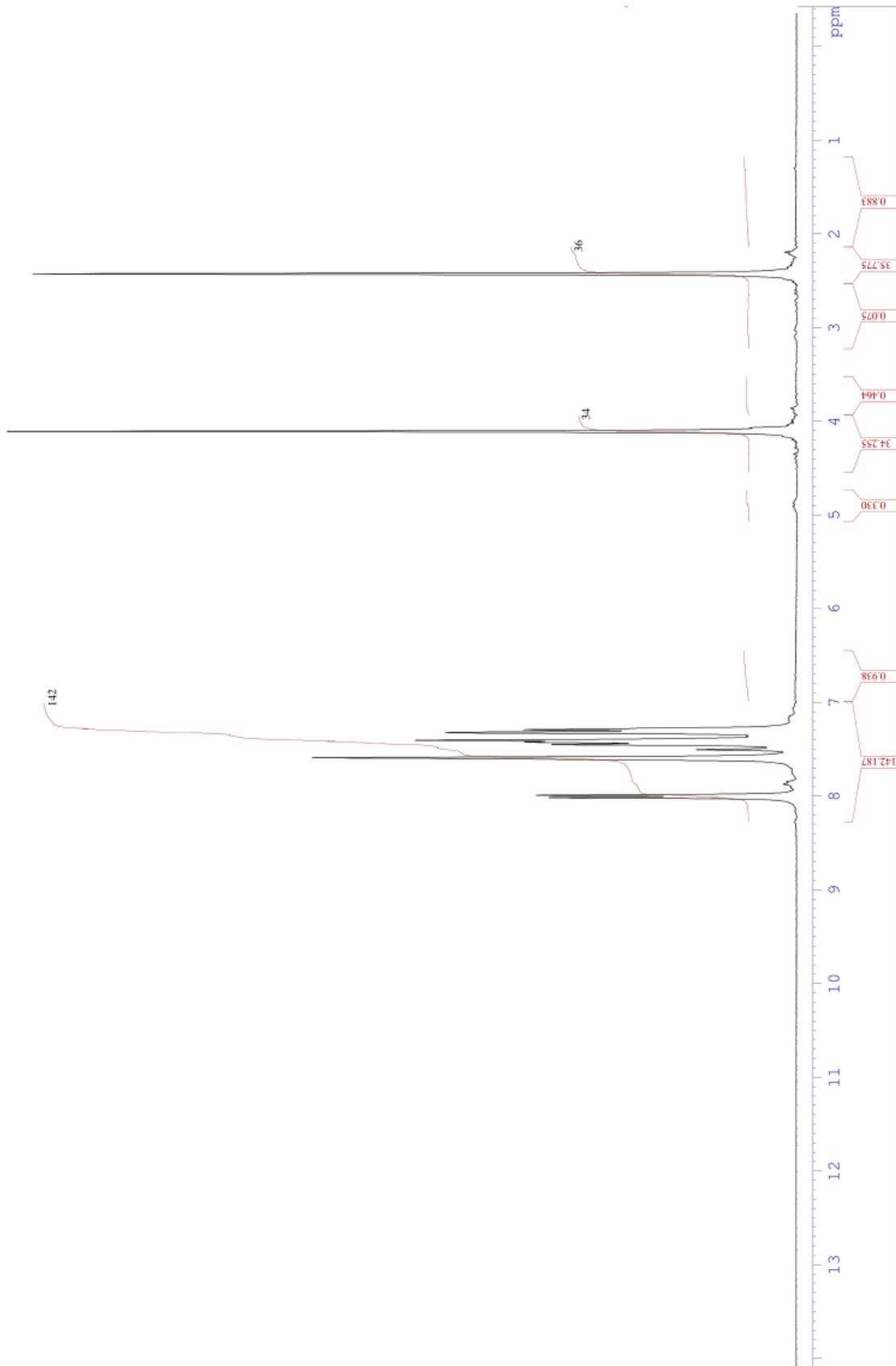


Рис. 58. Спектр ЯМР ^1H соединения 17

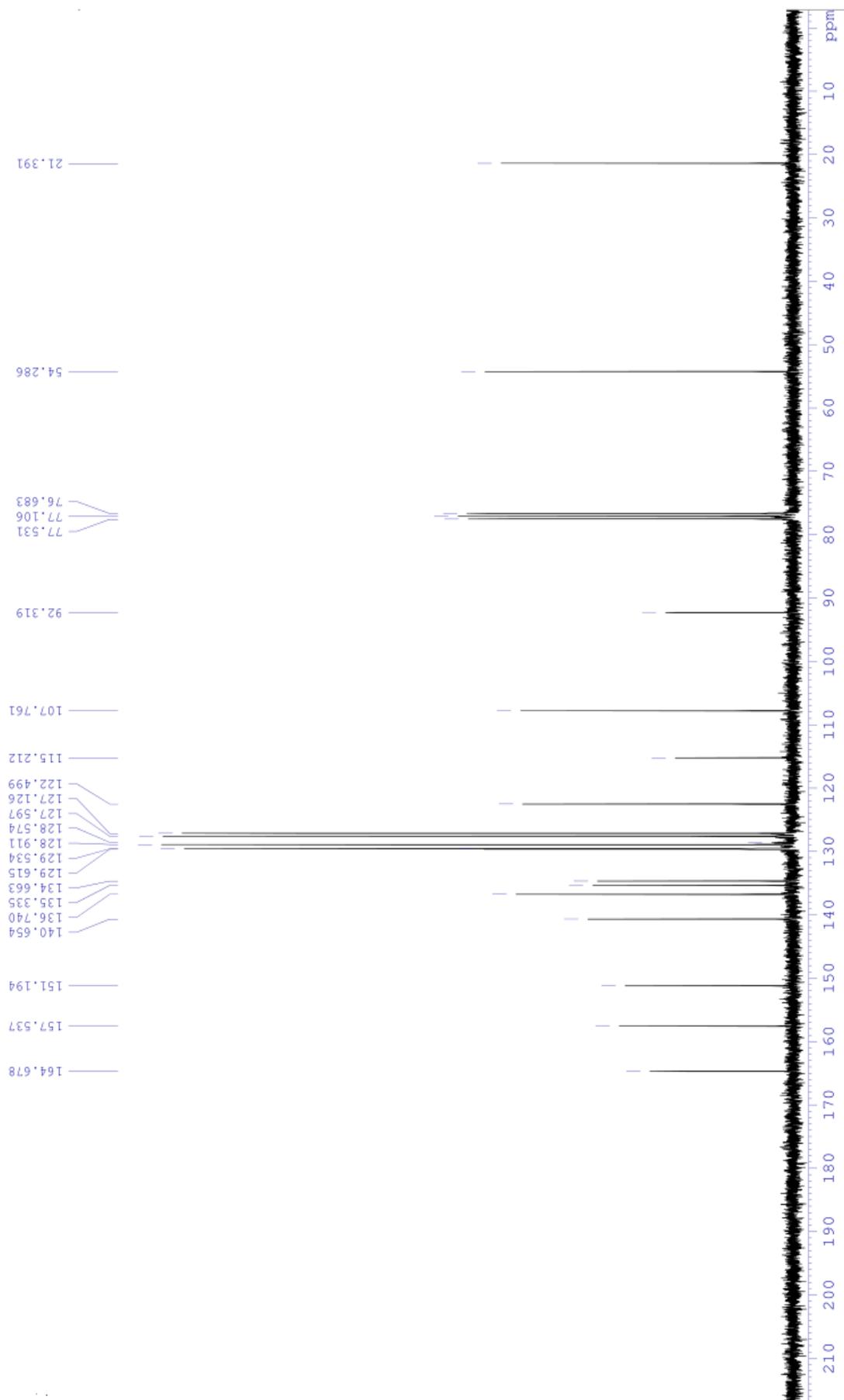


Рис. 59. Спектр ЯМР ^{13}C соединения 17