

УДК 547.639.5 + 541.64

СИНТЕЗ И КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ГИДРОКИНОН- ФОРМАЛЬДЕГИДНЫХ ГЕКСАМЕРОВ

© 2022 г. Л. И. Махмутова, Д. Н. Шурпик*, Д. И. Стойков, Н. Р. Лачугина,
А. А. Ханнанов, О. А. Мостовая, И. И. Стойков**

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Химический институт им. А.М. Бутлерова,
420008, Россия, Казань, ул. Кремлевская, 18

*e-mail: dshurpik@mail.ru

**e-mail: ivan.stoikov@mail.ru

Поступила в редакцию 29.05.2022 г.

После доработки 20.06.2022 г.

Принята к публикации 23.06.2022 г.

Впервые поликонденсаций 1,4-бис(2-бромэтокси)бензола с параформом синтезирован гексамерный продукт, обладающий флуоресцентными свойствами. Предложен метод функционализации соответствующего гексамера полярными имидазолиевыми фрагментами с получением водорастворимого соединения. Обнаружено наличие в фосфатном буфере при pH 7.4 самоассоциатов водорастворимого гексамера с гидродинамическим диаметром 141 нм. Изучены закономерности влияния макроциклических платформ пиллар[5]арена, пиллар[6]арена и их немакроциклического аналога, содержащих имидазолиевые фрагменты, на взаимодействие с белками: лизоцимом, бычьим сывороточным альбумином и гемоглобином. Методом спектрофотометрического титрования установлены стехиометрия ассоциата водорастворимого гексамера с бычьим сывороточным альбумином (2:1) и константы ассоциации: $K_{1:1}$ 5166 М⁻¹, $K_{2:1}$ 102334 М⁻¹. По данным флуоресцентной спектроскопии, образующиеся ассоциаты гексамер/белок способны к флуоресценции при облучении в широком диапазоне длин волн ($\lambda_{\text{возб}}$ 290–380 нм).

Ключевые слова: гидрокинон-формальдегидные смолы, макроциклы, системы доставки лекарственных средств, флуоресценция, пиллар[*n*]арены

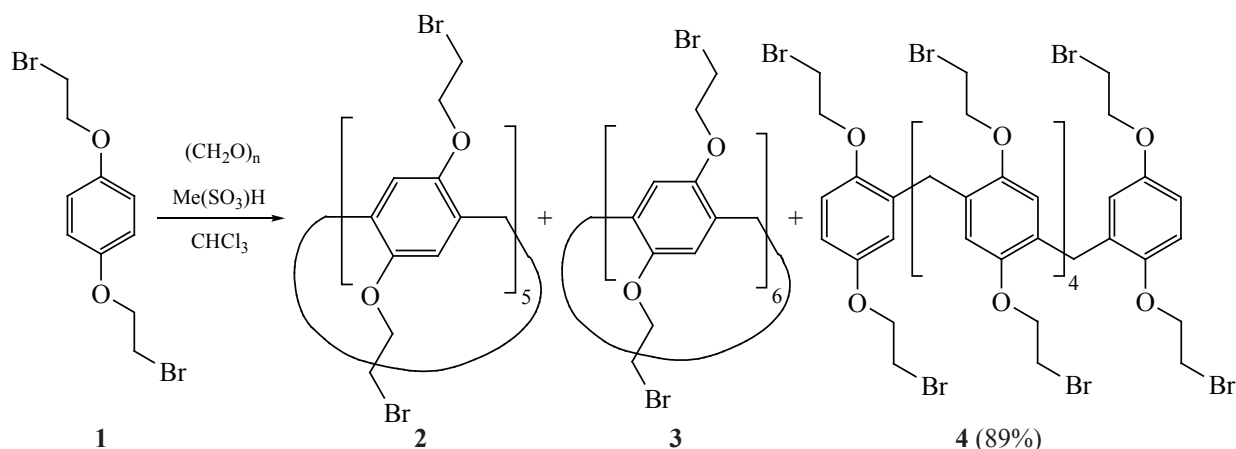
DOI: 10.31857/S0514749222080092, **EDN:** DCLUKV

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных задач на стыке органической и супрамолекулярной химии является получение полифункциональных соединений с флуоресцентными свойствами, а также способностью селективно связывать различные по природе аналиты [1]. В то же время макроциклы находят применение в качестве биосенсоров в иммунологическом тестировании, а также при создании стимул – чувствительных динамических систем для адресной доставки лекарственных средств [2].

В последние годы одним из активно изучаемых типов макроциклов являются пиллар[*n*]арены [3]. С момента первого получения [4] пиллар[*n*]арены показали свою эффективность при создании систем для адсорбции молекул, в качестве ионных каналов, в катализе, а также в качестве переносчиков лекарственных средств [5–15]. Пиллар[*n*]арены представляют собой фрагменты *n*-гидрокинона, соединенные между собой метиленовыми мостиками [4]. Основным методом получения пиллар[*n*]аренов является термодинамически и кинетически контролируемая реакция макро-

Схема 1



циклизации отдельных О-замещенных гидрохиноновых фрагментов в присутствии параформа [8]. Для пиллар[*n*]аренов характерно напряжение макроциклической системы, что обуславливает необходимость преодоления энергетического барьера для замыкания линейного олигомера в процессе макроциклизации [16]. В отличие от пиллар[5]арена, синтезируемого в условиях термодинамического равновесия, синтез пиллар[6]аренов контролируется термодинамикой и кинетикой [17].

Протекание макроциклизации часто сопровождается образованием олигомеров нециклической структуры [4], изучение свойств которых в литературе практически не описано. Так, основным побочным продуктом в синтезе пиллар[*n*]аренов являются аналоги гидрохинонформальдегидных смол [18]. Гидрохинон-формальдегидные смолы находят широкое применение в качестве синтетических редокс-ионитов поликонденсационного типа [19]. В то же время хорошо известно, что ациклические полифункциональные аналоги макроциклов – поданды, обладают конформационно более подвижной структурой, что позволяет реализовывать принцип индуцированного соответствия при распознавании целевых аналитов [20]. В связи с этим нами была высказана гипотеза, что линейный аналог пиллар[*n*]арена может быть использован в качестве такой конформационно гибкой структуры при распознавании целевых аналитов, а варьирование условий (температуры и времени протекания) реакции 1,4-диалкоксибензола с формальдегидом позволит получить его с хорошим выходом.

В представленной работе решена задача синтеза ациклического аналога пиллар[6]арена, содержащего 2-бромэтоксильные фрагменты. Также были изучены спектральные и агрегационные свойства водорастворимого олигомера, пиллар[5]арена и пиллар[6]арена, содержащих фрагменты *N*-метилимидазола, а также оценена их способность к ассоциации с модельными белками: лизоцимом, бычьим сывороточным альбумином (БСА) и гемоглобином.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Удобным методом получения пиллар[*n*]аренов является поликонденсация 1,4-диалкоксибензолов с параформальдегидом в присутствии в качестве катализатора кислот Льюиса. Данный процесс сопровождается образованием линейных олигомеров, которые затем циклизуются в макроциклическую систему [21].

В качестве исходного соединения нами был выбран коммерчески доступный 1,4-бис(2-бромэтоксид)бензол (схема 1), который широко используется для получения перзамещенных пиллар[*n*]аренов [22]. Реакцию 1,4-бис(2-бромэтоксид)бензола с параформальдегидом в присутствии метансульфокислоты проводили в хлороформе. Как и ожидалось, при уменьшении времени синтеза помимо целевых пента-, гекса- и гептамерных макроциклических продуктов в реакционной смеси растет содержание целевого ациклического олигомерного продукта. Варьирование времени проведения взаимодействия 1,4-бис(2-бромэтоксид)бензола с параформальдегидом (30 мин–2 ч) показало, что

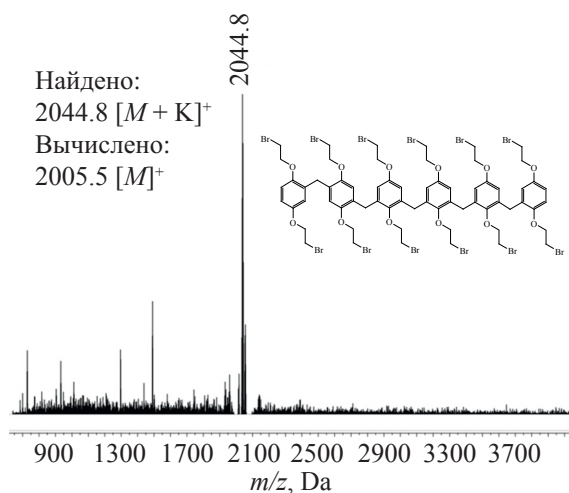


Рис. 1. МАЛДИ масс-спектр (2,5-дигидроксibenзойная кислота) соединения **4**

максимальная концентрация целевого продукта **4** достигается через 1 ч. Гексамер **4** был выделен при помощи колоночной хроматографии с выходом 89%. Структура продукта **4** была полностью подтверждена комплексом физических методов: одномерной ЯМР ^1H и ^{13}C , ИК спектроскопией, масс-спектрометрией, а состав подтвержден данными элементного анализа.

Анализ масс-спектра МАЛДИ гексамера **4** (рис. 1) показал наличие пика 2444.2 единиц m/z , соответствующего пику молекулярного иона гексамера **4** с ионом калия $[M + K]^+$. Пик молекулярного иона в масс-спектре МАЛДИ гексамера **4** соответствует наличию шести ди(бромалкокси)-бензолных звеньев в его структуре.

Изучение свойств продукта **4** методом спектроскопии электронного поглощения показало, что гексамер поглощает в области λ 200–300 нм с длинноволновым максимумом при 290 нм. Методом флуоресцентной спектроскопии было показано, что при возбуждении светом с длиной волны 290 нм гексамер **4** способен к флуоресценции с максимумом испускания при 450 нм. Флуоресцентные свойства гексамера **4** могут быть объяснены специфическим эффектом – агрегационно-индуцированной эмиссией (АИЭ) [23]. Агрегационно-индуцированная эмиссия – это фотофизическое явление, связанное с агрегацией хромофоров, которое было обнаружено Тангом с соавторами в 2001 г. [24]. В настоящее время эффект АИЭ

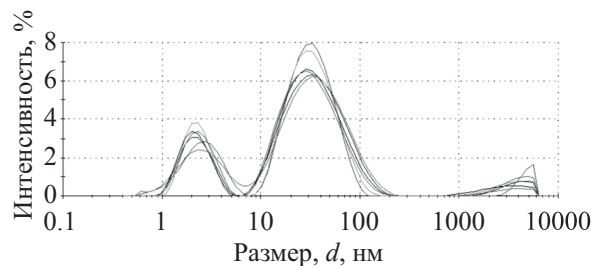
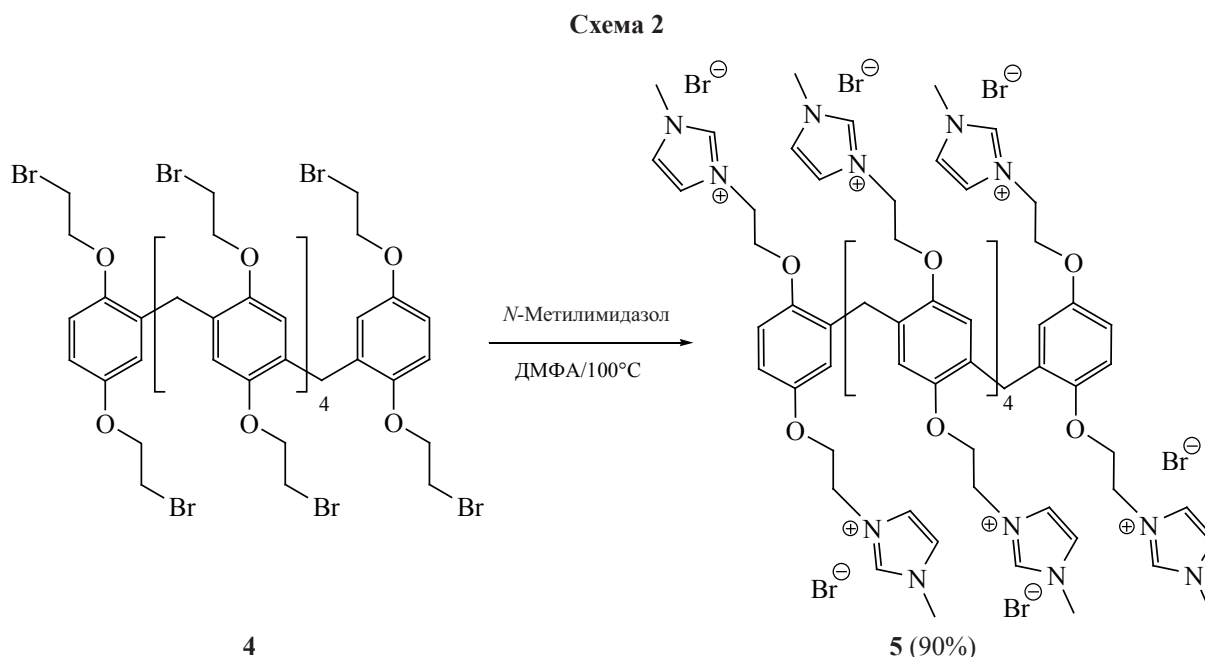


Рис. 2. Размерное распределение частиц по интенсивности в хлороформе гексамера **4** (1×10^{-3} М)

объясняется ограничением внутримолекулярных вращений, колебаний или движений молекул либо их фрагментов в агрегированном состоянии [25].

С целью подтверждения этой гипотезы нами были проведены исследования самоассоциации гексамера **4** в растворе трихлорметана с помощью метода динамического светорассеяния (ДСР). Было обнаружено, что гексамер **4** образует ассоциаты (рис. 2) в изученном диапазоне концентраций (10^{-3} – 10^{-5} М). Так, при концентрации 10^{-3} М кривая распределения гидродинамических размеров образца **4** имеет бимодальный характер. Первый максимум соответствует среднему диаметру частиц 3 нм, а второй пик 50 нм, индекс полидисперсности системы (ИПД) составляет 0.45. Следует отметить, что при уменьшении концентрации гексамера **4** наблюдается возрастание среднего гидродинамического диаметра частиц до 700 нм. При этом значение полидисперсности также резко возрастает до 1.

Наличие АИЭ ассоциатов соединения **4** делает возможным использование подобных веществ в качестве флуоресцентных меток визуализации процессов трансформации биологически активных веществ или процессов, происходящих в живых системах [26]. В связи с нерастворимостью гексамера **4** в водных системах вследствие его гидрофобности в структуре олигомера атомы брома были замещены на фрагменты *N*-метилимидазолия (схема 2). Так, *N*-метилимидазол был использован как удобный реагент введения полярных аммониевых фрагментов в структуру гексамера **4**. Реакцию проводили в безводном ДМФА при температуре 100°C. Выход соединения **5** составил 90% (схема 2), и оно оказалось растворимым в водно-буферных системах.



На рис. 3 представлен ESI масс-спектр высоко-го разрешения соединения **5**. Анализ масс-спектра показал наличие пика 667.3698 единиц m/z , соответствующий пику четырехзарядного молекулярного иона гексамера $5 [M - 4Br]^{4+}$.

Наноразмерные супрамолекулярные системы, содержащие в своем составе белки, используются в различных областях медицины, пищевой промышленности и фармации [27]. Наличие флуоресценции у таких систем позволяет визуализировать процессы, происходящие на поверхности клеточных мембран и внутри клетки, что важно для их

понимания [26]. Модельные белки активно применяются в области тканевой инженерии для создания прототипов полимерных микро- или наночастиц для доставки лекарств или больших молекул, таких как белки или факторы роста, в системе *in vitro* или *in vivo* [27], благодаря своей хорошей биосовместимости и способности к биологическому разложению. В связи с этим создание новых уникальных супрамолекулярных систем на основе белков, способных к управляемой самосборке и обладающих флуоресцентными свойствами, является актуальной задачей в области современной медицины и клеточной инженерии. Транспортные белки, такие как лизоцим, БСА и гемоглобин, часто используются в качестве модельных биополимеров благодаря хорошо известной и всесторонне изученной структуре [28].

Для получения самособирающейся супрамолекулярной системы визуализации процессов, происходящих в живых системах, в качестве флуоресцентной компоненты нами был выбран гексамер **5**, а в качестве транспортного биополимера: лизоцим, БСА и гемоглобин.

Стоит отметить, что в литературе достаточно подробно описано взаимодействие белков с различными видами макроциклов [30, 31]. Отмечалось, что макроциклы взаимодействуют с белками за счет своей полифункциональной предорганизо-

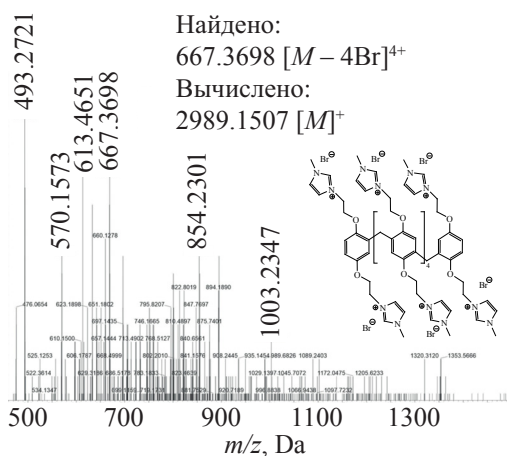
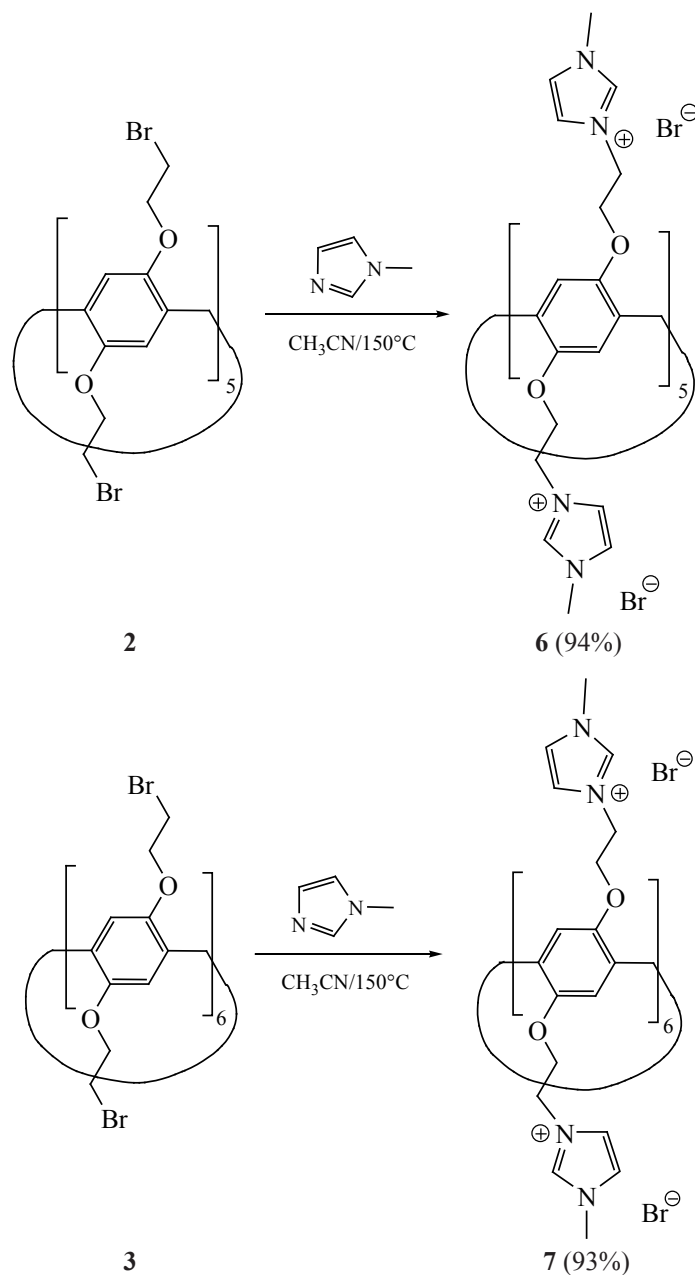


Рис. 3. HR-ESI-ToF масс-спектр высокого соединения **5**

Схема 3



ванной структуры и макроциклической полости, в которую встраиваются фрагменты аминокислот, входящих в состав пептидов. Однако гексамеры **4** и **5** не имеют жесткой пространственно предорганизованной структуры и объемной макроциклической полости, которая может участвовать в связывании с субстратом, как у их макроциклических аналогов.

С целью изучения влияния макроциклической полости на процесс связывания модельных бел-

ков нами по литературным методикам [32] были синтезированы имидазолиевые производные пиллар[5]арена **6** и пиллар[6]арена **7** (схема 3).

Далее методом ДСР были изучены процессы самоассоциации макроциклов **6** и **7**, а также гексамера **5**. Было обнаружено, что только гексамер **5** образует самоассоциаты (рис. 4, а) в изученном диапазоне концентраций (1×10^{-3} – 1×10^{-5} М) в фосфатном буфере (рН 7.4). Так, при концентрации 1×10^{-4} М образуются монодисперсные ассоциаты

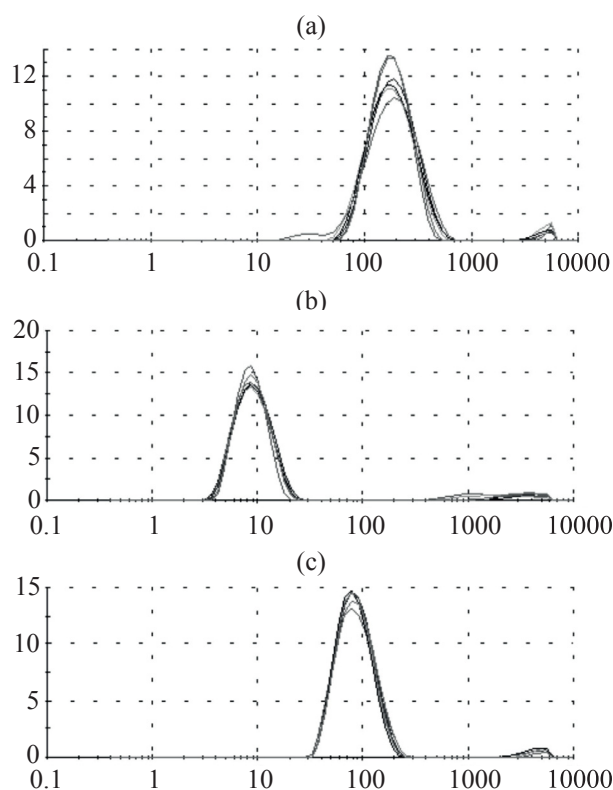


Рис. 4. Размерное распределение частиц по интенсивности в фосфатном буфере (pH 7.4): (a) – гексамера **5** (1×10^{-4} М), (b) – БСА (1×10^{-4} М), (c) – **5** (2×10^{-4} М)/БСА (1×10^{-4} М)

(ИПД 0.26) со средним гидродинамическим диаметром 141 нм. Также было замечено, что при уменьшении концентрации гексамера **5** происходит монотонное увеличение гидродинамического диаметра частиц (194–820 нм). При этом значение полидисперсности также растет (0.26–0.82). Наличие процессов самоассоциации только у гексамера **5** подтверждает ранее выдвинутую гипотезу об АИЭ и может привести к наличию флуоресцентных свойств у гексамера **5**.

Далее методами ДСР, УФ и флуоресцентной спектроскопии было изучено взаимодействие соединений **5–7** с белками: лизоцимом, БСА и гемоглобином.

Методом УФ спектроскопии было показано, что только гексамер **5** склонен взаимодействовать с БСА. Так, при добавлении соединения **5** к БСА в фосфатном буфере (pH 7.4) сдвига максимумов поглощения в УФ спектрах не наблюдается, но присутствует гипохромный эффект в области 290 нм. Спектральная картина осложняется рассеянием

света, что выражается подъемом базовой линии, обусловленным процессами ассоциации гексамера **5** с БСА.

Стоит отметить, что гексамер **5** в фосфатном буфере (pH 7.4), как и его предшественник **4** (рис. 5, а), оказался флуоресцентно активным при облучении светом с длиной волны λ 320 нм, при котором наблюдается заметное испускание с максимумом при 450 нм (рис. 5, а). Поэтому для установления характеристик связывания **5** с белком был выбран метод флуоресцентной спектроскопии. Так, при добавлении БСА к гексамеру **5** наблюдается значительное тушение эмиссии (рис. 5, b). На основе данных флуоресцентного титрования системы, в которой при постоянной концентрации **5** (10^{-5} М) варьировалась концентрация БСА, удалось определить константу ассоциации.

Обработка результатов проводилась на основе анализа изотерм связывания, для чего было использовано приложение BindFit [33]. Было установлено, что стехиометрия образующихся ассоциатов (гексамер **5**/БСА) составила 2:1. Оказалось, что константы ассоциации **5** с БСА составляют: $K_{1:1}$ 5166 М⁻¹, $K_{2:1}$ 102334 М⁻¹. Дополнительно стехиометрия комплекса подтверждалась обчетом кривых титрования в предположении моделей связывания в соотношении «хозяин–гость» = 1:1 и 1:2. Однако в этих случаях константа ассоциации определяется с большой ошибкой (> 10%).

Для подтверждения гипотезы о супрамолекулярной самосборке системы **5**/БСА, обладающей флуоресцентными свойствами, методом ДСР были изучены ассоциаты **5**/БСА в соотношении 2:1, 1:1, 1:2 в диапазоне концентраций (1×10^{-3} – 1×10^{-5} М). Так, в случае БСА средний гидродинамический диаметр частиц в фосфатном буфере (pH 7.4) составил 8 нм с ИПД 0.21 (рис. 4, b). Стоит отметить, что ассоциация БСА с **5** сопровождается образованием моодисперсных наноразмерных систем в широком диапазоне концентраций (1×10^{-3} – 1×10^{-4} М). Минимальные значения ИПД (0.15) были зафиксированы для соотношения **5**/БСА = 2:1 [$C(\mathbf{5}) = 2 \times 10^{-4}$ М, $C(\text{БСА}) = 1 \times 10^{-4}$ М] со средним гидродинамическим диаметром 80 нм (рис. 4, c), что хорошо согласуется с данными флуоресцентного титрования. Высокие значения ζ -потенциала системы **5**/БСА = 2:1 ($\zeta = +32.4$ мВ) дополнитель-

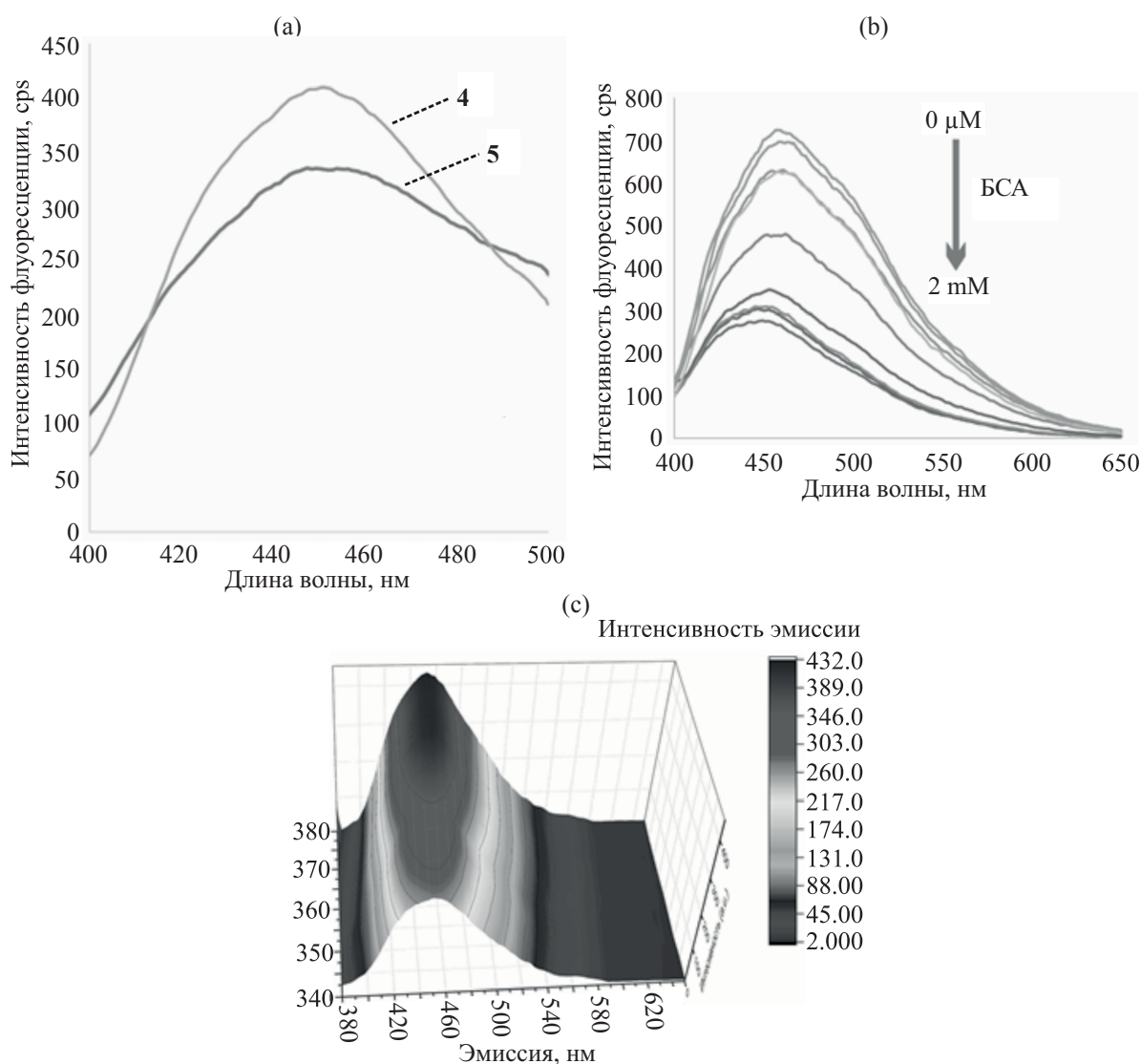


Рис. 5. (а) – Спектры флуоресценции **5** (1×10^{-5} М) при различных концентрациях БСА (10^{-2} – 10^{-3} М) в фосфатном буфере (рН 7.4); (б) – спектры флуоресценции олигомеров **4** (1×10^{-5} М) $\lambda_{\text{возб}}$ 290 нм в хлороформе и **5** (1×10^{-5} М) $\lambda_{\text{возб}}$ 320 нм в фосфатном буфере (рН 7.4); (с) – интенсивность эмиссии ассоциата **5**/БСА при различных длинах волн возбуждения в фосфатном буфере (рН 7.4)

но подтверждают образование стабильной супрамолекулярной системы. Исследование наноразмерных ассоциатов **5**/БСА = 2:1 [$C(\mathbf{5}) = 2 \times 10^{-4}$ М, $C(\text{БСА}) = 1 \times 10^{-4}$ М] методом флуоресцентной спектроскопии показало, что данная система способна к интенсивной флуоресценции (λ 420–520 нм) при облучении широким спектром длин волн (300–380 нм) (рис. 5, с). Таким образом, обладая данными спектральными характеристиками, полученная супрамолекулярная система может быть применена для изучения процессов, происходящих в живых системах с участием белков.

ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 58 № 8 2022

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C записывали на спектрометре Bruker Avance 400 (Швейцария) на рабочих частотах 400.0, 100.0 МГц соответственно. Химические сдвиги определяли относительно сигналов остаточных протонов дейтерированного растворителя (CDCl_3 , D_2O). Концентрация анализируемых растворов составляла 3–5% (по массе). ИК спектры нарушенного полного внутреннего отражения регистрировали на Фурье-спектрометре Spectrum 400 (Perkin Elmer) с приставкой НПВО

Алмаз KRS-5: разрешение 1 см^{-1} , накопление 64 скана, время регистрации 16 с, в интервале волновых чисел $400\text{--}4000 \text{ см}^{-1}$. Элементный анализ кристаллических образцов выполняли на приборе Perkin Elmer 2400 Series II.

Масс-спектры ионизации электрораспылением (ИЭР или ESI) получены на масс-спектрометре AmazonX (Bruker Daltonik GmbH, Бремен, Германия). Измерения проводились в режиме регистрации положительных ионов в диапазоне m/z от 100 до 2800. Напряжение на капилляре -4500 В . В качестве газа-осушителя использовался азот с температурой 300°C и расходом $10 \text{ л}\cdot\text{мин}^{-1}$. Соединения растворяли в воде до концентрации 10^{-6} г/л . Данные обрабатывались с помощью программы DataAnalysis 4.0 (Bruker Daltonik GmbH, Бремен, Германия).

Спектры МАЛДИ регистрировали на масс-спектрометре Ultraflex III. В качестве матрицы была использована 2,5-дигидроксибензойная кислота. Температуру плавления веществ определяли на нагревательном столике «Voetius». Контроль чистоты соединений проводили по температурам кипения и плавления, а также по спектрам ЯМР ^1H . Дополнительно чистоту веществ контролировали методом ТСХ на пластинках Silica 200 μm , UV 254. ТСХ-пластинки проявляли облучением при λ 254 нм.

Спектры флуоресценции регистрировали на люминесцентном спектрометре LS-55 (PerkinElmer) с использованием термостата для кюветы Пельтье RTR1. Длина волны возбуждения варьировалась от 300 до 380 нм. Диапазон сканирования длин волн составлял 400–650 нм. Щели монохроматоров возбуждения и испускания были выбраны 1 нм. Использовались кварцевые кюветы с длиной оптического пути 10 мм. Для предотвращения возникновения эффекта внутреннего фильтра кювета размещалась во фронтальной позиции. Спектры флуоресценции в буфере для системы гексамер ($2 \times 10^{-4} \text{ М}$)/BCA ($1 \times 10^{-5} \text{ М}$) регистрировали при 298 К. Растворы исследуемых систем измеряли после часовой инкубации при комнатной температуре. Спектры соединения **4** в хлороформе записывались в аналогичных условиях.

Спектры УФ регистрировали на спектрометре Shimadzu UV-3600. Длина оптического пути со-

ставляла 1 см, ширина щели – 1 нм. Для приготовления фосфатного буфера (рН 7.4) использовали деионизированную воду с удельным сопротивлением $> 18.0 \text{ М}\Omega \text{ см}$. Деионизированную воду получали из системы очистки Millipore-Q. Запись спектров поглощения олигомера **5** и соединений **6**, **7** с BCA ($1 \times 10^{-5}\text{--}1 \times 10^{-4} \text{ М}$) проводили через 10 мин после смешивания растворов при 293 К. Для каждой серии было проведено по три независимых эксперимента.

Динамическое рассеяние света (ДРС). Размер частиц определяли с помощью прибора Zetasizer Nano ZS при 298 К. Прибор содержит гелий-неоновый лазер мощностью 4 мВт, работающий на длине волны 633 нм, и встроенную оптику неинвазивного обратного рассеяния (NIBS). Измерения проводились при угле обнаружения 173° , и программное обеспечение автоматически определяло положение измерения в кварцевой кювете. Соотношения концентраций олигомера/ BCA составляли 1:1, 2:1, 1:2, а концентрация соединений варьировалась в диапазоне $1 \times 10^{-3}\text{--}1 \times 10^{-5} \text{ М}$. Эксперименты проводились для каждого образца не менее трех раз.

Дзета (ζ) потенциалы измеряли на Zetasizer Nano ZS от Malvern Instruments. Образцы готовили так же, как и для измерений DLS, и переносили шприцем в одноразовую складчатую капиллярную ячейку для измерения. Дзета-потенциалы измеряли с использованием метода Malvern M3-PALS и усредняли по трем измерениям.

Макроциклы **2**, **3**, **6** и **7** были синтезированы по литературной методике [29].

Гексамер 1,4-бис(2-бромэтокси)бензола с формальдегидом (4). В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, помещали 0.09 г (3 ммоль) параформальдегида, 17.5 мл хлороформа, 0.5 г (1.5 ммоль) 1,4-бис(2-бромэтокси)бензола и 0.3 мл (4.5 ммоль) метансульфокислоты. Реакцию проводили при 0°C в течение 1 ч. Затем полученную смесь промывали дистиллированной водой ($2 \times 30 \text{ мл}$), органический слой отделяли на делительной воронке и концентрировали при пониженном давлении. Продукт олигомеризации был выделен при помощи колоночной хроматографии (петролейный эфир–хлористый метилен, 1:2).

Выход 0.6 г (89%), т.пл. 98°C. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 2948 (ArH), 2804 (CH_2), 1254 (Ar–O– CH_2), 768 [$\text{Br}-(\text{CH}_2)_2$]. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 1.55–1.59 м (6H, CH_2CH_3), 3.46–3.60 м (24H, CH_2Br), 3.82–3.94 м (12H, Ar– CH_2 –Ar), 4.09–4.21 м (24H, OCH₂), 6.64–6.75 м (12H, ArH). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м.д.: 30.38, 69.23, 115.72, 128.80, 150.47. Масс-спектр (MALDI-TOF), m/z : 2044.8 [$M + K$]⁺. Найдено, %: C 38.98; H 3.81; Br 47.01. $\text{C}_{68}\text{H}_{78}\text{Br}_{12}\text{O}_{12}$. Вычислено, %: C 39.92; H 3.84; Br 46.86. *M* 2005.5.

Методика функционализации гексамера 4 *N*-метилимидазолом (5). В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, помещали 0.28 мл (3 ммоль) *N*-метилимидазола, 2 мл ДМФА и 0.1 г (0.05 ммоль) продукта 4. Реакцию проводили при 100°C в течение 48 ч. Затем темно-коричневую реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и выливали в диэтиловый эфир (10 мл). Выпавший осадок собирали фильтрованием, промывали диэтиловым эфиром и сушили в эксикаторе при пониженном давлении. Выход 0.34 г (90%), т.пл. 105°C. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1726 [C(O)–NH], 1465 (C=O), 1243 (C–O–C). Спектр ЯМР ^1H (D_2O), δ , м.д.: 3.64–3.69 м (12H, Ar– CH_2 –Ar), 4.04–4.46 м (24H, O– CH_2 – CH_2), 4.24–4.54 м (24H, O– CH_2 – CH_2), 6.41 уш.с (12H, ArH), 7.33 с (12H, $\text{CH}_{\text{имидазол}}$), 7.41 с (12H, $\text{CH}_{\text{имидазол}}$). 7.89 с (12H, $\text{CH}_{\text{имидазол}}$). Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O), δ , м.д.: 39.60, 46.45, 66.87, 114.50, 116.87, 117.15, 124.36, 125.38, 129.78, 137.48, 152.72. Масс-спектр (MALDI-TOF), m/z : 667.3698 [$M - 4\text{Br}$]⁴⁺. Найдено, %: C 66.89; H 7.15; N 16.01. $\text{C}_{116}\text{H}_{150}\text{N}_{24}\text{O}_{12}$. Вычислено, %: C 67.22; H 7.30; N 16.22. *M* 2989.1507.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Взаимодействием 1,4-бис(2-бромэтокси)бензола с параформом впервые синтезирован гидрохинон-формальдегидный гексамер 4 – немакроциклический аналог пиллар[6]арена. Методом флуоресцентной спектроскопии выявлены флуоресцентные свойства гексамера 4, с максимумом испускания при 450 нм. Предложен метод получения соответствующего водорастворимого гексамера 5, содержащего полярные имидазолиевые фрагменты. Методом ДСР продемонстрировано наличие самоассоциатов гексамера 5 в фосфатном буфере (рН 7.4) со средним гидродинамическим

диаметром 141 нм и ИПД = 0.26. Изучены закономерности влияния макроциклических платформ пиллар[5]аренов, пиллар[6]аренов и их ациклического аналога, содержащих имидазолиевые фрагменты, на взаимодействие с белками: лизоцимом, БСА и гемоглобином. Выявлены преимущества при связывании с БСА имидазолиевых производных, обладающих конформационно более подвижной ациклической структурой, по сравнению с соответствующими макроциклическими аналогами. Методом флуоресцентного титрования установлена стехиометрия образующихся ассоциатов 5/БСА (2:1) с константами ассоциации: $K_{1:1}$ 5166 M^{-1} , $K_{2:1}$ 102334 M^{-1} . Анализ результатов ДСР показал наличие устойчивых ассоциатов 5/БСА = 2:1 [$C(5) = 2 \times 10^{-4}$ М, $C(\text{БСА}) = 1 \times 10^{-4}$ М] со средним гидродинамическим диаметром 80 нм и ИПД = 0.15. По данным флуоресцентной спектроскопии ассоциаты 5/БСА = 2:1 обладают интенсивной флуоресценцией при облучении широким интервалом длин волн (λ 290–380 нм). Полученные результаты открывают возможность использования подобных флуоресцентных гидрохинон-формальдегидных соединений в области тканевой инженерии для создания прототипов систем визуализации и доставки лекарств или больших молекул, таких как белки или факторы роста *in vitro* или *in vivo*.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 22-13-00070.

Регистрация ЯМР и масс-спектров проводилась за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета («Приоритет-2030»).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Махмутова Ляйсан Илдусовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8971-6536>

Шурпик Дмитрий Николаевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7914-6533>

Стойков Даниил Иванович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9849-3349>

Лачугина Наталья Романовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3352-4463>

Ханнанов Артур Айдарович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5119-8449>

Мостовая Ольга Александровна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9337-1262>

Стойков Иван Иванович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3019-7866>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антипин И.С., Алфимов М.В., Арсланов В.В., Бурилов В.А., Вацадзе С.З., Волошин Я.З., Волчо К.П., Горбачук В.В., Горбунова Ю.Г., Громов С.П., Дудкин С.В., Зайцев С.Ю., Захарова Л.Я., Зиганшин М.А., Золотухина А.В., Калинина М.А., Караханов Э.А., Кашапов Р.Р., Койфман О.И., Коновалов А.И., Коренев В.С., Максимов А.Л., Мамардашвили Н.Ж., Мамардашвили Г.М., Мартынов А.Г., Мустафина А.Р., Нугманов Р.И., Овсянников А.С., Падня П.Л., Потапов А.С., Селектор С.Л., Соколов М.Н., Соловьева С.Е., Стойков И.И., Стужин П.А., Суслов Е.В., Ушаков Е.Н., Федин В.П., Федоренко С.В., Федорова О.А., Федоров Ю.В., Чвалун С.Н., Цивадзе А.Ю., Штыков С.Н., Шурпик Д.Н., Щербина М.А., Якимова Л.С. *Усп. Хим.* **2021**, *90*, 895–1107. [Antipin I.S., Alfimov M.V., Arslanov V.V., Burilov V.A., Vatsadze S.Z., Voloshin Y.Z., Volcho K.P., Gorbachuk V.V., Gorbunova Y.G., Gromov S.P., Dudkin S.V., Zaitsev S.Yu., Zakharova L.Ya., Ziganshin M.A., Zolotukhina A.V., Kalinina M.A., Karakhanov E.A., Kashapov R.R., Koifman O.I., Konovalov A.I., Korenev V.S., Maksimov, A.L., Mamardashvili N.Zh., Mamardashvili G.M., Martynov A.G., Mustafina A.R., Nugmanov R.I., Ovsyannikov A.S., Padnya P.L., Potapov A.S., Selektor S.L., Sokolov M.N., Solovieva S.E., Stoikov I.I., Stuzhin P.A., Suslov E.V., Ushakov E.N., Fedin V.P., Fedorenko S.V., Fedorova O.A., Fedorov Y.V., Chvalun S.N., Tsvadze A.Yu., Shtykov S.N., Shurpik D.N., Shcherbina M.A., Yakimova L.S. *Russ. Chem. Rev.* **2021**, *90*, 895–1107.] doi 10.1070/RCR5011/meta
2. Ma X., Zhao Y. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7794–7839. doi 10.1021/cr500392w
3. Chen Y.Y., Jiang X.M., Gong G.F., Yao H., Zhang Y.M., Wei T.B., Lin Q. *Chem. Commun.* **2021**, *57*, 284–301. doi 10.1039/D0CC05776B
4. Ogoshi T., Kanai, S., Fujinami S., Yamagishi T.-a., Nakamoto Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022–5023. doi 10.1021/ja711260m
5. Zhou Y., Jie K., Zhao R., Li E., Huang F. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 6957–6961. doi 10.1021/jacs.0c02684
6. Jie K., Zhou Y., Li E., Zhao R., Liu M., Huang F. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 3190–3193. doi 10.1021/jacs.7b13156
7. Ogoshi T., Saito K., Sueto R., Kojima R., Hamada Y., Akine S., Moeljadi A., Hirao H., Kakuta T., Yamagishi T.-a. *Chem., Int. Ed.* **2018**, *57*, 1592–1595. doi 10.1002/anie.201711575
8. Wang K., Jordan J.H., Velmurugan K., Tian X., Zuo M., Hu X.-Y., Wang L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, *59*, 2–12. doi 10.1002/anie.202010150
9. Li H., Chen D.-X., Sun Y.-L., Zheng Y. B., Tan L.-L., Weiss P.S., Yang Y.-W. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 1570–1576. doi 10.1021/ja3115168
10. Zhang M., Zhu P.-P., Xin P., Si W., Li Z.-T., Hou J.-L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2017**, *56*, 2999–3003. doi 10.1002/anie.201612093
11. Chang Y., Chen J.-Y., Yang J., Lin T., Zeng L., Xu J.-F., Hou J.-L., Zhang X. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2019**, *11*, 38497–38502. doi 10.1021/acsami.9b13492
12. Kuzin Y., Kappo D., Porfireva A., Shurpik D., Stoikov I., Evtugyn G., Hianik T. *Sensors.* **2018**, *18*, 3489. doi 10.3390/s18103489
13. Шурпик Д.Н., Стойков И.И. *ЖОрХ.* **2016**, *86*, 752–755. [Shurpik D.N., Stoikov I.I. *Russ. J. Org. Chem.* **2016**, *86*, 752–755.] doi 10.1134/S1070363216030439
14. Shurpik D.N., Padnya P.L., Basimova L.T., Evtugin V.G., Plemenkov V.V., Stoikov I.I. *Mendeleev Commun.* **2015**, *6*, 432–434. doi S0959943615002096?via%3Dihub
15. Stoikova E.E., Sorvin M.I., Shurpik D.N., Budnikov H.C., Stoikov I.I., Evtugyn G.A. *Electroanalysis.* **2015**, *27*, 440–449. doi 10.1002/elan.201400494
16. Da Pian M., De Lucchi O., Strukul G., Fabris F., Scarso A. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 48272–48275. doi 10.1039/C6RA07164C
17. Mirzaei S., Wang D., Lindeman S.V., Sem C.M., Rathore R. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 6583–6586. doi 10.1021/acs.orglett.8b02937
18. Zhao S., Xue T., Pei D., Song Q., Pei Z., Nie J., Chang, Y. *Org. Lett.* **2021**, *23*, 1709–1713. doi 10.1021/acs.orglett.1c00131
19. Zeng S., Guo L., Zhang L., Cui F., Zhou J., Gao Z., Chen Y., Shi J. *Macromol. Chem. Phys.* **2010**, *211*, 845–853. doi 10.1002/macp.200900534
20. Schneider H.J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3924–3977. doi 10.1002/anie.200802947
21. Wang K., Tan L.L., Chen D.X., Song N., Xi G., Zhang S.X.A., Li Ch., Yang Y.W. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 9405–9409. doi 10.1039/C2OB26635K

22. Jie K., Yao Y., Chi X., Huang, F. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 5503–5505. doi 10.1039/C4CC01704H
23. Hu R., Kang Y., Tang B.Z. *Polym. J.* **2016**, 48, 359–370. doi 10.1038/pj.2016.1
24. Luo J., Xie Z., Lam J.W., Cheng L., Chen H., Qiu C., Kwok H.S., Zhan X., Liu Y., Zhu D., Tang B.Z. *Chem. Commun.* **2001**, 18, 1740–1741. doi 10.1039/B105159H
25. Würthner F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 14192–14196. doi 10.1002/anie.202007525
26. Ding D., Li K., Liu B., Tang B.Z. *Acc. Chem. Res.* **2013**, 46, 2441–2453. doi 10.1021/ar3003464
27. Ding C., Xu Y., Zhao Y., Zhong H., Luo X. *ACS Appl. Mater. Int.* **2018**, 10, 8947–8954. doi 10.1021/acsami.7b18493
28. Samarkina D.A., Gabdrakhmanov D.R., Lukashenko S.S., Nizameev I.R., Kadirov M.K., Zakharova L.Y. *J. Mol. Liq.* **2019**, 275, 232–240. doi 10.1016/j.molliq.2018.11.082
29. Xing L., Sun J., Tan H., Yuan G., Li J., Jia Y., Xiong D., Chen G., Lai J., Ling Z., Chen Y., Niu X. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, 127, 340–348. doi S0141813018343988
30. Li G., Li Y.M. *Aggregate.* **2022**, e161. doi 10.1002/agt2.161
31. Escobar L., Ballester P. *Chem. Rev.* **2021**, 121, 2445–2514. doi 10.1021/acs.chemrev.0c00522
32. Kaizerman-Kane D., Hadar M., Joseph R., Logviniuk D., Zafrani Y., Fridman M., Cohen Y. *ACS Infect. Dis.* **2021**, 7, 579–585. doi 10.1021/acsinfectdis.0c00662
33. Hibbert D.B., Thordarson P. *Chem. Commun.* **2016**, 52, 12792–12805. doi 10.1039/C6CC03888C

Synthesis and Complexing Properties of New Luminescent Hydroquinone-formaldehyde Hexamers

L. I. Makhmutova, D. N. Shurpik*, D. I. Stoikov, N. R. Lachugina, A. A. Khannanov, O. A. Mostovaya, and I. I. Stoikov**

Kazan Federal University, A.M. Butlerov Chemistry Institute, ul. Kremlyovskaya, 18, Kazan, 420008 Russia

*e-mail: dnshurpik@mail.ru

**e-mail: ivan.stoikov@mail.ru

Received May 29, 2022; revised June 20, 2022; accepted June 23, 2022

A hexameric product with fluorescent properties was synthesized for the first time by polycondensation of 1,4-bis(2-bromoethoxy)benzene with paraform. The method for functionalization of the corresponding hexamer with polar imidazolium fragments to obtain a water-soluble compound was proposed. The presence of self-associates of a water-soluble hexamer with a hydrodynamic diameter of 141 nm was found in phosphate buffer at pH 7.4. The regularities of the influence of macrocyclic platforms pillar[5]arene, pillar[6]arene and their non-macrocyclic analog containing imidazolium fragments on the interaction with proteins: lysozyme, bovine serum albumin and hemoglobin were studied. The stoichiometry of the associate of the water-soluble hexamer with bovine serum albumin (2:1) and association constants were established by spectrophotometric titration: $K_{1:1}$ 5166 M⁻¹, $K_{2:1}$ 102334 M⁻¹. According to fluorescence spectroscopy, the resulting hexamer/protein associates are capable of fluorescence upon irradiation in a wide wavelength range (λ_{ex} 290–380 nm).

Keywords: hydroquinone-formaldehyde resins; macrocycles; drug delivery systems; fluorescence; pillar[n]arenes