

На правах рукописи



КОПЧУК Дмитрий Сергеевич

**ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЕ 5-АРИЛ-2,2'-БИПИРИДИНЫ И ИХ
ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ С ЛАНТАНИДАМИ(III)**

02.00.03. – Органическая химия

**автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук**

24 ИЮН 2010

**Екатеринбург
2010**

Работа выполнена на кафедре органической химии ГОУ ВПО «УГТУ-УПИ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ: доктор химических наук
Кожевников Дмитрий Николаевич

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ: доктор химических наук
Бургарт Янина Валерьевна
г. Екатеринбург, ИОС УрО РАН

кандидат химических наук, доцент
Глухарева Татьяна Владимировна
г. Екатеринбург, УГТУ-УПИ, кафедра ТОС

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ: Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского
РАН

Защита состоится 21 июня 2010 г. в 15 часов на заседании диссертационного совета Д 212.285.08 в ГОУ ВПО «УГТУ-УПИ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» по адресу: г. Екатеринбург, ул. Мира, 28, третий учебный корпус, аудитория Х-420.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Уральского государственного технического университета-УПИ.

Ваш отзыв в одном экземпляре, заверенный гербовой печатью, просим направлять по адресу: 620002, г. Екатеринбург, К-2, Уральский государственный технический университет-УПИ, ученому секретарю Университета, тел. (343) 375-45-74, факс (343) 375-41-35, e-mail: tpos@mail.ustu.ru

Автореферат разослан «21» мая 2010 года

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук, с.н.с.



Поспелова Т.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

АКТУАЛЬНОСТЬ. Люминесцентные комплексы лантанидов и функционализированных гетероциклов находят широкое применение при создании новых материалов, среди которых можно выделить метки для фосфоресцентного иммуноанализа и электролюминесцентные материалы для органических светодиодов. Несмотря на то, что люминесценция таких комплексов связана с электронными переходами самого атома лантанида, целевые характеристики, которыми должен обладать материал (поглощение света, связывание с белками, растворимость, летучесть, стабильность, проводимость и т.д.), практически полностью определяются именно строением гетероциклической составляющей. Зачастую требуется тонкая настройка структуры лиганда для достижения разных по своей природе свойств комплекса. В ряде случаев это становится нетривиальной задачей, для решения которой нужны новые лиганды, а значит, и новые методы для их синтеза и функционализации, что и определяет актуальность данной работы.

В основе большинства лигандов для люминесцентных лантанидных комплексов лежит пиридиновое (би- и терпиридиновое) ядро, которое обеспечивает перенос энергии возбуждения от лиганда к металлу. Однако особенности свойств катионов металлов лантанидной группы требуют введения в молекулу лиганда определенных функциональных заместителей. Необходимым условием для получения лантанидных комплексов с заданными свойствами является наличие дополнительных координационных центров (карбоксилатных, карбонильных групп, полиаминокислот, иминокислоты и др.), которые отвечают за стабильность, заряд, растворимость координационного соединения лантанида и т.п. Настройка фотофизических свойств может достигаться введением ароматических заместителей. Учитывая, что для получения комплексов различных лантанидов могут быть использованы лиганды одной группы, разрабатываемые подходы должны давать возможность варьирования заместителей для подстройки свойств и структуры лиганда под конкретный металл.

ЦЕЛЬЮ РАБОТЫ стал поиск удобных методов синтеза функционализированных би- и терпиридинов для получения люминесцентных лантанидных комплексов с возможностью настройки свойств комплексов за счет варьирования структуры лиганда.

Для достижения поставленной цели необходимо решение следующих задач:

1. Поиск удобных синтетических подходов к 5-арил-2,2'-би-пиридинкарбоновым кислотам – лигандам для получения нейтральных комплексов лантанидов, управление люминесценцией и растворимостью комплексов за счет варьирования заместителей в лиганде.
2. Поиск путей получения новых лигандов для устойчивых Eu(III) хелатов на основе 5-арил-2,2'-би-пиридинов, несущих остатки циклических или ациклических олигоэтиленаминокислот – хромофоров для меток для фосфоресцентного иммуноанализа.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. Разработан метод синтеза производных 5-арил-2,2'-бипиридинкарбоновых кислот – удобных строительных блоков для получения лантанидных хелатов. Метод включает синтез предшественников 1,2,4-триазинового ряда и их превращение в целевые пиридины в результате реакции Дильса-Альдера с обратными электронными требованиями. Такой подход обеспечивает гибкую модификацию структуры лиганда (варьирование ароматических заместителей, введение дополнительных заместителей, выбор положения карбоксильной группы). Полученные на основе бипиридин-6-карбоновых кислот нейтральные комплексы европия(III) состава 3:1 обладают хорошими фотофизическими свойствами (квантовые выходы фосфоресценции до 28%), что удалось достичь в результате целевой модификации лиганда на основе выявленных закономерностей «структура-свойство». Разработка методов аннелирования циклопентенового фрагмента к центральному пиридиновому ядру позволила резко повысить растворимость лантанидных комплексов в неполярных органических растворителях.

Найдены пути получения гибридных лигандов, содержащих фрагмент бипиридина и остатки циклических и ациклических полиаминоуксусных кислот. Получены комплексы европия(III) и новых лигандов. Изучены люминесцентные свойства комплексов. Выявлены закономерности влияния структуры лиганда на процессы передачи энергии возбуждения люминесценции от лиганда к металлу.

Разработаны методы введения дополнительных координационных центров, например, остатка дипиколиламина для получения новых лигандов для катионов переходных металлов.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ. Получен ряд растворимых в органических растворителях и полимерах люминесцентных нейтральных лантанидных комплексов, которые могут быть использованы в качестве новых люминофоров. Получены потенциальные метки для фосфоресцентного иммуноанализа на основе новых европиевых комплексов. Для этого разработан метод введения в молекулу лиганда аминогруппы, предшественника изотиоцианатного линкера для связывания с аминогруппами белков. Получены потенциальные люминесцентные индикаторы на ионы цинка(II) на основе дипиколиламинотетрабипиридина. Количественно изучено влияние концентрации цинка на увеличение интенсивности флюоресценции в водных буферных растворах. Показана селективность отклика по сравнению с катионами некоторых переходных металлов.

ПУБЛИКАЦИИ И АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Основные материалы диссертации опубликованы в 2 статьях в ведущих научных журналах. Результаты работы доложены и обсуждены в виде сообщений на 3 конференциях. Работа выполнена в рамках проектов РФФИ (гранты 08-03-00988 и 08-03-00585), а также при поддержке Научно-Образовательного Центра «Перспективные материалы» (REC-005).

СТРУКТУРА И ОБЪЕМ РАБОТЫ. Диссертационная работа общим объемом 122 страницы машинописного текста состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, выводов и экспериментальной части. Библиографический список – 175 работ. Диссертация содержит 13 схем, 6 таблиц и 29 рисунков.

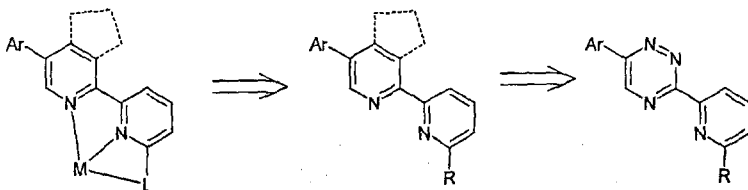
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Первая глава содержит обзор литературных данных по построению лигандов для получения люминесцентных комплексов трехвалентных лантанидов, применяемых в метках для флуоресцентного иммуноанализа и электролюминесцентных материалах. Показана перспективность лигандов на основе моно-, би- и терпиридинов. Отдельное внимание уделено дизайну люминесцентных индикаторов на катионы цинка.

Вторая глава содержит результаты собственных исследований, направленных на получение лигандов бипиридинового ряда и их устойчивых лантанидных комплексов, изучению фотофизических свойств новых комплексов и выявлению влияния структуры лиганда на эти свойства.

1. Лиганды для катионов лантанидов на основе 5-арил-2,2'-бипиридинов

Лиганды пиридинового ряда являются одними из наиболее часто применяемых для получения люминесцентных лантанидных комплексов. Исходя из конкретных задач применения таких комплексов, в молекулу лиганда необходимо вводить соответствующие функциональные заместители. В данной работе в качестве основного подхода к синтезу целевых соединений был выбран синтез 1,2,4-триазиновых предшественников, их превращение в замещенные пиридины в результате реакции Дильса-Альдера с последующей дополнительной функционализацией за счет трансформаций введенных заместителей. Основное преимущество данного подхода связано с возможностью варьирования заместителей на каждом из этапов.



L - Хелатирующий фрагмент
R = Me, COOMe

Схема 1. Стратегия синтеза целевых соединений

Планирование синтеза соединений с заданными свойствами показало, что наиболее удобным путем является получение 3-пиридил-1,2,4-триазинов, несущих кроме различных ароматических заместителей в триазиновом ядре метильную или карбоксильную (или ее синтетический эквивалент) группы, т.к. в результате известных превращений эти группы позволяют формировать хелатный узел с заданной геометрией (схема 1).

1,2,4-Триазиновые предшественники были получены двумя путями (схема 2). Первый включает реакцию гидразонов изонитрозоацетофенонов 1 с 5- или 6-метоксикарбонил-, а

также 6-метилпиридин-2-карбальдегидом, которая приводит к соответствующим 6-арил-3-(6-или 5-*R*-пиридил)-1,2,4-триазинам 2-4. Было установлено, что этот метод имеет некоторые ограничения по использованию производных ацетофенона. Так, не удалось получить метоксифенильное производное триазина 2с (в реакционной массе доминировали продукты побочных реакций). В связи с этим в работе рассмотрен другой метод синтеза 3,6-дизамещенных 1,2,4-триазинов, основанный на циклизации α -бромацетофенонов 5 с двумя эквивалентами гидразидов карбоновых кислот. Целевой 5-(6-метоксифенил-1,2,4-триазин-3-ил)пиридин-2-карбоксилат был получен реакцией метоксифенацилбромида с моногидразидом 2,6-пиридиндикарбоновой кислоты. К сожалению, выход триазина 2с в этом случае не превышает 20–25%, но, учитывая доступность исходных реагентов, этот метод выглядит вполне приемлемым.

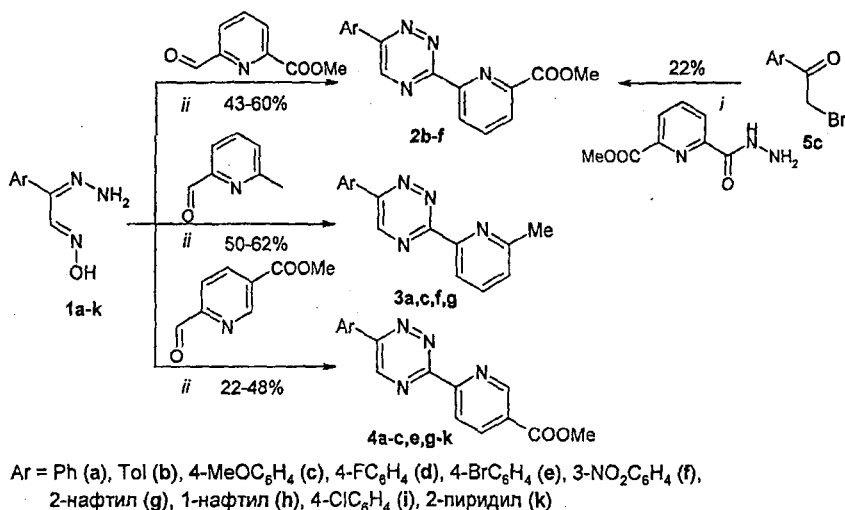


Схема 2. Получение триазиновых предшественников целевых соединений. Реагенты и условия: *i*) этанол-уксусная кислота (3:1), 80 °С, 12 ч; *ii*) этанол, 20 °С, 10 ч, затем уксусная кислота, 118 °С, 5 мин.

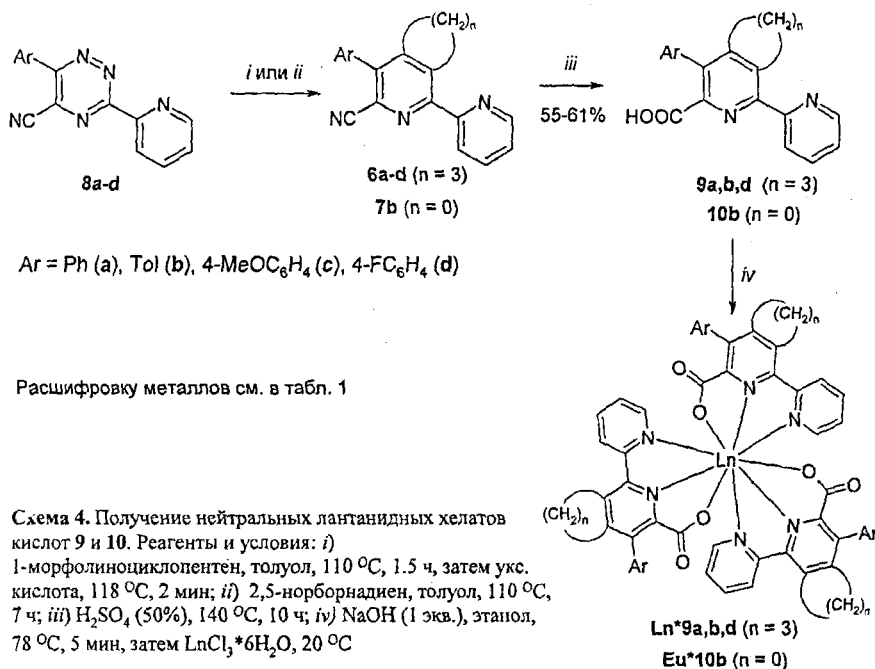
1.1. Лиганды для получения нейтральных устойчивых комплексов лантанидов, растворимых в органических растворителях*

Использование лантанидных хелатов при получении электролюминесцентных материалов требует от них кроме высокой квантовой эффективности испускания дополнительные специфические свойства. Такие комплексы должны быть устойчивыми, способными возгоняться в вакууме или быть растворимыми в неполярных растворителях. Для достижения таких свойств необходимо, чтобы хелатирующий лиганд занял всю координационную сферу лантанида (координационное число 9) с образованием

* Автор благодарит к.х.н. В.Н. Кожевникова (Northumbria University, New castle, UK) за помощь и консультации при работе над этим разделом

нейтрального комплекса. Анализ литературных данных показал, что свойства производных 2,2'-бипиридин-6-карбоновой кислоты вполне подходят под эти требования, т.к. они образуют нейтральные комплексы состава $[Ln(L)_3]$, где L – бипиридинкарбоксилат, показавшие высокую квантовую эффективность фотолуминесценции (для примера см. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2007, 3465). Правда, описанные комплексы имели крайне низкую растворимость в органических растворителях.

С целью синтеза лигандов, содержащих карбоксильную группу в положении 6, в качестве исходных соединений были использованы 6-циано-2-пиридилциклопентено[с]пиридины **6** и 6-циано-2,2'-бипиридины **7**, синтез которых был осуществлен по описанной ранее методике, исходя из 3-пиридил-5-циано-1,2,4-триазинов **8** реакцией Дильса-Альдера с 2,5-норборнадиеном или морфолиноциклопентеном в качестве диенофилов (схема 3). Гидролиз цианогруппы в среде 50% серной кислоты хоть и протекает с большим трудом, но позволяет получать 5-арил-2,2'-бипиридин-6-карбоновые кислоты **9** и **10**.



Кислоты **9** и **10** в виде натриевых солей легко образуют комплексы в реакции с хлоридом европия. В результате были получены комплексы Eu^*9 и Eu^*10 общего состава $[Eu(L)_3]$, где LH – бипиридинкарбоновая кислота. Их состав был установлен на основании

данных элементного анализа и масс-спектрометрии (электроспрей). Аналогичным образом был получен и тербиевый комплекс Tb*9d.

В случае метоксифенилцианобипиридина **6c** гидролиз цианогруппы в описанных выше условиях сопровождается побочным сульфированием метоксифенильного фрагмента. Гидролиз в щелочных условиях не идет даже в результате многочасового кипячения. Для преодоления данного препятствия были использованы литературные данные, что соли меди(II) в значительной степени активируют 2-цианопиридины к нуклеофильной атаке. Было установлено, что цианогруппа в бипиридине **6c** легко подвергается гидролизу при нагревании в водном этаноле в присутствии $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ с образованием соответствующей бипиридинкарбоновой кислоты, выделяемой в виде комплекса с медью(II) **Cu*9c** (схема 4). Медь вытеснялась из комплекса под действием цианида, так что добавление хлорида европия(III) к реакционной массе приводило к образованию целевого комплекса **Eu*9c**. Будучи нейтральным, образующийся комплекс **Eu*9c** хорошо растворим в органических растворителях, что облегчает его выделение из реакционной массы методом экстракции.

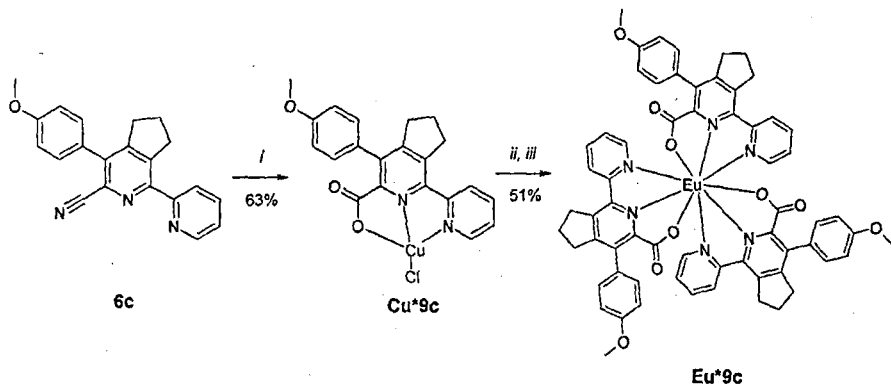


Схема 4. Получение комплекса **Eu*9c**. Реагенты и условия: *i*) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, этанол/вода (1:1), 85 °C, 8 ч; *ii*) KCN, этанол/вода (1:1), 50 °C, 10 ч; *iii*) $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, этанол/вода, 20 °C, 2 ч.

Полученные комплексы **Eu*9** и **Eu*10** показали типичную для европиевых хелатов фотолуминесценцию (табл. 1). При возбуждении в максимуме поглощения, соответствующего $\pi-\pi^*$ -переходам в лиганде (294 – 309 нм), комплекс фосфоресцирует в растворах хлористого метилена при комнатной температуре. Спектр фосфоресценции представлен типичными полосами (591, 615 и 695 нм). Однако, квантовые выходы фосфоресценции комплексов оказались относительно невысокими (3.2 – 11%).

Табл. 1. Фотофизические свойства комплексов лигандов 9 и 10

Комплекс	Ar	Поглощение, λ_{max} , нм (ϵ , $10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ^a	Φ^b	τ^c , мс
Eu*9a	Ph	309 (41.9)	0.064	
Eu*9b	Tol	309 (41.0)	0.11	
Eu*9c	4-MeOC ₆ H ₄	232 (34.5), 295 (17.3)	0.057	1.1
Eu*9d	4-FC ₆ H ₄	232 (42.6), 294 (20.7)	0.042	0.95
Tb*9d	4-FC ₆ H ₄	232 (42.7), 296 (21.8)	-	
Eu*10b	Tol	300	0.032	0.8

^aВ растворе CH₂Cl₂ при комнатной температуре; ^bквантовый выход фосфоресценции в CH₂Cl₂ (измерен относительно [Ru(bpy)₃]Cl₂); ^cвремя жизни фосфоресценции

Причина тушения люминесценции комплексов Eu*9 и Eu*10 может быть связана с пространственными взаимодействиями ароматического заместителя и карбоксильной группы. Перемещение карбоксильной группы в другой пиридиновый фрагмент не должно изменить координационные свойства органического лиганда, но могло бы улучшить фотофизические свойства комплекса. Для проверки этой гипотезы реакцией триазинов 2 с 2,5-норборнадисном были получены эфиры 5-арил-2,2'-бипиридин-6'-карбоновой кислоты 11, щелочной гидролиз которых дал свободные кислоты 12 (схема 5).

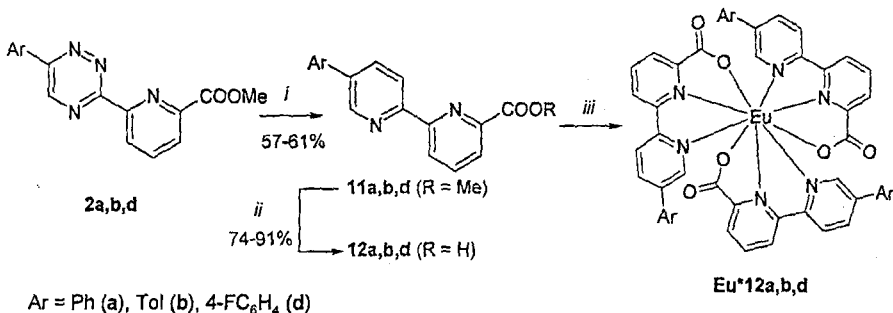
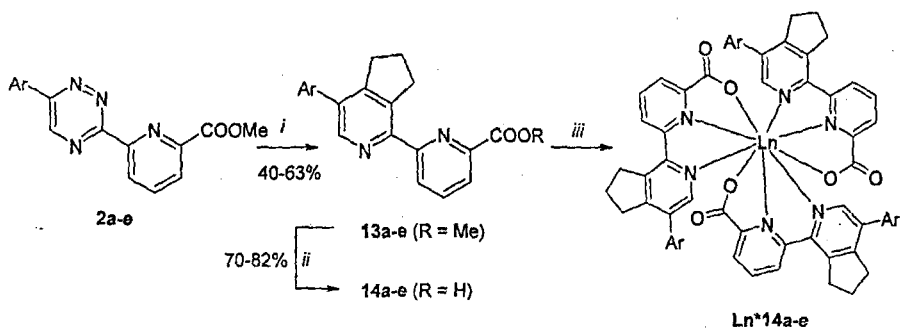


Схема 5. Синтез нейтральных лантанидных комплексов кислот 12. Реагенты и условия: *i*) 2,5-норборнадисн, *o*-ксилол, 143 °C, 19 ч; *ii*) NaOH, этанол, 78 °C, 1 ч, затем HCl, 20 °C; *iii*) NaOH (1 экв.), этанол, 78 °C, 5 мин, затем EuCl₃·6H₂O (1/3 экв.), 20 °C, 8 ч.

Бипиридинкарбоновые кислоты 12 реагируют с EuCl₃ в присутствии основания с образованием комплексов Eu*12, состав которых по данным элементного анализа и масс-спектрометрии не отличается от комплексов Eu*9 и Eu*10. Атом европия и в этом случае координирует 3 молекулы лиганда (в виде карбоксилата), т.е. образовавшиеся комплексы нейтральны.

Табл. 2 содержит фотофизические характеристики комплексов Eu^*12 . Их максимумы поглощения сдвинуты в сторону больших длин волн (324-330 нм) по сравнению с комплексами Eu^*9 и Eu^*10 . Уменьшение энергии $\pi-\pi^*$ -переходов является следствием улучшения сопряжения между ароматическим заместителем и бипиридином, т.к. в кислотах **12** расположение карбоксильной группы не мешает копланарному расположению этих фрагментов. Спектры фосфоресценции комплексов Eu^*12 содержат тонкие линии испускания (592, 616 и 695 нм), типичные для европейских комплексов. Квантовые выходы фосфоресценции хелатов Eu^*12 значительно выше (до 26%), однако их растворимость в дихлорметане оказалась низкой.

Для повышения растворимости было предложено аннелировать к центральному пиридину бипиридинкарбоновой кислоты алифатический карбоцикл. Реакцией Дильса-Альдера триазинов **2** с 1-морфолиноциклопентеном были получены пиридилциклопентено[с]пиридинкарбоксилаты **13**, щелочной гидролиз которых привел к соответствующим бипиридинкарбоновым кислотам **14**. Кислоты **14** легко образуют нейтральные комплексы с лантанидами(III) Ln^*14 (схема 6).



Ar = Ph (a), Tol (b), 4-MeOC₆H₄ (c), 4-FC₆H₄ (d), 4-BrC₆H₄ (e)

Расшифровку металлов см. в табл. 2

Схема 6. Синтез нейтральных лантанидных комплексов кислот **14**. Реагенты и условия: *i*) 1-морфолиноциклопентен, *o*-ксилол, 143 °C, 3 ч; *ii*) NaOH, этанол, 78 °C, 1 ч, затем HCl, 20 °C; *iii*) NaOH (1 экв.), этанол, 78 °C, 5 мин, затем хлорид соответствующего лантанида (1/3 экв.), 20 °C, 8 ч.

Табл. 2. Фотофизические характеристики лантанидных комплексов лигандов 12 и 14.

Ar	Комплекс	Поглощение, λ_{max} , нм (ϵ , $10^{-3} M^{-1} cm^{-1}$) ^a	Φ^b	τ^c , мс
Ph	Eu*12a	280, 328*	0.26	0.9
Tol	Eu*12b	282, 330*	0.15	1.1
4-FC ₆ H ₄	Eu*12d	280, 324*	0.23	1.2
Ph	Eu*14a	313 (50.7)	0.095	1.5
Tol	Eu*14b	322 (40.4)	0.013	1.5
4-MeOC ₆ H ₄	Eu*14c	321 (44.4)	0.12	
4-BrC ₆ H ₄	Eu*14e	320 (32.7)	0.28	1.1
4-FC ₆ H ₄	Eu*14d	275 (28.9), 318 (45.6)	0.15	1.5
4-FC ₆ H ₄	Tb*14d	257 (18.4), 279 (19.3), 321 (34.7)	-	
4-FC ₆ H ₄	Gd*14d	259 (24.07), 317 (38.1)	-	
4-FC ₆ H ₄	Nd*14d	275 (24.95), 319 (46)	-	

^aВ растворе CH₂Cl₂ при комнатной температуре; ^bквантовый выход флуоресценции в CH₂Cl₂ (измерен относительно [Ru(bpy)₃]Cl₂); ^cвремя жизни флуоресценции; *в связи с низкой растворимостью хелатов не удалось измерить коэффициент экстинкции

По данным элементного анализа и масс-спектрометрии состав комплексов Ln*14 такой же, как и в описанных выше случаях, т.е. атом металла координирует 3 бипиридинкарбоксилатных лиганда. Как и ожидалось, нейтральный характер комплексов и структура лигандов привели к высокой растворимости комплексов в дихлорметане (до 10 г/л), что значительно облегчило их выделение и очистку с использованием экстракции водной реакционной смеси хлористым метилом и перекристаллизации из смеси дихлорметан/метанол. Для изучения структуры были выращены кристаллы комплексов Eu*14b и Eu*14d. По данным РСА в обоих случаях центральный атом металла координирует 3 аниона бипиридинкарбоксилата, т.е. координационное число Eu^{III} в комплексах составляет 9. Тердентатные лиганды образуют несимметричную *mer*-конфигурацию. В кристалле комплекса Eu*14d молекулы лиганда упаковываются в стопки (рис. 1б), что объясняется наличием внутри- и межмолекулярных π - π -взаимодействий. Это подтверждается близким к копланарному расположением пиридиновых колец взаимодействующих лигандов комплекса (рис. 1а, угол между плоскостями циклов составляет 26°), а также расстояниями между ними (2.9–4.0 Å). Умеренные межмолекулярные π - π -взаимодействия подтверждаются аналогичным образом (расстояние в этом случае составляет 3.7 Å). В результате наблюдается значительное отклонение от копланарного расположения двух из трех бипиридиновых фрагментов комплекса (торсионные углы составляют 12° и 27°), что нетипично для бипиридиновых хелатов.

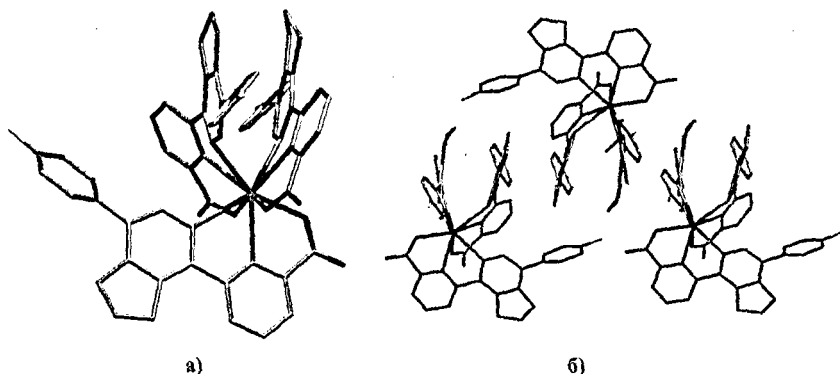


Рис. 1. (а) Молекулярная структура (затемнением показаны сближенные пиридиновые циклы) и (б) стопки комплекса Eu^*14d в кристалле по данным РСА (молекулы метанола и атомы водорода не показаны).

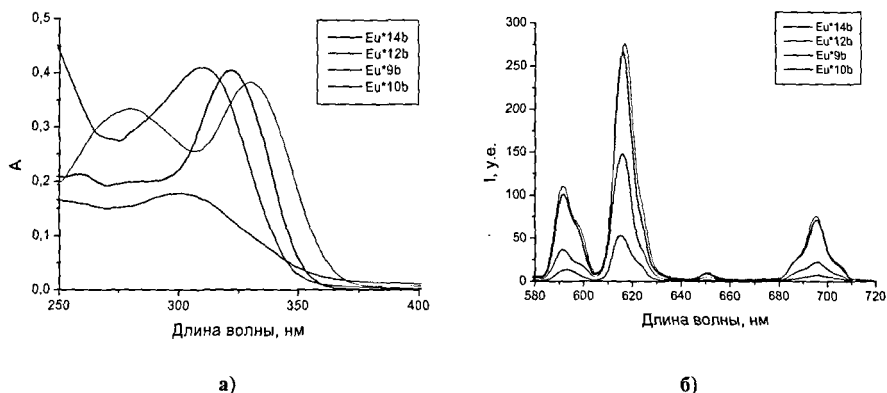


Рис. 2. (а) Спектры поглощения некоторых европиевых хелатов в CH_2Cl_2 при комнатной температуре; (б) спектры фосфоресценции некоторых европиевых комплексов в CH_2Cl_2 при комнатной температуре.

Введение конденсированного циклопентенового фрагмента привело к некоторому снижению квантовых выходов фосфоресценции, хотя спектры испускания не изменились (табл. 2., рис. 2). В некоторых случаях помимо фосфоресценции (время жизни 0.8-1.5 мс) фиксируется короткоживущая флюоресценция лигандов со значительно более коротковолновым максимумом испускания (350-450 нм). Максимальное соотношение квантовых выходов флюоресценции и фосфоресценции наблюдалось для комплекса с метоксифенильным производным Eu^*14c . Это говорит о затруднении переноса энергии возбуждения от лиганда к металлу при введении электронодонорных заместителей, что

является следствием уменьшения разницы в энергии между состояниями T_1 лиганда и 5D_0 металла. При введении же атомов галогена (фтора или брома) в ароматический заместитель лиганда (комплексы **Eu*14d** и **Eu*14e**) наблюдалось практически полное тушение флюоресценции и увеличение квантового выхода фосфоресценции, что говорит о повышении эффективности переноса энергии. На рис. 2 представлены спектры поглощения и фосфоресценции некоторых полученных европиевых комплексов.

Особого внимания заслуживает влияние концентрации комплексов на их спектральные характеристики. Так, в разбавленных растворах спектр возбуждения фосфоресценции совпадает со спектром поглощения. Однако при повышении концентрации полоса возбуждения смещается в сторону больших длин волн: в случае **Eu*14c** с 345 нм ($3 \cdot 10^{-5}$ М) до 385 нм ($3 \cdot 10^{-3}$ М) (рис. 3). Этот эффект можно объяснить образованием эксимеров, которому способствует развитая ароматическая система лиганда. Введенный в молекулу бипиридинкарбоновой кислоты ароматический заместитель облегчает межмолекулярные π - π -взаимодействия, что и приводит к образованию эксимеров.

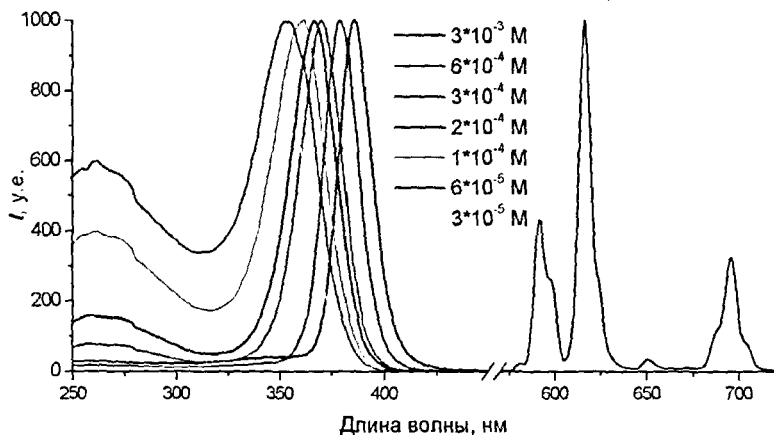


Рис. 3. Нормализованные спектры возбуждения и испускания фосфоресценции комплекса **Eu*14c** в дихлорметане при разных концентрациях.

Комплекс **Tb*10d** показал слабую фосфоресценцию в растворе при комнатной температуре, в то время как комплекс **Tb*14d** совсем не фосфоресцирует. По всей видимости, увеличение системы сопряжения в лиганде за счет введения ароматического заместителя слишком сильно снижает энергию возбужденных состояний лиганда, что значительно затрудняет перенос энергии от лиганда на относительно высокоэнергетичный 5D_4 резонансный уровень тербия, а значит, и сенсibilизацию тербиевой люминесценции. В европиевых же комплексах перенос энергии происходит на 5D_0 уровень, энергия которого

значительно ниже, в результате чего сенсбилизация европиевой люминесценции наблюдается.

Таким образом, предложенные пути синтеза производных бипиридинкарбоновой кислоты позволяют варьировать строение лиганда и тем самым управлять различными свойствами комплекса: от растворимости до образования эксимеров. Новые лиганды подходят для получения комплексов и с другими металлами (в частности, в ходе работы были получены комплексы с Tb^{III} , Gd^{III} , Nd^{III}).

1.2. 5-Арил-2,2'-бипиридины как хромофоры для получения потенциальных фосфоресцентных меток*

Фосфоресцентный иммуноанализ является одной из областей применения лантанидных хелатов. Комплексы, используемые для этой цели, должны обладать следующими характеристиками: высокая устойчивость, растворимость в воде, достаточные для использования техники разрешения во времени интенсивность и время жизни люминесценции в водных растворах, желателно возбуждение люминесценции в видимом или ближнем УФ-диапазонах.

Целевыми лигандами в данной работе стали бипиридины, несущие остатки циклических и ациклических полиаминоуксусных кислот, а также ароматические заместители. Аминоуксусная кислота является типичным хелатирующим узлом для жестких катионов лантанидов; остаток бипиридина должен, образуя хелат, повышать стабильность комплекса, а также обеспечивать перенос возбуждающей энергии от лиганда к металлу; ароматический же заместитель призван обеспечивать настройку фотофизических свойств, а также участвовать в формировании линкера. Ретросинтетический анализ показал, что лучшим путем к получению таких лигандов является алкилирование эфиров аминоксусных кислот бромметильным производным арилбипиридина с последующим гидролизом.

5-Арил-6'-бромметил-2,2'-бипиридины **15** были получены последовательным восстановлением сложнэфирной группы описанных выше метоксикарбонилбипиридинов **11** с последующим замещением гидроксигруппы на атом брома (схема 7). Исходные бипиридинкарбоновые кислоты **16**, а затем и их эфиры **11** могут быть получены из более доступных метилбипиридинов **17** окислением метильной группы. Альтернативным путем получения бромметилбипиридинов **15** стало прямое бромирование метильной группы бипиридинов **17** *N*-бромсукцинимидом в присутствии перекиси бензоила. Выходы продуктов **15** в этом случае оказались не очень высокими (20–38%), но это компенсируется снижением количества стадий и большей доступностью исходных метилбипиридилтриазинов **3**.

* Автор благодарит к.х.н. А.М. Прохорова (УГТУ-УПИ, кафедра органической химии) за помощь и консультации при работе над этим разделом

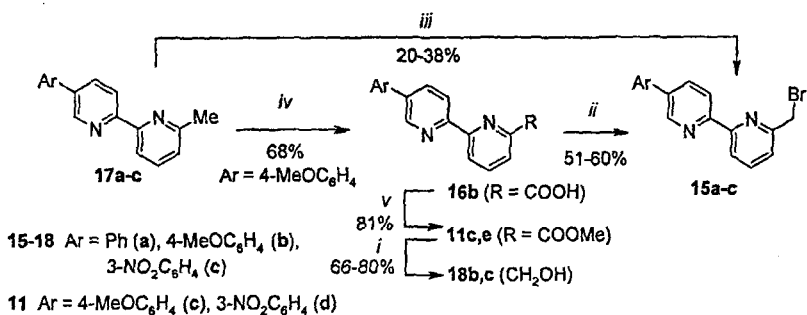


Схема 7. Получение 6'-функционализированных бирипиридов. Реагенты и условия: i) NaBH₄, EtOH, 20–78 °C, 4 ч; ii) PBr₃, CH₂Cl₂, 40 °C, 2 ч; iii) NBS, CCl₄, 77 °C, 7 ч; iv) SeO₂, пиридин, 115 °C, 20 ч; v) SOCl₂, 76 °C, 6 ч, затем MeOH, 65 °C, 1 ч.

Для формирования хелатирующего узла новых лигандов были выбраны циклический 1,4,7,10-тетраазациклододекан и ациклический диэтилентриамин, несущие 3 и 4 остатка уксусной кислоты соответственно. Для этих целей были получены, используя адаптированные методики, *трет*-бутиловые эфиры 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триуксусной кислоты **19** и 1,4,7-триазагептан-1,1,7,7-тетрауксусной кислоты **20**, содержащие по одной вторичной аминогруппе. Алкилирование по данной аминогруппе посредством реакции аминов **19** и **20** с бромметилбирипиридинами **15** привело к образованию эфиров **21** и **22**. Снятие *трет*-бутильной защиты с карбоксильных групп осуществлялось перемешиванием в соляной кислоте при комнатной температуре, что позволило получить целевые лиганды **23** и **24** в виде гидрохлоридов (схема 8).

Для получения лигандов, несущих циклический полиамин был предложен и другой подход, использующий в качестве исходного соединения значительно более доступный 1,4,7,10-тетраазациклододекан **25**, а не его триацетатное производное **19**. Основная проблема, которую нужно было решить – это последовательное введение в амин **25** сначала одного остатка бирипиридина, а затем *трех* остатков уксусной кислоты. Для этого была использована бисаминая защита амина **25**. В этом случае алкилирование бисаминального производного **26** в реакции с бромметилбирипиридинами **15** протекает селективно по одному атому азота тетрамина. Снятие защиты с **27** и последующее алкилирование амина **28** *трет*-бутилбромацетатом дает с хорошими выходами желаемые эфиры **21** (схема 8).

Полученные кислоты **23** и **24** в виде натриевых солей реагируют с хлоридом европия с образованием комплексов Eu***23** и Eu***24** соответственно. Состав комплексов был определен на основании данных элементного анализа и масс-спектрометрии (для ионизации использовался электроспрей). Во всех случаях один лиганд координирован одним атомом европия. Комплекс с циклическим амином Eu***23** нейтрален (заряд металла компенсирован тремя карбоксилатными остатками). В комплексе же Eu***24** четыре карбоксилатных остатка, образующих координационную сферу, придают комплексу отрицательный заряд.

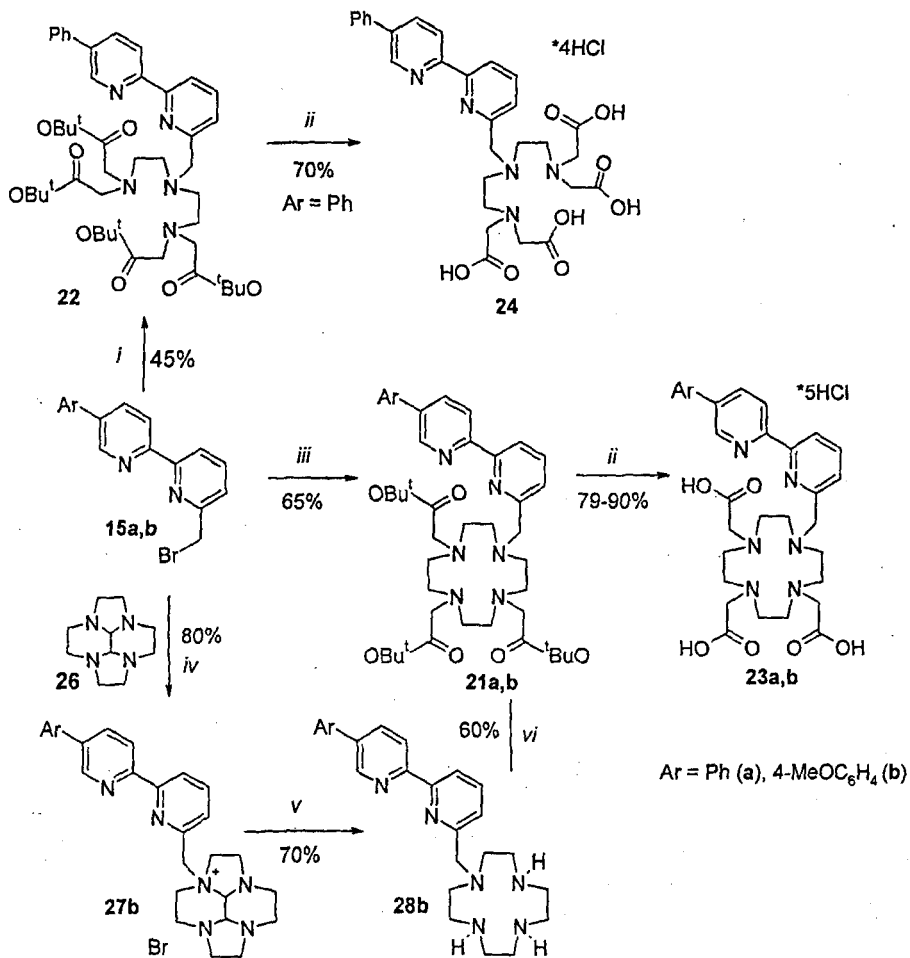


Схема 8. Получение лигандов для катионов лантанидов. Реагенты и условия: i) эфир ДТТА 20, K₂CO₃, CH₃CN, 82 °С, 10 ч; ii) HCl (5N), 20 °С, 12 ч; iii) трис-*трет*-бутилциклентрикарбоксилат 19, K₂CO₃, CH₃CN, 82 °С, 2 дня; iv) CH₃CN, 60 °С, 24 ч; v) гидразингидрат, 120 °С, 10 ч; vi) *трет*-бутилбромацетат, K₂CO₃, CH₃CN, 82 °С, 2 дня.

Для комплекса Eu*23b удалось вырастить кристаллы, подходящие для рентгеноструктурного анализа. По данным РСА координационное число Eu^{III} в комплексе равняется 9, т.е. все атомы азота (бипиридина и тетрамина) и карбоксилаты участвуют в образовании координационных связей (рис. 4а). Фрагмент бипиридина близок к типичной плоской конфигурации, торсионный угол между пиридиновыми циклами составляет 8° (в отличие от комплекса Eu*14d, для которого наблюдаются значительно большие отклонения от плоской

структуры арилбипиридина). Координационное насыщение атома металла приводит к отсутствию молекул воды в координационной сфере, которые могли бы тушить люминесценцию.

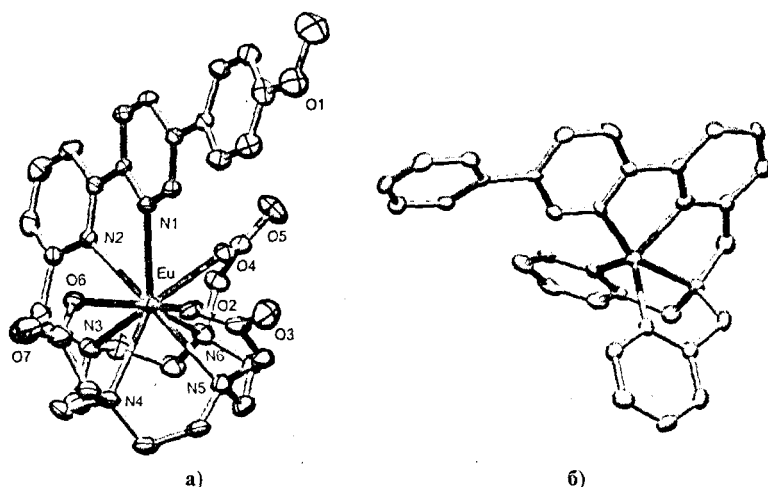


Рис. 4. Молекулярная структура комплекса **Eu*23b** (а) и комплексного катиона **[Zn(38a)]²⁺** (б). Атомы водорода и молекулы растворителей не показаны.

Фотофизические характеристики комплексов **Eu*23** и **Eu*24** приведены в табл. 3. Их спектры поглощения являются такими же, как и для нейтральных комплексов, описанных выше, что неудивительно, так как поглощение света связано с электронными переходами ароматической части лиганда, т.е. арилбипиридинового фрагмента. Спектры фосфоресценции комплексов **Eu*23** и **Eu*24** также аналогичны спектрам всех ранее описанных европиевых комплексов, т.к. спектр испускания определяется электронными переходами из возбужденного 5D_0 -состояния атома металла. Можно отметить лишь небольшое различие в структуре полосы испускания в области 680–710 нм, соответствующей переходу $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$, который наиболее чувствителен к лигандному окружению. Спектры представлены на рис. 5.

Примечательна разница в квантовой эффективности фосфоресценции в зависимости от ароматического заместителя в бипиридиновом фрагменте лиганда. Так, независимо от хелатирующего аминокетатного узла достаточно интенсивная (квантовый выход 8–10%) фосфоресценция наблюдалась для комплексов лигандов с фенильным заместителем **Eu*23a** и **Eu*24**. Введение же метоксигруппы в лиганд значительно понизило квантовую эффективность фосфоресценции комплекса **Eu*23b**. Очевидно, введение электронодонорного заместителя понижает энергию состояний S_1 и T_1 , локализованных на лиганде, что затрудняет процесс переноса энергии из состояния T_1 на 5D_0 -состояния атома

металла, а, значит, делает неэффективным возбуждение металлцентрированной фосфоресценции.

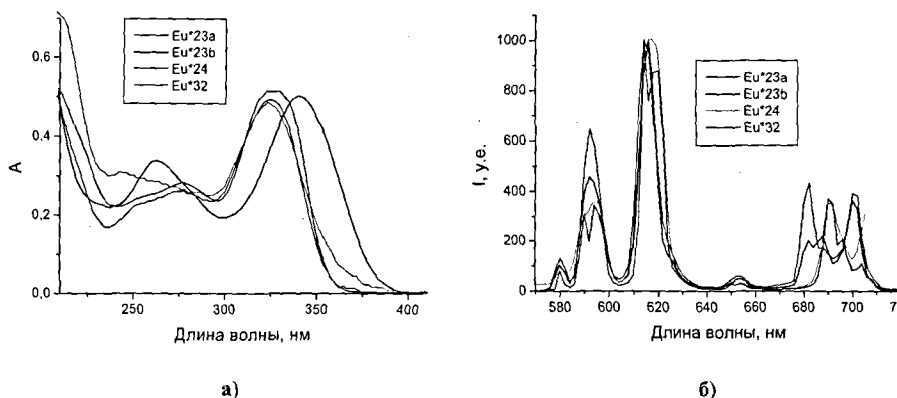


Рис. 5. Спектры поглощения (а) и испускания (б) полученных хелатов 23, 24 и 32 (вода, 25 °С), возбуждение производилось в максимуме поглощения.

Табл. 3. Фотофизические характеристики комплексов **Eu*23**, **Eu*24** и **Eu*32**

Комплекс	Поглощение, λ_{max} , нм (ϵ , $10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ^а	Φ^b	$\tau_{\text{H}_2\text{O}}^c$, мкс	$\tau_{\text{D}_2\text{O}}^d$, мкс	q^e
Eu*23a	275 (3.98), 325 (7.5)	0.079	1.00	1.10	-0.19
Eu*23b	263 (5.5), 341 (8.09)	0.012	0.27	0.30	0.15
Eu*24	278 (6.57), 327 (12.02)	0.10	0.80	1.30	0.27
Eu*32	244 (6.38), 325 (10.08)	0.006	0.60	0.70	-0.01

^аВ водном растворе при комнатной температуре; ^бквантовый выход фосфоресценции (рассчитан с использованием в качестве стандарта $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$); ^ввремя жизни фосфоресценции в воде; ^двремя жизни фосфоресценции в дейтериевой воде; ^ерасчетный параметр, соответствующий числу молекул воды в координационной сфере лантанида.

Известно, что наличие молекул воды в координационной сфере европия значительно тушит люминесценцию, т.к. молекула комплекса переходит в основное состояние путем безизлучательных переходов, связанных с колебанием связи О-Н. В связи с этим необходимо обеспечивать максимальное заполнение координационной сферы донорными атомами лиганда, чтобы вытеснить все молекулы воды. С другой стороны, различие в энергиях колебаний связей О-Н и О-D приводит к тому, что замена координированной воды на дейтерированную воду предотвращает колебательную релаксацию и усиливает фосфоресценцию металла. Таким образом, сравнение времени жизни люминесценции европиевых комплексов, измеренных в воде и дейтерированной воде, позволяет оценить число, координированных молекул воды, рассчитывая параметр q по следующей формуле:

$$q = A'((1/\tau_{\text{H}_2\text{O}} - 1/\tau_{\text{D}_2\text{O}}) - 0.25),$$

где q – количество координированных молекул воды (± 0.5); A' – нормирующий коэффициент, принимаемый равным 1.2 для европиевых комплексов.

Расчеты показывают (табл. 3), что в комплексах Eu^{*23} и Eu^{*24} нет координационной воды (т.е. предложенная структура лиганда обеспечивает необходимое насыщение координационной сферы европия), что и объясняет относительно высокий квантовый выход люминесценции этих комплексов в водных растворах.

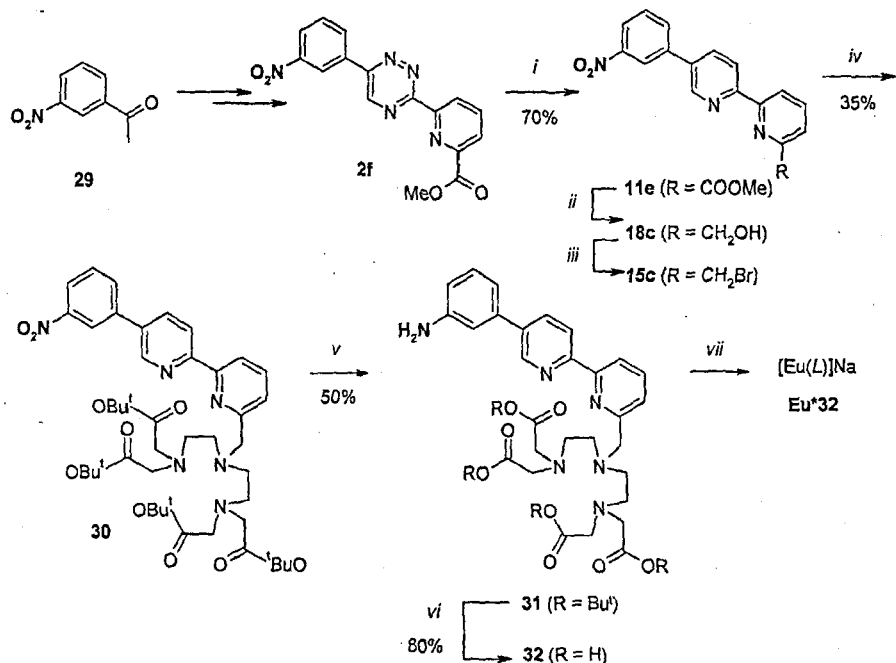


Схема 9. Получение потенциальной фосфоресцентной метки. Реагенты и условия: *i*) 2,5-норборнадиен, *o*-ксилол, 143 °С, 8 ч; *ii*) NaBH_4 , этанол, 20 °С, 6 ч; *iii*) PBr_3 , дихлорметан, 40 °С, 2 ч; *iv*) эфир ДТТА 20, K_2CO_3 , CH_3CN , 82 °С, 8 ч; *v*) H_2 , Pd/C, метанол, 20 °С, 6 ч; *vi*) HCl (5*n*), 20 °С, 12 ч; *vii*) NaOH , вода, затем $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 20 °С.

Из табл. 3 также видно, что полваминоацетатный хелатирующий узел не оказывает значительного влияния на интенсивность испускания, следовательно, при синтезе меток возможно использование значительно более доступных производных открытоцепного диэтилентриамина. В ходе работы был получен предшественник метки для иммуноанализа на основе новой люминофорной системы. В качестве линкера была выбрана аминогруппа, которая превращается в изотиоцианатную реакцией с тиофосгеном непосредственно перед

конъюгацией с белком. Введение аминогруппы в ароматический заместитель осуществлялось восстановлением нитрогруппы. Разработанный в ходе работы метод позволил избежать реакции нитрования на последних стадиях, как это обычно описывают в литературе. Начав синтез лигандов с нитроацетофенона **29**, через нитрофенилтриазин **2f**, его превращение в нитрофенилбипиридин **11c**, и дальше по пути восстановления сложноэфирной группы, замещения гидроксигруппы на бром и алкилирования амина **20** бромметилпиридином **15c** был получен нитрофенильный предшественник лиганда **30** (схема 9). Восстановление нитрогруппы протекает относительно гладко с образованием аминоэфира **31**. Снятие *трет*-бутильной защиты в соляной кислоте привело к кислоте **32**, а последующая реакция ее натриевой соли с хлоридом европия дала прометку **Eu*32**. Комплекс **Eu*32** показывает малоинтенсивную фосфоресценцию в водном растворе (табл. 3), что является вполне типичным для меток.

Для изучения процесса переноса энергии от лиганда к лантаниду и возможности модулирования лантанидной люминесценции добавлением катионов других металлов были получены бипиридины, несущие остатки циклической **33** или цепной **34** полиаминоуксусных кислот в положении 5 крайнего пиридинового цикла, исходя из 3-(5-метоксикарбонилпиридил-2)-1,2,4-триазинов **4** с использованием разработанных в работе методов (схема 10).

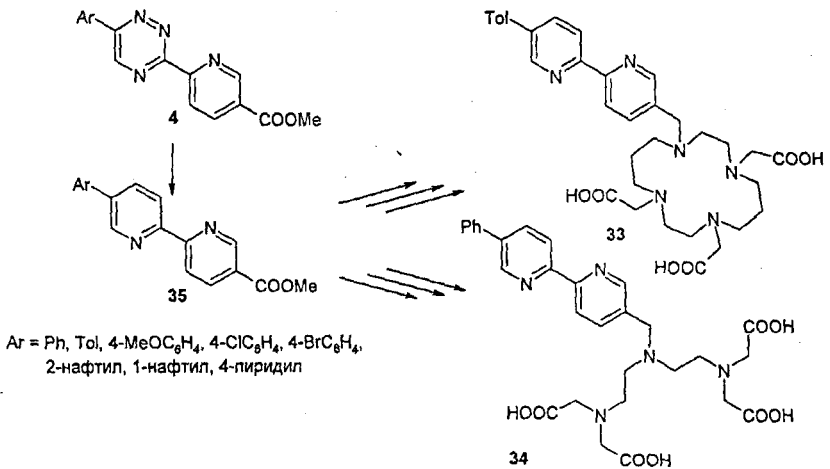


Схема 10. Синтез дитопных лигандов на основе 2,2'-бипиридинов

Предложенная конфигурация лигандов предотвращает участие бипиридина в хелатировании лантанида и прямую передачу возбуждающей энергии за счет перекрывания орбиталей металла и бипиридина (перенос энергии по Декстеру). Несмотря на это, европиевые комплексы **Eu*33** и **Eu*34** проявляют слабую европиевую фосфоресценцию при

фото возбуждении в максимуме поглощения бипиридинового фрагмента (квантовый выход фосфоресценции комплекса Eu^{*34} составляет 0.0034). Очевидно, что перенос энергии в европиевых комплексах может протекать по Фёрстеру, хотя это и снижает эффективность люминесценции. Было найдено, что добавление солей цинка к раствору комплекса Eu^{*34} сопровождается батохромным сдвигом максимумов поглощения, что говорит о координации катионом цинка бипиридинового фрагмента. Однако это почти не влияет на европиевую фосфоресценцию, что подтверждает образование биядерного комплекса.

3. Люминесцентные индикаторы на катионы цинка(II)

Ранее было показано, что люминесценция многих производных полипиридинов значительно изменяется в присутствии катионов Zn^{2+} . Ряд полученных в рамках данной работы 5'-метоксикарбонилбипиридинов **35** также показал изменение интенсивности и красное смещение максимума флюоресценции в присутствии перхлората цинка. Это наблюдение легло в основу поиска новых люминесцентных индикаторов на ионы Zn^{2+} .

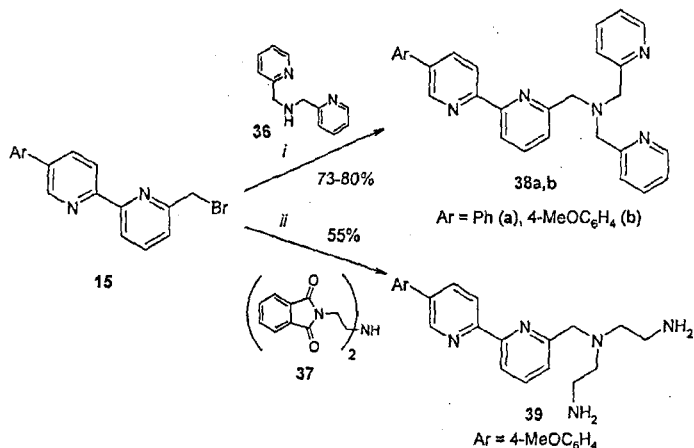


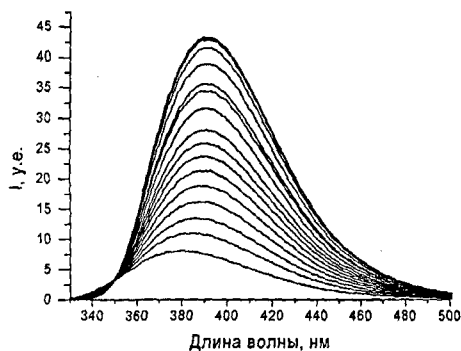
Схема 11. Получение потенциальных индикаторов на катионы цинка. Реагенты и условия: *i*) K_2CO_3 , CH_3CN , 82°C , 8 ч; *ii*) K_2CO_3 , CH_3CN , 82°C , 8 ч, затем HCl (11N), 100°C , 10 ч.

Для повышения селективности связывания с аналитом в положение 6 пиридинового цикла были введены остатки дипиколиламина или диэтилентриамины. Реакция бромметилбипиридинов **15** с дипиколиламином **36** или дифталилдиэтилентриамином **37** (с последующим снятием фталильной защиты в соляной кислоте) приводит к целевым лигандам **38** и **39** (схема 11). В ходе работы были также получены и охарактеризованы цинковые комплексы новых лигандов состава $[\text{Zn}(\mathbf{38})](\text{ClO}_4)_2$ и $[\text{Zn}(\mathbf{39})](\text{ClO}_4)_2$. По данным РСА в комплексе лиганда **38a** координационное число цинка равняется пяти, в координации участвуют все атомы азота дипиколиламинового фрагмента и бипиридина (рис. 46).

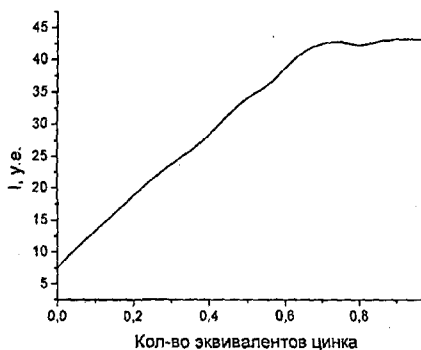
Табл. 4. Фотофизические свойства новых лигандов и их цинковых комплексов

Соединение	Поглощение, λ_{max} , нм ($\epsilon, 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$) ^a	λ_{max}^b (em), нм	Φ^c
38a	262 (20.5), 303 (31.5)	367	0.006
[Zn(38a)](ClO ₄) ₂	262 (20), 327 (27.1)	377	0.21
38b	263 (11.3), 268 (11.2), 313 (25.6)	395	0.12
[Zn(38b)](ClO ₄) ₂	262 (15.2), 345 (17.8)	455	0.94
39	313 (36.3)	398	0.14
[Zn(39)](ClO ₄) ₂	261 (13.4), 277 (11.3), 344 (27)	465	0.71

^aВ ацетонитрильном растворе при комнатной температуре; ^bмаксимум испускания в ацетонитриле; ^cквантовый выход флюоресценции (измерен относительно антрацена).



а)



б)

Рис. 6. (а) Спектры флюоресценции 38a (10^{-5} M) при титровании перхлоратом цинка (вода-ацетонитрил (98:2), 25 мМ HEPES, 0.1 М NaCl, 25 °С, возбуждение при 313 нм); (б) влияние количества добавленного $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ на интенсивность испускания 38a (10^{-5} M) в максимуме испускания комплекса (391 нм).

Фотофизические характеристики новых соединений представлены в табл. 4. Наибольшее возрастание квантовой эффективности флюоресценции при образовании комплекса с катионом цинка наблюдается для лиганда 38a. И хотя самую интенсивную флюоресценцию показывает комплекс $[\text{Zn}(\text{38b})](\text{ClO}_4)_2$, высокая интенсивность собственной люминесценции делает лиганд 38b менее предпочтительным индикатором, чем 38a. Вследствие этого именно для последнего лиганда было изучено изменение интенсивности люминесценции в зависимости от содержания цинка в растворе при титровании перхлоратом цинка водного раствора лиганда (HEPES буфер, pH = 7.4) при возбуждении в изобестической точке спектров поглощения (313 нм) (рис. 6). Хорошо видно 5.5-кратное увеличение интенсивности флюоресценции при незначительном красном сдвиге максимума испускания.

Кроме этого, было изучено влияние катионов других металлов на изменение люминесценции лиганда **38a** в присутствии и отсутствии ионов цинка (рис. 7). Как видно, Ca^{2+} и Mg^{2+} не оказывают влияние на люминесценцию цинкового комплекса. В присутствии Co^{2+} и Hg^{2+} отклик на ионы цинка уменьшается, но это принципиально не препятствует определению цинка. Добавление Cu^{2+} , Fe^{2+} и Mn^{2+} практически тушит люминесценцию как в присутствии, так и в отсутствии Zn^{2+} . Примечательна высокая селективность по отношению к цинку в присутствии Ni^{2+} . Лиганд **38a** не показал Zn/Cd селективности.

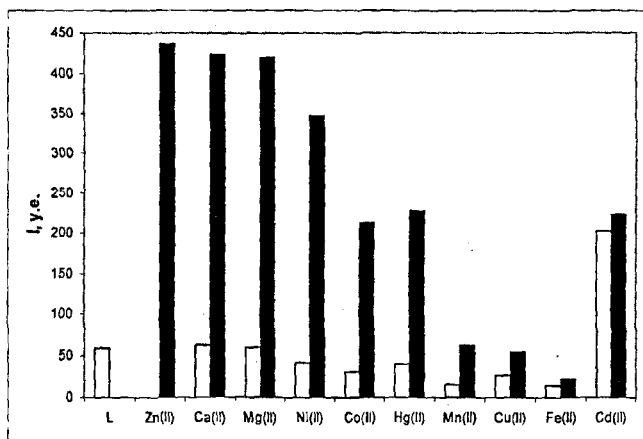


Рис. 7. Изменение интенсивности люминесценции **38a** (10^{-5} M) при 391 нм в присутствии 1 экв. катиона металла (□ в отсутствие цинка; ■ в присутствии 1 экв. Zn^{2+}) (вода-ацетонитрил (98:2), 25 mM HEPES, 0.1 M NaCl, 25 °C, возбуждение при 313 нм). L соответствует люминесценции свободного лиганда.

Выводы

I. Методология синтеза замещенных бипиридинов, включающая получение промежуточных 1,2,4-триазинов, их трансформацию в пиридины в результате реакции Дильса-Альдера с последующей дополнительной функционализацией, является удобным путем к лигандам для лантанидов. Гибкость метода синтеза лигандов, разработанного на основе этой методологии, позволяет управлять как фотофизическими, так и другими целевыми свойствами люминесцентных комплексов. В частности:

- разработан новый метод получения 5-арил-2,2'-бипиридин-6(6')-карбоновых кислот, которые образуют растворимые в органических растворителях люминесцентные лантанидные комплексы;

- найдены пути синтеза лигандов на основе бипиридина, содержащего дополнительный полиэтиленаминоацетатный хелатирующий узел, которые дают

