

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗИНА

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Тарасенка Дмитра Олеговича**

УДК 547.78+547.8+544.174+544.1+542.97+542.06

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**МОДИФІКАЦІЯ КАРБОНІЛЬНИХ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛУ: СИНТЕЗ  
ТА ВЛАСТИВОСТІ БЕНЗІМІДАЗОЛІВ ТА ХРОМОНІВ**

Спеціальність 102 – Хімія

(Галузь знань 10 – Природничі науки)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Д.О. Тарасенко

Науковий керівник: Котляр Володимир Миколайович, кандидат хімічних  
наук, доцент.

Харків – 2024

## АНОТАЦІЯ

Тарасенко Д.О. Модифікація карбонільних похідних тіазолу: синтез та властивості бензімідазолів та хромонів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 – Хімія (Галузь знань 10 – Природничі науки). – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків 2024.

Дисертаційна робота присвячена похідним 2-тіазолілбензімідазолу та 2-тіазолілхромону, що мають флуоресцентні властивості. Фрагмент тіазолу входить в склад багатьох природних речовин таких як ферменти, антибіотики, вітаміни, тощо. Тому на його основі вже було розроблено велику кількість діючих речовин багатьох лікарських препаратів. Одержувати їх найбільш зручно з карбонільних похідних тіазолу, оскільки саме С=О група може бути дуже легко модифікована в широкий ряд інших функціональних груп. Таким чином, одержання похідних 5-формілтіазолу є достатньо актуальною проблемою впродовж останніх десятиліть і для її вирішення було запропоновано багато підходів. Однак, вони все ще не дозволяють одержувати 5-формілтіазоли з різноманітними замісниками в циклі.

Бензімідізольна циклічна система входить до складу вітаміну В<sub>12</sub>, багато лікарських препаратів бензімідазольного ряду використовується в медицині, ветеринарії та сільському господарстві. Зокрема, омепразол та інші споріднені препарати використовуються для лікування виразки шлунка. З іншого боку окрім біологічної активності бензімідазоли цікаві також в напрямі дослідження їх спектрально-люмінесцентних властивостей і комплексоутворення. А наявність тіазолу в 2-му положенні створює потенційний центр комплексоутворення з іонами металу.

Різноманітні хромони наразі знаходять широке використання насамперед через їх люмінесцентні властивості та реакцію на різноманітні властивості середовища. Наприклад вони використовуються як детектори на деякі катіони, аніони, а також на окремі сполуки, дозволяють досліджувати кислотно-основні властивості середовища, знаходять широке використання в біохімічних дослідженнях. Примітною особливістю цих зондів є те, що завдяки присутності гідроксильної групи в 3-положенні вони здатні до внутрішньомолекулярного переносу протонів у збудженому стані. Хоча флавоноли вже досить детально вивчені, їх гетероциклічні аналоги, через більш складний шлях одержання, залишаються недостатньо вивченими. А враховуючи вагомий вплив гетероциклічного замісника на електронну систему хромонів, що відображається зокрема і на спектрах люмінесценції, їх дослідження є важливим напрямком розвитку люмінесцентних зондів.

У цій роботі використано різні підходи для одержання різноманітних 5-формілтiazолів. Перший - це одержання 5-формілтiazолів незаміщених в 4-му положенні, для цього було використано взаємодію відповідних тіосечовин з хлормалоновим альдегідом. Наступними були синтезовані похідні 4-бром- та 4-хлор-5-формілтiazолу, виходячи з 2,4-дигалоген-5-формілтiazолів для вивчення впливу галогену в 4-му положенні на властивості бензімідазолів та хромонів на їх основі. Для виявлення впливу дигетероциклічної системи були синтезовані 2-тіазолілтiazол та 2-N-метилпіролідиніл тіазол похідні. Для цього було досліджено реакції крос-сполучення 5-формілтiazолу та його похідних. Виявлено, що для введення гетарильних замісників найкращим варіантом є реакція Стілле. Показано, що в цих умовах за участю альдегідної групи реалізуються побічні процеси, що ведуть до осмолення реакційної суміші. Серед варіантів захисту карбонільної групи найкращі результати показав діоксолановий, оскільки його елімінування проходить в більш м'яких умовах та є зворотною реакцією, на відміну від ацетального. Для реакцій крос-сполучення проведено аналіз ефективності багатьох каталізаторів та виявлено найбільш перспективні з них. Виявилося, що в

умовах реакції Стіллі може проходити і нуклеофільне приєднання фрагменту станану за карбонільною групою. Ця реакція є специфічною для деяких карбонільних сполук, не залежить від замісника в станані і проходить з дуже низькими виходами. Тому модифікація карбонільної групи за цим методом є менш ефективною в порівнянні з іншими сучасними синтетичними підходами. При спробі масштабування реакції виходи суттєво знизились. Для вирішення цієї проблеми було проведено серію експериментів та виявлено, що для збереження виходу необхідно проводити реакцію в диметилформаміді та додавати сокатализатор CuI. В результаті розроблено синтетичний підхід до одержання 2-гетарилтіазолів.

Однією з модифікацій синтезованих альдегідів, якій присвячений 3 розділ роботи, було одержання серії 2-(тіазол-5-іл)бензімідазолів з діалкіламіногрупами та атомами галогенів в положеннях 2 та 4 тіазольного фрагменту. Для цього була проведена реакція альдегідів з *o*-фенілендіаміном. Дослідження люмінесцентних властивостей та комплексоутворення одержаних сполук було проведено на якісному рівні, насамперед з метою визначення спектральних ефектів при зв'язуванні з солями важких металів, які вводилися у взаємодію з розчинами флуорофорорів в ацетонітрилі. Серед металів були обрані іони літію та магнію, що мають близький радіус, але різний заряд для оцінки впливу заряду катіона на комплексоутворення. Іони барію та кадмію були вибрані через їх розмір та спорідненість іона кадмію до сірки, що, можливо, відіграє роль при зв'язуванні з хелатною порожниною. Також були досліджені спектральні ефекти протонування цільової сполуки трифтороцтовою кислотою, і встановлено, що координація протона, на відміну від полівалентних катіонів металів, веде до гіпсохромного зсуву. Проведені якісні дослідження дозволяють прийти до висновку, що бензімідазол-тіазольний фрагмент є перспективним сайтом координації іонів металів, який можна використовувати в дизайні флуоресцентних зондів для визначення іонів  $\text{Cd}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$ .

Іншим напрямом модифікації одержаних альдегідів є синтез на їх основі 3-гідроксихромонів. Оскільки планувалось їх дослідження з точки зору зондів для виявлення ферменту  $\beta$ -глікозидази, отримані і їх глюкозильовані похідні. Оскільки 2-тіазоліл-3-гідроксихромони не були до цього описані, дослідження взаємодії флаванол – фермент проводилось для серії флаванолів з відомими методами одержання.

Дослідження взаємодії флавонол-фермент проводилось шляхом вивчення флуоресцентних властивостей флавонолів у водному нейтральному розчині за присутності та за відсутності  $\beta$ -глікозидази. Далі, для вивчення взаємодії зв'язування флавонолу з ферментом, був використаний метод флуоресцентного титрування. В результаті титрування виявлено значні зміни флуоресценції, такі як посилення флуоресценції та поява нових смуг випромінювання. Збільшення флуоресценції пов'язане з втратою індукованого водою гасіння флуоресценції, що може бути результатом глибокого проникнення флавонолів у гідрофобну, вільну від води область, кишені ферменту  $\beta$ -глікозидази. Для кількісної інтерпретації взаємодій білок-ліганд була використана специфічна модель зв'язування та модель розподілу флавонолу між водною та білковою фазами. Для цього були побудовані графіки залежності відносної інтенсивності флуоресценції флавонолу як функція концентрації  $\beta$ -глікозидази. В результаті обидві моделі добре описували отримані дані титрування.

Введення замісників, як електрондонорного так і акцепторного характеру в *n*-положення 2-фенільного радикалу мало вплинуло на розраховані константу зв'язування з ферментом та коефіцієнт розподілу. Цей факт свідчить, що в досліджуваних серіях характер зв'язування з  $\beta$ -глікозидазою в основному зумовлений взаємодіями Ван-дер-Ваальса та гідрофобними силами.

При модифікації 5-формілтіазолів в 3-гідроксихромони використовувався відомий синтетичний підхід через одержання відповідних пропенонів взаємодією з *o*-гідроксиацетофеноном і їх подальше введення в

реакцію Алгара-Фліна-Оямади. Однак, для деяких похідних одержання проміжного аналогу халкону мало ускладнення. Тому було використано альтернативний синтетичний підхід, який полягає в одержанні ненасичених кетонів *in situ* та дією на реакційне середовище - пероксидом водню в лужному середовищі. Було проведено порівняння цього методу з постадійним одержанням, в результаті чого виявлено, що вихід прямого методу трохи нижчий.

Вивчення синтезованих хромонів було проведено на якісному рівні, спектри поглинання та люмінесценції виміряні в ацетонітрилі. Для одержаних похідних наявний сутєвий батохромний зсув, як в спектрах поглинання, так і люмінесценції. В деяких випадках основний пік люмінесценції має максимум при понад 600 нм, що робить їх потенційними претендентами на використання в аналізі біологічних об'єктів. Проаналізовано і вплив замісників в різних положеннях тіазольного фрагменту. Так, зміна замісника в 4-му положенні не впливає на спектральні характеристики хромонів, тоді як в 2-му веде до значних змін, що вказує на сутєвий вплив на усю  $\pi$ -електронну систему хромону.

Заключним етапом роботи є глікозилювання одержаних 3-гідроксихромонів та дослідження їх взаємодії з  $\beta$ -глікозидазою. З цією метою було апробовано усі методи глікозилювання, наявні в літературі, однак жоден з них не дозволив одержати продукти із задовільними виходами. Тому було проведено модифікацію методу, що показав найкращий результат – прямої етерифікації. Для цього були перевірені різні основи та розчинники, а також температурний режим. В результаті був розроблений більш ефективний метод синтезу глікозилюваних похідних хромонів. За цим методом були одержані і глікозиди флавонолів для модельних досліджень. Через те що інтенсивність короткохвильової смуги залишається постійною в процесі гідролізу, вона може бути використана як внутрішній флуоресцентний стандарт. Це дає змогу використовувати глікозиди

флавонолу не тільки для виявлення активності  $\beta$ -глікозидази в біологічних зразках, але й для кількісної оцінки цієї активності.

Дослідження кінетики реакції гідролізу глікозиду проведено за значеннями інтенсивності флуоресценції в максимумах смуг  $T^*$  агліконів. Аналіз залежності між інтенсивністю флуоресценції  $T^*$  і часом реакції проводили за допомогою рівнянь, що описують кінетичні реакції першого та другого порядку. Було виявлено, що інтенсивності флуоресценції, які відповідають зворотним значенням концентрацій глікозидів, демонструють лінійну залежність від часу реакції, що відповідає реакції 2-го порядку. Той факт, що ферментативний гідроліз є реакцією другого порядку, вказує на те, що стадією, що обмежує швидкість у цьому процесі, є зв'язування глікозильованих похідних флавонолів з  $\beta$ -глікозидазою, а не ферментативне розщеплення O-глікозидного зв'язку у флавонолі, вивільняючи відповідний аглікон і глюкозу.

Для кращого розуміння молекулярних аспектів взаємодії флавонол-фермент, структуру фермент-субстратного комплексу досліджували за допомогою розрахунків молекулярного докінгу. Розрахунки стикування свідчать про те, що зв'язування зонда з ферментом головним чином обумовлено гідрофобними взаємодіями з бічними ароматичними ланцюгами триптофану W328, W402 і W412, а також з ароматичним кільцем F412 відповідно. Афінність зв'язування флавонолів з білком  $\beta$ -глюкозидази залежить від його структури, тому введення 4'-бензилоксигрупи до флавонолглікозиду збільшило афінність зв'язування з -9,9 до -10,8 ккал/моль. Однак, сильніше зв'язування бензилоксизаміщеного глюкозиду порівняно з його незаміщеним аналогом потребуватиме вищого енергетичного бар'єру активації для формування відповідного перехідного стану субстрат-рецептор в реакції ферментативного гідролізу, що приводить до 2,3-кратного зниження відповідної константи швидкості. Таким чином, ці результати відкривають можливість для застосування глюкозидів флавонолу, як простих у

використанні індикаторів для швидкого флуоресцентного моніторингу активності інших ферментів із родини глікозидаз.

**Ключові слова:** органічний синтез, 5-формілтіазоли, 2-тіазоліл-бензімідазоли, 2-тіазоліл-3-гідроксихромони, реакція крос-сполучення, гетероциклізація, молекулярний докінг, спектри поглинання та люмінесценції, комплексоутворення, реакція перенесення протону в збудженому стані, молекулярно-динамічне моделювання, молекулярна структура.



## ABSTRACT

Tarasenko D.O. Modification of thiazole carbonyl derivatives: synthesis and properties of benzimidazoles and chromones. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 102 - Chemistry (Field of knowledge 10 - Natural Sciences). – V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv 2024.

The dissertation is devoted to derivatives of 5-formylthiazoles that have fluorescent properties, namely benzimidazoles and chromones. The thiazole fragment is part of many natural substances such as enzymes, vitamins, etc. Therefore, a large number of preparations of many drugs have already been developed on its basis. It is very convenient to obtain them from carbonyl derivatives of thiazole because the C=O group can be very easily modified into a wide range of other functional groups. Thus, the preparation of formylthiazoles has been an important issue for the past several decades, and many approaches have been proposed to solve it. However, they still do not allow the preparation of 5-formylthiazoles with some substituents.

Benzimidazoles, in particular 2-thiazolyl, show high biological activity, thanks to which it is still widely used in medicine and agriculture. On the other hand, in addition to biological activity, benzimidazoles are also interesting in terms of their spectral-luminescent properties and complex formation. And the presence of thiazole in the 2nd position creates a center of complexation with metal ions.

Various chromones are now widely used primarily because of their luminescent properties and response to a large number of media properties. They are used as probes for some cations, anions, and individual compounds. They also make it possible to study various properties of the environment, and are widely

used in biochemical research. A notable feature of these probes is that due to the presence of a hydroxyl group in the 3-position, they are able to intramolecular proton transfer in the excited state. Although flavonols have already been studied in detail, their heterocyclic analogues, due to the more complicated way of their preparation, remain insufficiently studied. Taking into account significant effect of the heterocyclic substituent on the electronic system of chromones, which is shown in particular in the luminescence spectra, their research is an important direction in the development of luminescent probes.

In this work, different approaches were used to obtain various 5-formylthiazoles. The first is the preparation of 5-formylthiazoles without substitutes in the 4th position; for this, the interaction of the corresponding thioureas with chlormalonaldehyde was used. Next, 4-bromo and 4-chloro 5-formylthiazole derivatives were synthesized from dibromo/dichloro-5-formylthiazole to study the influence of the halogen in the 4th position on the properties of benzimidazoles and chromones based on them. Also, to study the influence of the diheterocyclic system, thiazole-thiazole and thiazole-N-methylpyrrolidine derivatives were synthesized. For this purpose, cross-coupling reactions of 5-formyl thiazole and its derivatives were investigated. It was found that the Stille reaction is the best for their modification. In addition, the aldehyde itself cannot be used because side reactions occur under the reaction conditions leading to resinification. Therefore, acetal protection of the carbonyl group is necessary, among the options for such protection, dioxolane is the best, since the removal of this protection takes place in milder conditions and it is not a reversible reaction, unlike acetal with methanol. For the cross-coupling reaction, an analysis of the effectiveness of many catalysts was carried out and the most effective of them were found. We also noticed that under the conditions of this reaction, the addition of a stannane fragment by the carbonyl group can also take place, but this reaction is specific for some carbonyl compounds, does not depend on the substituent in the stannane, and proceeds with very low yields. Therefore, the

modification of the carbonyl group by this method is less effective compared to other modern synthetic approaches. Various systems of solvents and cocatalysts have been tested to scale up such a reaction. When trying to scale the reaction, the yields dropped significantly. To solve this problem, a series of experiments was conducted and it was found that in order to maintain the yield, it is necessary to carry out the reaction in dim ethyl form of copper and add the co-catalyst CuI. As result, a synthetic approach to the preparation of 2-hetarylthiazoles was developed.

One of the modifications of the synthesized aldehydes, to which the 3rd section of the work is devoted, was the preparation of a series of 2-(thiazol-5-yl)benzimidazoles with dialkylamino groups and halogen atoms in the 2nd and 4th positions of the thiazole fragment. For this, the interaction of aldehydes with o-phenylenediamine was used. The study of the luminescent properties and complexation of the obtained compounds was carried out at a qualitative level, primarily with the aim of determining the spectral effects upon binding to salts of heavy metals, which were introduced into the interaction with solutions of fluorophores in acetonitrile. Among the metals, lithium and magnesium, which have a similar radius but different ion charge, were chosen to evaluate the effect of cation charge on complexation. Barium and cadmium were chosen because of their size and cadmium's affinity for sulfur, which may play a role in binding to the chelate cavity. The spectral effects of protonation of the target compound by trifluoroacetic acid were also investigated, and it was established that proton coordination, in contrast to polyvalent metal cations, leads to a hypsochromic shift. The conducted qualitative studies allow us to make conclusion that the benzimidazole-thiazole fragment is a promising coordination site for metal ions, which can be used in the design of fluorescent probes for the determination of  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  ions.

The second direction of modification of the obtained aldehydes is chromones synthesis. Since it was planned to study as probes for the detection of the  $\beta$ -glucosidase enzyme, their glucosylated derivatives were also obtained. Since

thiazolyl chromones were not previously described, a flavanol–enzyme interaction study was conducted for a series of flavanols with known methods of preparation.

The investigation of the flavonol-enzyme interaction was carried out by studying the fluorescent properties of flavonols in an aqueous neutral solution in the presence and absence of  $\beta$ -glucosidase. Then, the fluorescent titration method was used to study the interaction of flavonol binding with the enzyme. The results of the titration revealed significant fluorescence changes, such as fluorescence enhancement and the appearance of new emission peaks. Increasing of fluorescence is associated with the loss of water-induced fluorescence quenching, which may be due to the deep penetration of flavonols into the hydrophobic, water-free region of the  $\beta$ -glucosidase enzyme pocket. A specific binding model and a flavanol distribution model between the aqueous and protein phases were used to quantitatively interpret protein-ligand interactions. For this, graphs of the dependence of the relative fluorescence intensity of flavonol as a function of  $\beta$ -glucosidase concentration were constructed. As a result, both models described the obtained titration data well.

Both electron-donating and acceptor substituents in flavone fragment had little effect on the calculated binding constant and the distribution coefficient. This fact suggests that in the studied series, the binding interaction with  $\beta$ -glucosidase was mainly due to van der Waals interactions and hydrophobic forces.

For modification of formylthiazoles into chromone, an extended approach was used through the preparation of the corresponding propenones by interaction with *o*-hydroxyacetophenone and their subsequent introduction into the Algar-Flynn-Oyamada reaction. However, for some derivatives, obtaining an intermediate chalcone analogue is complicated. Therefore, an alternative synthetic approach was used for them. It occurs in the production of unsaturated ketones *in situ* and its oxidizing with hydrogen peroxide in an alkaline medium. A

comparison of this method with stepwise one was carried out. It was found that the yield of the direct method is slightly lower.

The study of the obtained chromones was carried out at a qualitative level, absorption and luminescence spectra were measured in acetonitrile. For many of the obtained derivatives, there is a significant bathochromic shift in both the absorption and luminescence spectra. In some cases, the main luminescence peak has a maximum above 600 nm, making them particularly attractive as probes. The effect of substituents in different positions of the thiazole fragment was also analyzed, the change of the substituent in the 4th position does not affect the spectral characteristics of the chromones, but in the 2nd position it leads to significant changes, which indicates its effect on the entire electronic system of the chromone.

The final stage of the work is the glycosylation of the obtained chromones and the study of the interaction of the derivatives with  $\beta$ -glucosidase. All glycosylation methods available in the literature were tested, but none of them allowed obtaining products with sufficient yields. Therefore, a modification of the method, which showed the best result - direct esterification, was carried out. For this, various bases and solvents used in the reaction, as well as the temperature regime, were tested. As a result, a more efficient method of synthesizing the glycoside of chromones was developed. By this method, both flavonol derivatives for model studies and thiazolyl-chromone derivatives were obtained. Due to the fact that the intensity of the short-wavelength band remains constant during hydrolysis, it can be used as an internal fluorescent standard. This makes possible to use flavonol glucosides not only for the detection of  $\beta$ -glucosidase activity in biological samples, but also for several assessments of this activity.

The study of the kinetics of the hydrolysis reaction was carried out based on the values of the fluorescence intensity in the maxima of the T\* bands of aglycones. The analysis of the dependence between the fluorescence intensity T\*

and the reaction time was carried out using the equation describing the kinetic reactions of the first and second reaction order. It was shown that the fluorescence intensity, which changes inversely with the concentrations of glycosides, exhibits a linear dependence on the reaction time corresponding to the 2nd order. The fact that enzymatic hydrolysis is a second-order reaction indicates that the rate-limiting step in this process is the binding of glucosylated flavonol derivatives to  $\beta$ -glucosidase rather than enzymatic cleavage of the O-glycosidic bond in the flavonol, releasing the corresponding flavonol aglycone and glucose.

To understand the molecular aspects of the flavonol-enzyme interaction better, the structure of the enzyme-substrate complex was studied with molecular docking calculations. It is clear that the connection of the probe with the target enzyme is formed by hydrophobic interactions with the aromatic rings of tryptophan W328, W402 and W412, as well as with the aromatic ring of F412. bottom. The binding affinity of flavonols to the  $\beta$ -glucosidase protein depends on its structure, so the addition of a 4'-benzyloxy group to the flavonol glycoside increased the binding affinity from -9.9 to -10.8 kcal/mol. However, the stronger connection of the benzyloxy-substituted glucoside compared with its unsubstituted analogue requires a high energy barrier for activation for the formation of the substrate-receptor transition stage for the enzymatic hydrolysis reaction. It can be observed as a 2.3-fold decrease in the specific fluidity constant. Such conclusions reveal the possibility of corresponding flavonol glycosides as simple indicators for rapid fluorescent monitoring of the activity of other enzymes from glucosidases family.

Keywords: organic synthesis, thiazole, heterocycle, cyclization, molecular docking, cross-coupling reaction, chromones, absorption and luminescence spectra, complex formation, proton transfer reaction in the electronically excited state, molecular dynamics modeling, molecular structure.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ

*Публікації у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus, держав, які входять до Організації економічного співробітництва та розвитку та/або Європейського Союзу.*

Chepeleva, L.V., Demidov, O.O., Snizhko, A.D., Tarasenko, D.O., Chumak, A.Y., Kolomoitsev, O.O., Kotliar, V.M., Gladkov, E.S., Kyrychenko, A.V., Roshal, A.D., Binding interactions of hydrophobically-modified flavonols with  $\beta$ -glucosidase: fluorescence spectroscopy and molecular modelling study. *RSC Advances* **2023**, 13 (48), 34107-34121.

DOI: 10.1039/D3RA06276G

*Особистий внесок кожного автора: Чепелева Л. В.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. Демидов О. О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Сніжко А. Д.: Проведення синтезу цільових сполук, Тарасенко Д. О.: Проведення синтезу цільових сполук. Чумак А. Ю.: Проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінесценції: Коломойцев О. О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів. Гладков Є. С.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Кириченко О.В.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування, проведення молекулярного докінгу та молекулярно-динамічних розрахунків. Рошаль О. Д.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. перегляд і редагування.*

Chepeleva, L.V., Tarasenko, D.O., Chumak, A.Y., Demidov, O.O., Snizhko, A.D., Kolomoitsev, O.O., Kotliar, V.M., Gladkov, E.S., Tatarets, A.L., Kyrychenko, A.V., Roshal, A. D., 4'-Benzyloxyflavonol glucoside as fluorescent indicator for  $\beta$ -glucosidase activity. *Funct. Mater.* **2023**; 30 (4): 494-505.

DOI: 10.15407/fm30.04.494

*Особистий внесок кожного автора: Чепелева Л. В.: Постановка задач та формулювання результатів, вимірювання спектрів поглинання та люмінесценції, написання тексту. Тарасенко Д. О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Чумак А. Ю.: Проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінесценції: Демидов О. О.: Проведення синтезу цільових сполук. Сніжко А. Д.: Проведення синтезу цільових сполук, Коломойцев О. О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів. Гладков Є. С.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Татарець А. Л.: Вимірювання спектрів поглинання та люмінесценції: Кириченко О.В.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування, проведення молекулярного докінгу, розрахунок кінетики процесу ферментативного гідролізу глікозидів флавонолів.: Рошаль О. Д.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. перегляд і редагування.*

***Публікації у виданнях, включених до переліку фахових видань  
України***

Tarasenko, D.O., Kotliar, V.M., The Synthesis of Novel 2-Hetarylthiazoles via the Stille Reaction. *J. Org. Pharm. Chem.* **2023**, 21, 17-22.

DOI: 10.24959/ophcj.23.288204

*Особистий внесок кожного автора: Тарасенко Д. О.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту, розробка методу синтезу 2-гетари-5-формілтiazолів за реакцією Стіллі, порівняння ефективності серії каталітичних систем для цієї реакції, проведення*



*синтезу цільових сполук. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування.*

Тарасенко, Д.О., Чумак, А.Ю., Коломойцев, О.О., Котляр, В.М., Дорошенко А.О. Новітні 2-тіазол-5-іл-бензімідазоли: синтез та визначення їх потенціалу як хемосенсорних реагентів на іони полівалентних металів. *Вісник ХНУ серія Хімія. 2022, 39, 38-44.*

DOI:10.26565/2220-637X-2022-39-0 4

*Особистий внесок кожного автора: Тарасенко Д.О.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту, проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінісценції. Чумак А.Ю.: Проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінісценції а також дослідження комплексоутворення з рядом катіонів металів. Коломойцев О.О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. перегляд і редагування. Дорошенко А.О.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування.*

Tarasenko, D.O., Chumak, A.Y., Kolomoitsev, O.O., Kotliar, V.M., Roshal A.D., Synthesis of a new series of chromones based on formalthiazoles *J. Org. Pharm. Chem. 2023, 22, 3-10.*

DOI: 10.24959/ophcj.23.292844

*Особистий внесок кожного автора: Тарасенко Д.О.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту, проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінісценції. Чумак А.Ю.: Проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінісценції. Коломойцев О.О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. перегляд і редагування. Рошаль А.Д.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування.*

## *Патенти*

Тарасенко, Д.О., Коломойцев, О.О., Чумак, А. Ю., Котляр, В.М., Рошаль О.Д., Спосіб глікозилювання похідних 3-гідроксихромону. Патент України № а202303325, **2023**.

### *Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації*

Тарасенко, Д.О., Коломойцев, О.О., Чумак, А.Ю., Буравов, О.В., Котляр, В.М., Дорошенко, А.О., Тіазолвмісні похідні бензімідазолу синтез та люмінесцентні властивості. «Всеукраїнська конференція наукових дослідників». Тези доповідей, 19–25 вересня 2021 року. Львівський національний університет імені Івана Франка. Львів, **2021**, с 114.

*Особистий внесок здобувача: здобувачем одержано експериментальні дані, сформульовано мету, задачі і зроблено висновки.*

Горбаточкін, Ю.О., Тарасенко, Д.О., Котляр, В.М., Нові похідні (Е)-4-(4-хлоро-2-(диметиламіно)тіазол-5-іл)бут-3-ен-2-ону в реакціях циклізації. «XIV Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів “Хімічні Каразінські читання - 2023”». Тези доповідей, 24 квітня 2023; Харківський Національний Університет імені В.Н.Каразіна. Харків, **2023**, с. 114.

*Особистий внесок здобувача: здобувачем одержано експериментальні дані, сформульовано мету, задачі і зроблено висновки.*

Тарасенко, Д.О., Горбаточкін, Ю.О., Коломойцев, О.О., Котляр, В.М., Дорошенко, А.О., Функціоналізовані гетарілтіазоли за реакцією крос-сполучення Стілльє. «XIX Наукова конференція “Львівські хімічні читання – 2023” ». Тези доповідей, 29-31 травня 2023 року. Львівський Національний Університет імені Івана Франка. Львів, **2023**, с 42.

*Особистий внесок здобувача: здобувачем одержано експериментальні дані, сформульовано мету, задачі і зроблено висновки.*

Tarasenko, D.O., Chumak, A.Y., Kolomoitsev, O.O., Demydov, O.O., Horbatochkin, Y.O., Kotliar, V.M., Novel 5-(1h-benzimidazol-2-yl)thiazoles. Synthesis and complexation ability evaluation. «Current problems of chemistry,

materialscience and ecology». Тези доповідей, 7-9 грудня 2023 року. Волинський національний університет імені Лесі Українки. Луцьк, **2023**, с 9-10.

*Особистий внесок здобувача: здобувачем одержано експериментальні дані, сформульовано мету, задачі і зроблено висновки.*

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....</b>	<b>25</b>
<b>ВСТУП.....</b>	<b>27</b>
<b>РОЗДІЛ 1 МОДИФІКАЦІЯ ТІАЗОЛУ (огляд літератури) .....</b>	<b>34</b>
<b>1.1. Синтез 5-формілтiazолів .....</b>	<b>34</b>
<b>1.2. Модифікації галогенпохідних за реакціями крос-сполучення .....</b>	<b>38</b>
<b>1.3. Синтез бензімідазолів .....</b>	<b>42</b>
<b>1.4. Синтез хромонів .....</b>	<b>45</b>
<b>1.5. Глікозилювання хромонів.....</b>	<b>48</b>
<b>1.6. Властивості бензімідазолів.....</b>	<b>49</b>
<b>1.7. Властивості хромонів .....</b>	<b>51</b>
<b>ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1 .....</b>	<b>54</b>
<b>РОЗДІЛ 2 МОДИФІКАЦІЯ 2,4-ДИГАЛОГЕН ТІАЗОЛІВ ЗА РЕАКЦІЄЮ СТІЛЛЕ .....</b>	<b>55</b>
<b>2.1 Розробка умов одержання 2-гетарилтіазолів .....</b>	<b>55</b>
<b>2.1.1. Реакції крос-сполучення.....</b>	<b>55</b>
<b>2.1.2. Порівняння ефективності каталізаторів в реакції Стіллі .....</b>	<b>56</b>
<b>2.1.3. Дослідження побічної реакції в умовах реакції Стіллі.....</b>	<b>58</b>
<b>2.2. Синтез 2-гетарил-5-формілтiazолів .....</b>	<b>60</b>
<b>2.3. Методика одержання та фізико хімічні характеристики продуктів. ....</b>	<b>61</b>
<b>2.3.1. Методика синтезу 2,4-дибром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)тіазол (17) .....</b>	<b>61</b>
<b>2.3.2. Методика синтезу 4-бром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)-2-(піридин-2-іл)тіазол (18а) .....</b>	<b>62</b>
<b>2.3.3. Методика синтезу 4-Бром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)-2-(1-метил-1Н-1,2,3-тріазол-5-іл)тіазолу (18б) .....</b>	<b>63</b>
<b>2.3.4. Методика синтезу 4-Бром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)-2,4'-бітіазолу (18в).....</b>	<b>63</b>
<b>2.3.5. Методика синтезу 3-(2,4-дибромтіазол-5-іл)-1-фенілпроп-2-ен-1-ону (1).....</b>	<b>64</b>

2.3.6. Методика синтезу 3-(4-Бром-2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-1-фенілпроп-2-ен-1-ону (2) .....	64
2.3.7. Методика синтезу 3-(4-Бром-2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-1-феніл-1-(піридин-2-іл)проп-2-ен-1-олу (3) .....	65
2.3.8. Методика синтезу 4-(2-(Диметиламіно)-4-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)бут-3-ен-2-ону (9).....	65
<b>ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2 .....</b>	<b>67</b>
<b>РОЗДІЛ 3 МОДИФІКОВАНІ ТІАЗОЛІЛ-БЕНЗІМІДАЗОЛИ .....</b>	<b>68</b>
3.1. Спектральні властивості та комплексоутворення тіазолілбензімідазолів.....	70
3.2. Методика одержання та фізико хімічні характеристики продуктів. ....	73
3.2.1. 5-(1Н-бензо[d]імідазол-2-іл)-N,N-диметилтіазол-2-амін (23а) ....	73
3.2.2. 5-(1Н-бензо[d]імідазол-2-іл)-2-(піролідин-1-іл)тіазол (23б).....	73
3.2.3. 5-(1Н-бензо[d]імідазол-2-іл)-2-(піперидин-1-іл)тіазол (23в) .....	74
3.2.4. 5-(1Н-бензо[d]імідазол-2-іл)-4-хлор-N,N-диметилтіазол-2-амін (24а) .....	74
3.2.5. 5-(1Н-бензо[d]імідазол-2-іл)-4-хлор-2-(піролідин-1-іл)тіазол (24б) .....	74
3.2.6. 5-(1Н-бензо[d]імідазол-2-іл)-4-бромтіазол (25а) .....	74
<b>ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3 .....</b>	<b>76</b>
<b>РОЗДІЛ 4 ФЛАВОНОЛИ ТА ХРОМОНИ НА ОСНОВІ ФОРМІЛ-ТІАЗОЛІВ .....</b>	<b>77</b>
4.1. Спектральні властивості одержаних 3-гідроксифлавонів .....	78
4.2. Дослідження взаємодії зв'язування флавонол-фермент .....	78
4.3. Синтез тіазолвмісних хромонів .....	83
4.4. Спектральні властивості тіазолвмісних хромонів.....	86
4.5. Молекулярне моделювання взаємодії флаванолів з β-глікозидазою	89
4.5.1. Налаштування молекулярного докінгу. ....	89
4.5.2. Молекулярно-динамічне моделювання.....	90
4.5.3. Гомологія білків в родині β-глікозидаз .....	92
4.5.4. Молекулярний докінг флавонолів з β-глікозидазою .....	93

4.5.5. Молекулярний механізм взаємодії флавонолів з ферментом .....	98
4.6. Рентгеноструктурний аналіз тiazолілхромонів.....	103
4.7. Квантово-хімічні розрахунки структури тiazолілхромонів .....	107
4.8. Методика одержання та фізико хімічні характеристики продуктів. .....	123
4.8.1. 3-Гідрокси-2-феніл-хромен-4-он (27a).....	123
4.8.2. 3-Гідрокси-2-(4'-хлорофеніл)-хромен-4-он (27б).....	123
4.8.3. 3-Гідрокси-2-(4'-(трифторметил)феніл)-хромен-4-он (27в) .....	124
4.8.4. 4-Бром-[2,4'-бітiazол]-5-карбальдегід (30є) .....	124
4.8.5. 4-Бром-2-(1-метил-1Н-пірол-2-іл)тiazол-5-карбальдегід (4h)...	124
4.8.6. 1-(2-Гідроксифеніл)-3-(тiazол-4-іл)проп-2-ен-1-он (31и).....	125
4.8.7. 1-(2-Гідроксифеніл)-3-(тiazол-5-іл)проп-2-ен-1-он (31з). .....	125
4.8.8. 3-(2-(Диметиламіно)тiazол-5-іл)-1-(2-гідроксифеніл)проп-2-ен-1- он (31а).....	126
4.8.9. 1-(2-Гідроксифеніл)-3-(2-(піролідин-1-іл)тiazол-5-іл)проп-2-ен-1- он (31б).....	126
4.8.10. 3-(4-Бром-2-(диметиламіно)тiazол-5-іл)-1-(2- гідроксифеніл)проп-2-ен-1-он (31є). .....	126
4.8.11. 3-(4-Бром-2-(1-метил-пірол-2-іл)тiazол-5-іл)-1-(2- гідроксифеніл)проп-2-ен-1-он (31ж). .....	127
4.8.12. 3-(4-Бром-[2,4'-бітiazол]-5-іл)-1-(2-гідроксифеніл)проп-2-ен-1- он (31є). .....	127
4.8.13. 3-Гідрокси-2-тiazол-4-іл-хромен-4-он (32и).....	128
4.8.14. 3-Гідрокси-2-тiazол-5-іл-4Н-хромен-4-он (32з). .....	128
4.8.15. 2-(2-(Диметиламіно)тiazол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32а). .....	129
4.8.16. 3-Гідрокси-2-(2-(піролідин-1-іл)тiazол-5-іл)-4Н-хромен-4-он (32б). .....	129
4.8.17. 2-(4-Бром-2-(диметиламіно)тiazол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен- 4-он (32є).....	130
4.8.18. 2-(4-Бром-2-(1-метил-пірол-2-іл)тiazол-5-іл)-3-гідрокси-4Н- хромен-4-он (32ж). .....	130

4.8.19. 2-(4-Бром-2-(тіазол-4-іл)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32є). .....	131
4.8.20. 2-(4-Хлор-2-(диметиламіно)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32г).....	131
4.8.21. 2-(4-Хлор-2-(піролідин-1-іл)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32д). .....	132
4.8.22. 3-гідрокси-2-(2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-4Н-хромен-4-он (32в). .....	132
<b>ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4 .....</b>	<b>134</b>
<b>РОЗДІЛ 5 ГЛІКОЗИЛЮВАННЯ ХРОМОНІВ .....</b>	<b>135</b>
5.1. Синтез глюкозильованих похідних хромонів.....	136
5.1. Скринінг активності ферментів за допомогою флуоресцентних індикаторів .....	139
5.2. Кінетика ферментативного гідролізу флавонолглікозидів .....	145
5.3. Молекулярний докінг флавонолів з β-глікозидазою .....	147
5.3.1. Налаштування молекулярного докінгу .....	147
5.3.2. Молекулярний докінг глікозильованих флавонолів з β-глікозидазою.....	147
5.4. Методика одержання та фізико хімічні характеристики продуктів. ....	153
5.4.1 2-(Ацетоксиметил)-6-((4-оксо-2-феніл-4Н-хромен-3-іл)окси)тетрагідро-2Н-піран-3,4,5-триілтриацетат (33а) .....	153
5.4.2. 2-(Ацетоксиметил)-6-((2-(4-(бензилокси)феніл)-4-оксо-4Н-хромен-3-іл)окси)тетрагідро-2Н-піран-3,4,5-триілтриацетат (33є)...	154
5.4.3.2-(Ацетоксиметил)-6-((2-(4-нітрофеніл)-4-оксо-4Н-хромен-3-іл)окси)тетрагідро-2Н-піран-3,4,5-триілтриацетат. (33д) .....	154
5.4.4. 2-(Ацетоксиметил)-6-((4-оксо-2-(2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-4Н-хромен-3-іл)окси)тетрагідро-2Н-піран-3,4,5-триілтриацетат (33в) .	154
5.4.5. 2-Феніл-3-((3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)тетрагідро-2Н-піран-2-іл)окси)-4Н-хромен-4-он (34а).....	155
5.4.6. 2-(4-(Бензилокси)феніл)-3-((3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)тетрагідро-2Н-піран-2-іл)окси)-4Н-хромен-4-он (34є) .....	155

<b>5.4.7. 2-(4-нітрофеніл)-3-((3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)тетрагідро-2Н-піран-2-іл)окси)-4Н-хромен-4-он (34д)</b> .....	<b>155</b>
<b>5.4.8. 2-(2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-3-((3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)тетрагідро-2Н-піран-2-іл)окси)-4Н -хромен-4-он (34в)</b> .....	<b>156</b>
<b>ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5</b> .....	<b>157</b>
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	<b>158</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	<b>159</b>
<b>ДОДАТОК А СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ</b> .....	<b>190</b>



## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ESIPT	внутрішньомолекулярне перенесення протона в електронно-збудженому стані (excited state intramolecular proton transfer)
pH	водневий показник
T <sub>пл</sub>	температура плавлення
ЯМР	ядерний магнітний резонанс
м. ч	мільйонна частка
$\lambda$	довжина хвилі
DMSO- <i>d</i> 6	диметилсульфоксид (дейтерований аналог)
CDCl <sub>3</sub>	дейтерований хлороформ
$\delta$	хімічний зсув (у спектрах ЯМР)
s	синглет (у спектрах ЯМР)
ус	уширений синглет (у спектрах ЯМР)
м	мультиплет (у спектрах ЯМР)
д	дублет (у спектрах ЯМР)
дд	дулет дублетів (у спектрах ЯМР)
т	триплет (у спектрах ЯМР)
тд	триплет дублетів (у спектрах ЯМР)
m/z	відношення маси до заряду (у мас-спектрах)
I <sub>відн.</sub>	відносна інтенсивність (у мас-спектрах)
K <sub>г</sub>	константа гідролізу
K <sub>д</sub>	константа диссоціації
K <sub>р</sub>	коефіцієнт розподілу
Ph	феніл

THz	тіазоліл
Pu	піридиніл
Pd G2	паладієвий прекаталізатор Бучвальда другого покоління
Pd G3	паладієвий прекаталізатор Бучвальда третього покоління
Pd G4	паладієвий прекаталізатор Бучвальда четвертого покоління
ТШХ	тонкошарова хроматографія
ОФДА	орто-фенілендіамін
ЦНС	центральна нервова система

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Тіазольний цикл входить до складу природних речовин: ферментів, вітамінів, антибіотиків тощо. Протягом останнього сторіччя на його основі була розроблена значна кількість діючих речовин багатьох лікарських препаратів. Одними з найбільш зручних прекурсорів для їх одержання є карбонільні сполуки тіазольного ряду завдяки різноманітним модифікаціям карбонільної групи. Наразі розроблена велика кількість шляхів одержання карбонільних сполук тіазольного ряду, через потребу в таких реагентах для органічного синтезу. Проте кожен з них має обмеження пов'язані з останньою стадією процесу – карбонілюванням тіазольного циклу. Адже сполуки, які одержують за цими методами, повинні містити функціональні групи, не здатні до утворення побічних продуктів. Одним з прикладів таких груп є ароматичні або гетероароматичні замісники. Тому ряд 2-гетарилтіазолів одержують шляхом циклоконденсації тіоамідів з метою уникнення стадії формілювання. Однак цей метод має суттєве обмеження: в положенні 4 тіазольного циклу можливо ввести лише мало реакційноздатні алкільні замісники. Таким чином, розробка методів синтезу 2-гетарил-5-формілтіазолів залишається важливим завданням сучасної органічної хімії. 2,4-Дигалоген-5-формілтіазоли, підходи до одержання яких давно відомі і які вже стали комерційно доступними сполуками, можуть бути використані як реагенти для вирішення цього питання. В такому випадку необхідне створення нового С-С зв'язку між двома гетероциклами. Впродовж останнього часу для вирішення подібних завдань найбільш популярними стають реакції крос-сполучення, такі як реакція Сузукі-Міяури, крос-сполучення Стілле та інші. Ефективність цих методів дуже варіюється в залежності від вибору каталізаторів та сокаталізаторів. Каталізаторами зазвичай виступають комплекси  $Pd^0$  з різноманітними лігандами, такими як дибензиліденацетон, трифенілфосфін, 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен, тощо. Високу ефективність в реакціях

крос-сполучення показують і комплекси зі зв'язаним Pd, які вивільняють Pd<sup>0</sup> з комплексу з лігандом *in situ*. Наразі використовується вже чотири покоління таких каталізаторів.

Одним з прикладів модифікації 5-формілітіазолу з практичним застосуванням завдяки біологічній активності є тіабендазол. Він ще 1961-му році був віднесений до класу антигельмінтних засобів, а згодом було виявлено і фунгіцидні властивості, завдяки чому і до нинішнього часу застосовується в медицині та сільському господарстві. Деякі його похідні також були синтезовані й досліджені. Вони показали кращі антигельмінтні властивості в порівнянні з тіабендазолом при лікуванні домашніх тварин. В останні роки кількість досліджень в цьому напрямі суттєво зростає: зокрема вже виявлена протипухлинна та противірусна активність деяких похідних бензімідазолу. Ще однією цікавою особливістю бензімідазолів є яскрава флуоресценція, що відкриває додаткові можливості для застосування в якості люмінесцентних зондів та хемосенсорів. З цієї точки зору, імплементація тіазольного циклу в гетероароматичну систему бензімідазолу розширює можливості практичного застосування бензімідазольних похідних. Це пов'язано з наявністю хелатної порожнини, характерної для бензімідазол-тіазольної системи, яка є потенційним центром комплексоутворення з іонами металів. Враховуючи адитивність атому сульфуру до полівалентних важких металів, сенсори на основі цих сполук можуть знайти застосування в медично- та екологічно-орієнтованому аналізі сполук токсичних металів.

Одними з найперспективніших модифікацій 5-формілітіазолів є побудова хромонового циклу на його основі. Оскільки найбільш дослідженими їх похідними є флавоноли, які знаходять широке використання через їх люмінесцентні властивості та чутливість до властивостей середовища. Примітною особливістю цих зондів є присутність гідроксильної групи в 3-положенні, яка зумовлює здатність до внутрішньомолекулярного переносу протону у збудженому стані. Вони використовуються як детектори на деякі катіони, аніони та окремі сполуки, а

також дозволяють досліджувати полярність, гідрофобність середовища, тощо. Завдяки Цьому вони знаходять широке використання в біохімічних дослідженнях. Заміна арильного замісника в 2-му положенні хромону на гетероциклічний може суттєво вплинути на електронну структуру сполук. Таким чином, вивчення впливу тіазольного циклу на електронну структуру хромону є дуже цікавим, а відповідні похідні можуть знайти використання в люмінесцентній спектроскопії.

Зонди на основі флавонолу, а саме глюкопіранозиди, наразі мають високий потенціал як інструменти для флуоресцентної ідентифікації активності ферменту  $\beta$ -глікозидази. Цей клас ферментів присутній в рослинах, грибах, тваринах та бактеріях. Для промисловості вони можуть бути цікаві в напрямку вироблення біопалива та розщеплення олігосахаридів. Отже взаємодія глікозилізованих флавонолів з  $\beta$ -глікозидазою є дуже важливим об'єктом для багатьох галузей. Пошук найбільш ефективних зондів активності ферменту є основним завданням дослідження цієї взаємодії. Відомі випадки специфічного комплексоутворення флавонолів з ферментами, тому необхідне й попереднє дослідження хімічної взаємодії аглікону (хромону) з ферментом для коректного розуміння усіх процесів при ферментативному гідролізі.

Описані методи глікозилювання наразі мають ряд недоліків, таких як низький вихід та тривалий час протікання реакції. Оскільки глікозилювані похідні досліджуються з метою їх майбутнього використання, оптимізація методу глюкозилювання необхідна для дослідження властивостей цільових продуктів, та може бути корисною в майбутньому комерційному використанні.

### **Мета і завдання дослідження.**

Метою дисертаційної роботи є розробка методів 2-гетарил-5-формілтiazолів, їх модифікація в бензімідазоли та хромони, дослідження

люмінесцентних властивостей, комплексоутворення, а також глікозилювання хромонів та їх взаємодії з  $\beta$ -глікозидазою в якості потенційних зондів.

**Завдання:**

- Розробка синтетичного підходу до одержання 2-гетарил-5-формілтiazолів.
- Синтез і дослідження властивостей 2-тіазолілбензімідазолів.
- Дослідження взаємодії флавонолів з  $\beta$ -глікозидазою.
- Синтез і дослідження властивостей тіазолвмісних хромонів.
- Розробка методу глікозилювання хромонів та дослідження взаємодії глікозилюваних похідних з  $\beta$ -глікозидазою.
- Дослідження взаємодії глікозилюваних похідних флавонолів з  $\beta$ -глікозидазою.

**Об'єкти дослідження:** 2-Гетарилтіазоли та їх похідні – бензімідазоли та хромони, а також флаваноли і  $\beta$ -глікозидаза.

**Предмет дослідження:** Синтетичні підходи до одержання та модифікації 5-формілтiazолів, фотофізичні характеристики бензімідазолів та хромонів, комплексоутворення бензімідазолів з іонами металів, взаємодія хромонів з  $\beta$ -глікозидазою.

**Методи дослідження:** Сучасний органічний синтез,  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопія, мас-спектрометрія, флеш-хроматографія, тонкошарова хроматографія, спектрофотометрія, флуоресцентна спектроскопія, флуоресцентне титрування, елементний аналіз, молекулярно-динамічне моделювання, молекулярний докінг.

**Наукова новизна отриманих результатів:**

- Синтезовані та досліджені властивості понад 40 нових речовин.
- Розроблений новий синтетичний підхід до 2-гетарил-5-формілтiazолів. досліджено ефективність каталітичних систем в реакції Стілле.
- Запропоновані нові потенційні ліганди для іонів важких металів, таких як  $\text{Cd}^{2+}$ .

- Вивчена та описана взаємодія між флавонолами та  $\beta$ -глікозидазою.
- Розроблений метод глікозилювання хромонів.
- Вивчена та описана взаємодія між глікозильованими флавонолами та  $\beta$ -глікозидазою. Виявлено, що ферментативний гідроліз досліджених сполук є реакцією другого порядку.
- Показано, що глікозильовані хромони є потенційними зондами для виявлення  $\beta$ -глікозидази.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем особисто: проведена систематизація інформації з літературних джерел за темою дисертації, розроблені та оптимізовані синтетичні підходи, синтезовані вихідні, проміжні та цільові сполуки, проведені дослідження фізико-хімічних властивостей одержаних сполук, а саме спектрів їх поглинання та люмінесценції а також оброблені та проаналізовані одержані експериментальні результати.

Постановка мети, завдань, обговорення результатів досліджень, спектрально-кінетичні флуоресцентні дослідження та формулювання висновків проведені спільно з науковим керівником, к.х.н. доц. В.М. Котляром.

Фізико-хімічні дослідження, а саме, вимірювання  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР, а також мас-спектрів, були проведені на базі ТОВ «НВП «Укроргсинтез», м. Київ.

Автор висловлює щире подяку директору Науково-дослідного інституту хімії Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, д.х.н., проф. О.Д. Рошалю, д.х.н., проф. Кириченку О.В., а також завідувачу кафедри органічної хімії хімічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна д.х.н., проф. А.О. Дорошенку за допомогу у проведенні спектральних експериментів, наданні консультації та плідні дискусії, керівнику ТОВ «НВП «Укроргсинтез», м. Київ, д.х.н., проф. А.О.

Толмачову за допомогу у проведенні базових фізико-хімічних досліджень синтезованих сполук.

**Публікації та апробація матеріалів дисертації.** За матеріалами дисертації опубліковано 6 наукових праць, у тому числі 2 статті у періодичних виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз Scopus та Web of Science, з яких 2 роботи у міжнародних реферованих фахових виданнях *RSC Advances* (Q2, зараховується за 2 публікації), *Functional Materials* (Q4, зараховується за 1 публікацію). Загалом – 6 наукових публікацій (включаючи 1 патент).

Результати дисертації оприлюднено на 4 наукових конференціях.

**Структура та обсяг дисертації.** Робота складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 1 додатку. Обсяг загального тексту дисертації складає 194 с. (7 авторських аркушів), з них основного тексту 133 с. (4.5 авторських аркушів). Робота ілюстрована 35 схемами, 18 таблицями та 35 рисунками. Список використаних джерел містить 263 найменування.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота є складовою частиною гранту № 02.2020/0016 Національного фонду досліджень України, № держреєстрації 0120U105227 (Індикатори на основі похідних хромону для флуоресцентного визначення активності  $\beta$ -глікозидаз).

#### **Практичне значення одержаних результатів.**

Розроблений синтетичний підхід одержання 2-гетарил-4-галогеніл-5-формілітіазолів має широкий потенціал з точки зору як органічного синтезу, так і фармацевтичної хімії, оскільки дозволяє одержати нові поліфункціональні сполуки, які є дуже цікавими як білдинг-блоки для синтезу багатьох біоактивних продуктів. Цей метод може бути також використаний для одержання інших дизаміщених формілітіазолів, а також їх модифікацій за положенням 4.



Синтезовані 2-тіазолілбензімідазоли, які утворюють комплекси з іонами  $\text{Cd}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$  дають аналітичний сигнал в спектрі люмінесценції. Враховуючи високу чутливість люмінесцентного методу, такі ліганди можуть знайти використання в аналізі, а їх подальша модифікація може дозволити виявляти іони інших важких металів.

Результати проведених досліджень взаємодії флавонолів та їх глюкозилізованих похідних з  $\beta$ -глікозидазою вказують на можливість використання таких похідних в аналізі різноманітних зразків на наявність згаданого ферменту. Такий аналіз буде не тільки якісним але й кількісним. Враховуючи важливу роль  $\beta$ -глікозидази в біологічних процесах, сфера застосувань таких детекторів може стати дуже широкою. В неї можуть входити медицина, сільське господарство, виготовлення біопалива та інші промислові виробництва.

Виявлений великий зсув полоси люмінесценції для декількох 2-тіазолілхромонів, робить їх найбільш цікавими з цієї точки зору, оскільки такий віддалений сигнал дозволить збільшити точність аналізу.

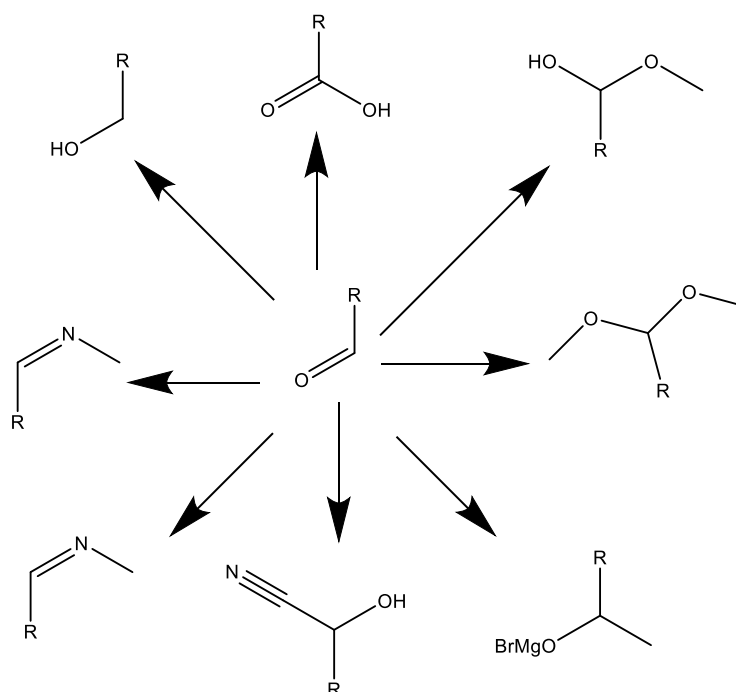
# РОЗДІЛ 1

## МОДИФІКАЦІЯ ТІАЗОЛУ

(огляд літератури)

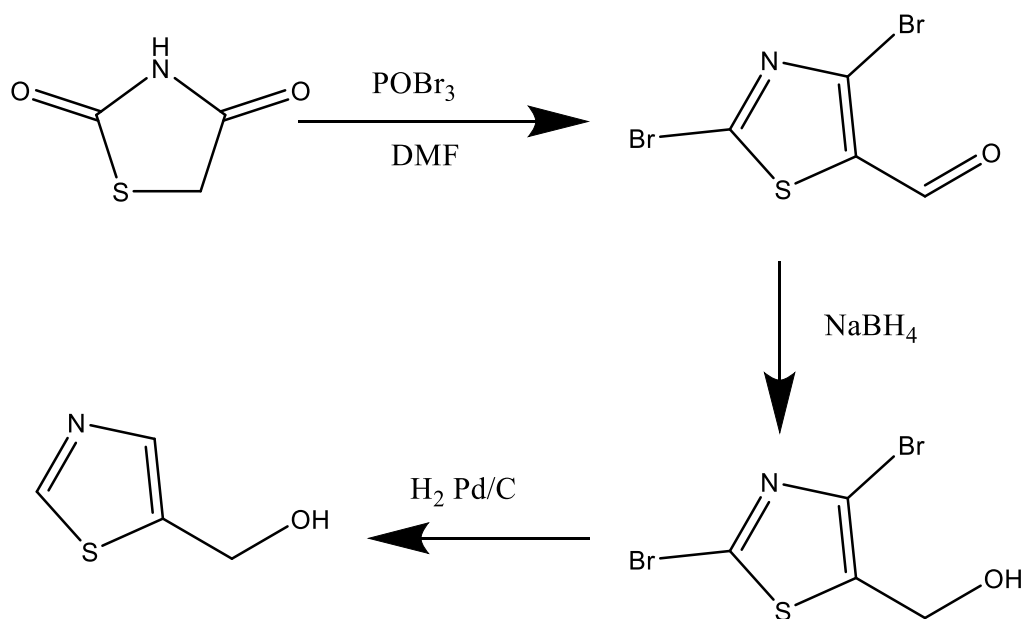
### 1.1. Синтез 5-форміл тіазолів

Тіазольний цикл давно відомий, перші методи його синтезу розроблені ще в ХІХ столітті. Його знаходять в складі багатьох природних речовин, таких як ферменти, вітаміни, антибіотики, продукти циклізації цистеїну при розщеплення білкових молекул, тощо. Тому на його основі вже була розроблена велика кількість діючих речовин багатьох лікарських препаратів (1) серед яких є: протимікробні засоби – ацинїтразол та сульфатіазол, антибіотики – пеніцилін, антидепресанти – праміпексол, протипухлинні засоби – блеоміцин та тіазофурін та інші. З іншого боку, одними з найбільш зручних прекурсорів для подальшої модифікації є карбонільні сполуки, оскільки саме карбонільну групу можна перетворити на будь-яку іншу або декілька інших функціональних груп (2). (схема 1.1) Таким чином, одержання 5-формілтіазолів та подальші трансформації формільної групи є важливим питанням з теоретичної та практичної точок зору.



### Схема 1.1

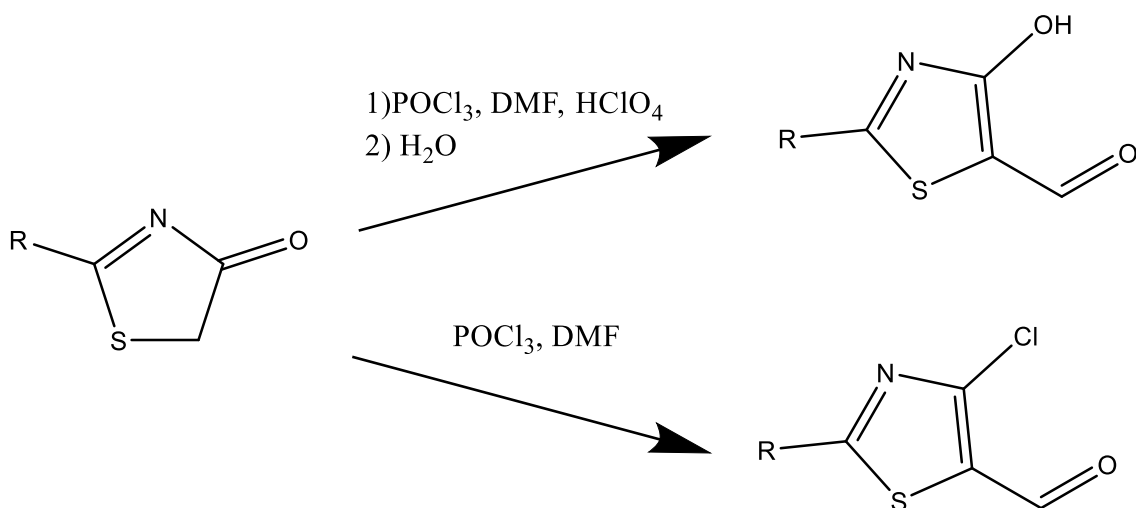
Одним із зручних методів одержання 2,4-дигалоген-5-формілтіазолів є галогенування та формілювання тіазолідин-2,4-діону. Так в роботі (3) було розглянуто одержання 2,4-дибром-5-формілтіазолу, а також його відновлення до спирту та відновлювальне дебромування, з метою отримання ще двох важливих реагентів для синтезу біоактивних речовин.(схема 1.2)



### Схема 1.2

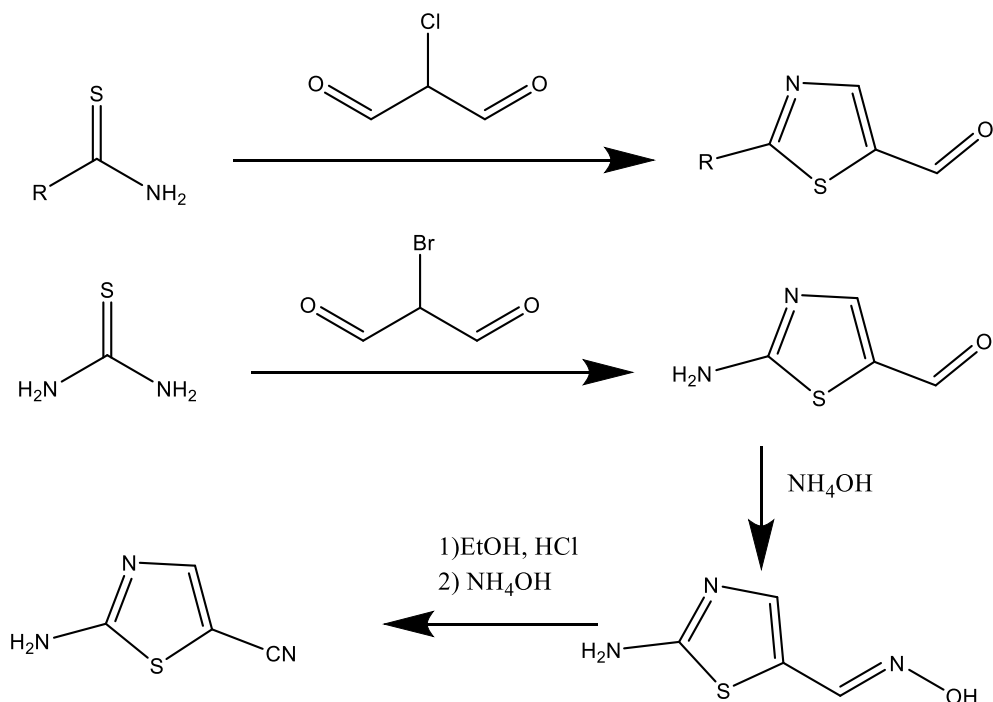
Згодом, з одержанням альдегіду та спирту за цим методом, за реакцією Сузукі був синтезований та в подільшому модифікований потужний агоніст PPAR $\beta$ /d GW501516 1 (4). (GW501516 –Кардарін , PPAR-дельта (рецептори, що активуються проліфератором пероксисоми). PPAR-b/d - це ядерний рецептор, який регулює багато важливих процесів і функції організму, включаючи метаболізм жирних кислот)

Також це метод використовується і для одержання різноманітних 2-заміщених 5-формілтіазолів. Для цього виходять із відповідних тіазолідин-4-онів, так в роботі (5) були одержані відповідні 4-хлор та 4-гідрокси-5-формілтіазоли (схема 1.3) .



**Схема 1.3**

Також 5-формілтіазоли одержують із циклоконденсацією тіоамідів з хлормалоновим діальдегідом (6, 7), що дозволяє одержати відповідні 2-заміщені 4Н-похідні. Ще один зручний реагент для одержання тіазоловмісних сполук – 2-аміно-5-ціанотіазол був одержаний в роботі (8). Для цього була використана тіосечовина з одержанням відповідного 2-аміно-5-формілтіазолу та шляхом перетворення відповідного оксиму одержаний цільовий продукт. (схема 1.4)



**Схема 1.4**

Також відповідні 4-хлоропохідні одержують з використанням хлороцтової кислоти як закриваючого реагента в умовах хлорування та формілювання. Так в роботі (9), були одержані та модифіковані відповідні похідні з використанням трет-бутоксикарбонільного захисту аміногрупи. (схема 1.5)

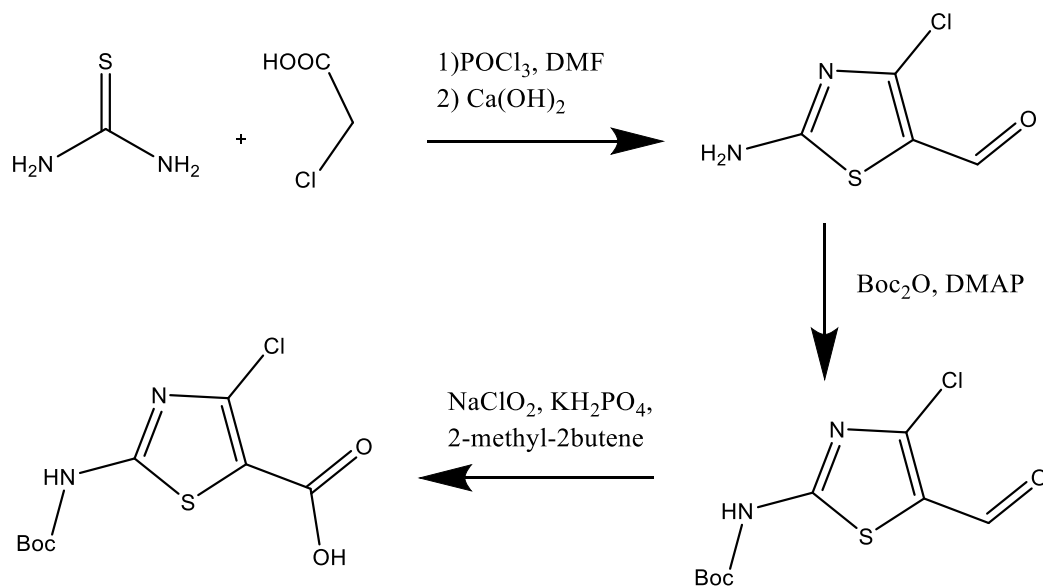


Схема 1.5

Інший важливий підхід полягає в конденсації тіоамідів та тіосечовин з формуванням естерного залишку в положенні 5. Оскільки різноманіття циклізуючих реагентів в такому випадку значно більше, цей метод дозволяє отримати продукти з аліфатичними (10, 11) та ароматичними замісниками (12, 13), та навіть деякими функціональними групами, такими як карбоксильна (14) чи естерна (15) в положенні 4 (схема 1.6). Такі естери відновлюють до спиртів за допомогою  $\text{NaBH}_4$  або  $\text{LiBH}_4$  (16). Стандартним підходом до їх окиснення в альдегіди є використання діоксиду марганцю чи селену (17) та останнім часом все частіше використовується метод Десса-Мартіна (18).

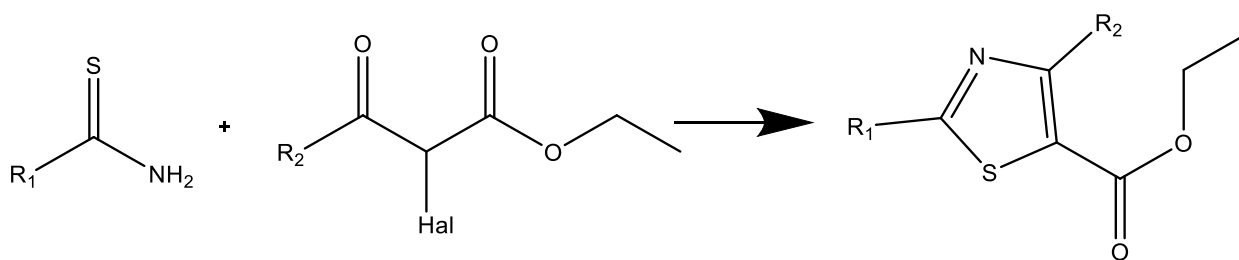


Схема 1.6

Також можливе й пряме формілювання тiazолу, при цьому варто зазначити, що найбільш активним є друге положення тiazольного циклу. Тому цей метод використовується для 2-заміщених тiazолів. Так, в роботах (19, 20) 2-бромотiazол був спочатку модифікований заміщенням за атомом Бромом за реакцією Сузукі з подальшим введенням формільної групи до тiazольного кільця за допомогою літіювання. (схема 1.7)

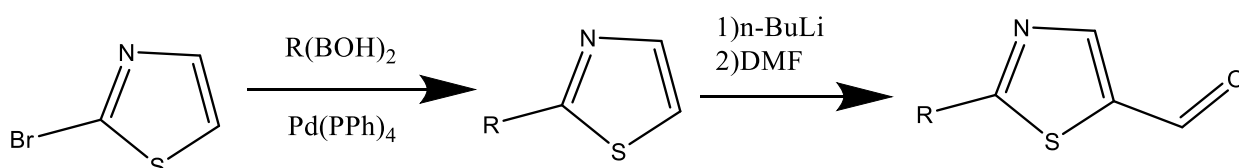


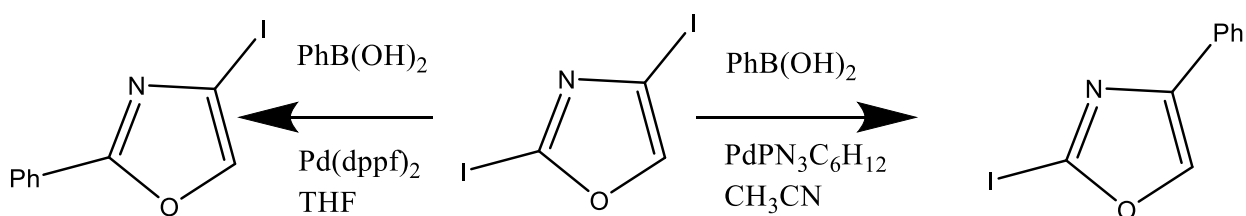
Схема 1.7

## 1.2. Модифікації галогенпохідних за реакціями крос-сполучення

Реакції утворення C-C зв'язку є стратегічними в органічному синтезі, оскільки вони дозволяють синтезувати більш складні молекули. Реакції крос-сполучення набувають найбільшого поширення через їх високу селективність та того факту, що прекурсорами виступають прості в отриманні галогенпохідні. Так у 2010 році одним з лауреатів якому була присуджена Нобелівська премія став Акіро Сузукі за його роботу в напрямку розробки реакцій галогенпохідних з борними кислотами, що згодом отримала назву крос-сполучення Сузукі-Міяури (21).

В останні десятиліття кількість публікацій в цьому напрямку зростає і ця реакція досліджується дуже детально. Так, в роботі (22) була продемонстрована різниця в ефективності використання

бромгетероциклічної вихідної сполуки з фенілборною кислотою та бромбензенів з гетероциклічними борними кислотами. Значна увага приділяється каталізаторам таких реакцій: наприклад, в роботі (23) був використаний комбінований паладієвий каталізатор в матриці оксиду заліза. Дуже великий внесок в цьому напрямі зробила група Стівена-Бучвальда. Дослідниками була розроблена серія каталізаторів, які показали високу ефективність в реакціях крос-сполучення та широко використовуються останнім часом (24). Так, в роботі (25) був використаний каталізатор XPhos Pd G2. Також вивчається ефективність основ та розчинників для цієї реакції (26). В роботі (27) показано, що вибір розчинника та каталізатора може також змінити й напрям реакції. (схема 1.8)



**Схема 1.8**

В роботі (28) за цією реакцією був модифікований 2-бромтіазол, на основі продуктів одержані комплекси Ir(III) та досліджені їх фотохімічні властивості. 2-Бром-5-формілтіазол також був використаний в реакції Сузукі – на його основі розроблені ряд напівпровідникових тіазоліленвініленових олігомерів, що показали високі квантові виходи люмінесценції (29).

Іншим розповсюдженим варіантом реакції крос-сполучення є використання похідних Стануму за реакцією Стілле. Пиклади сполучення органічних стананів з електрофілами відомі ще з 1976-1977 років, але саме обширна синтетична робота, проведена Стілле та його співробітниками з 1978 р., зробила цю реакцію поширеним методом в органічному синтезі. Однією з причин популярності реакції Стілле в сучасному органічному синтезі є той факт, що похідні трибутилстануму є досить доступними та стійкими до дії повітря та вологи, а також інертні до багатьох

функціональних груп. Ці властивості здебільшого зумовлені низькою полярністю зв'язку Sn-C. В цьому відношенні реакція Стілле відрізняється від інших реакцій крос-сполучення з більш полярними металоорганічними реагентами, наприклад, реагентами Грін'єра в реакції Кумади.

В цьому випадку зазвичай також використовуються паладієві каталізатори, однак наявних прикладів використання каталізаторів Бучвальда в літературі немає. Інколи комплекси Ауруму(I) використовують замість Паладію (30), та дуже часто високу ефективність показує додавання сокаталізаторів, таких як йодид міді (I) та фтори цезію (31, 32). Ця реакція також є високоселективною. Так, авторами (33) показано, що як в реакції Сузукі так і в реакції Стілле зазвичай зв'язок C-I значно активніший за C-Cl. (схема 1.9)

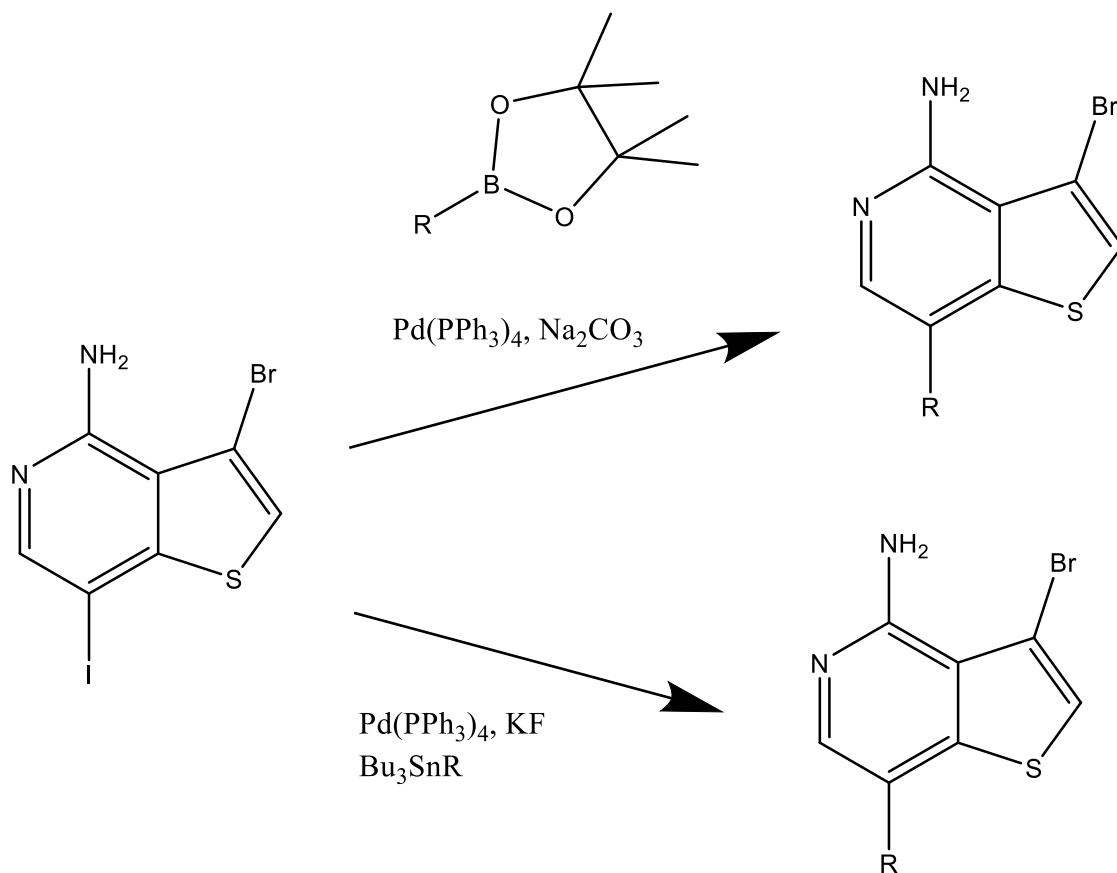
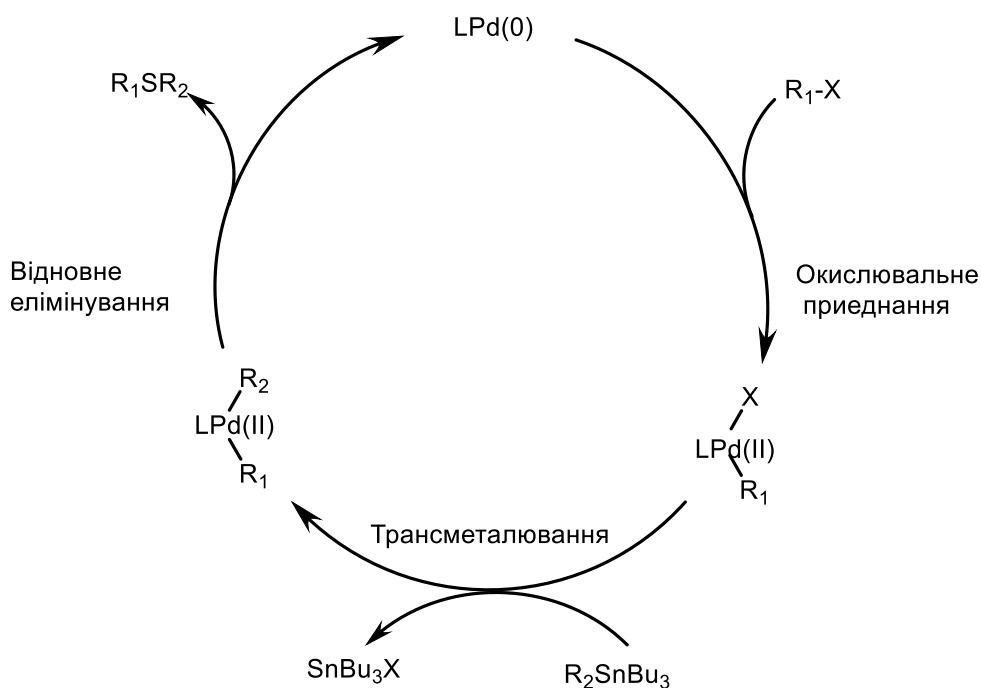


Схема 1.9



Тіазол таким методом також модифікують (34, 35, 7), зазначимо, що при цьому майже завжди в цих випадках використовуються солі міді та реакцію проводять у міліграмових кількостях.

Механізм реакцій крос-сполучення з використанням паладієвого каталізатора наведено на прикладі реакції Стілле (схема 1. 10). Першою в цьому процесі є окислювальне приєднання арилгалогеніду до паладієвого комплексу з утворенням відповідних похідних Pd(II), приєднання станану на наступній стадії трансметалювання, з наступним відщепленням бромотрибутилстанану приводить до утворення проміжного комплексу  $R_1LPd(II)R_2$ . Та на останній стадій відновного елімінування каталізатор вивільняється з утворенням продукту реакції. Загалом такий механізм характерний для більшості реакцій крос-сполучення, з невеликими відмінностями. При використанні каталізаторів Бучвальда, перед реалізацією вказаного механізму проходить стадія вивільнення комплексу паладію, що проходить за участю основ (24).



**Схема 1.10**

### 1.3. Синтез бензімідазолів

Оскільки похідні бензімідазолу відіграють важливу роль в медицині наразі розроблена велика кількість методів їх одержання. Найчастіше для цього виходять з *o*-фенілендіаміну з використанням різноманітних циклізуючих реагентів. Найбільш розповсюдженими з них є альдегіди, використання їх у цій реакції відоме дуже давно (36-38), тому для них досліджено й багато каталітичних систем, таких як наночастинки Co (39), Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (40), Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (41) поверхнево активні речовини (42). Показано, що з використанням щавлевої кислоти основним продуктом є N-заміщений бензімідазол (43). (схема 1.11)

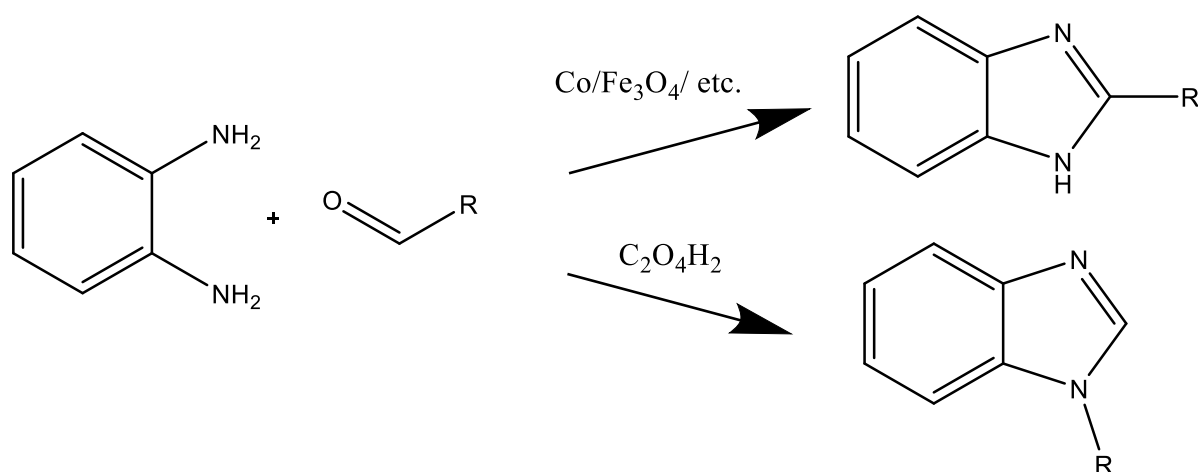


Схема 1.11

Останнім часом для одержання бензімідазолів все частіше використовуються й нові циклізуючі реагенти, наприклад CO<sub>2</sub> в присутності H<sub>2</sub> (44) чи інших відновлюючих реагентів, таких як диметиламіноборановий комплекс (45). (схема 1.12)

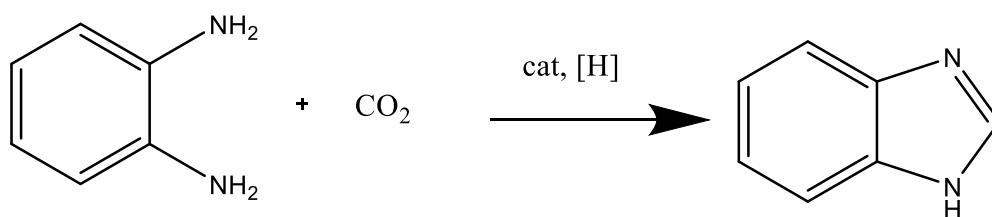
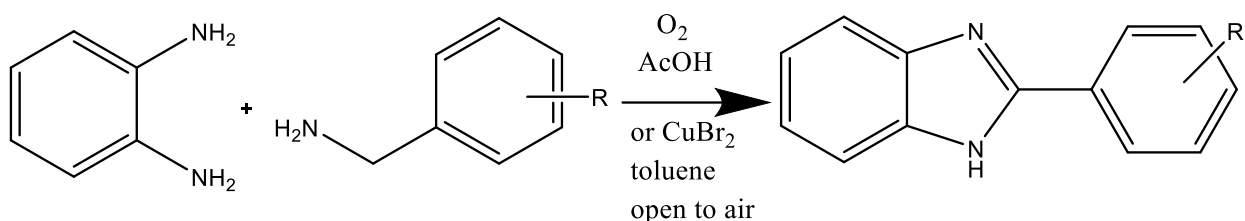


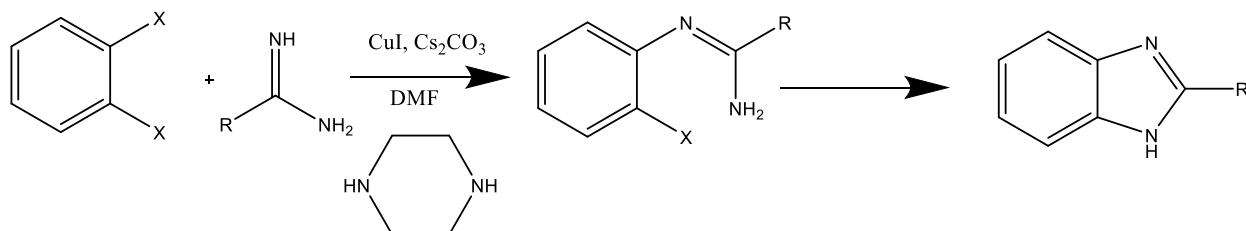
Схема 1.12

Також, в якості конденсуючих реагентів використовуються ДМФ (46, 47), метанол (48), етанол (49), мурашина кислота (50), метил- та етилортоформіати (51) та бензиламіни в атмосфері кисню (52) або каталітично на повітрі (53). (схема 1.13)



**Схема 1.13**

Іншим розповсюдженим класом вихідних сполук для одержання бензімідазолів є амідини. Найчастіше їх циклізують з 1,2-дигалогенбензенами (41, 54) при цьому нуклеофільне заміщення проходить послідовно, та в деяких випадках виділяють і проміжний продукт. (схема 1.14)



**Схема 1.14**

Іншим варіантом одержання бензімідазолів виходячи з амідинів є їх циклізація з *o*-галогенанілінами з використанням солей міді у якості каталізатору в присутності основи (55). Для одержання амінобензімідазолів замість амідинів можуть використовуватися тіосечовини (56). (схема 1.15)

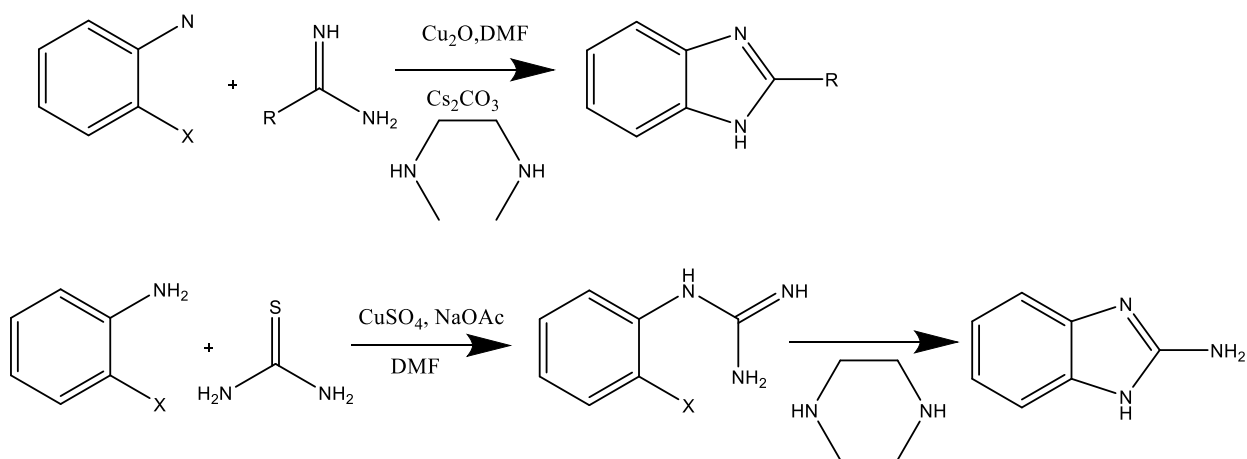


Схема 1.15

Наступними реагентами, що використовується для циклізації амідинів є 1-фтор-2-нітробензени, в цьому випадку відбувається нуклеофільне заміщення атому Флуору з наступною каталітичною внутрішньомолекулярною циклізацією (57). (схема 1.16)

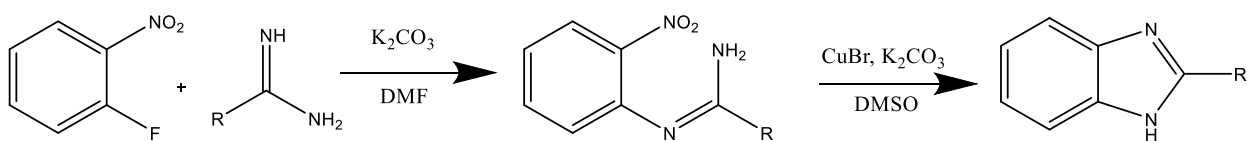


Схема 1.16

Окрім цього, амідини циклізують з ароматичними борними кислотами (58). Окиснення проводять у тій самій каталітичній системі в атмосфері кисню (схема 1.17)

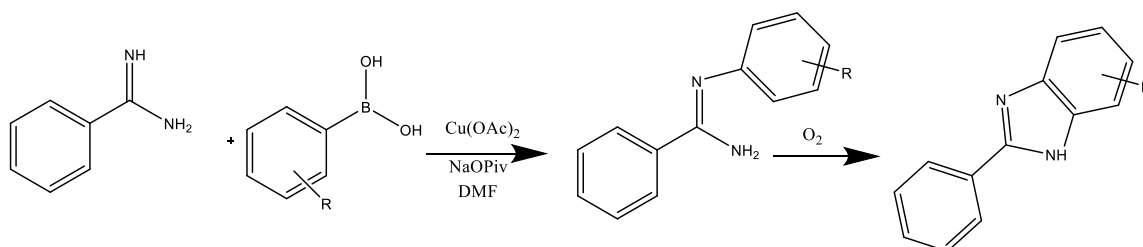
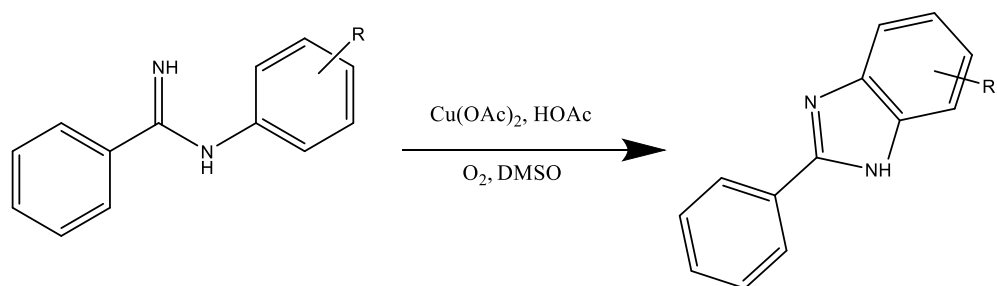


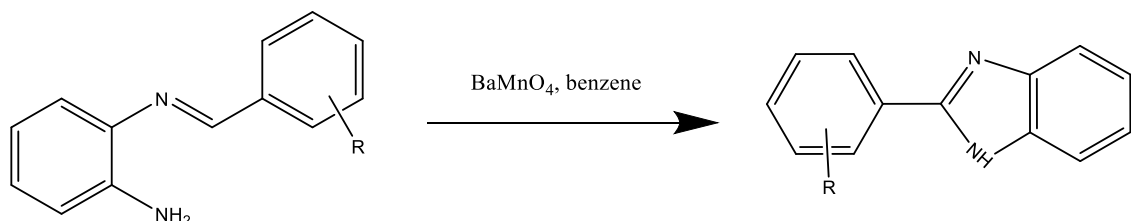
Схема 1.17

Самі амідини, що містять арильний замісник на амідній групі можуть бути окиснені з внутрішньомолекулярною циклізацією (59). (схема 1.18)



**Схема 1.18**

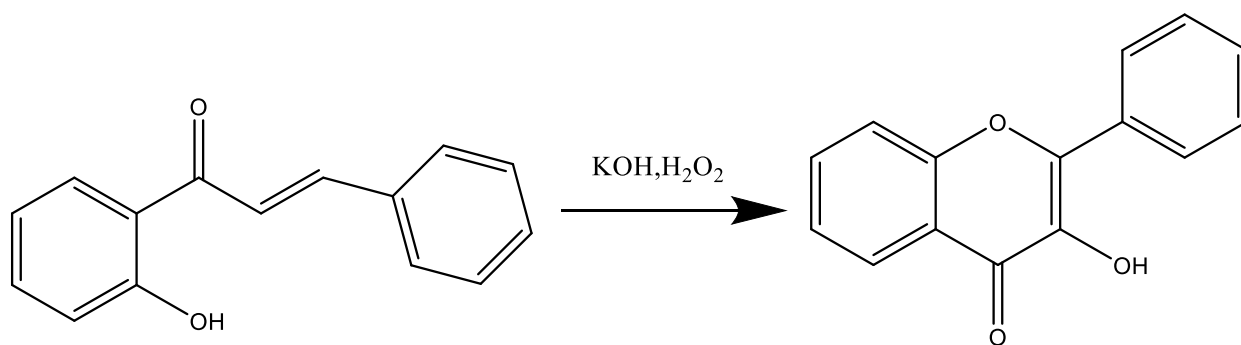
Також бензімідазоли одержують і внутрішньомолекулярною циклізацією, окислювач - перманганат барію (60). (схема 1.19)



**Схема 1.19**

#### 1.4. Синтез хромонів

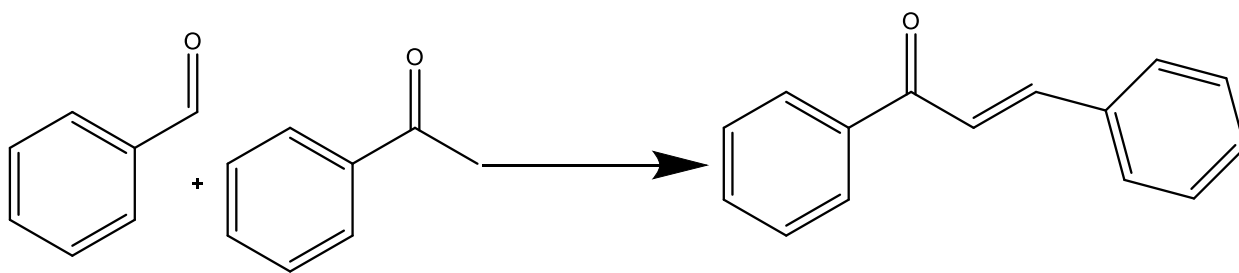
Хромони вже дуже тривалий час залишаються одними з найцікавіших об'єктів для флуоресцентної спектроскопії, насамперед через їх чутливість до різноманітних властивостей середовища та наявності внутрішньомолекулярного переносу протону у збудженому стані. Незважаючи на це методи їх синтезу дуже обмежені. Найбільш широко використовується метод Алгара-Фліна-Оямади (23, 61) (схема 1.20), що полягає в окисненні 1-(2'-гідрокси)-3-фенілпропенонів перекисом водню в лужному середовищі. З моменту відкриття за допомогою цього методу синтезовано велику кількість хромонів (62-64). Він залишається в незмінному вигляді протягом всього часу та в деяких випадках замість спирту в якості розчинника використовується тетрагідрофуран (65).



**Схема 1.20**

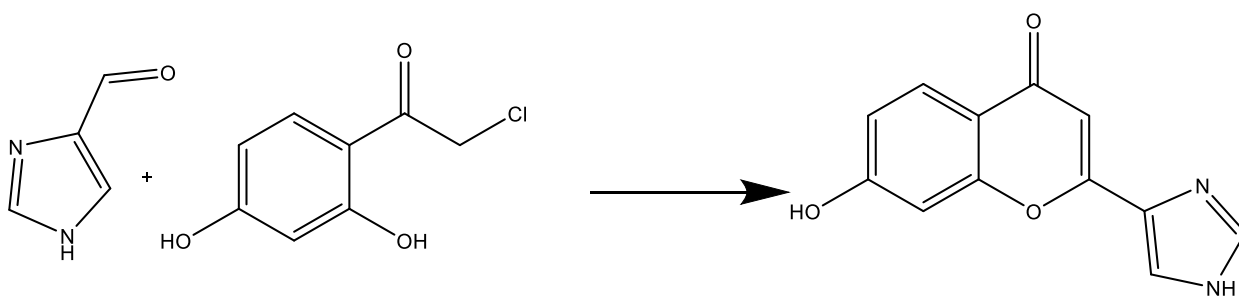
Метод може бути реалізований через пряме окиснення суміші, одержаної взаємодією *o*-гідроксиацетофенону з альдегідом, без виділення халкону, а в деяких випадках окиснюють халкон в флавон, з можливістю його подальшого окиснення в 3-гідроксифлавонол (66, 67).

Оскільки різноманітні заміщені халкони не є комерційними реагентами, для одержання флавонолів за вищезгаданим методом необхідний їх попередній синтез. Для одержання усіх халконів на даний момент використовується конденсація Кляйзена-Шмідта (схема 1.21). В методах її практичної реалізації є деякі відмінності. Принциповим є те, що метод каталізу може бути кислотним або лужним. В більшості випадків лужний каталіз показує значно кращі результати. Тому в трьох найбільш поширених методах в якості каталізаторів використовуються саме основи. В першому це гідроксид калію або натрію в водно-спиртовому розчині (68, 69), однак в багатьох випадках цей метод дає значно гірші результати саме випадку одержання 1-(2'-гідрокси)-3-фенілпропенонів. Інші варіанти – гідрид натрію в диметилформаміді або тетрагідрофурані (66, 70) або метилат натрію в метанолі (71). Також авторами (72). описаний й метод з мікрохвильовою активацією без використання розчинників.



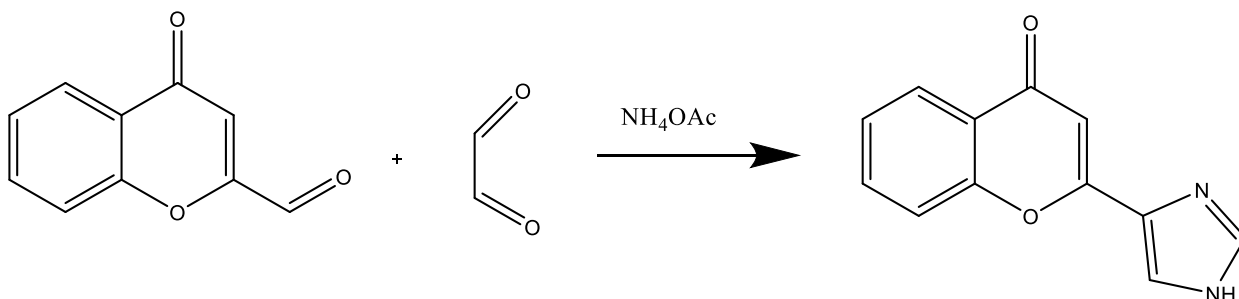
**Схема 1.21**

Хромони, що містять гетероциклічні замісники в положенні 2 найчастіше синтезують за тим же шляхом (73, 74), серед них зустрічаються й тiazолвмісні (75). Для їх одержання, також описаний підхід з використанням о-гідрокси-хлорацетофенону та гетероциклічного альдегіду (76) (схема 1.22), однак можливості окиснення таких похідних для одержання структури аналогічній флавонолам не досліджена.



**Схема 1.22**

Також хромони такого типу одержані авторами (77) на основі 4-оксо-4Н-хромен-2-карбальдегіду (схема 1.23).

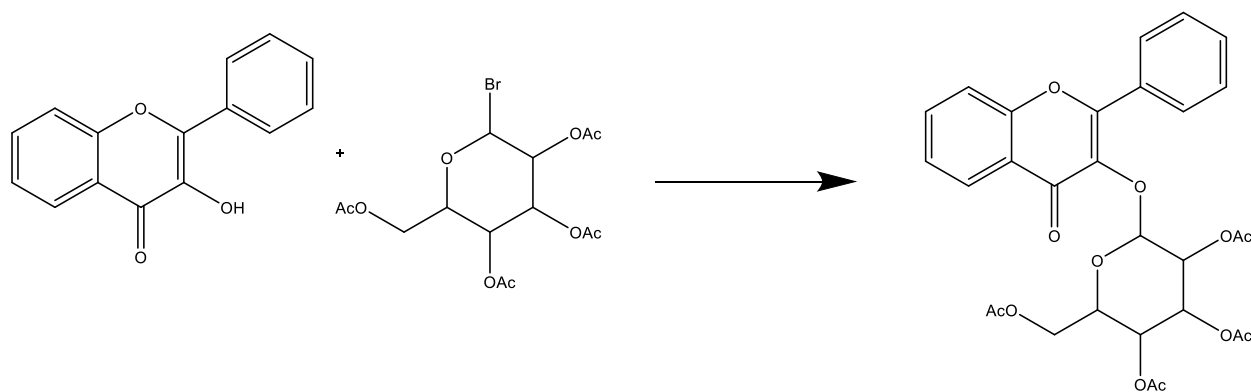


**Схема 1.23**

## 1.5. Глікозилювання хромонів

В збудженому стані для хромонів характерний перенос протону з гідроксигрупи в положенні 3 на сусідню карбонільну групу, саме завдяки цьому вони дуже чутливі до властивостей середовища. Тому, дуже цікавими є й можливості дослідження їх солей і комплексів утворених через його заміщення або стабілізацію. Ще одна важлива модифікація – його заміщення, з метою дослідження чинників, що можуть вивільнити вихідний хромон в розчині. Такими можуть слугувати як висока кислотність розчину, полярність розчинника а також наявність специфічних взаємодій. Поширеним класом сполук, що можуть досліджуватися таким чином є ферменти, через їх можливість до селективного проведення реакції та їх важливості в біологічних процесах. Так, метилювання чи ацилювання хромону за положенням 3 є тривіальною задачею, для цього використовують відповідно метилйодид (78) та хлорангідриди кислот. Проте таке заміщення веде до похідних, що не є перспективними оскільки елемінування такої групи зазвичай потребує жорстких умов, тому не може бути використане в більшості біологічних досліджень. Більш цікавим є заміщення фрагментами, що беруть участь в біологічних процесах, тому взаємодіють з відповідними ферментами. Одним з найбільш показових прикладів такої модифікації є заміщення вуглеводами, оскільки вони беруть участь в більшості біологічних процесів. Так 3,4-дигідроксифлавоноглікозид ще майже двадцять років тому був визначений як один з найбільш потенційних субстратів для визначення  $\beta$ -глікозидази (79). Такі похідні зазвичай нестійкі при високих температурах та жорстких умовах, тому їх одержання є значно складнішим завданням. Для одержання глікозидів наразі використовується декілька методів. В усіх проводиться взаємодія з бромтетраацетилглюкозою (схема 1.24).





**Схема 1.24**

Перший з цих методів це каталіз солями срібла за реакцією Кенігса-Кнора (37). Другим варіантом є міжфазний синтез з розчиненням вихідних реагентів в хлороформі, неорганічної основи в воді та додавання каталізатору міжфазного переносу – тетрабутиламоній броміду (80) або інші подібні реагенти. Інший метод – це пряма естерифікація в умовах розчинення як реагентів так і неорганічних основ, для цього використовують диметилформамід чи діоксан (81-83). Розробка нових методів одержання глікозильованих хромонів досі триває, а більшість таких похідних реагують з ферментами, що вказує на значний подальший науковий потенціал цього напрямку.

### **1.6. Властивості бензімідазолів**

Тіазоловмісні похідні бензімідазолу вже після першого дослідження їх біологічної активності в 1961-му році були віднесені до нового класу антигельмінтних засобів (84), через декілька років тіабендазол (2-(тіазол-4-іл)бензімідазол) був запатентований (85), а згодом було виявлено його фунгіцидні властивості, завдяки чому він до нинішнього часу застосовується в медицині та сільському господарстві.

Достатньо швидко були синтезовані і похідні 2-(тіазол-5-іл)бензімідазолу (86), а також амідні 2-амінофенілсульфінілбензімідазолу. Вони показали кращі антигельмінтні властивості в порівнянні з

тіабендазолом у випадку їх використання для лікування домашніх тварин (87). Структурні дослідження були проведені авторами (88).

В останні роки кількість досліджень в цьому напрямку суттєво зростає, зокрема вже виявлена протипухлинна активність багатьох похідних бензімідазолу (89-95), їх протівірусні властивості (96-98). Авторами (99) виявлено, що саме бензімідазоли з гетероциклічними замісниками в положенні 2 демонструють найкращу антипаразитарну активність серед сполук цієї серії. Для покращення розуміння дії препаратів обговорюваної серії досліджується їх метаболізм в організмах домашніх тварин (100). Останні біологічно-орієнтовані роботи продемонстрували високу активність похідних бензімідазолу щодо ферменту PDE10A (101, 102), що обумовило високий інтерес до них як до ліків ще й від захворювань ЦНС. (PDE10A – це регуляторний білок, який бере участь у передачі сигналів смугастого тіла, ділянки мозку, важливого для контролю руху та пізнання. Порушення функції смугастого тіла пов'язують із розвитком шизофренії. Інгібування PDE10A було ідентифіковано як потенційний засіб для лікування розладу)

З іншого боку, окрім біологічної активності бензімідазоли цікаві також в напрямі дослідження їх спектрально-люмінісцентних властивостей і комплексоутворення. Їх вивчення почалося в 70-80х роках ХХ століття, коли були досліджені 1-[2'-(1'-метил)бензімідазоліл]-2-арилетилени (103) а також сам бензімідазол та тіабендазол (104), що в залежності від замісників мають максимуми люмінесценції в діапазоні 360-400 нм та високі квантові виходи до 0.7, а також є дуже чутливими до властивостей середовища, насамперед кислотності.

Останнім часом, інтерес до них знов зростає через їх властивості в якості лігандів. Так, авторами (105) показано утворення комплексів триазолбензімідазолів з іонами  $Zn^{2+}$ , при цьому можуть бути одержані комплекси що містять від 1 до 4 лігандів на катіон. В роботі (106) досліджений 2-піридинілбензімідазол, та показано його комплексоутворення з іонами  $Au^+$  та  $Au^{3+}$ . Люмінесценція як ліганду так і комплексу знаходиться

на 460-470 нм, проте квантовий вихід суттєво зменшується з утворенням комплексу від 0.3 у ліганду до 0.1 у комплексу, що дозволяє використовувати такі ліганди в аналізі. Проводяться й дослідження для аналогічних за структурою сполук –бензоксазолів та бензтіазолів, так авторами (107) показана їх взаємодія з іонами  $Ga^{3+}$  та  $In^{3+}$ , про що свідчить гіпсохромний зсув їх піків люмінесценції на 40-50 нм.

Також цікавою є можливість їх використання як зондів з внутрішньомолекулярним переносом протону через введення протондонорних груп, таких як ОН чи  $NH_3^+$  групи в замісник, як це було показано в роботах (108, 109), це призводить до появи другого люмінесцентного піку з великим Стоксовим зсувом. Така модифікація додатково розширює можливості їх використання.

### **1.7. Властивості хромонів**

Різноманітні флавоноли наразі знаходять широке використання в фізико-хімічній органічній хімії насамперед через їх люмінесцентні властивості та їх залежності від середовища (110, 111). Вони можуть бути використані як детектори на деякі катіони (5, 112), аніони (22), а також на окремі сполуки (113, 114). Вони дозволяють досліджувати полярність розчинника, ліофільність, іону силу розчину тощо (19, 115-117). Флаваноли знаходять широке використання в біохімічних дослідженнях (118-120), та в якості зондів для вивчення можливостей доставки ліків в необхідну зону за допомогою ‘молекул-контейнерів’ (121).

Флуоресцентні зонди на основі хромону представляють клас екологічно чутливих барвників, емісійні властивості яких дуже чутливі до їхнього безпосереднього оточення (122-128). Примітною особливістю цих зондів є те, що завдяки присутності гідроксильної групи в положенні 3, вони здатні до внутрішньо-молекулярного переносу протонів у збудженому стані (ESIPT). (рис.1.1)

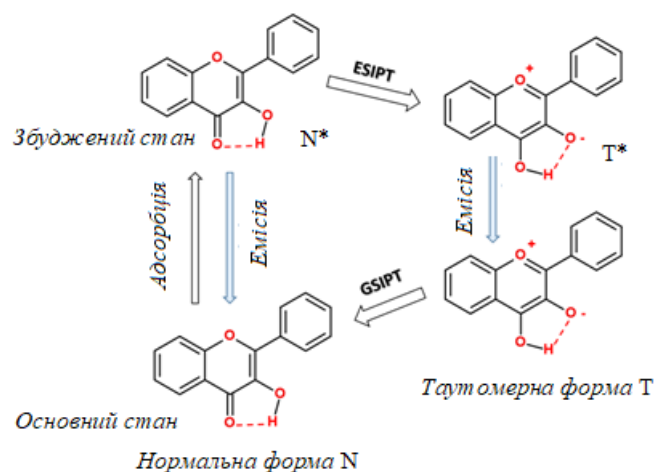


Рисунок 1.1 Схема двохвильового випромінювання хромонів

Реакція перенесення протона відбувається через внутрішньомолекулярний міст водневого зв'язку, що призводить до надзвичайно швидкої ( $k_{\text{ESIPT}} > 10^{12} \text{ c}^{-1}$ ) фототаутомеризації з нормального стану ( $\text{N}^*$ ) в стан таутомера ( $\text{T}^*$ ) (128-130). ESIPT призводить до появи двохвильового випромінювання у хромонів. Крім того, відношення інтенсивності смуг випромінювання нормальних до таутомерних може бути налаштовано донорними/акцепторними замісниками у хромоновому фрагменті, що сильно залежить від середовища (122, 129, 131).

Було показано, що зонди на основі хромону можна використовувати як чутливі до навколишнього середовища флуорофори для моніторингу полярності розчинника (122, 132, 133) та рН (134, 135), а також визначення слідів води в органічних розчинниках (136). Унікальні оптичні властивості та біосумісність робить хромони перспективними флуоресцентними зондами для вивчення структури амбіфільних полімерів (137) і біомакромолекул (138). Вагомий ефект «посилення флуоресценції» спостерігався при селективному зв'язуванні флавонолів з деякими білками, такими як лізоцими (139) та альбуміни (113, 138). Селективність флавонолів до певних білків була використана для розробки нових аналізів виявлення флуоресценції (138, 140, 141). Крім того, зонди на основі хромонів також продемонстрували низький вплив збурень на фізичний стан ліпідної мембрани (142), тому деякі

флуоресцентні флавоноли були використані для флуоресцентного зображення клітин (143-145).

В роботах (146, 147) зазначено, що зонди на основі флавонолу, наприклад 4-фторфлавонол  $\beta$ -D-глюкопіранозид, можуть використовуватись для флуоресцентної індифікації активності ферменту  $\beta$ -глікозидази.  $\beta$ -Глікозидаза це підклас ферментів гідролаз, що каталізують гідроліз арил- та алкіл-  $\beta$ -D-глікозидів, а також целобіоз. Вони присутні в рослинах, грибах, тваринах та бактеріях. З промислової точки зору цей клас цікавий в напрямку вироблення біопалива та розщеплення олігосахаридів, оскільки вони можуть слугувати каталізатором розщеплення великої кількості субстратів в таких виробництвах (148). Регулювання активності  $\beta$ -глікозидази може мати й пряме медичне використання в лікуванні наприклад таких захворювань як хвороба Гоше (149), діабету та вірусних інфекціях (150, 151), а також підвищити ефективність хіміотерапії при ракових захворюваннях (152). Саме тому, наразі велику кількість інгібіторів глікозидаз виділяють з природних джерел, а також одержують синтетично (151, 153-158).

Однак їх потенціал набагато ширший, наразі ще досліджуються їх різноманітні властивості, наприклад для дослідження міжмолекулярних взаємодій методом раціометрії довжини хвилі, який дозволяє отримувати як термодинамічні, так і кінетичні параметри та може застосовуватися в різноманітних технологіях зондування та візуалізації. (159, 160), результати таких досліджень можуть ще більше розширити сферу їх використання.

## ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

1. Сучасні методи синтезу 5-формілтiazолів, дозволяють одержати багато таких похідних, однак ефективних методів для одержання 2-гетарил-4-галогенпохідних не було розроблено.

2. Наявність внутрішньо молекулярного переносу протону в збудженому стані характерний для хромонів зумовлює високий інтерес до їх дослідження як люмінесцентних зондів з широким спектром використання, найбільш дослідженими є флавоноли, на відміну від 2-гетарилхромонів.

3. Глюкозильовані похідні хромону розглядають як потенційні зонди для ідентифікації низки ферментів, що викликає великий інтерес до вивчення специфіки взаємодії глікозид хромону-фермент.

## РОЗДІЛ 2

### МОДИФІКАЦІЯ 2,4-ДИГАЛОГЕНТІАЗОЛІВ ЗА РЕАКЦІЄЮ СТІЛЛЕ

#### 2.1 Розробка умов одержання 2-гетарилтіазолів

##### 2.1.1. Реакції крос-сполучення

Методів одержання похідних 5-формілтїазолів, виходячи із наведених даних в попередньому розділі, досить багато, проте більшість з них не дає можливості одержати похідні з гетероциклічним замісником в положенні 2. Карбонільні похідні є одними з найбільш зручних прекурсорів для подальшої модифікації: одержання кислот, естерів, спиртів, амінокислот, халконів, тощо. Відомо, що хімія халконів і їх аналогів активно розвивається протягом останніх десятиліть. Важливою проблемою залишається їх вибіркова модифікація (161). У попередніх роботах отримано халкони з 2,4-дихлортїазольним фрагментом і показано шляхи їх модифікації діалкіламіно- та метоксигрупам (162). Подібні дибромпохідні також були вивчені (оскільки в деяких випадках їх реакційна здатність була значно вищою) (163). Такі тїазольмісні аналоги халконів заслуговують на більш пильну увагу через використання близьких до них сполук, як у медицині, так і як лігандів Pd-катализаторів у органічному синтезі (164-166). Наявність гетероциклічного замісника в положенні 2 тїазольного циклу створює додатковий центр комплексоутворення, що може суттєво розширити можливості їх використання.

У цьому розділі запропоновано різні підходи для модифікації тїазольного кільця з використанням ряду різних замісників. Першим із них була циклізація тїазолу на основі похідних тїосечовини з подальшою їх модифікацією. Однак цей шлях не дозволив досягти великої різноманітності замісників, що було суттєвим недоліком. Крім того, доступність вихідних тїосечовин значно зменшує кількість похідних, які можна отримати таким способом.

Іншим підходом, що може дозволити одержати великий ряд 2-гетарил-5-формілтiazолів є заміщення галогену у відповідних альдегідах. Виходячи з розглянутого в 1-му розділі найбільш розповсюдженим способом такого перетворення є реакції крос-сполучення Сузукі та Стіллі (167). Однак спроби введення 2,4-дигалогенотiazолу в реакцію Сузукі з борними кислотами не привели до утворення очікуваних продуктів, що може бути пов'язано з впливом тiazольного циклу. Хоча, 2,4-дигалогенотiazоли реагують з ефірами борних кислот, однак умови взаємодії, що забезпечують достатні виходи, не були визначені. Реакція крос-сполучення Стіллі відразу ж показала значно кращі результати, тому стала предметом більш детального вивчення.

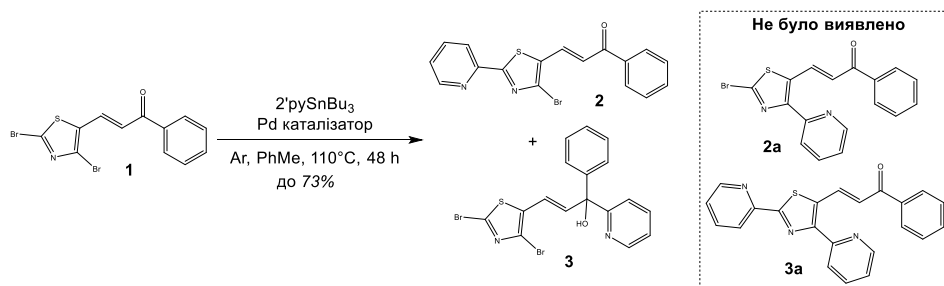
### 2.1.2. Порівняння ефективності каталізаторів в реакції Стіллі

Виходячи з вищезгаданого, найбільший інтерес в роботі був приділений реакції Стіллі. Перший етап дослідження присвячений пошуку найбільш ефективного каталізатора. Відомо, що для цієї реакції зазвичай використовуються  $\text{Pd}(\text{PPh})_4$  і  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ . Незважаючи на відсутність прикладів використання в цій реакції прекаталізаторів Бучвальда  $\text{Pd G3}$  і  $\text{Pd G4}$  з різними лігандами, вони показали відмінні результати в ряді інших реакцій крос-сполучення (168), тому цей факт спонукав нас перевірити їх ефективність. Модельною реакцією було обрано взаємодію 3-(2,4-дибромтiazоліл)-1-фенілпропенону з 2-піридинтрибутилстананом для дослідження регіоселективності взаємодії в присутності ряду каталізаторів. Реакція виявилася цікавою з точки зору порівняння реакційної здатності C2 і C4 положень 2,4-дибромтiazолів. У результаті в більшості випадків спостерігалось утворення суміші продуктів (схема 2.1, табл. 2.1).

При цьому передбачувані продукти реакції по позиціях C4 (сполука **2a**) або як по C2, так і по C4 (сполука **3a**) виявлені не були. Було виявлено, що побічний продукт утворювався внаслідок взаємодії по карбонільній групі. В результаті були визначені найбільш ефективні каталізатори для отримання як



основного продукту **2** (№ 5,8, табл. 2.1), так і побічного продукту **3** (№ 3,4, табл. 2.1).



**Схема 2.1**

*Таблиця 2.1*

**Вихід продуктів реакції Стилле 3-(2,4-дибромтіазоліл)-1-фенілпропенонону з різними каталізаторами**

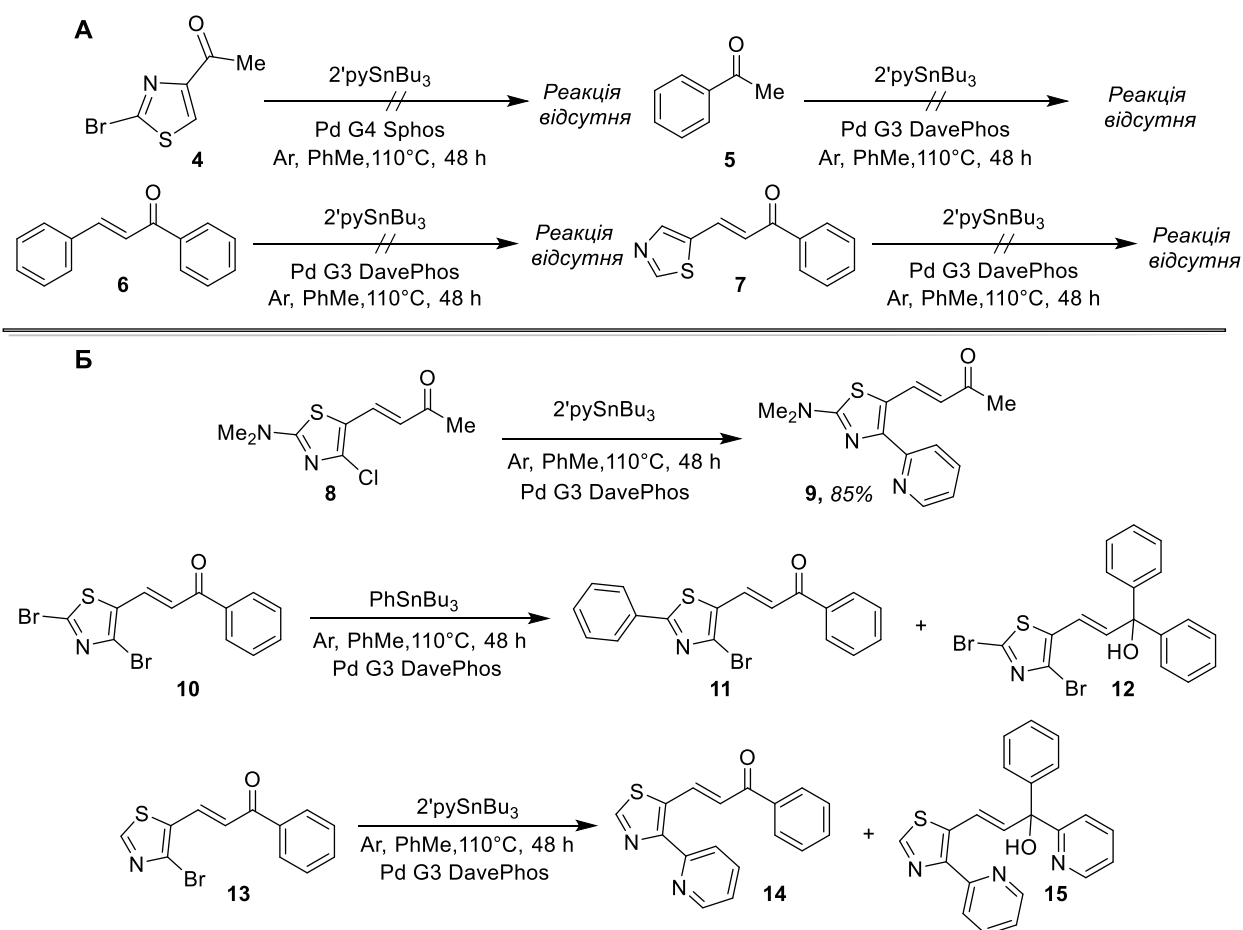
№	Каталізатор	Вихід продукту 2,%	Вихід продукту 3,%
1	Pd(PPh) <sub>4</sub>	40	0
2	Pd G4 XantPhos	0.5	5
3	Pd G4 Sphos	1.3	7.15
4	Pd G3 DavePhos	24.25	14.55
5	Pd G3 CataCXium A	65.2	0
6	Pd G4 <i>t</i> -BuXphos	11.1	1.85
7	Pd G3 XantPhos	15.4	7.7
8	Pd G3 AmPhos	73.3	3.8
9	Pd G4 <i>t</i> -BuBrettPhos	13.3	3.42
10	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	8.4	4.2
11	Pd G3 SPhos	30.8	5.7

12	Pd G3 Xphos	9.9	1.65
13	Pd G3 <i>t</i> -BuBrettPhos	26.4	6.6
14	Pd G4 Xphos	18	10.8
15	Pd G3 <i>t</i> -BuXphos	22.2	0

Був зроблений висновок, що Pd G3 DavePhos є менш придатним для синтезу побічного продукту, ніж Pd G4 Sphos, про що свідчить відношення виходу побічного продукту до основного, а регулювання часу протікання реакції дає змогу збільшити загальний вихід продуктів, оскільки в багатьох проведених експериментах в реакційній суміші ще залишався вихідний пропенон. Крім того, припускаємо, що каталізатори №3 і №4 можуть бути більш ефективними для синтезу на основі вихідних реагентів, що не містять активних галогенів.

### 2.1.3. Дослідження побічної реакції в умовах реакції Стілле

Така можливість взаємодії карбонільної групи в структурі, що містить атоми Броду з високою реакційною здатністю, є дуже перспективною. Таким чином, був розкритий новий тип реакції для введення арильних замісників за карбонільною групою пропенонового фрагменту. Авторами (169) повідомлялося про подібну взаємодію. Однак, це було показано лише для алкільних похідних. Слід також зазначити, що халкони, на відміну від використаних в цій роботі аналогів, не мали активного атому Броду, здатного взаємодіяти з похідними олова. Отримавши такий незвичайний результат, було вирішено провести серію експериментів з різними карбонільними сполуками.



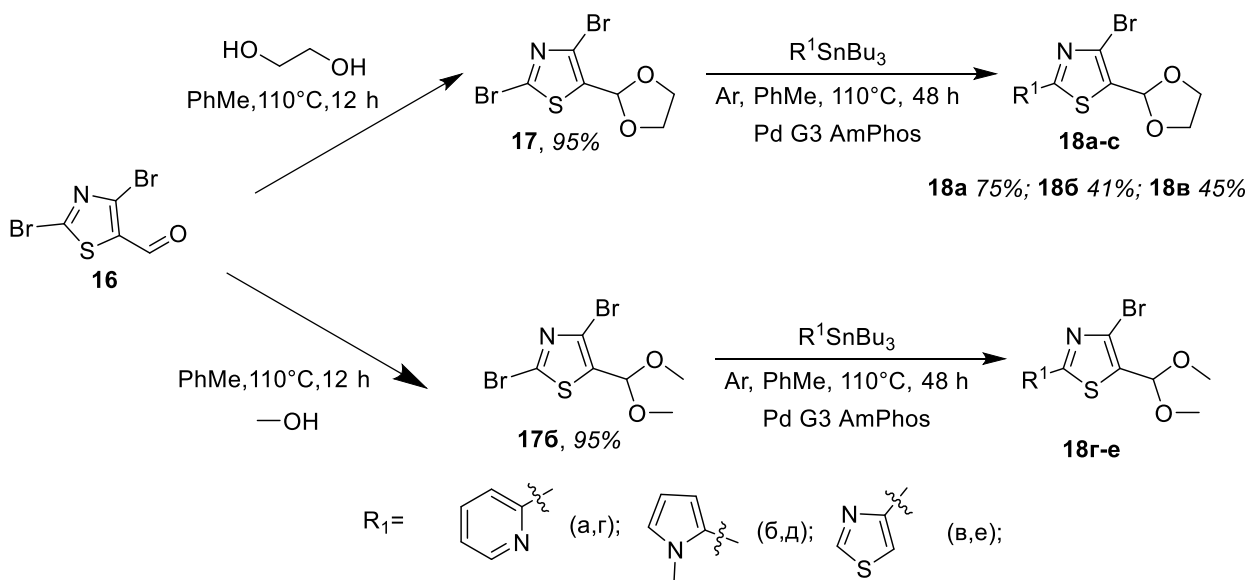
**Схема 2.2**

На першому етапі реакцію було випробовувано на 2-бром-4-ацетилтіазолі **4** та ацетофеноні **5**. В цьому випадку був одержаний неочікуваний результат: застосування каталізаторів Pd G3 DavePhos і Pd G4 Sphos не привело до утворення продуктів приєднання за карбонільною групою. Враховуючи, що відмінність в спряжених системах може бути причиною, що призводить до іншого результату, були проведені реакції халкону **6** і його тіазоловмісного аналогу **7**, однак вони також показали відсутність взаємодії в згаданих умовах. (схема 2.2 А) Аналогічний експеримент був проведений для 2'-диметиламіно-4'-хлортіазол-5'-іл-бут-3-ен-2-ону **8**. У цьому випадку, незважаючи на меншу активність атома Хлору в порівнянні з атомом Бромом в положенні 4 тіазольного фрагменту, реакція протікала в положенні С4 з утворенням сполуки **9** і побічний продукт не спостерігався. (схема 2, Б) Цей факт підтверджує дуже значну різницю в реакційній здатності між 1-метил- і 1-феніл-3-(тіазол-5-іл)пропенонами.

Серед інших можливих факторів, які впливають на взаємодію викликає питання роль замісника у станані. Для її дослідження була проведена реакція 3-(2,4-дибромтіазол-5-іл)-1-фенілпроп-2-ен-1-ону **10** за тих самих умов з трибутилфенілстананом. В результаті реакції одержано два альтернативних продукти **11** і **12** (схема 2.2, Б). Той факт, що ці продукти аналогічні одержаним при використанні трибутил-2-піридинілстанану, підтверджує, що фрагмент 2-піридилу не відіграє значної ролі в цій взаємодії. У випадку проведення реакції з 3-(4-бромтіазол-5-іл)-1-фенілпроп-2-ен-1-ону **13** отримано продукти послідовних реакцій в тіазольному кільці **14** і по карбонільній групі **15**. Це свідчить про значний вплив атома Броду в положенні 2 кільця на тіазоліл-пропенонову систему. Припускаємо, що зібраних результатів ще недостатньо, щоб зробити більш конкретні висновки щодо взаємодії стананів з карбонільними сполуками. Проте вони створюють передумови для подальшого дослідження в цьому напрямі.

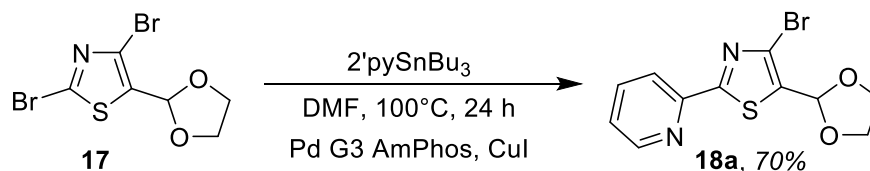
## 2.2. Синтез 2-гетарил-5-формілтіазолів

На наступному етапі 2,4-дибром-5-формілтіазол **16** був введений в реакцію Стілле з трибутилпіридинілстананом для модифікації альдегіду, однак вона призвела до утворення суміші великої кількості продуктів, які складно ідентифікувати. Для модифікації карбонільної сполуки було прийнято рішення використовувати ацетальний захист. Спершу був одержаний метиловий ацеталь, який був введений в реакцію Стілле, однак на подальшому етапі зняття захисту протікала й зворотна реакція, що унеможливило одержання чистих альдегідів та суттєво зменшувало виходи продуктів. Тому було вирішено використовувати діоксолановий захист, який може бути елімінований в більш м'яких умовах з використанням щавлевої кислоти та силікагелю (27). Такий підхід дав можливість урізноманітнити ряд продуктів, одержаних з використанням ряду стананів з хорошими виходами (схема 2.3).



**Схема 2.3.**

Масштабування цього підходу призвело до різкого зниження ефективності реакції. Так, в згаданих умовах при проведенні синтезу з 1 г. 3-(2,4-дібромтіазоліл)-1-фенілпропенону вихід знижувався до 2-7% в залежності від каталізатору, що приблизно в 10 разів нижче за результати експериментів на 10-100 мг вихідної сполуки. Для вирішення цієї проблеми була проведена серія дослідів з використанням різних розчинників, та додаванням сокаталізаторів. Найкращі результати показав експеримент із проведенням реакції в ДМФ з використанням CuI у якості сокаталізатора (схема 2.4). Цей метод дозволив проводити такі взаємодії в більших масштабах. За декількома експериментами виявлено співпадіння виходів в залежності від використаного каталізатора з даними описаними в таблиці 2.1.



**Схема 2.4.**

**2.3. Методика одержання та фізико хімічні характеристики продуктів.**

**2.3.1. Методика синтезу 2,4-дібром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)тіазол (17)**

2,4-Дибром-5-формілітіазол **16** (1.0 г., 3.7 ммоль) розчиняють в 20 мл. толуолу, додають етиленгліколь (0.69 г, 11.1 ммоль) та *n*-толілсульфокислоти (34 мг., 0.2 ммоль). Суміш кип'ячать впродовж 24 годин, упарюють, заливають 10 мл. Води та екстрагують *трет*-бутил-метиловим етером 3×5 мл. Промивають насиченим розчином NaCl 3×10 мл. Органічну фазу сушать Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрують та упарюють.

Жовтий порошок. Вихід 1.1 г. (95%) Розраховано для C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>S, %: C 22.88; H 1.60; Br 50.74; N 4.45; O 10.16; S 10.17. Знайдено, %: C 22.87; H 1.60; Br 50.73; N 4.46; S 10.19. <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м.ч.: 3.93–4.12 (4H, м, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 5.96 (1H, с, CH). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м.ч.: 65.09; 97.84; 122.94; 135.21; 136.66. Мас-спектр, *m/z* (*I*<sub>відн.</sub>, %): 314 (30); 316 (60); 318 (30).

### 2.3.2. Методика синтезу 4-бром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)-2-(піридин-2-іл)тіазол (**18a**)

*Метод А.* 2,4-дибром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)тіазол **17** (100 мг., 0.32 ммоль) і 2-(трибутилстанніл)піридин (117 мг., 0.32 ммоль) поміщають в колбу на 10 мл та розчиняють в 4 мл толуолу. Потім розчин барботують аргоном протягом 15 хвилин та додають каталізатор Pd G3 AmPhos (5 моль%). Реакційну суміш перемішують протягом 48 годин при 110°C, після цього охолоджують до кімнатної температури. Продукт відділяють за допомогою флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, градієнт від 100:0 до 20:80).

Жовтий порошок. Вихід 75 мг. (75%). Розраховано для C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S, %: C 42.19; H 2.90; Br 25.51; N 8.95; O 10.22; S 10.23. Знайдено, %: C 42.18; H 2.90; Br 25.52; N 8.96; S 10.23. <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м.ч.: 3.97–4.23 (4H, м, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 6.14 (1H, с, CH); 7.34 (1H, т, *J* = 6.2 Гц, N=CH-CH); 7.79 (1H, т, *J* = 7.8 Гц, N=CH-CH=CH); 8.16 (1H, д, *J* = 7.8 Гц, N=CH-CH=CH-CH); 8.58 (1H, д, *J* = 4.8 Гц, N=CH). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м.ч.: 65.04;

98.51; 119.06; 124.69; 125.08; 133.69; 136.63; 149.01; 149.61; 168.84. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 313 (100); 315 (98).

*Метод Б.* 2,4-дибром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)тіазол **17** (1.0 г., 3.2 ммоль) і 2-(трибутилстанніл)піридин (1.17 г., 3.2 ммоль) поміщають в колбу на 50 мл. та розчиняють в 20 мл. диметилформаміду, після цього додають каталізатор Pd G3 AmPhos (5 моль%) та CuI (12 мг., 0.064 ммоль). Реакційну суміш перемішують 24 години при 100°C, після чого після цього охолоджують до кімнатної температури. Продукт відділяють за допомогою флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, градієнт від 100:0 до 20:80). Метод забезпечує вихід 0.7 г. продукту (70%) з усіма фізичними та спектральними характеристиками однаковими з одержаним за *Методом А*.

### 2.3.3. Методика синтезу 4-Бром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)-2-(1-метил-1H-1,2,3-тріазол-5-іл)тіазолу (**18б**)

Продукт синтезували згідно з методом, описаним для сполуки **18а** (*Метод А*).

Жовтий порошок. Вихід 41 мг. (41%). Розраховано для  $C_9H_8BrN_4O_2S$ , %: С 34.08; Н 2.86; Br 25.19; N 17.67; O 10.09; S 10.11. Знайдено, %: С 34.09; Н 2.85; Br 25.17; N 17.68; S 10.12.  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 3.98 – 4.22 (4H, м,  $CH_2-CH_2$ ); 4.38 (3H, с, N- $CH_3$ ); 6.10 (1H, с, CH); 8.01 (1H, с,  $CH$  триазол).  $^{13}C$  NMR (126 МГц,  $CDCl_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 13.09; 37.01; 65.19; 98.09; 125.69; 132.42; 133.82; 154.25; 158.54. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 317 (100); 319 (98).

### 2.3.4. Методика синтезу 4-Бром-5-(1,3-діоксолан-2-іл)-2,4'-бітіазолу (**18в**)

Продукт синтезували згідно з методом, описаним для сполуки **18а** (*Метод А*).

Оранжевий порошок. Вихід 46 мг. (45%). Розраховано для  $C_9H_7BrN_2O_2S_2$ , %: С 33.87; Н 2.21; Br 25.03; N 8.78; O 10.02; S 20.09. Знайдено, %: С 33.86; Н 2.20; Br 25.04; N 8.79; S 20.09.  $^1H$  NMR (400 МГц,

$\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 3.86 – 4.29 (4H, м,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ); 6.13 (1H, с, CH); 8.08 (1H, с,  $\text{C=CH-S}$ ); 8.82 (1H, с,  $\text{S-CH-N}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 65.04; 98.49; 116.47; 125.20; 131.65; 148.74; 153.17; 162.53. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 319 (100); 321 (98).

### 2.3.5. Методика синтезу 3-(2,4-дибромтіазол-5-іл)-1-фенілпроп-2-ен-1-ону (1)

2,4-Дибром-5-формілтіазол **16** (1.0 г., 3.7 ммоль) розчиняють в 10 мл. оцтової кислоти та додають ацетофенон (0.44 г., 3.7 ммоль) та 0.1 мл. концентрованої  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Суміш перемішують при  $60^\circ\text{C}$  протягом 24 годин, потім упарюють та доливають 10 мл води. Утворений осад фільтрують та промивають водою.

Оранжевий порошок. Вихід 0.83 г. (60%). Розраховано для  $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{Br}_2\text{NOS}$ , %: С 38.64; Н 1.89; Br 42.84; N 3.75; O 4.29; S 8.59. Знайдено, %: С 38.63; Н 1.88; Br 42.85; N 3.75; S 8.60.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 7.27 (1H, д,  $J = 15.5$  Гц,  $\text{C(O)CH}$ ); 7.54 (2H, т,  $J = 7.6$  Гц,  $m\text{-CH(Ph)}$ ); 7.63 (1H, т,  $J = 7.3$  Гц,  $p\text{-CH(Ph)}$ ); 7.85 (1H, д,  $J = 15.4$ ,  $\text{C(O)CH=CH}$ ); 7.99 (2H, д,  $J = 7.7$  Гц,  $o\text{-CH(Ph)}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 125.96; 128.50; 128.83; 131.98; 133.42; 134.62; 137.24; 137.60; 188.62. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 372 (18); 374 (50); 376 (18).

### 2.3.6. Методика синтезу 3-(4-Бром-2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-1-фенілпроп-2-ен-1-ону (2)

Продукт синтезували згідно з методом, описаним для сполуки **18a** (Метод А).

Оранжевий порошок. Вихід 72 мг. (73%). Розраховано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{OS}$ , %: С 55.00; Н 2.99; Br 21.52; N 7.55; O 4.31; S 8.63. Знайдено, %: С 54.98; Н 2.99; Br 21.53; N 7.56; S 8.62.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 7.39 (1H, т,  $J = 6.2$  Гц,  $\text{N=C-CH=CH}$ ); 7.43 (1H, д,  $J = 15.5$ ,  $\text{C(O)-CH=CH}$ ); 7.51 (2H, т,  $J = 7.6$  Гц,  $m\text{-CH(Ph)}$ ); 7.60 (1H, т,  $J = 7.3$  Гц,  $p\text{-CH(Ph)}$ );



7.82 (1H, т,  $J = 7.7$  Гц, N=C-CH); 7.93 (1H, д,  $J = 15.4$  Гц, C(O)-CH=CH); 7.99 (2H, д,  $J = 7.7$  Гц, *o*-CH(Ph)); 8.20 (1H, д,  $J = 7.9$  Гц, N=C-CH=CH-CH); 8.62 (1H, д,  $J = 4.8$  Гц, N-CH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 119.72; 124.94; 125.25; 128.03; 128.32; 131.86; 132.59; 132.74; 132.90; 136.82; 137.14; 149.17; 149.30; 168.91; 188.54. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 371 (100); 373 (90).

### 2.3.7. Методика синтезу 3-(4-Бром-2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-1-феніл-1-(піридин-2-іл)проп-2-ен-1-олу (3)

Продукт синтезували згідно з методом, описаним для сполуки **18a** (Метод А).

Оранжевий порошок. Вихід 17 мг. (14%). Розраховано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{N}_2\text{OS}$ , %: С 45.16; Н 2.68; Br 35.34; N 6.20; О 3.54; S 7.08. Знайдено, %: С 45.15; Н 2.68; Br 35.32; N 6.21; S 7.09.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 6.69 (1H, д,  $J = 15.6$  Гц, C(OH)-CH=CH); 6.88 (1H, д,  $J = 15.6$  Гц, C(OH)-CH=CH); 7.33 (2H, д,  $J = 7.6$  Гц, *o*-CH(Ph)); 7.39 (1H, д,  $J = 7.7$  Гц, N=CH-CH=CH-CH); 7.34 (2H, т,  $J = 7.5$  Гц, *m*-CH(Ph)); 7.37 – 7.46 (3H, м, N=CH-CH, *p*-CH(Ph)); 8.59 (1H, д,  $J = 4.8$  Гц, N-CH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 77.60; 118.82; 121.44; 122.50; 123.19; 126.50; 127.50; 128.08; 133.55; 135.22; 137.26; 139.11; 143.79; 146.92; 160.67. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 451 (5); 453 (10); 455 (5); 433 (25); 435 (50); 437 (25).

### 2.3.8. Методика синтезу 4-(2-(Диметиламіно)-4-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)бут-3-ен-2-ону (9)

Продукт синтезували згідно з методом, описаним для сполуки **18a** (Метод А).

Оранжевий порошок. Вихід 100 мг. (85%). Розраховано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{OS}$ , %: С 61.52; Н 5.53; N 15.37; О 5.85; S 11.73. Знайдено, %: С 61.51; Н 5.52; N 15.36; S 11.75.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 2.30 (3H, с, C(O)-CH<sub>3</sub>); 3.15 (6H, с, CH<sub>3</sub>-N-CH<sub>3</sub>); 6.10 (1H, д,  $J = 15.7$  Гц, C(O)-CH); 7.20 (1H, д,  $J = 6.4$  Гц, C(O)CH-CH); 7.72 (1H, д,  $J = 7.6$  Гц, N-CH=CH); 8.02 (1H,

д,  $J = 7.9$  Гц, N=CH-CH=CH); 8.63 (1H, д,  $J = 4.9$  Гц, N=C-CH); 8.91 (1H, д,  $J = 15.4$  Гц, N-CH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 25.99; 39.53; 121.87; 122.28; 123.69; 124.80; 136.14; 137.21; 148.46; 152.90; 153.46; 168.44; 197.84. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 274 (100).

## ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2

1. Розроблений ефективний метод синтезу заміщених 2-гетарилтіазолів.
2. Каталізатори Бучвальда показали свою ефективність в реакції Стілле, в тому числі у випадку їх використання без основи.
3. Використання сокаталізатора CuI та заміна розчинника на ДМФ дозволяє масштабувати синтез 2-гетарилтіазолів.
4. Механізм взаємодії стананів з карбонільною групою є специфічним і не до кінця вивченим та потребує подальшого дослідження, хоча з'ясовано, що він не залежить від характеру замісника в станані.

Результати досліджень даного розділу наведені в публікації здобувача: (258)

## РОЗДІЛ 3

### МОДИФІКОВАНІ ТІАЗОЛІЛБЕНЗІМІДАЗОЛИ

Введення тiazольного циклу в гетероароматичну систему бензімідазолу значно розширює напрями практичного застосування бензімідазольних похідних. Так, однією з важливих структурних особливостей бензімідазол-тіазольної системи є наявність хелатної порожнини, яка є потенційним центром комплексоутворення з іонами металів. Враховуючи той факт, що бензімідазоли мають яскраву флуоресценцію, відкриваються додаткові можливості для їх застосування як люмінесцентних зондів та хемосенсорів. Беручи до уваги спорідненість атому Сульфуру до полівалентних важких металів, сенсори на основі цих сполук можуть знайти застосування в медично- та екологічно-орієнтованому аналізі сполук токсичних металів (рис 3.1).

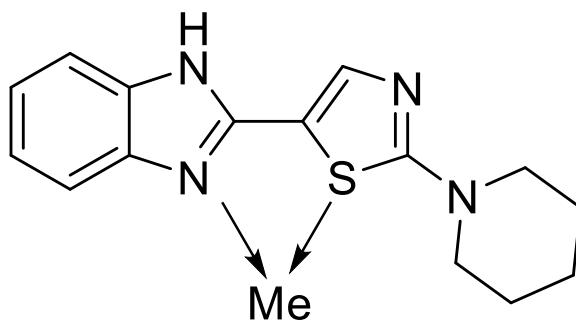
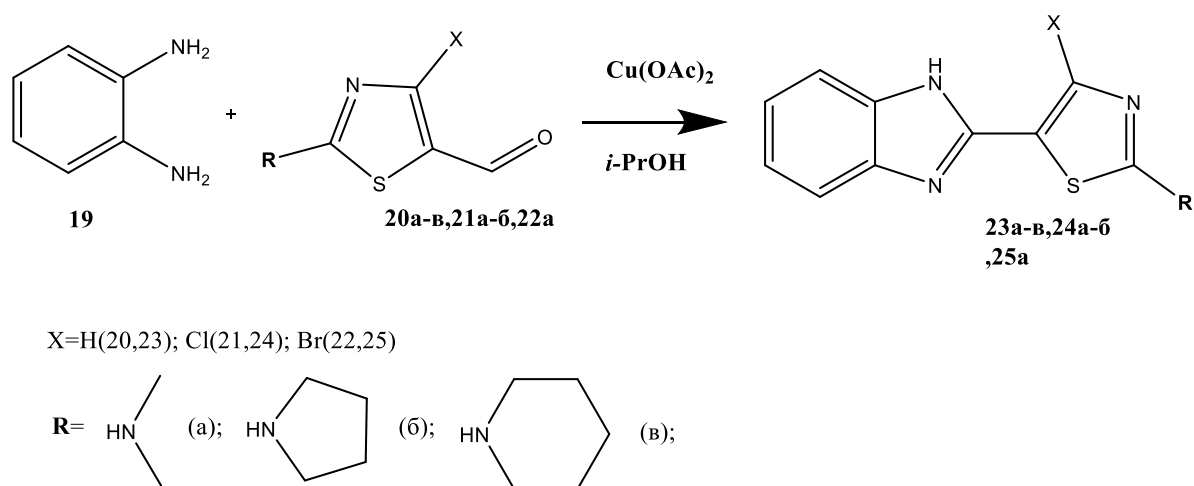


Рисунок 3.1. Центр комплексоутворення тіазолілбензімідазолів

Одним з завдань цієї частини роботи було одержання серії 2-(тіазол-5-іл)бензімідазолів з діалкіламіногрупами та атомами галогенів в положеннях 2 та 4 тіазольного фрагменту, відповідно. Для цього, виходячи із розглянутих в підрозділі 1.2 підходів до синтезу бензімідазолів, серед похідних тіазолу найбільш зручними прекурсорами є альдегіди. Інший шлях одержання, з відповідних амідинів чи амінів, є нераціональним, оскільки додає ще декілька стадій, що веде до зменшення виходів.

Серед методів синтезу, вихідним реагентом яких є альдегід, варто розглянути ще декілька. Авторами (170) запропоновано одержання бісульфітних похідних альдегідів та їх подальшу взаємодію з *o*-фенілендіаміном в диметилформаміді при 100 °С. Однак, усі описані в роботі альдегіди не містять активних атомів галогенів, що суттєво обмежує функціональність продуктів, які можуть бути одержані в такий спосіб. Також вірогідне утворення побічних продуктів, а це в свою чергу веде до необхідності очищення за допомогою препаративної колонкової хроматографії, збільшуючи час виділення та суттєве підвищення трудозатрат.

Наступний метод, вперше введений Вейденхагеном (36, 37), не має згаданих недоліків, саме тому галогенальдегіди тiazольного ряду були введені в реакцію з *o*-фенілендіаміну в умовах окиснення. Як реагент може використовуватись неорганічний окисник, яким може бути, наприклад, ацетат міді. Утворена мідна сіль бензімідазолу розкладається сірководнем, який після відділення утвореного сульфідіду міді, дозволяє виділити відносно чистий цільовий продукт. Описаний метод приводить до задовільних виходів похідних бензімідазолу з аліфатичними, ароматичними та гетероциклічними угрупованнями в положенні 2. Нещодавно в роботі (171) цей метод вже був апробований для одержання незаміщеного 2-тіазол-5-іл-бензімідазолу.



**Схема 3.1.**

В попередніх роботах (163, 172) було опрацьовано синтетичний підхід до 2-діалкіламіно-4-галоген-5-формілтiazолів для одержання на їх основі тiazоліларилпропенонів та тiazолілбутенонів. За цим методом були синтезовані проміжні 5-формілтiazоли **20а-в**, **21а-б**, **22а** та їх реакцією з *o*-фенілендіаміном були отримані цільові тiazолілбензімідазоли **23а-в**, **24а-б**, **25а**. (схема 3.1)

### 3.1. Спектральні властивості та комплексоутворення тiazолілбензімідазолів

Дослідження комплексоутворення 2-(піперидин-1-іл)-5-(бензімідазол-2-іл)тiazолу було проведено на якісному рівні, насамперед з метою визначення спектральних ефектів при зв'язуванні з солями важких металів, які вводилися у взаємодію з розчинами флуорофорорів в ацетонітрилі.

У сполуці **23в** відсутній замісник в положенні 4, що збільшує можливість обертання молекули навколо зв'язку між гетероциклами, тому вона була обрана для демонстрації здатності до комплексоутворення відповідною хелатною порожниною. Присутність піпіридинового фрагменту, за рахунок розміру, імітує полімерну підкладку можливого сенсора для його використання у водних розчинах.

Серед металів були обрані літій та магній, що мають близький радіус, але різний заряд іона, для оцінки вплив заряду катіону на комплексоутворення. Барій та кадмій були вибрані через їх розмір та спорідненості кадмію до сірки, що можливо відіграє роль при зв'язуванні з хелатною порожниною.

В спектрах поглинання утворення комплексів сполуки **23в** із іонами  $\text{Cd}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$  проявляється у вигляді батохромного зсуву довгохвильової смуги поглинання, величина якого може корелювати із міцністю взаємодії метал-ліганд. Разом із цим, спектри поглинання не демонструють суттєвих змін при додаванні солей  $\text{Ba}^{2+}$  та  $\text{Li}^+$ , що свідчить на користь селективності зв'язування іонів середнього розміру. Також були досліджені спектральні

ефекти протонування цільової сполуки трифтороцтовою кислотою, і встановлено, що координація протона, на відміну від полівалентних катіонів металів, призводить до гіпсохромного зсуву. (рис 3.2, табл 3.1)

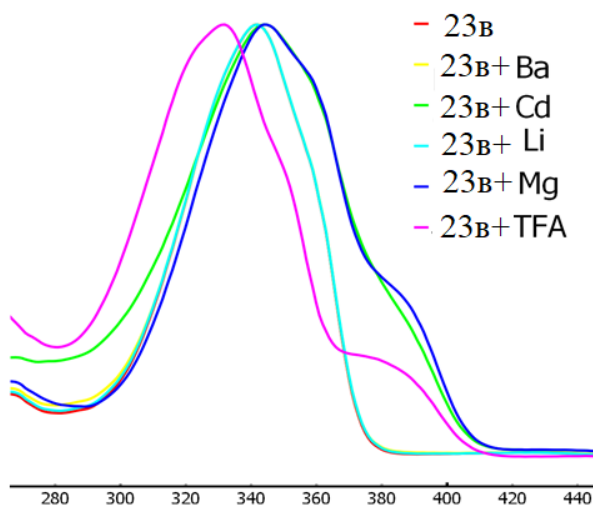


Рисунок 3.2. Спектри поглинання 2-(піперидин-1-іл)-5-(бензімідазол-2-іл)тіазолу та його комплексів з обраними катіонами металів в ацетонитрилі.

Таблиця-3.1

**Максимуми спектрів поглинання та флуоресценції сполуки 23в**

Ліганд / комплекс	Поглинання (нм)	Флуоресценція (нм)	Стоксів зсув (см <sup>-1</sup> )
<b>23</b>	342	397	4050
<b>23в+ Ва<sup>2+</sup></b>	342	397	4050
<b>23в+ Cd<sup>2+</sup></b>	344	416	5030
<b>23в+ Li<sup>+</sup></b>	342	397	4050
<b>23в+ Mg<sup>2+</sup></b>	344	419	5200
<b>23в+ TFA</b>	332	414	5970

Селективність комплексоутворення відображається також і у спектрах флуоресценції. При утворенні комплексів сполуки **23в** з іонами  $\text{Cd}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$  спостерігається довгохвильовий зсув смуги випромінення. (рис. 3.3)

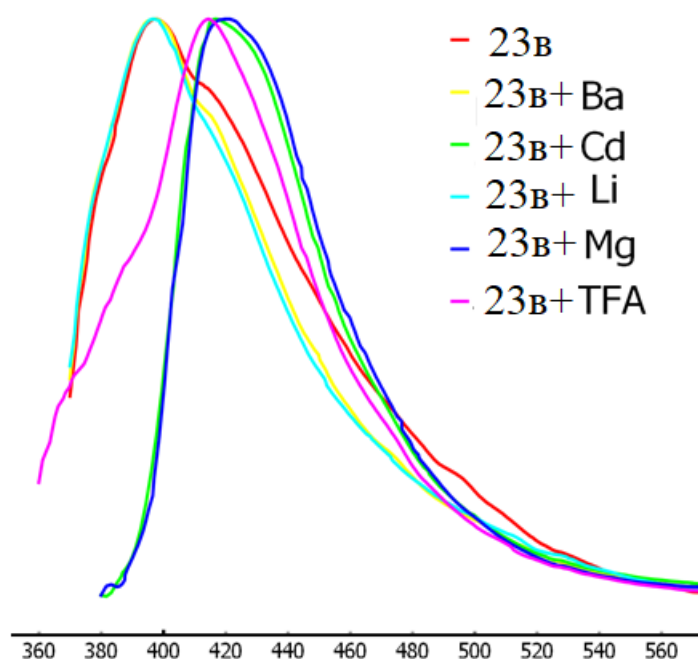


Рисунок 3.3. Спектр флуоресценції 2-(піперидин-1-іл)-5-(бензімідазол-2-іл)тіазолу та його комплексів з обраними катіонами металів в ацетонитрилі.

Характерним якісним індикатором зв'язування катіонів металів є також і Стоксів зсув флуоресценції. За умов утворення стійких комплексів цей показник демонструє помітне збільшення.

Катіон літію є надто малим за розміром, щоб утворити два координаційні зв'язки з центрами зв'язування, основаними на бензімідазольному та тіазольному циклах, в той час, як катіон барію є, навпаки, надто великим, розмір якого не відповідає геометрії сайту зв'язування. Катіони магнію та кадмію, скоріше за все, є співставними за розмірами з досліджуваною порожниною між атомами нітрогену та сульфуру ліганду, а також є достатньо м'якими кислотами Льюїса, таким чином, їх координація приводить до помітних спектральних ефектів.

Проведені нами якісні дослідження дозволяють прийти до висновку, що бензімідазол-тіазольний фрагмент є перспективним сайтом координації



іонів металів, який можна використовувати в дизайні флуоресцентних зондів для визначення іонів  $\text{Cd}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$ .

### **3.2. Методика одержання та фізико хімічні характеристики продуктів.**

#### **Загальна методика одержання цільових похідних бензімідазолу.**

В круглодонну колбу об'ємом 150 мл додають розчин відповідного 5-формілтіазолу кількістю 5.5 ммоль в 40 мл ізопропілового спирту, 40 мл водного розчину ацетату міді (II), що містить 1.1 г (5.5 ммоль) речовини, всипають 0.6 г (5.5 ммоль) о-фенілендіаміну (ОФДА). Суміш нагрівають протягом 2 годин при температурі 80 °C з постійним перемішуванням. Випарюють розчинники при зниженому тиску на ротаційному випаровувачу. Суспендують твердий залишок в 100 мл ізопропілового спирту та пропускають сірководень крізь суспензію протягом 20 хвилин, періодично перемішуючи. Утворений чорний осад сульфід міді (II) відфільтровують. Фільтрат випаровують при зниженому тиску на ротаційному випаровувачі. Кристалізують з ізопропілового спирту.

#### **3.2.1. 5-(1H-бензо[d]імідазол-2-іл)-N,N-диметилтіазол-2-амін (23a)**

Жовтий порошок, вихід 1.07 г (80%).  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 12.70 (с, 1H, NH), 7.89 (с, 1H, CH-тіазол), 7.47 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 7.21 – 7.04 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 3.11 (с, 6H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ , м.ч.: 171.85, 146.55, 140.77, 122.05, 118.21, 116.92, 111.12, 39.78. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 245 (100).

#### **3.2.2. 5-(1H-бензо[d]імідазол-2-іл)-2-(піролідин-1-іл)тіазол (23б)**

Жовтий порошок, вихід 1.11 г (75%).  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 7.90 (с, 1H, CH-тіазол), 7.46 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 7.12 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 3.41 (м, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 1.96 (м, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>).  $^{13}\text{C}$

NMR (126 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 167.69, 146.14, 140.56, 121.66, 115.60, 114.13, 113.9, 49.35, 25.10. Мас-спектр, *m/z* (*I*<sub>відн.</sub>, %): 271 (100).

### 3.2.3. 5-(1H-бензо[d]імідазол-2-іл)-2-(піперидин-1-іл)тіазол (23в)

Жовтий порошок, вихід 0.73 г (47%). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 12.80 (с, 1H, NH), 7.90 (с, 1H, CH-тіазол), 7.49 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 7.14 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 3.44 (м, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 1.58 (м, 6H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 171.43, 140.27, 122.18, 121.47, 117.78, 116.02, 110.64, 25.45, 24.57, 23.41. Мас-спектр, *m/z* (*I*<sub>відн.</sub>, %): 285 (100).

### 3.2.4. 5-(1H-бензо[d]імідазол-2-іл)-4-хлор-N,N-диметилтіазол-2-амін (24а)

Жовтий порошок, вихід 1.04 г (68%). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 12.17 (с, 1H, NH), 7.54 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 7.16 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 3.09 (с, 6H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 168.04, 143.57, 142.94, 134.89, 133.17, 122.38, 121.83, 117.97, 111.74, 108.59, 39.52. Мас-спектр, *m/z* (*I*<sub>відн.</sub>, %): 279 (100); 281 (33).

### 3.2.5. 5-(1H-бензо[d]імідазол-2-іл)-4-хлор-2-(піролідин-1-іл)тіазол (24б)

Жовтий порошок, вихід 0.92 г (55%). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 7.57 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 7.21 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 3.41 (м, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.23 – 1.81 (м, 6H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 164.70, 143.16, 137.69, 134.55, 122.54, 114.59, 106.55, 49.18, 25.14. Мас-спектр, *m/z* (*I*<sub>відн.</sub>, %): 305 (100); 307 (33).

### 3.2.6. 5-(1H-бензо[d]імідазол-2-іл)-4-бромтіазол (25а)

Жовтий порошок, вихід 1.03 г (58%), <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 12.79 (с, 1H, NH), 9.32 (с, 1H, CH-тіазол), 7.77 – 7.63 (м, 2H, CH-CH=CH-CH), 7.32 (м, 2H, CH-CH=CH-CH). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.:

157.40, 142.40, 142.10, 125.42, 124.03, 122.90, 122.10. Мас-спектр,  $m/z$  (Г<sub>відн</sub>, %): 280 (100); 282 (98).

### ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

1. Синтезовано модельні флуоресцентні хемосенсорні сполуки бензімідазольного ряду з функціоналізованим тіазольним циклом в положенні 2 біциклу.
2. Показано, що бензімідазол-тіазольний фрагмент є перспективним сайтом координації іонів металів, який можна використовувати в дизайні флуоресцентних зондів для визначення іонів  $\text{Cd}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$ .

Результати досліджень даного розділу наведені в публікації здобувача:  
(259)

## РОЗДІЛ 4

### ФЛАВОНОЛИ ТА ХРОМОНИ НА ОСНОВІ 5-ФОРМІЛТІАЗОЛІВ

Виходячи з розглянутої в 1-ому розділі огляду літератури, розробка методів синтезу хромонів та дослідження їх властивостей залишаються актуальними питаннями, про що свідчить велика кількість робіт. Тому, хоча методи синтезу багатьох хромонів давно відомі (30, 173), надважливим завданням залишається пошук шляхів одержання нових хромонів, особливо цікавими в цьому плані є їх 2-гетероциклічні представники, оскільки вони створюють декілька додаткових центрів комплексоутворення. а також гетероциклічний замісник може сильно вплинути на електронний перехід. Як зазначалося в літературі хромони можуть утворювати комплекси з ферментами, що впливає як на активність ферменту, так і на флуоресцентні властивості хромону. Тому першочергово в напрямку розробки глюкозилізованих похідних хромону як зондів для  $\beta$ -глікозидази необхідно дослідити взаємодію аглікону (флаванолу) з ферментом.

З цією метою були синтезовані 3-гідроксифлавіон **27a** та декілька його похідних **27б,в**. Нами були одержані похідні 2'-гідроксихалкону реакцією альдольно-кротонової конденсації з використанням метиланолят натрію (71) та наступною їх циклізацією їх у флавіони за реакцією Алгара-Фліна-Оямади. (схема 4.1)

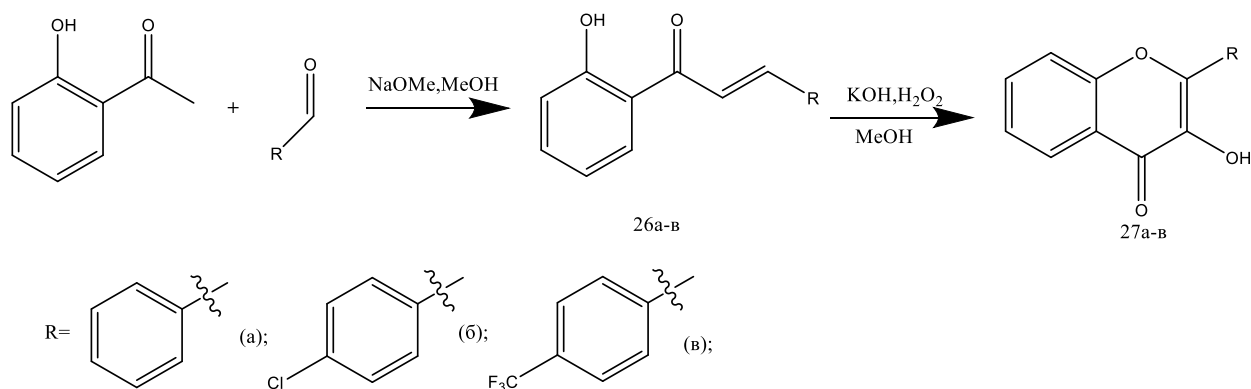


Схема 4.1.

#### 4.1. Спектральні властивості одержаних 3-гідроксифлавонів

Чисельні дослідження оптичних властивостей похідних флавонів в різних розчинниках (125, 132, 174) демонструють суттєву залежність властивостей флуоресценції від властивостей навколишнього середовища. Так, при переході від неполярних розчинників, таких як гексан, до полярного протонного водного розчину, їх квантовий вихід суттєво зменшується від 0,4 до 0,02, відповідно (131, 132, 146, 147).

Тому спектральні властивості одержаних сполук були виміряні у воді, як найбільш привабливому розчиннику з точки зору їх подальшого використання. Максимуми поглинання одержаних сполук становить 340-370 нм, а люмінесценції 520-540 нм. Загальною особливістю є великий зсув довгохвильової смуги, який змінюється від 8800 до 9925  $\text{cm}^{-1}$ , що пов'язано з ESIPT (таблиця 4.1).

Таблиця 4.1

#### Спектральні властивості флавонів 27а-в в воді

Флавонол	Максимум поглинання, нм	Максимум Флуоресценції, нм	Стоксів зсув, $\text{cm}^{-1}$
<b>27а</b>	343	520	9925
<b>27б</b>	366	540	8800
<b>27в</b>	355	540	9650

#### 4.2. Дослідження взаємодії зв'язування флавонол-фермент

Дослідження взаємодії флавонол-фермент проводилось шляхом вивчення флуоресцентних властивостей флавонолів **27а-в** у водному нейтральному розчині в присутності та за відсутності  $\beta$ -глікозидази. Незважаючи на широке використання флавонолів у біомедичних цілях, відомо, що їх розчинність у воді дуже низька, наприклад для рутину, нарингину та кверцетину становить приблизно (0,12, 0,5 та  $< 0,01$ )  $\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$  при 20  $^{\circ}\text{C}$  відповідно (175, 176). Через це флавоноли були додані у вигляді невеликої аліквоти їх розчину в диметилсульфоксиді. Далі, для вивчення взаємодії

зв'язування флавонолу з ферментом, був використаний метод флуоресцентного титрування. При цьому використовувались водні розчини флавонолів з концентрацією  $\sim 1-2 \times 10^{-5}$  моль/л, а концентрація глікозидази варіювалась в діапазоні від 0 до до  $7 \times 10^{-4}$  моль/л. Флуоресценцію збуджували при 360 нм. Стрілкою показано збільшення інтенсивності флуоресценції флавонолів при збільшенні концентрації  $\beta$ -глікозидази.

Одержані результати титрування показані на рисунку 4.1 у вигляді спектрів флуоресценції флавонолів **27a-в** у водному розчині. Як можна побачити, значні зміни флуоресценції, такі як посилення флуоресценції та поява нових смуг випромінювання, спостерігалися для флавонолу **27a** після титрування  $\beta$ -глікозидазою. Збільшення інтенсивності флуоресценції зонда, чутливого до навколишнього середовища, відоме як індукований білком ефект «підсилення флуоресценції». Такі спектральні зміни для флавонолів **27a-в** вказують на зміни в середовищі навколо зонда. Після зв'язування з білком флавоноловий зонд залишає полярний водний розчин і проникає в неполярне гідрофобне середовище всередині білкової кишені. Збільшення флуоресценції пов'язане з втратою індукованого водою гасіння флуоресценції **27a-в**, що може бути пов'язано з глибоким проникненням флавонолів у гідрофобну, вільну від води область, кишеню ферменту  $\beta$ -глікозидази.

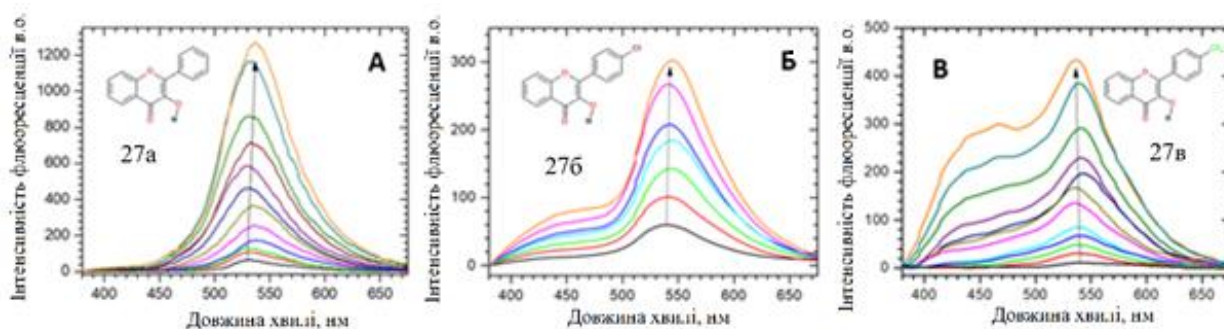


Рисунок 4.1. Спектри флуоресценції флавонів **27a-в** в залежності від концентрації  $\beta$ -глікозидази

Детальний аналіз спектральних змін в досліджуваних флавонолах демонструє, що титрування **27a** супроводжувалося переважно збільшенням

випромінювання таутомерної смуги при 545 нм. Навпаки, більш складні спектральні зміни спостерігалися для заміщених флавонолів **276,в**. Ці зміни включали перерозподіл інтенсивності між нормальною і таутомерною формою при 440/545 нм і появу нової смуги при 514 нм. Вимірювання спектру випромінювання при  $\text{pH} > 10$  дозволило нам стверджувати, що нова смуга випромінювання при 514 нм належить аніонній формі флавонолу (рис. 4.2. А).

Поява кислотно-основної рівноваги у флавонолах (рис. 4.2. А) спостерігалася для інших його похідних у водних і неводних полярних протонних розчинниках (130-132, 137).

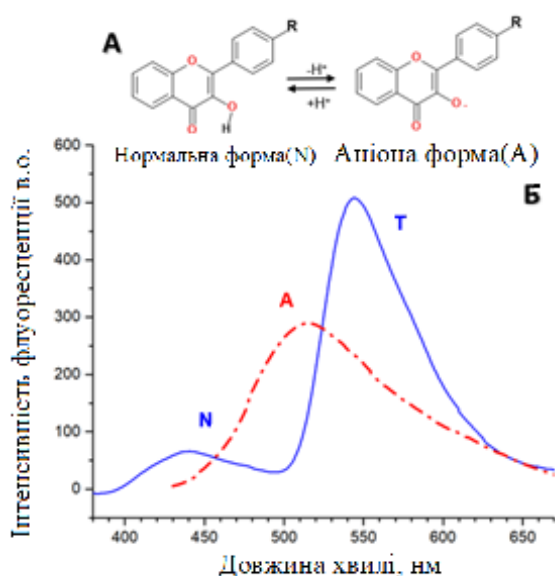


Рисунок 4.2. Схема кислотно-основної рівноваги флавонолів в водному розчині (А) та спектр флуоресценції флавонолу **276** в нейтральному та лужному водних розчинах (Б)

Для кількісної інтерпретації взаємодій білок-ліганд можуть бути використані специфічні або неспецифічні моделі зв'язування, такі як формалізми Міхаеліса-Ментена, Хілла або Скетчарда (174, 177-179). Враховуючи, що наразі характер зв'язування багатьох лігандів з ферментами з родини глікозидаз, вже були досліджені і, в більшості випадків, демонстрували саме специфічне зв'язування (180-184). Тому на початку для



інтерпретації взаємодії флавонів з  $\beta$ -глікозидазою була обрана саме модель специфічного зв'язування (177).

Для цього були побудовані графіки залежності відносної інтенсивності флуоресценції флавонолу **27а-в** як функція концентрації  $\beta$ -глікозидази (рис. 4.3). Так дані титрування флуоресценції були проаналізовані за допомогою нелінійної регресії з моделлю специфічного зв'язування за рівнянням 4.1 :

$$I_{\text{л}} = \frac{I_{\text{max}}C_{\text{Г}}}{K_{\text{д}}+C_{\text{Г}}} \quad (4.1)$$

$C_{\text{Г}}$  – концентрація  $\beta$ -глікозидази,

$I_{\text{л}}$  – інтенсивність флуоресценції,

$I_{\text{max}}$  – максимум флуоресценції (при повному зв'язуванні),

$K_{\text{д}}$  – рівноважна константа дисоціації.

На рисунку 4.3А показано, що дані титрування добре описуються моделлю специфічного зв'язування з використанням вище вказаного рівняння 4.1. За цими даними константу зв'язування флавонолу та взаємодії ферменту було розраховано як  $1/K_{\text{д}}$  та наведено в табл. 4.2.

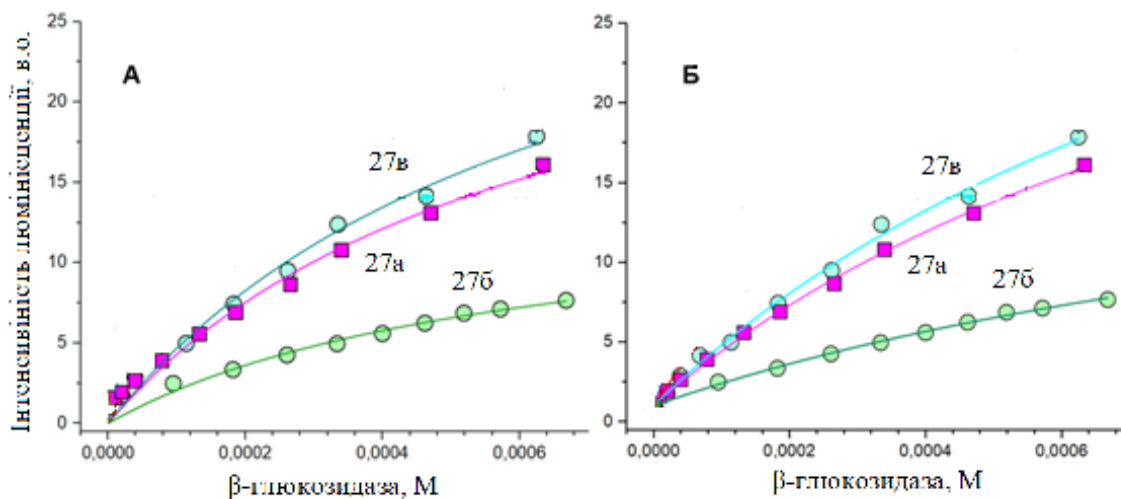


Рисунок 4.3. Залежність відносної інтенсивності флуоресценції флавонолів **27а-в** у водному розчині від концентрації  $\beta$ -глікозидази

Відносна інтенсивність  $I_{\text{л}}/I_0$ ,  $I_{\text{л}}$  — інтенсивність флуоресценції в присутності  $\beta$ -глікозидази, а  $I_0$  — інтенсивність у розчині без  $\beta$ -глікозидази) була визначена при фіксованій довжині хвилі 540 нм.

Введення замісників як електронодонорного (атом Cl) так і електроноакцепторного характеру (група CF<sub>3</sub>) у флавоновий фрагмент мало впливає на константу зв'язування флавонолів **27б** і **27в**, відповідно. Цей факт свідчать про те, що в досліджуваних серіях взаємодія зв'язування з β-глікозидазою в основному була зумовлена взаємодіями Ван-дер-Ваальса та гідروفобними силами.

Таблиця 4.2

**Розраховані константи зв'язування флавонолів з β-глікозидазою**

Флавонол	$I_{max}$	Константа зв'язування $1/K_d$ , мМ
<b>27а</b>	30.9	$1.61 \cdot 10^3$
<b>27б</b>	14.4	$1.69 \cdot 10^3$
<b>27в</b>	36.3	$1.47 \cdot 10^3$

Виходячи з того, що основну роль у зв'язуванні флавонолу з ферментом відіграють саме гідروفобні сили, взаємодію між флавонольним зондом і ферментом можна також розглядати як розподіл зонда з водного розчину в гідروفобну область білка. Тому одержані дані були також проаналізовані з точки зору такого розподілу.

Уявний коефіцієнт розподілу  $K_p$  визначався виходячи з інтенсивності флуоресценції  $I_L$ , вимірної при фіксованій довжині хвилі 540 нм, за рівнянням:

$$I_L = I_0 + \frac{I_{max}C_G}{C_B + K_p C_G} \quad (4.2)$$

$I_{max}$  – максимум флуоресценції (при повному зв'язуванні),

$C_G$  – концентрація β-глікозидази,

$C_B$  – концентрація води (55.3 моль/л),

$K_p$  коефіцієнт розподілу (185).

Енергія Гіббса  $\Delta G$  - перенесення флавонолу з води в білкове середовище була розрахована за рівнянням:

$$\Delta G = -RT \ln K_p \quad (4.3)$$

$R$  – газова стала,

$T$  – абсолютна температура (розраховано для 298 К).

Розраховані  $K_p$  та  $\Delta G$  перерозподілу флавонолу між водою та ферментом.

Таблиця 4.3

### Розраховані коефіцієнти розподілу та енергії Гіббса

Флавонол	$I_{max}$	Коефіцієнт розподілу, $K_p$	$\Delta G$ , ккал/моль
<b>27a</b>	40.6	$5.07 \cdot 10^4$	-6.4
<b>27б</b>	20.9	$3.96 \cdot 10^4$	-6.3
<b>27в</b>	46.9	$4.91 \cdot 10^4$	-6.4

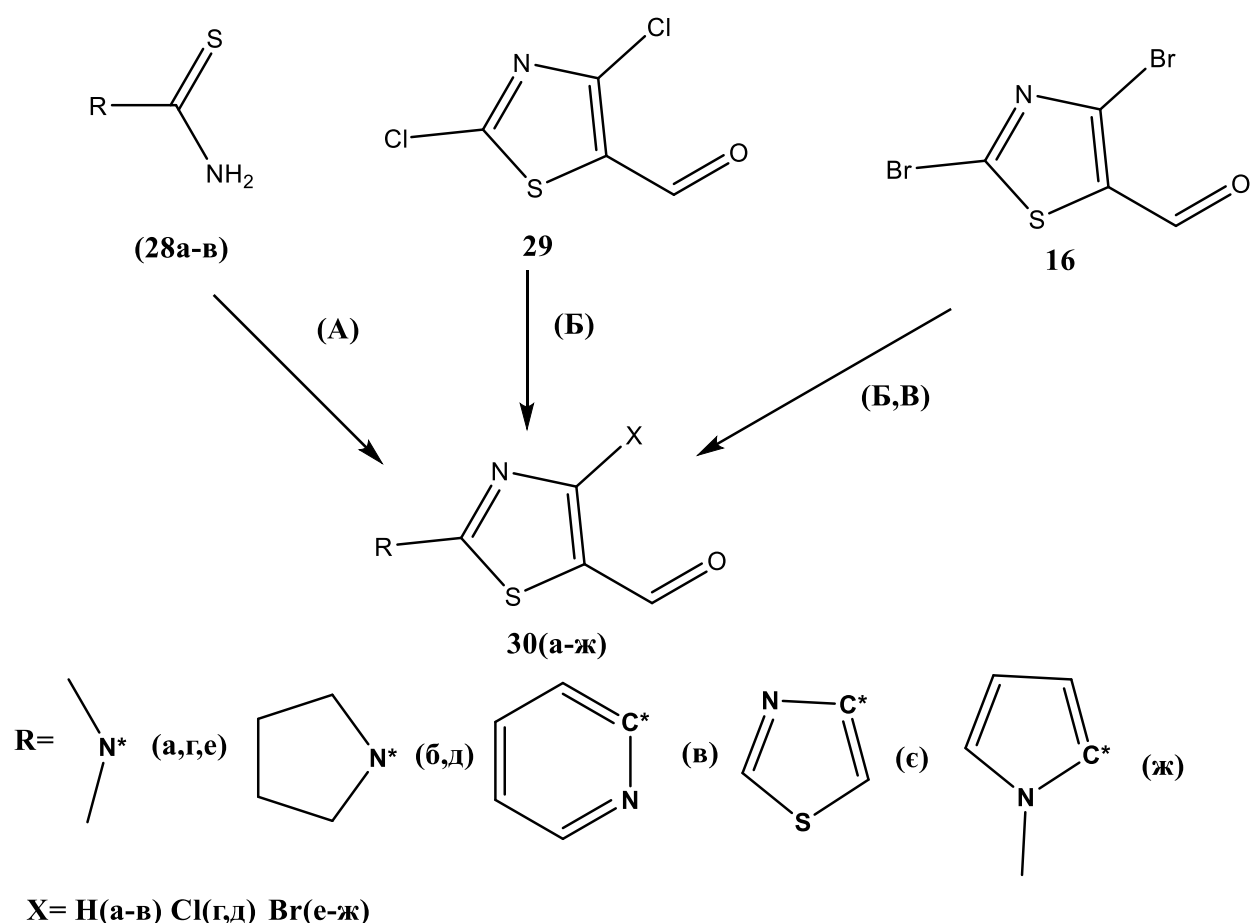
На рисунку 4.3 Б показано аналіз даних титрування флуоресценції за моделлю «розподілу». Як видно, дані титрування дуже добре описуються рівнянням 4.2. Можна припустити, що взаємодії флавонолів **27a-в** з  $\beta$ -глікозидазою характеризуються подібним коефіцієнтом розподілу  $K_p$  (табл. 4).

### 4.3. Синтез тіазоловмісних хромонів

Введення гетероциклічного замісника замість фенільного радикала в друге положення хромону може суттєво вплинути на його електронну будову, що веде до відповідних змін, як в спектрах поглинання, так і люмінесценції. Наявність значно більшого батохромного зсуву люмінесценції таутомерної форми може дозволити легше та точніше проводити аналіз з використанням їх в якості зондів. З іншої сторони, тіазольний цикл міститься в багатьох природних сполуках, тому можна припустити його селективне зв'язування з біологічними об'єктами, що розширює можливості використання зондів на основі хромонів, з тіазольним фрагментом.

Важливим є і вплив замісників в тiazольному циклі, тому було вирішено синтезувати серію відповідних тiazолілхромонів.

На першому етапі було одержано 5-формілтiazоли з діалкіламіно- та 2-піридиніл в 2-му положенні шляхом взаємодії відповідних тiosечовин **28а-в** з хлормалоновим альдегідом. Для вивчення впливу галогену в 4-му положенні циклу одержано відповідні похідні 4-бром- та 4-хлор-5-формілтiazолу, виходячи з 2,4-дибром/дихлор-5-формілтiazолів **30г-е** (26, 163). Були також синтезовані тiazол-тiazол та тiazол-N-метилпіролідинові похідні **30є,ж** виходячи з 2,4-дибром-5-формілтiazолу за методом описаним в розділі 2 (схема 4.2).



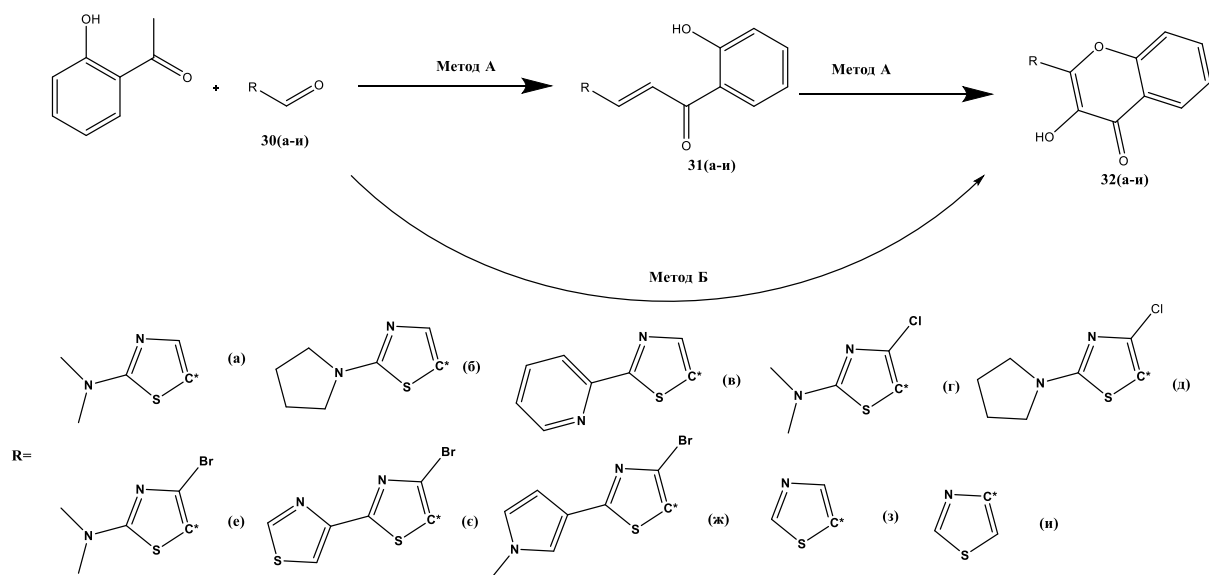
**Схема 4.2.**

Умови: **A:** HOAc, NaOAc 100°C, 3 години; **B:** R<sub>2</sub>N CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 10°C, 30 хвилин;  
**C:** 1) C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H<sub>6</sub> TosOH толуол 115°C 24 години, 2) RSnBu<sub>3</sub> DMF CuI Pd G3  
 AtPhos 100°C 24 години, 3) C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H<sub>6</sub>, SiO<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 20°C 48 годин.

Конденсацією Кляйзена за участю 5-формілтіазолів були синтезовані ди(гет)арил пропенони та виходячи з них за методом Алгара-Флінна-Оямади одержані відповідні хромони. Для одержання пропенонів було опробовано методи описані в літературі (розділ 1). Проведення реакції в метанолі з лужним каталізом (KOH) не веде до одержання цільових продуктів. Використання гідриду натрію в ДМФ або NaOMe в ДМФ дозволили одержати продукти з задовільними виходами, але для подальших синтезів було обрано варіант з NaOMe, оскільки він є простішими у використанні і не потребує додаткового очищення від домішок.

Однак, для деяких похідних одержання проміжного аналогу халкону є ускладненим (сполуки **31в,г,д**). Тому їх виділення було прийнято вважати недоцільним. Для розв'язання поставленого завдання з одержання сполук **32в,г,д** нами було використано альтернативний синтетичний підхід, який полягає в одержанні ненасичених кетонів *in situ* та дією на реакційне середовище окиснювачем пероксидом водню в лужному середовищі (66, 67) спосіб Б (схема 4.3).

Такий підхід дозволяє одержувати цільові сполуки в більш простий спосіб. При цьому було виявлено, що виходи сполук **32а,е,з**, одержаних різними шляхами, мало відрізняються: вихід хромонів без виділення проміжних  $\alpha,\beta$ -ненасичених кетонів є нижчими на 4-7%.



### Схема 4.3.

Умови: Метод А: 1 стадія: ДМФ NaOMe 20°C 2 години; або MeOH KOH 20°C 2 години або: ДМФ NaN 0°C 2 години 2 стадія: MeOH KOH 20°C 10 хвилин, потім H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% водний) 20°C 3 години; Метод Б: 1) MeOH KOH 10 годин, 2) KOH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% водний) 65°C 1 година.

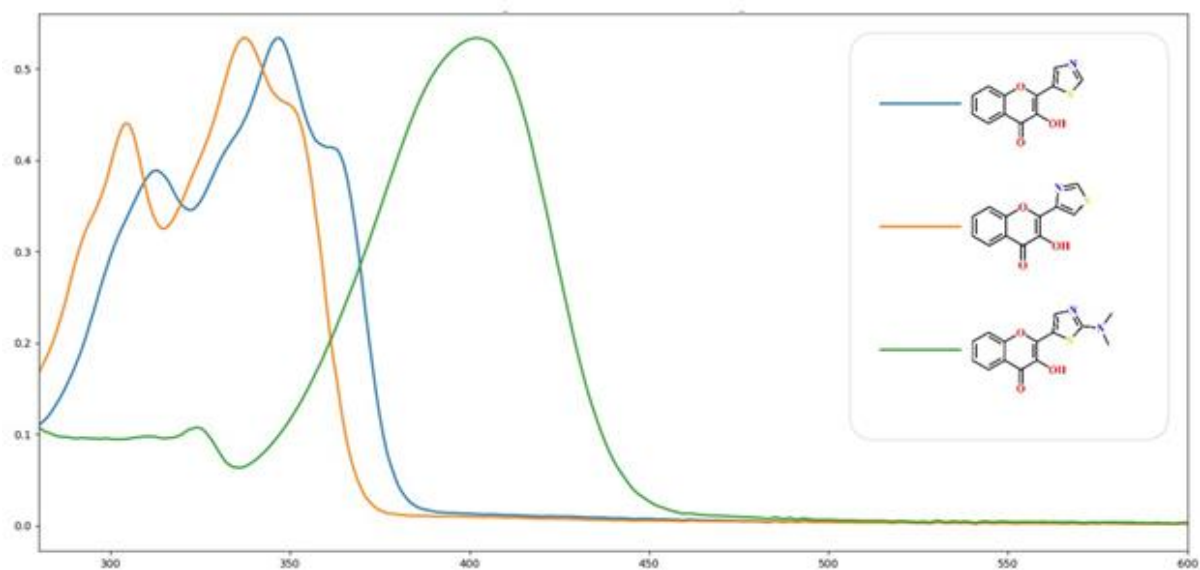
#### 4.4. Спектральні властивості тiazоловмісних хромонів

Вивчення спектральних властивостей одержаних хромонів було проведено на якісному рівні, спектри поглинання та люмінесценції виміряні в ацетонітрилі. Наведені в табл. 4.4. результати свідчать про несутєві зміни відносно флавонолу для похідних незаміщених 4- та 5-тіазолів. Однак, при їх порівнянні з заміщеним за 2 та 4 положенням тіазолу хромоном **32ж** (рисунки 4.4 та 4.5) помітний значний батохромний зсув як в спектрі поглинання так і люмінесценції.

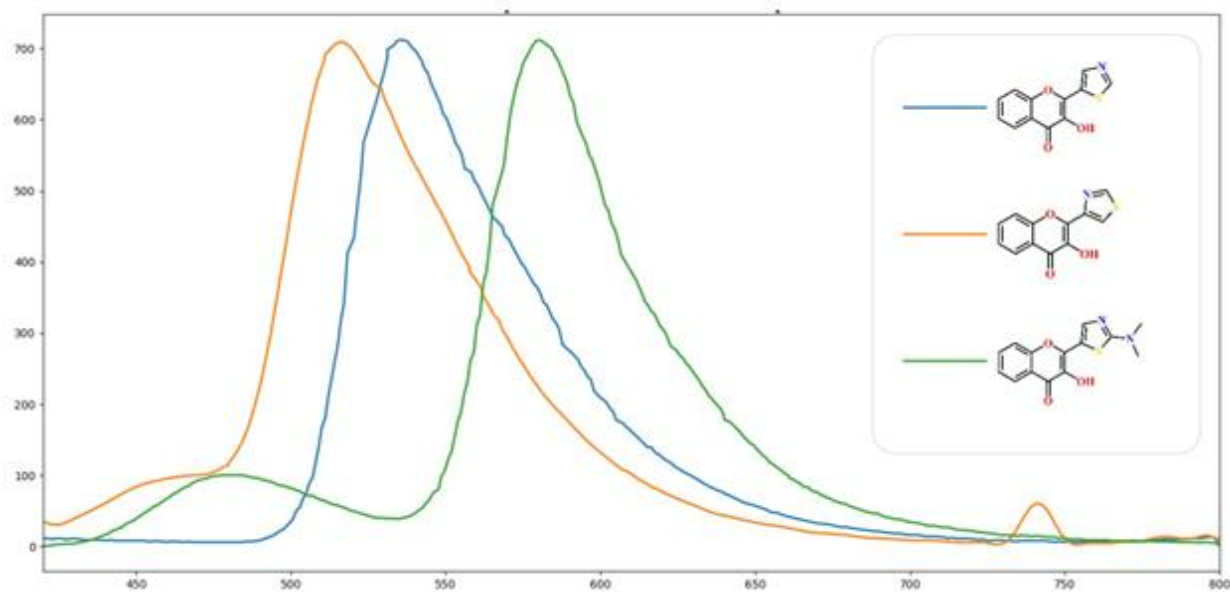
Таблиця 4.4

#### Максимуми поглинання та люмінесценції тiazоловмісних хромонів в ацетонітрилі

Хромон	Поглинання (нм)	Флуоресценція (нм)
<b>32а</b>	400	580
<b>32г</b>	390	580
<b>32є</b>	395	585
<b>32б</b>	405	580
<b>32д</b>	395	585
<b>32в</b>	380	570
<b>32з</b>	350	535
<b>32и</b>	340	515
<b>32ж</b>	400	600



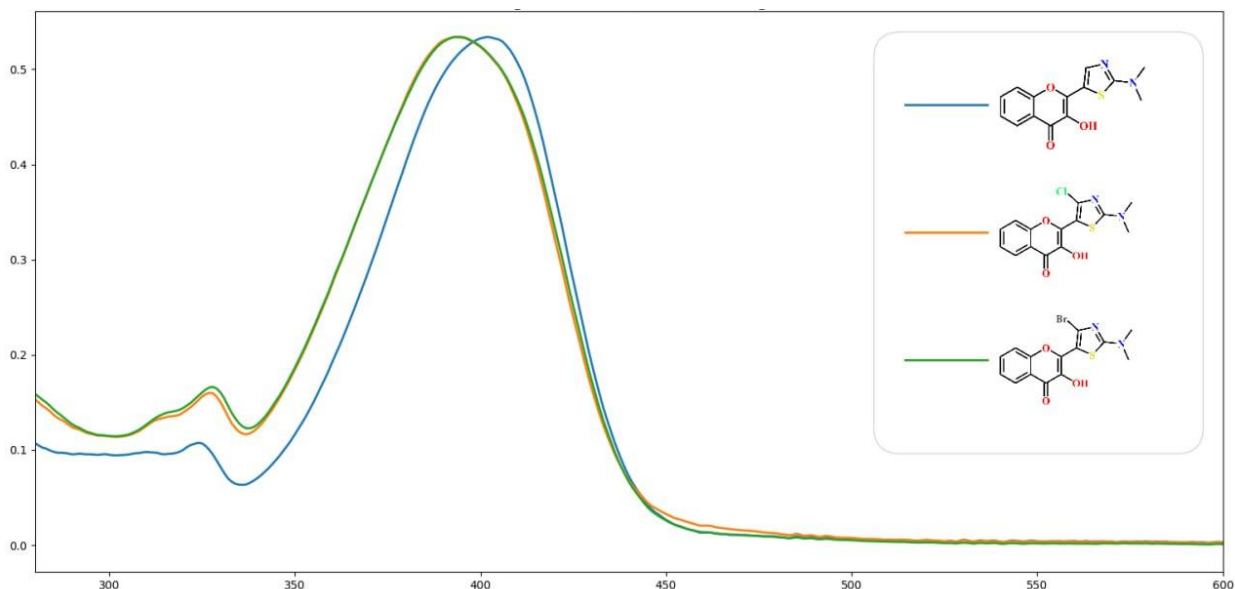
**Рисунок 4.4. Спектри поглинання хромонів 32а, з, и**



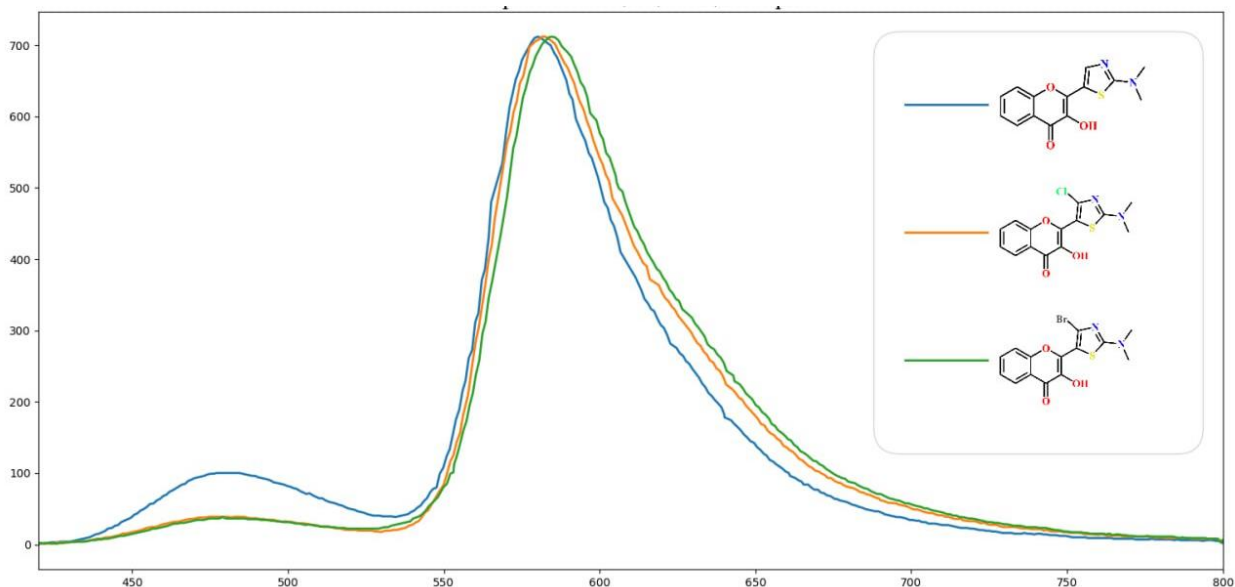
**Рисунок 4.5 Спектри люмінесценції хромонів 32а, з, и**

Для встановлення впливу замісників наочним буде порівняння відповідних похідних з однаковими замісниками в положенні 2 та різними в положенні 4 рисунки 4.6 та 4.7, а також з однаковими замісниками положенні 4 та різними в положенні 2 рисунки 4.8 та 4.9. Таке порівняння дозволяє встановити відсутність вагової залежності електронної структури хромону

від замісника в положенні 4, про що свідчить відсутність відмінностей в спектрах для сполук **32а, г, е**.



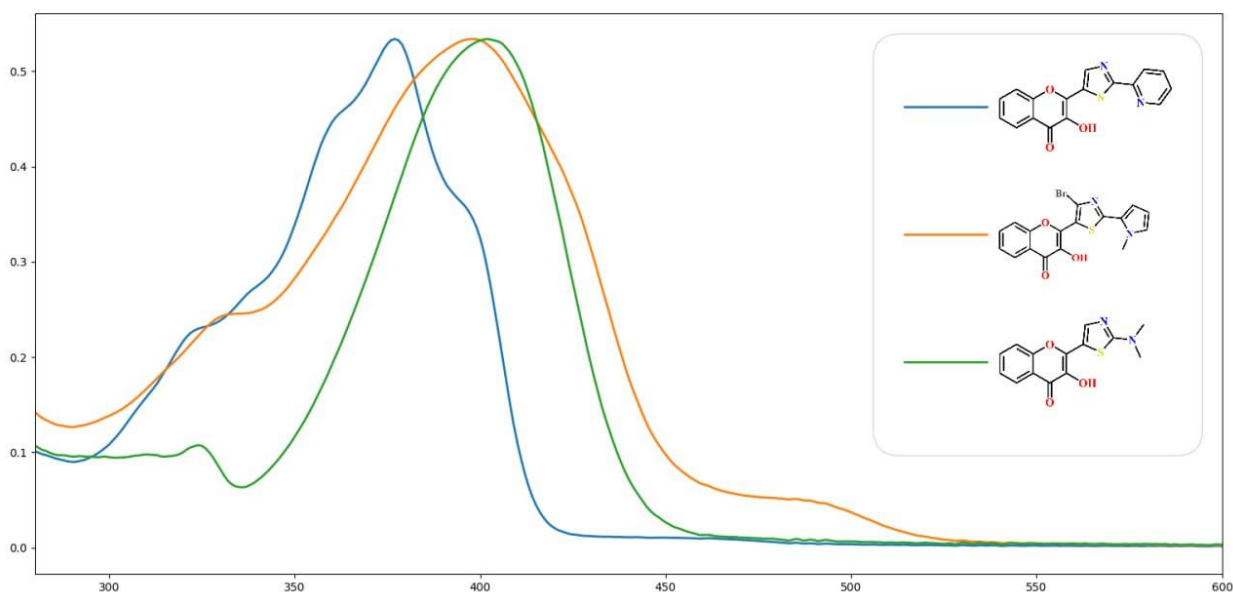
**Рисунок 4.6. Спектри поглинання хромонів 32а, г, е**



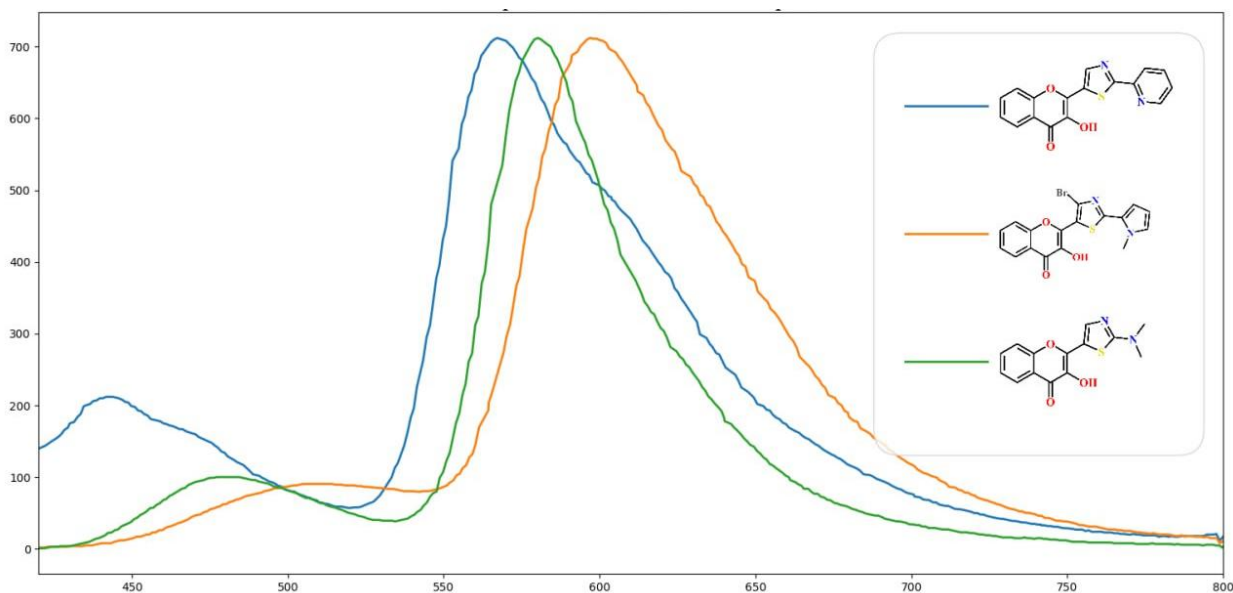
**Рисунок 4.7. Спектри люмінесценції хромонів 32а, г, е**

Проте порівняння сполук **32а, в, ж** бачимо суттєві зміни що свідчить про вагомий вклад такої подовженої системи на електронну структуру усього хромону. При цьому найбільший ссув спостерігається саме для 2'-гетарилтіазолілхромонів, що робить їх одними з найпривабливіших об'єктів для подальших досліджень.





**Рисунок 4.8. Спектри поглинання хромонів 32а, в, ж**



**Рисунок 4.9. Спектри люмінесценції хромонів 32а, в, ж**

## **4.5. Молекулярне моделювання взаємодії флаванолів з $\beta$ -глікозидазою**

### **4.5.1. Налаштування молекулярного докінгу.**

Додавання атомів водню, розрахунок Гаштайгерівських зарядів рецептора та лігандів було проведено за допомогою програмного забезпечення AutoDock Tools (ADT) версії 1.5.7 (186). Розрахунки

молекулярного докінгу були проведені за допомогою програмного забезпечення AutoDock Vina 1.1.2 (186). Тривимірні структури  $\beta$ -глікозидази *B. Paenibacillus polymyxa* (BglB, PDB ID: 2O9R) (187),  $\beta$ -глікозидази *Raucaffricine* (rBG, PDB ID: 4A3Y) (188),  $\beta$ -глікозидази *Thermogota maritima* (TmGH1, PDB ID: 1OD0) (189) та цитозольну  $\beta$ -глікозидазу людини (hCBG, PDB ID: 2JFE) (190) були завантажені з бази даних про білки RCSB.

Взаємодії ліганд-білок вивчались за допомогою напівгнучкого молекулярного докінгу, таким чином що рецептор залишався жорстким, а молекули ліганду були конформаційно гнучкими. Деталі результатів докінгу глікозидаз підсумовано в таблиці 4.5. Розмір комірки становив  $45 \times 45 \times 45$ , а відстань між точками сітки становила  $0,375 \text{ \AA}$ . Для всіх розрахунків кількість режимів зв'язування було встановлено на 9, а вичерпність – на 256. Для кожного ліганду було виконано три незалежні розрахунки з використанням різних випадкових початкових значень. Найкращий режим докінгу відповідає найбільшій спорідненості до зв'язування ліганду. Рисунки молекул та візуалізацію виконували за допомогою VMD 1.9.3 (191).

Таблиця 4.5

**Каталітичні залишки глюкози та Декартові координати центру зв'язування для досліджуваних  $\beta$ -глікозидаз із чотирьох різних джерел.**

Фермент, PDB	Каталітичні залишки	Декартові координати центру зв'язування , (x,y,z)
BglB, 2O9R	Glu167, Glu356	67.1, 31.2, 38.8
rBG, 4A3Y	Glu186, Glu420	16.8, 23.9, 41.6
TmGH1, 1OD0	Glu166, Glu351	0.0, 13.1, 12.7
hCBG, 2JFE	Glu165, Glu373	38.8, 53.2, 36.7

#### 4.5.2. Молекулярно-динамічне моделювання.

Структура  $\beta$ -глікозидази була отримана з бази даних про білки RCSB. Співкристалізовані ліганди та молекули води були видалені в вихідних даних.

Стани протонування для усіх залишків були задані для  $pH = 7$ . Молекулярна топологія білка була побудована за допомогою інструменту `pdb2gmx` GROMACS. Веб-сервер LigParGen використовувався для створення молекулярної топології для флавонолів (192, 193). Для білків і флавонолів використовувалось силове поле OPLS-AA (194). Модель TIP3P (195) використовувалася для моделювання водного розчину.

Початкова структура комплексу зонду з білком була взята з відповідної найбільш сприятливої структури, отриманої за допомогою розрахунків молекулярного докінгу. Комплекс був сольватований в кубічній комірці розміром 9 нм. Система спочатку була попередньо врівноважена в ансамблі NVT протягом 2 нс, протягом яких зонд і структура білка були позиційно обмежені. Після цього проводилося вільне необмежене врівноваження комплексу зонд-білок протягом 0,1 нс в ансамблі NPT, протягом якого розмір комірки мав можливість змінюватись. Фінальна врівноважена конфігурація системи була використана для вибірки продуктивних молекулярно-динамічних симуляцій протягом 200 нс.

Усі результативні молекулярно-динамічні моделювання були проведені для ансамблю NPT. Температура 298,15 К підтримувалася постійною за допомогою схеми слабкого зв'язку *v-rescale* (196) з константою зв'язку  $\tau_T = 0,1$  пс. Постійний тиск 1 атм підтримувався за допомогою баростата Паррінелло-Рахмана з константою зв'язку  $\tau_P = 1$  пс. Початкові атомні швидкості були згенеровані за розподілом Максвелла при заданій абсолютній температурі. Періодичні граничні умови були застосовані до всіх трьох напрямків змодельованої комірки. Електростатичні взаємодії були змодельовані за допомогою підходу сітки Евальда (PME) (197) з використанням далекого відсікання 1,1 нм. Гранична відстань взаємодії Леннарда-Джонса також дорівнювала 1,1 нм. Крок молекулярно-динамічного моделювання становив 2 фс з оновленням списку оточення кожні 10 фс. Усі довжини зв'язків підтримувалися постійними за допомогою процедури LINCS (198, 199). Молекулярно-динамічне моделювання проводилось за

допомогою набору програм GROMACS версії 2019.4 (200). Рисунки молекул та візуалізацію виконували за допомогою VMD 1.9.2 (191).

### 4.5.3 Гомологія білків в родині $\beta$ -глікозидаз

Оскільки тривимірна структура високої роздільної здатності комерційної  $\beta$ -глікозидази мигдалю, яка використовується в наших експериментальних дослідженнях, наразі недоступна, на початку були розглянуті доступні структури глікозидаз з інших джерел. Сімейство  $\beta$ -глікозидаз включає ферменти з різною активністю, широко поширені серед усіх видів живих організмів, та об'єднані здатністю гідролізувати  $\beta$ -глікозидні зв'язки дисахаридів, олігосахаридів або спряжених сахаридів (201). До цієї родини входять також і бактеріальні та грибові целобіази, які відіграють істотну роль у гідролізі целюлози (202).

Тому для проведення дослідження взаємодій флавонол-глікозидаза за допомогою молекулярного докінгу були використовували ферменти  $\beta$ -глікозидази, взяті з різних джерел, такі як  $\beta$ -глікозидаза *B. Paenibacillus polymyxa* (BglB),  $\beta$ -глікозидаза *Raucaffricine* (rBG),  $\beta$ -глікозидаза *Thermogota maritima* (TmGH1) і цитозольна  $\beta$ -глікозидаза людини (hCBG), відповідно. Незважаючи на різницю в амінокислотних залишках навколо їхніх центрів зв'язування гліконів, узгодження послідовності цих ферментів продемонструвало високу ідентичність понад 90%, що є характерним для багатьох представників цієї родини (187, 190, 202, 203).

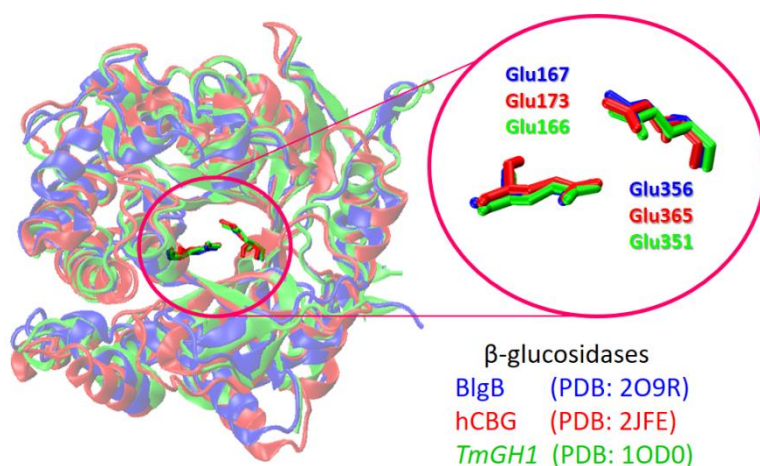


Рисунок 4.10. Перекривання білкової структури та каталітичних залишків для  $\beta$ -глікозидаз з різних джерел. Фермент і відповідні каталітичні залишки Glu показані в вигляді кольорових паличок.

На рисунку 4.10 показано структурне перекриття трьох різних  $\beta$ -глікозидаз. Незважаючи на деякі відмінності в їх структурі, що спостерігаються в периферичних білкових областях, усі ферменти характеризуються основними загальними рисами: (а) вони мають глибоку гідрофобну кишеню, здатну вміщувати молекули субстрату під час гідролізу целюлози (рис. 4.10). (б) Каталітично активний центр складається з двох залишків глутамату (Glu), розташованих у безпосередній близькості один до одного (рис. 4.10). Тривимірні структура глікозидаз BlgB, TmGH1, rBG і hCBG добре визначені, тому ці структури вже використовувалися як рецепторна модель для розрахунків молекулярного докінгу (204-208).

#### 4.5.4. Молекулярний докінг флавонолів з $\beta$ -глікозидазою

Структурні та енергетичні параметри взаємодії флавонолу з  $\beta$ -глікозидазами були досліджені з використанням чотирьох різних білкових структур (табл. 4.5). Розрахунки молекулярного докінгу демонструють, що всі досліджувані флавоноли міцно зв'язуються та здатні проникати глибоко в центральну порожнину  $\beta$ -глікозидази. Приклади режимів зв'язування флавонолів **27a-в** показані для  $\beta$ -глікозидази *Thermogota maritima* (TmGH1) на рисунках 4.11-4.12. Молекулярний докінг свідчить про те, що спорідненість зв'язування **27a-в** з  $\beta$ -глікозидазою залежить від природи периферичних замісників, розташованих у 4'-арильному кільці флавонолів. З іншого боку, вибір структури  $\beta$ -глікозидази мало впливає на результати докінгу. Результати молекулярного докінгу флавонолів **27a-в** з  $\beta$ -глікозидазою з чотирьох різних джерел узагальнено в таблиці 4.6.

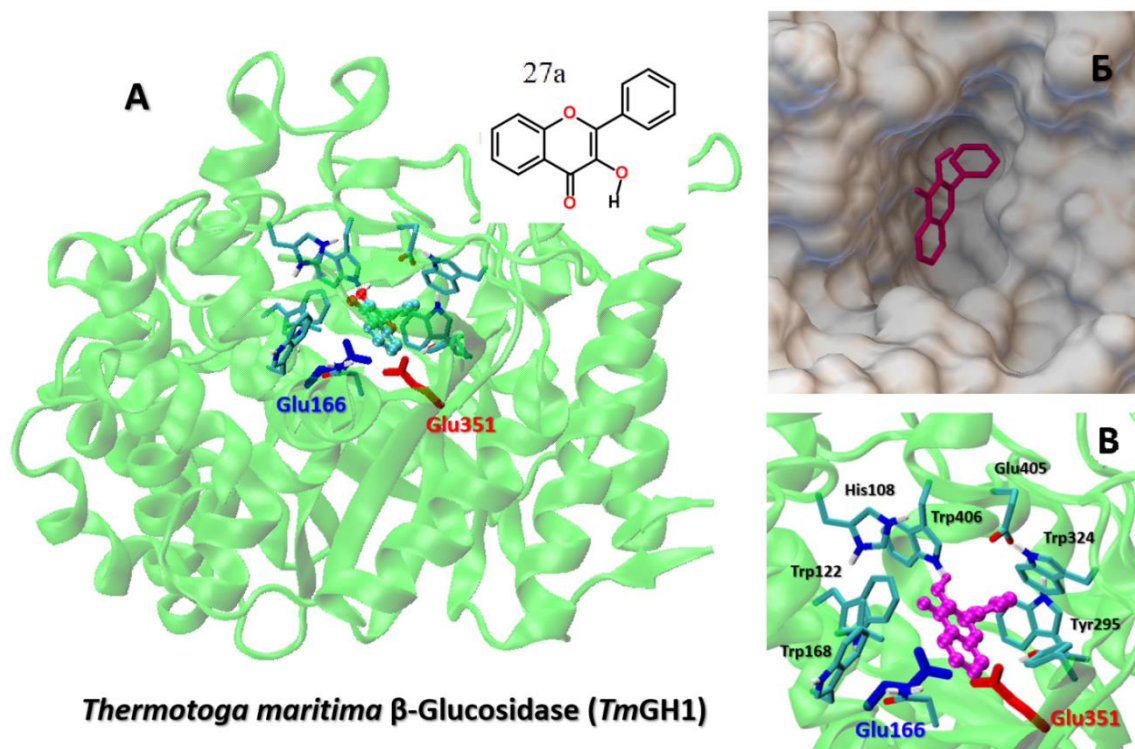


Рисунок 4.11. (А) Найкращий режим зв'язування флавонолу **27a** з  $\beta$ -глікозидазою *Thermotoga maritima* (TmGH1, PDB 1OD0). Каталітичні залишки Glu166 і Glu351 показані в вигляді кольорових паличок. (Б) Розташування флавонолу **27a-в** кишені ферменту TmGH1. (В) Конфігурація зв'язування **27a** та ключових залишків ферменту.

Можна відзначити, що в залежності від природи замісників спорідненість зв'язування флавонолів **27a-в** коливається в діапазоні від -8,2 до -9,8 ккал/моль. (табл. 4.6).

Фермент TmGH1 має глибоку гідрофобну кишеню з активним центром (глибиною близько 16 Å) (рис. 4.10-4.11). Два каталітичних залишки глутамату, кислотно-основний Glu166 і нуклеофільний Glu352, розташовані глибоко в активному центрі. Можна побачити, що всі досліджені флавоноли **27a-в** зв'язуються близько до каталітичної пари Glu166-Glu351. Зв'язування ліганду обумовлено гідрофобними взаємодіями з ароматичними Trp122, Trp168, Trp295, Trp324, Trp398, Trp406, а також Tyr295 відповідно. Крім того, пов'язані з рецепторами флавоноли **27a-в** захищають залишки активного центру Glu166 і Glu351 і обмежують доступ інших молекул

субстрату до каталітичного центру. Такий спосіб зв'язування **27а-в** показує перспективу їх високої інгібіторної активності щодо активності глікозидази.

Таблиця 4.6

**Спорідненість зв'язування флавонолів 27а-в і деяких відомих інгібіторів з  $\beta$ -глікозидазами з різних джерел оцінена за допомогою розрахунків молекулярного докінгу.**

Флавонол	Спорідненість зв'язування, ккал/моль			
	Цитозильна $\beta$ -глікозидаза людини (PDB: 2JFE)	<i>Paenibacillus polymyxa</i> $\beta$ -глікозидаза (PDB: 2O9R)	<i>Thermotoga maritima</i> $\beta$ -глікозидаза (PDB: 1OD0)	<i>Raucaffricine</i> $\beta$ -глікозидаза (PDB: 4A3Y)
Досліджені флавоноли				
<b>27а</b>	-8.8	-8.2	-8.5	-8.8
<b>27б</b>	-9.0	-8.4	-8.3	-8.6
<b>27в</b>	-9.8	-9.1	-9.2	-9.6
Відомі інгібітори				
ноевроміцин	-6.1	-6.8	-6.3	-6.8
ізофагомін	-5.7	-6.0	-5.5	-5.8
Cas1	-7.4	-7.7	-7.8	-7.5
Cas2	-7.0	-7.7	-7.6	-7.4
Imd1	-5.8	-6.8	-6.2	-6.0
Imd2	-8.2	-9.6	-9.2	-8.0



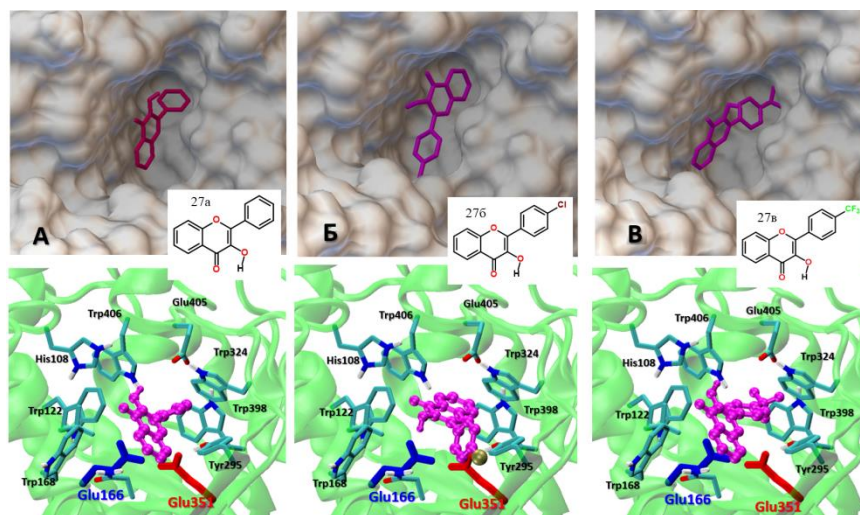


Рисунок 4.12 Порівняння найкращого режиму зв'язування досліджуваних флавонолів **27a-в** з  $\beta$ -глікозидазою *Thermogota maritima* (TmGH1, PDB 1OD0). Каталітичні залишки Glu166 і Glu351 показані в вигляді кольорових паличок. (Зверху) Вставка показує вид зверху розташування флавонолів **27a-в** у кишені, що зв'язує білок. (Внизу) Вид збоку на взаємодію зв'язування флавонолу з ферментом в області активного центру.

Було показано, що зв'язування лігандів великого розміру з активним центром глікозидази здатне пригнічувати активність цих ферментів як каталізаторів гідролізу. Повідомляється про інгібування  $\alpha$ -глікозидаз природними флавоноїдами, такими як комбретол, морін (209, 210), мірицетин (210-212), омбуїн, кверцетин (209, 211-213) і ретузин (213), виявлене за допомогою експериментальних та обчислювальних методів. Крім того, є деякі повідомлення про те, що зв'язування ліганду в порожнині ферменту мало складну багато режимну поведінку, так що зв'язування субстрату відбувалося в різних центрах кишені  $\beta$ -глікозидази (214). Деякі дослідження показали, що каталітичні залишки Glu не взаємодіють з розщеплюваним глікозидним зв'язком ліганду, що вказує на неглибоку природу зв'язування. Протягом якого субстрат спочатку зв'язується а потім переходить в активний центр. Повідомлялося про такий режим для  $\beta$ -глікозидаз у кількох родинях GH (215). Крім того, було показано, що термодинамічні параметри



зв'язування інгібіторів 1-дезоксигіриміцину та ізофагоміну з  $\beta$ -глікозидазою Алмонда та  $\beta$ -глікозидази *Thermogota maritima* (TmGH1) мають подібні значення (200), тому, незважаючи на відсутність високої роздільної здатності структури  $\beta$ -глікозидази з мигдалю одержаної рентгеноструктурним аналізом, її можна добре моделювати відповідною структурою TmGH1.

Тому за допомогою молекулярного докінгу було порівняно спорідненість зв'язування досліджених флавонолів **27a-в** з спорідненістю добре відомих інгібіторів. З цією метою був виконаний порівняльний повторний докінг ряду структурно різних інгібіторів, узагальнених на рисунку 4.13. Сполуки Imd1 і Imd2, як відомо, є одними з найпотужніших інгібіторів глікозидази, про які повідомлялося на сьогодні. Було продемонстровано, що додавання гідрофобного фенетилового фрагменту в Imd2 покращує його зв'язування в 20-80 разів, можливо, через значно кращий ентропійний внесок у зв'язування (216). Було помічено, що периферійні фенільні кільця молекули інгібітора можуть бути направлені до відкритої для розчинника області ферменту, що має вагомий вплив на анти- $\beta$ -глікозидазну активність (217).

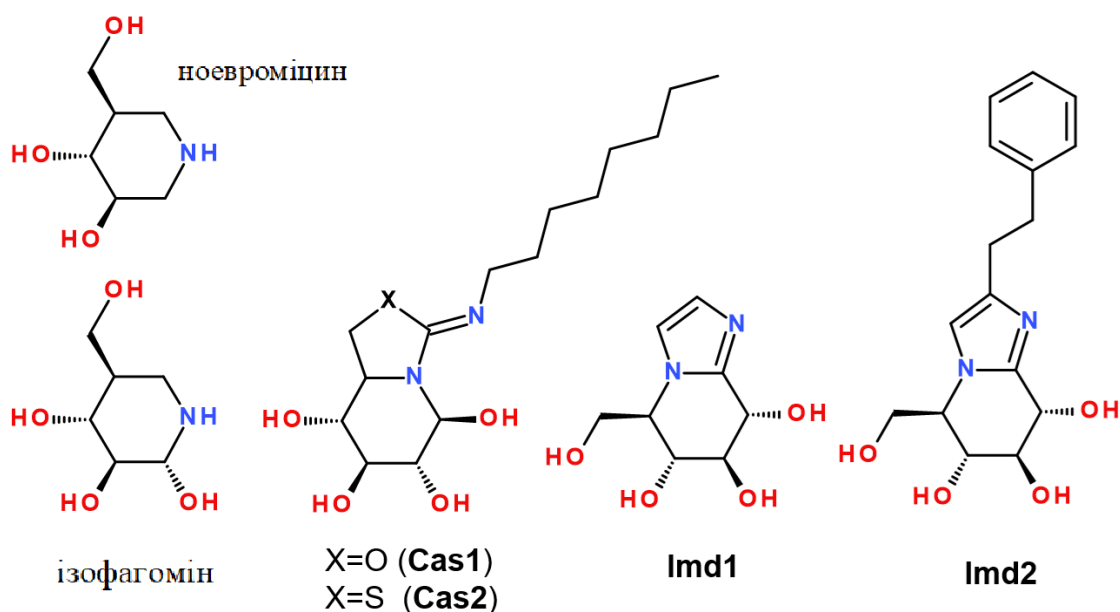


Рисунок 4.13. Будова відомих інгібіторів ферментів сімейства  $\beta$ -глікозидаз.

Проведений молекулярний докінг демонструє, що з точки зору спорідненості зв'язування досліджувані флавоноли належать до сильних зв'язувачів з  $\beta$ -глікозидазою з порівнянною та вищою спорідненістю, ніж доступні інгібітори Imd2 та Cas2 (таблиця 4.6).

#### 4.5.5. Молекулярний механізм взаємодії флавонолів з ферментом

Хоча молекулярний докінг надає цінну інформацію про сприятливий режим зв'язування та спорідненість ліганду до ферменту, його основним недоліком є відсутність явних ефектів сольватації. Таким чином, стабільність флавонол-ферментних комплексів, отриманих за допомогою докінгу, в об'ємному водному розчині була додатково перевірена за допомогою все атомного молекулярно-динамічного моделювання (МД) (рис. 4.14). МД моделювання може надати детальну інформацію про конформаційні зміни та коливання в білку та ліганді.

Найкраща зв'язана з білком конформація флавонолів **27a-в** одержана на основі молекулярного докінгу була використана як початкова конформація для МД моделювання. Структурну стабільність зв'язаної конформації флавонолу в його комплексі з ферментом оцінювали шляхом розрахунку середньоквадратичного зміщення (RMSD) за 200 нс. RMSD розраховано виходячи з відхилення набору координат молекули від еталонного набору координат. Графіки середньоквадратичного значення часу для даного флавонолу були розраховані методом найменших квадратів підгонки структури ліганду ( $\tau_2$ ) до його початкової прикріпленої структури ( $\tau_1 = 0$ ) за рівнянням. 4:4

$$RMSD(\tau_1, \tau_2) = \left[ \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (r_i(\tau_1) - r_i(\tau_2))^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (4.4)$$

$N$  – кількість атомів,

$r_i(\tau)$  – позиція атома  $i$  та його контрольна позиція у момент часу  $\tau$  (210, 218).

Графіки залежності RMSD від часу для флавонолів **27a-в** в їх комплексі з  $\beta$ -глікозидазою показані на рисунку 4.14. Аналіз цих часових графіків демонструє різну рухливість досліджуваної сполуки в ліганд-білковому комплексі; однак усі досліджувані комплекси залишалися стабільними під час відбору проб МД. Діаграми RMSD показують, що флаваноли **27a-в** були розташовані поблизу своїх початкових позицій зв'язування протягом усього часу.

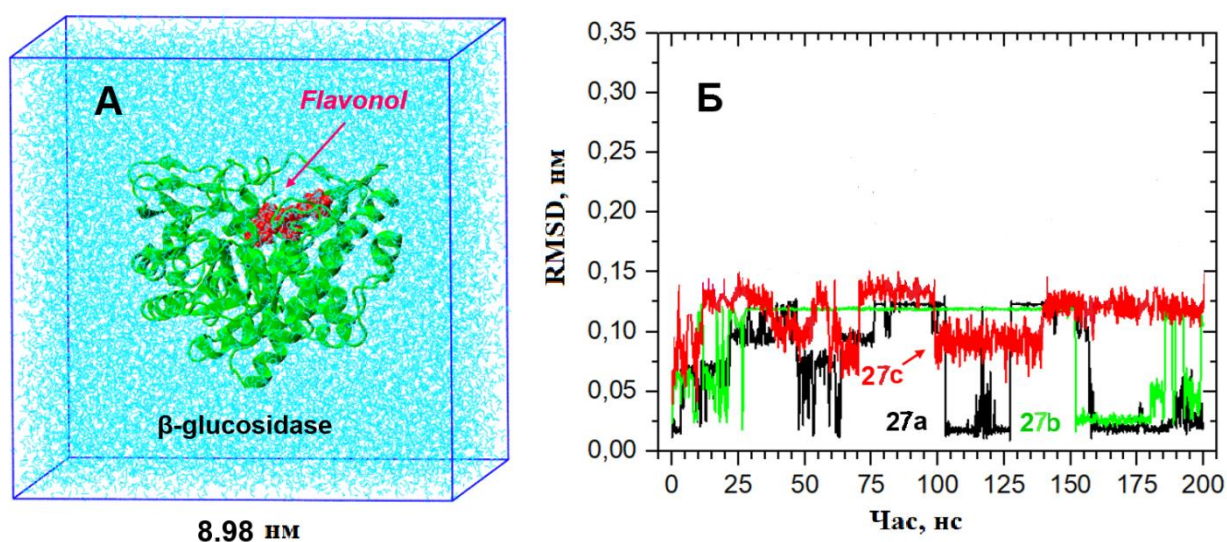


Рисунок 4.14 (А) Приклад молекулярно-динамічного моделювання комплексу флавонол-фермент в водному розчині. Початкова структура комплексу була взята з найбільш сприятливої структури з розрахунків молекулярного докінгу. (Б) Графік RMSD залежності координатних положень флавонолів **27a-в** відносно їх початкової прикріпленої структури від часу.

Характер зв'язування зонд-фермент свідчить про те, що енергетичний баланс між гідрофобними Ван-дер-Ваальсовими та електростатичними взаємодіями зумовив спостережуване міцне зв'язування флавонолів з  $\beta$ -глікозидазою. Тому, щоб дослідити полярні фрагменти та гідрофобні плями на поверхні досліджуваних флавонолів, було виконано DFT-розрахунки їх структури основного стану та електронних властивостей, які узагальнено на малюнку 4.15 Карті Електростатичних потенціалів (ESP) демонструють, що

флавоноли **27a-в** мають деякі полярні області поблизу карбонільних атомів кисню фрагмента хромону. Навпаки, більшість ділянок поверхні зондів мають відносно нейтральний гідрофобний характер. Ці висновки ще більше підтверджують їхню сильну гідрофобну поведінку зв'язування з білковим середовищем.

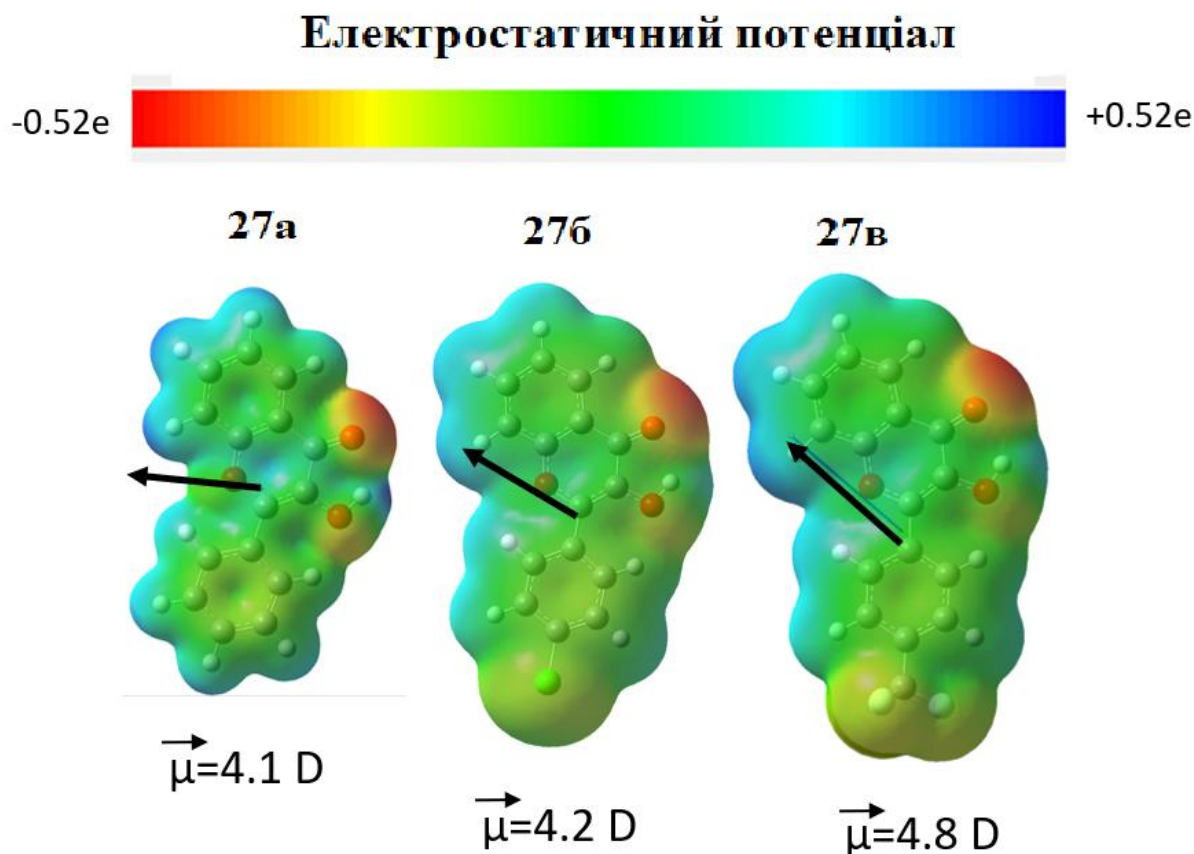


Рисунок 4.15. Порівняння розподілу електростатичних потенціалів (ESP) із значенням ізоповерхні  $0,010e \text{ \AA}^{-3}$ , що показує розподіл щільності заряду між флавонолами **27a-в**. Дипольний момент основного стану показаний у вигляді вектора, а його абсолютне значення подано в Дебаях (D). Обчислення DFT проведено методом B3LYP/cc-pVDZ.

Розрахунки молекулярного докінгу комплексів флавонол-фермент продемонстрували, що досліджувані флавоноли зв'язуються з каталітично активним центром  $\beta$ -глікозидази, таким чином вони блокують і захищають ключові каталітичні залишки Glu ферменту від контактів з іншими молекулами субстрату. Крім того, розрахунки молекулярного докінгу

додатково підтверджують припущення, що зв'язування субстрату регулюється гідрофобними взаємодіями з декількома ароматичними залишками Trp і Tyr в каталітичних кишнях зв'язування глікону  $\beta$ -глікозидази. Крім того, всеатомне моделювання МД док-конформацій флавонолів **27a-в** в його комплексі з  $\beta$ -глікозидазою в явному водному розчині підтвердило їх високу структурну стабільність.

Налаштування рентгеноструктурного аналізу. Аналіз був проведений на дифрактометрі *Xcalibur Sapphire-3*. Кристали сполуки **32e** вирощені з розчину в дихлорметані. Молекулярна формула  $C_{14}H_{11}BrN_2O_3S$ , сингонія – моноклінна, просторова група – P21/c, температура 293К, параметри кристалічної ґратки:  $a = 7.8485 \text{ \AA}$ ,  $b = 17.0012 \text{ \AA}$ ,  $c = 17.0012 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 102.979^\circ$ ,  $V = 1451.59 \text{ \AA}^3$ , тип випромінювання – Mo  $K_\alpha$ , коефіцієнт поглинання 0.71073. Для обробки даних рентгеноструктурного експерименту був використаний пакет програм: *CrysAlis PRO* (219), *SHELXT2014/5*, *SHELXL2016/6* (220) та *Olex2* (221). Результати були візуалізовані за допомогою програми *Mercury* (222). Кількість вимірних, незалежних і спостережених відображень відповідно : 9585; 2559; 2080.

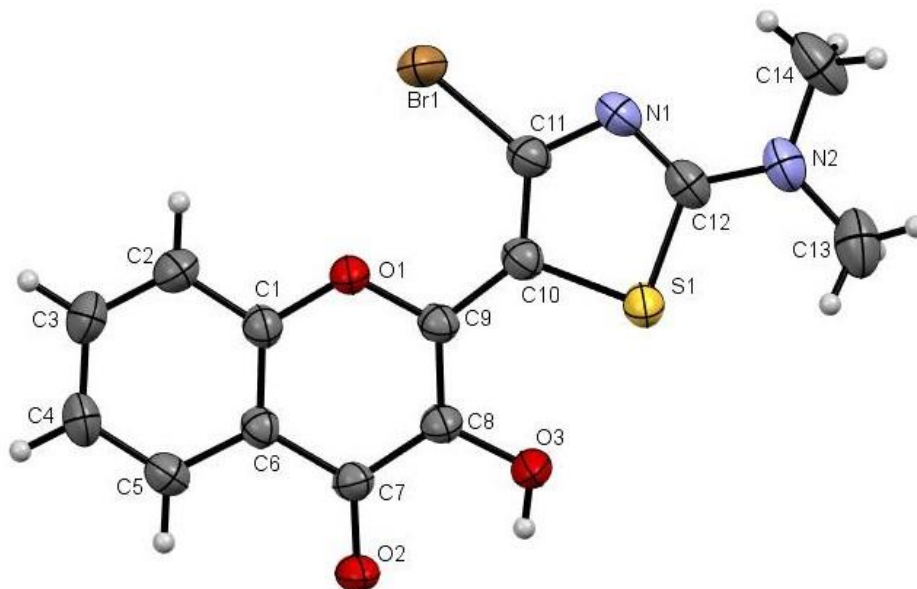


Рисунок 4.16 Результат рентгеноструктурного аналізу хрому **32e**. Форма теплових коливань атомів окрім гідрогену на зображенні мають 50% вірогідність.

Налаштування квантово-хімічних розрахунків. Для оптимізації геометрії молекул як в основному так і в-збудженому станах було використано програмний пакет Gaussian-09 (223) за теорією функціоналу густини (DFT) та залежній від часу теорією функціоналу густини TDDFT, був використаний функціонал електронної густини *b3lyp* (224) з орбітальним базисом *cc-PVDZ* (225). Внутрішньомолекулярні водневі зв'язки були оцінені за теорією атомів у молекулах (AIM) Бейдера (226, 227) а також за допомогою напівемпіричного підходу Еспінози (228).

Для розрахунку енергії досліджуваних молекул в збуджених синглетних та триплетних станах використовувався пакет NWChem (версія 5.1) (229). Спін-орбітальна взаємодія (COV) в флуоресцентному стані  $S_1$  та в усіх триплетних станах, що мають нижчий енергетичний рівень (230), були розраховані за допомогою програми Orca (231, 232) (версії 5.1). Швидкість процесів інтеркомбінаційної конверсії була оцінена за рівнянням Робінсона-Фроша (233).

Швидкість внутрішньомолекулярного переносу протону у збудженому стані (ESIPT) була оцінена через енергії активації (234), для цього за методом STQN (235) були проведені квантово-хімічні розрахунки відповідних перехідних станів

Елементарна комірка кристалів сполуки **32e** містить чотири молекули цієї сполуки (рис. 4.17), а структура окремої молекули **32e** показана на рисунку 4.16. Деякі молекули в комірці розташовані паралельно одна одній "голова до хвоста", але відстань між найближчими парами молекул становить приблизно 7.3 Å. Ця відстань значно перевищує суму Ван-дер-Вальсових радіусів будь-яких атомів, що входять до складу молекул, тому не можна стверджувати, що утворюються щільні стопкові структури.



#### 4.6. Рентгеноструктурний аналіз тiazоліхромонів

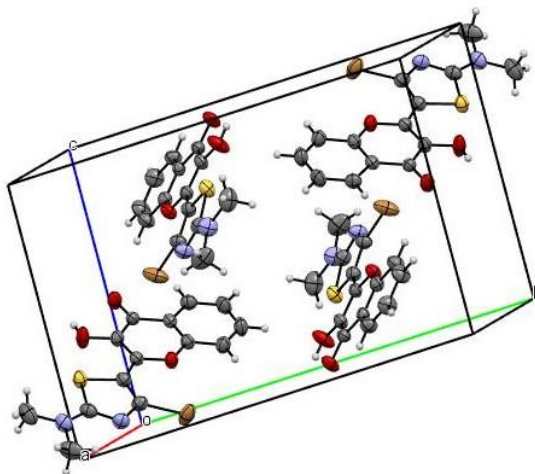


Рисунок 4.17. Елементарна комірка з чотирма молекулами сполуки **32e** у кристалічному стані.

У кристалічному стані молекули **32e**, як характерно для 3-гідроксихромонів, існують у вигляді димерів, пов'язаних між собою водневими зв'язками (рис. 4.18). Ці димери утворюються за рахунок взаємодії карбонільної групи в четвертому положенні та гідроксильної групи в третьому положенні хромону. Крім того, є скорочений внутрішньомолекулярний контакт між атомом сульфуру в тiazольному циклі та атомом кисню в гідроксильній групі (2.717 Å, показано на рисунку 4.18), при тому що сума Ван-дер-Вальсових радіусів кисню і сульфуру становить приблизно 3.37 Å. Через таку димерну форму кристали сполук цієї серії мають знижену розчинність, особливо у воді та більшості органічних розчинників помірної та високої полярності.

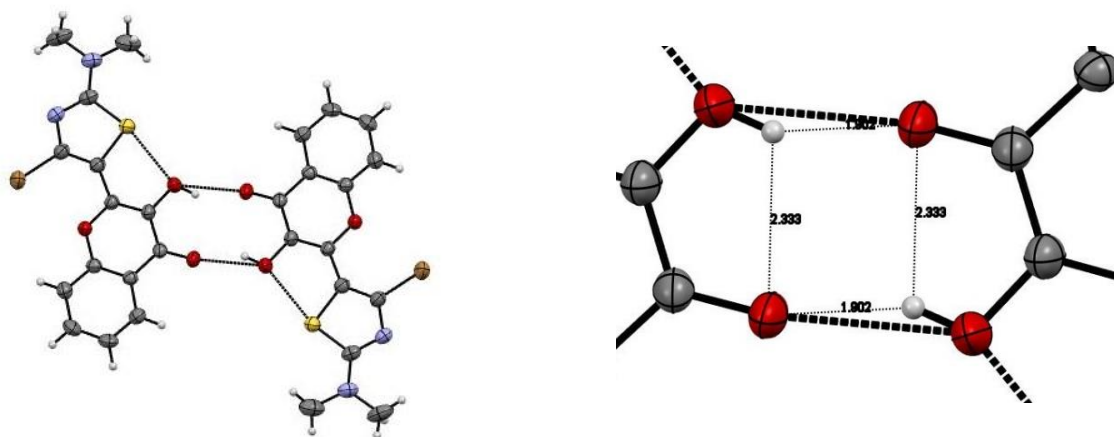


Рисунок 4.18. Водневі зв'язки та скорочені внутрішньомолекулярні контакти між атомом сульфуру та атомом кисню гідроксильної групи в кристалах **32e**: ліворуч - повний вигляд димеру, праворуч – збільшений вид центру утворення міжмолекулярних зв'язків, відстані наведені у Å

Мономерна форма молекул 3-гідроксихромонів у розчинах та газовій фазі характеризується стійким внутрішньомолекулярним водневим зв'язком між карбонільною і гідроксильною групами. Через цей зв'язок відбувається внутрішньомолекулярний перенос протона в збудженому електронному стані.

У кристалічному стані димер сполуки **32e** має водневі зв'язки двох типів: міжмолекулярні і внутрішньомолекулярні. Це пояснюється тим, що карбонільна і гідроксильна групи в цій молекулі розташовані близько одна до одної. Аналіз міжатомних відстаней  $=O \cdots HO$  в обох напрямках показує, що міжмолекулярний водневий зв'язок з довжиною 1.902 Å у димері є сильнішим, ніж внутрішньомолекулярний довжина – 2.333 Å. Проте можна припустити формування трьохцентрового водневого зв'язку, який включає атом кисню карбонільної групи і дві гідроксильні групи – одна з яких належить власній молекулі, а інша – сусідній молекулі **32e**. За кутовими критеріями, обидва водневі зв'язки є дійсними, кути O-H-O для внутрішньомолекулярного та міжмолекулярного зв'язків становить відповідно 112.5° та 152.2°.

Ключове питання, для вирішення якого був необхідний рентгеноструктурний аналіз сполуки **32e**, стосується стеричного впливу атома галогену у четвертому положенні тіазольного фрагменту на систему ароматичну хромону. Оскільки такий вплив може викликати часткове обертання навколо C-C зв'язку (рис 4.19) між фрагментами хромону та тіазолу, що порушить загальну планарність молекули, та буде мати небажані наслідки з точки зору оптичних властивостей таких хромонів.



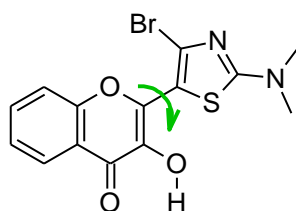


Рисунок 4.19. Напрямок можливого обертання в сполуці **32e**, що порушить спряження між тіазолом та хромоновим фрагментом.

Великий кут між площинами хронону та тіазолу значно зменшує взаємодію між їх  $\pi$ -електронними системами, що може призвести до короткохвильового зсуву спектру поглинання та уповільнення реакції ESIPT. Крім того, у кристалічному стані зафіксовано короткий внутрішньомолекулярний контакт між атомами сірки та кисню, наслідком якого може стати додаткове порушення планарності між згаданими фрагментами. На рисунку 4.20 показано площини, одна з яких проведена по тіазолу а інша – хронону структури **32e**, одержаної рентгеноструктурним аналізом (середні площини, розраховані за допомогою методу найменших квадратів для всіх атомів відповідних циклів), та обчислений кут між цими площинами.

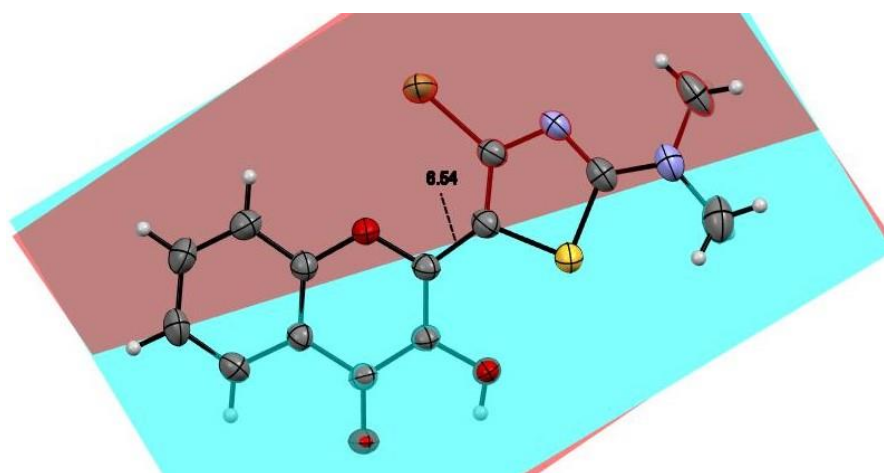


Рисунок 4.20 Кут між площинами одержаної рентгеноструктурним аналізом структури **32e**

Згідно з даними аналізу (рис. 4.20), кут між площинами двох гетероциклів досліджуваного хронону приблизно  $8.5^\circ$ . Це свідчить про те,

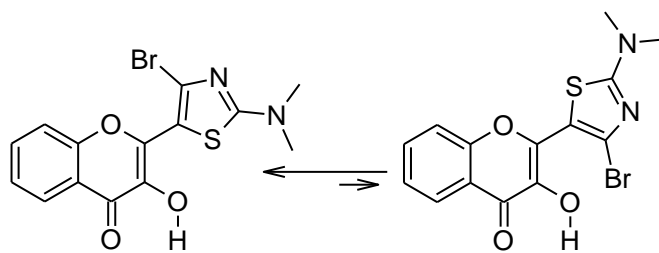
що сполука **32e** має конформації дуже близьку до планарної, у кристалічному стані. Атом Броду знаходиться на відстані 2.981 Å від атому Оксигену в першому положенні хромону, тоді як сума Ван-дер-Вальсових радіусів цих атомів більша – 3.32 Å. Тому можна вважати такий контакт скороченим, а їх причиною можуть бути  $\sigma$ -діркові взаємодії. Однак, це не спричиняє значного обертання навколо С-С зв'язку і відповідно не призводить до втрати планарності.

Планарність молекули в кристалічному стані може підтримуватися міжмолекулярною  $\pi$ - $\pi$  взаємодією з утворенням стопкових структур. Одним з класичних прикладів цього явища може слугувати молекула біфенілу, яка є планарною в кристалах, однак в розчині чи газовій фазі втрачає планарність. Проте, ця можливість виключається виходячи з аналізу елементарної комірки сполуки **32e** (рис. 4.17).

При переході від атому Броду до меншого атому Хлору (сполука **32г**), Ван-дер-Вальсовий радіус якого менший на 0.1 Å, вже відсутнє відповідне просторове напруження. Тому планарність С1-похідних не викликає жодних сумнівів на основі рентгеноструктурного дослідження Вг-похідних.

Підсумовуючи, для тіазоліл хромонів що містять атом галогену в четвертому положенні тіазольного фрагменти, передбачається приблизно планарна структура і в розчинах, що є важливим з точки зору практичного застосування тіазол вмісних хромонів.

Розглянемо також можливу конформаційну рівновагу двох форм, показаних на схемі 4.4. Оскільки, об'єм атомів галогену і гідроксильного атома оксигену при знаходженні з одного боку веде до втрати планарності молекули і відповідного порушення спряження між її частинами, робить таку конформацію термодинамічно менш вигідною. Тому, рівновага має бути сильно зміщеною у бік форми, що спостерігається у кристалічному стані. В результаті можна припустити, що досліджувані 4'-галогензаміщені тіазоліл-хромони у рідких розчинах будуть існувати у такій самій молекулярній конформації, що і в досліджених кристалах.



**Схема 4.4**

Досліджувані сполуки мають ще один замісник з високою конформаційною рухливістю, а саме діалкіламіногрупу. Рентгеноструктурний аналіз дозволяє визначити геометрію атому Нітрогену в цій групі та завдяки цьому визначити наскільки його гібридний стан близький до  $sp^2$  або  $sp^3$  конфігурації.

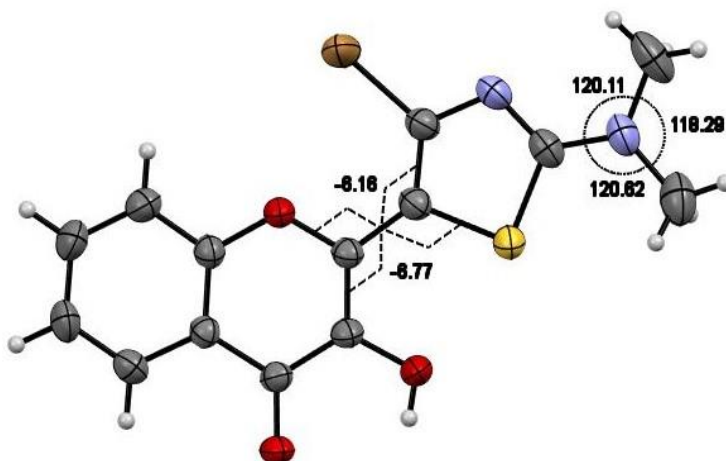


Рисунок 4.21. Конфігурація N,N-диметиламіно групи сполуки **32e** у кристалічному стані

Сума кутів між зв'язками атому Нітрогену в диметиламіногрупі становить  $120.11^\circ$ ,  $118.28^\circ$  і  $120.82^\circ$  (рис 4.21), що в сумі дорівнює  $359.21^\circ$ . Це дуже близько до  $360^\circ$  (з відмінністю менше  $1^\circ$ ) характерних для плоского  $sp^2$ -гібридизованого стану. Виходячи з таких результатів, атом Нітрогену має мінімальний ступінь пірамідальності, що свідчить про значне спряження електронної пари цього атому з усією ароматичною системою хромону.

#### **4.7. Квантово-хімічні розрахунки структури тiazолілхромонів**

Результати рентгеноструктурного аналізу безсумнівно підтверджують конформаційну будову галогенвмісних похідних. Проведені квантово-хімічні

розрахунки свідчать: сполуки **32г-е** існують у конформації, аналогічній до одержаної при рентгеноструктурному аналізі, плоскі та характеризуються мінімальною пірамідальністю діалкіламіногрупи.

Однак, для сполук **32а-б** ситуація не така однозначна. У випадку коли в четвертому положенні тiazольного циклу знаходиться невеликий атом гідрогену, альтернативна, до одержаної конформації при рентгеноструктурному аналізі, може бути додатково стабілізована за рахунок слабкого некласичного водневого зв'язку С-Н...О через взаємодію з атомом кисню гідроксильної групи.

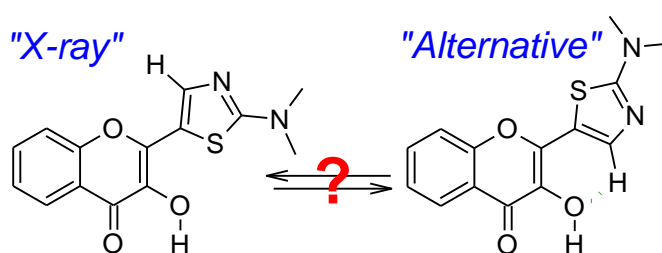


Схема 4.5. Альтернативний ізомер сполуки **32а**

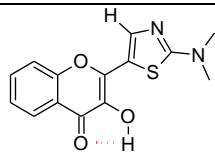
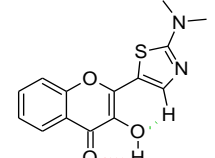
Моделювання, проведені для сполуки **32а** підтвердили важливість додаткового слабкого водневого зв'язку і показали дещо більшу енергетичну вигідність "альтернативної" конформації, яка має дещо нижчу енергію (на 0.46 ккал/моль). Якщо розглянути цей факт з точки зору оцінки за Арреніусом, співвідношення між двома конформаціями у рівноважній суміші буде: 61:39 де 61 відповідає конформації аналогічній одержаній при рентгеноструктурному аналізі. Тому всі розрахункові оцінки для сполук **32а-б** слід робити для обох конформацій, оскільки відповідно до результатів моделювання вони знаходяться в суміші. Крім того це призводить до очікування подібності фізико-хімічні параметри обох конформацій.

Просторові будови конформацій **32а**: **32а** (X-ray) та **32а** (Alternative) (схема 4.5) обидві є плоскими, пірамідальність диметиламіногрупи дуже низька. Параметри внутрішньомолекулярних водневих зв'язків сполуки **32а**, розраховані у основному та збудженому електронному станах (енергії були

оцінені за Еспінозою (228) з використанням теорії Бейдера), наведені в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7.

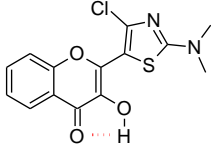
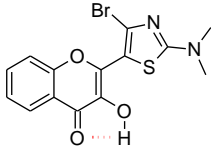
**Довжини та енергії зв'язків у основному та електронно-збудженому стані для двох конформацій сполуки 32a за результатами квантово-хімічних розрахунків**

Конформація	Стан	=O $\cdots$ HO		HO $\cdots$ HC	
		R(O $\cdots$ HO), Å	$\Delta E$ , ккал/моль	R(O $\cdots$ HC), Å	$\Delta E$ , ккал/моль
	S <sub>0</sub>	2.002	7.39	-	-
	S <sub>1</sub>	1.781	10.96	-	-
	S <sub>0</sub>	1.992	7.51	2.352	2.97
	S <sub>1</sub>	1.784	10.91	2.446	2.35

Внутрішньомолекулярний водневий зв'язок, що найбільше впливає на властивості сполуки **32a**, =O $\cdots$ HO, значно посилюється в електронно-збудженому стані, що є основним рушієм ESIPT переходу. Некласичний водневий зв'язок O $\cdots$ HC, який певною мірою стабілізує конформацію **32a**(Alternative), є досить слабким і в стані S<sub>1</sub> не становитися міцнішим, а навпаки слабшає. Таким чином, у основному стані він лише незначно підсилює взаємодію за водневим зв'язком з гідроксильною групою порівняно з конформацією **32a**(X-ray), але в електронно-збудженому стані його вплив майже зникає. Тому, відмінності між двома конформаціями сполуки **32a** щодо реакції фотопереносу протона через внутрішньомолекулярний водневий зв'язок мають бути суттєвими.

Результати аналогічних розрахунків для галогенвмісних сполук **32g** та **32e** наведені в таблиці 4.8.

**Характеристика водневих зв'язків для основного та електронно-збудженого стані сполук **32г** та **32е** за результатом квантово-хімічних розрахунків**

Сполука	Стан	=O <sup>···</sup> HO	
		R(O <sup>···</sup> HO), Å	ΔE, ккал/моль
 <b>32г</b>	S <sub>0</sub>	1.967	7.81
	S <sub>1</sub>	1.740	12.16
 <b>32е</b>	S <sub>0</sub>	1.963	7.86
	S <sub>1</sub>	1.738	12.25

Введення атома галогену в четверте положення тiazольного фрагменту підсилює внутрішньомолекулярні водневі зв'язки як у основному так і в збудженому станах. Це можна пояснити від'ємним індуктивним ефектом атомів галогену. Вплив природи атомів галогенів, таких як Cl і Br, є мінімально відмінним, в випадку що розглядається, ним можна знехтувати. За такого припущення, можна очікувати невелике пришвидшення ESIPT для галогенопохідних порівняно з цільовою сполукою **32а**, яка не містить галогенів. Цей прогноз може стати важливим в випадку дослідження майбутніх високомолекулярних похідних різної природи.

Рушійною силою ESIPT є внутрішньомолекулярний перерозподіл електронної густини при переході досліджуваних молекул у збуджений стан, що був проаналізований за допомогою підходу ESSA (236-237). На рисунку 4.22 цей перерозподіл наведено у вигляді "чисел переносу заряду",  $I_{ij}$ , які є квантово-хімічними індексами. Вони враховують не лише обсяг електронної густини, що переміщується в межах молекули, але й напрямок цього переміщення. Величини  $I_{ij}$  мають розмірність відсотку заряду електрона.

Оскільки повна атомна діаграма є малоінформативною, молекули умовно розділені на багатоатомні субмолекулярних фрагментів. Такий підхід дозволяє визначити характер перерозподілу електричних зарядів з використанням індексів  $I_{ij}$  у молекулі при електронному збудженні. У молекулах **32a,б,г-е** були визначені такі вагомні фрагменти: 1) анельоване бензольне кільце хронону, 2) карбонільна група, 3) енольний фрагмент з атомом Оксигену у першому положенні 1, 4) тiazольний цикл і 5) диметиламіногрупа.

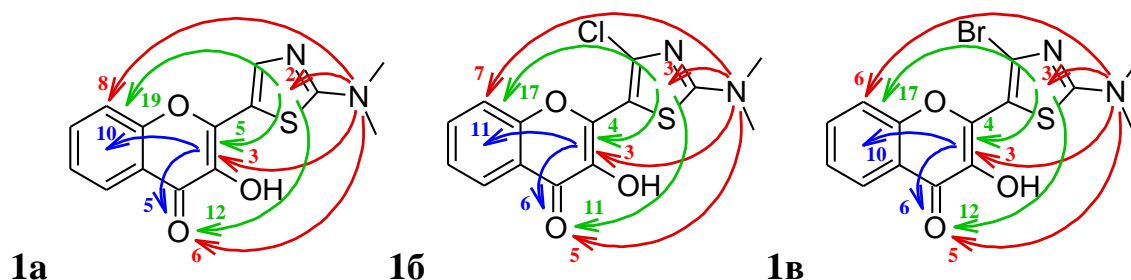


Рисунок 4.22. Розраховані діаграми перерозподілу електронної густини в молекулах **32a**, **32г** та **32е** в електронно-збудженому стані, побудовані у межах формалізму ESSA (числа переносу заряду).

Діаграми демонструють однотипний характер перерозподілу електронної густини в збудженому стані в досліджуваних молекулах, незалежно від наявності чи відсутності та типу галогену: різниця в кількості електронної густини, що переміщується між однотипними фрагментами трьох молекул, не перевищує 1% заряду електрона. Для сполуки **32a** перерозподіл електронної густини в різних конформаціях ідентичний, тому показана лише одна з них. Спряження диметиламіногрупи, з тiazольним циклом сприяє перенесенню електронної густини в загальну ароматичну систему настільки, що є характерним також і для збудженого стану. Тiazольний цикл є головним електронодонорним центром у досліджуваних молекулах, а карбонільна група та анельоване бензольне кільце хромонового біциклу розглянуті як акцептори. Хромоновий фрагмент несподівано виявився більш вираженим акцепторним центром, на який

стягнуто більше електронної густини в стані  $S_1$ , ніж на карбонільну групу (відповідно 0.38e та 0.23e для сполуки **32a**). Це, ймовірно, пов'язано з більш ефективною делокалізацією електронної густини ароматичному кільцю, ніж за двома карбонільними групами, навіть з урахуванням електронегативності атому Оксигену. Енольна група в такій структурі віддає більше електронної густини, ніж приймає: -0.15e для атому Карбону та +0.08e для атому Оксигену. В результаті кислотність гідроксильної групи стає більшою, ніж очікувалось, що разом з високою основністю сусідньої карбонільної групи (додаткові 0.23e) підсилює внутрішньомолекулярний водневий зв'язок, зрештою сприяючи переносу протону між цими групами у збудженому стані. Наступною задачею моделювання процесу фотопереносу протону була приблизна оцінка швидкості процесу виявлення впливу галогенів введених в молекули сполук **32г-е** на цей процес.

В минулих роботах для вирішення подібних задач вже був апробований підхід, із застосуванням рівняння Арреніуса і порівнянні розрахованих енергій активації ESIPT досліджуваних молекул з незаміщеним 3-гідроксифлавоном (234, 238). Для останнього це глибоко досліджений процес внутрішньомолекулярної хімічної реакції, в тому числі у неполярному середовищі за відсутності впливу протонодонорних домішок,  $\sim 10^{12} \text{ c}^{-1}$  (239). Щоб приблизно оцінити швидкість ESIPT для будь-якого похідного з серії 3-гідроксихромонів (позначено X у рівнянні 4.5), помножимо цю величину на відношення експонент від'ємних енергій активації.

$$k_{\text{ESIPT}}(\text{X}) \sim 10^{12} \cdot \exp(-\Delta E_{\text{act}}^{\text{X}}) / \exp(-\Delta E_{\text{act}}^{\text{3HF}}) \quad (4.5)$$

Рівняння 4.5 залишається вірним лише за умови, що передекспоненціальні фактори у рівнянні Арреніуса є близькими. Це може бути досягнуто у випадку коли як у чисельнику, так і в знаменнику формули представлені дані, що стосуються сполук із серії 3-гідроксихромонів.



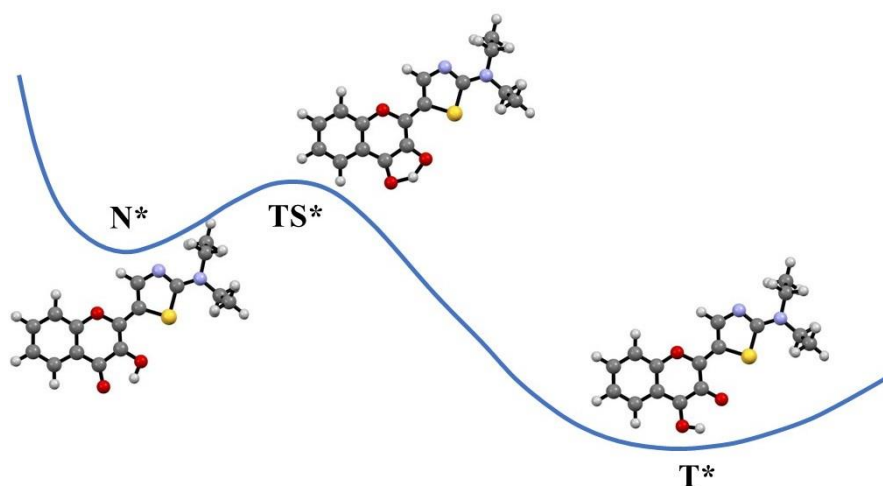


Рисунок 4.23. Схематичне зображення поверхні потенційної енергії ESIPt тiazольного аналога 3-гідроксифлавону у координатах енергія-координата реакції (TDDFT розрахунок).  $N^*$ ,  $T^*$  - відповідно електронно-збуджені нормальна і фототаутомерна форми,  $TS^*$  - перехідний стан між ними.

Таблиця 4.9.

**Квантово-хімічне моделювання реакції фотопереносу протона у ряду тiazольних аналогів 3-гідроксифлавону.**

Сполука	Енергії активації (ккал/моль)		$k_{ESIPt}$ , $s^{-1}$ (прямий)
	прямий ESIPt	зворотний ESIPt	
 <b>1a(X)</b>	3.41	8.07	$8.7 \cdot 10^{10}$

Продовження таблиця 4.9.

 <b>1a(A)</b>	3.88	7.80	$5.4 \cdot 10^{10}$
 <b>1c</b>	2.30	9.20	$2.6 \cdot 10^{11}$
 <b>1e</b>	2.25	9.14	$2.8 \cdot 10^{11}$

Розрахована за аналогічним підходом  $\Delta E_{\text{ESIPT}}$  модельного ЗНФ дорівнювала 0.965 ккал/моль

Для застосування даного підходу необхідно було розрахувати відповідні енергії активації ESIPT для сполук досліджуваної серії та модельного 3-гідроксифлавону. Результати розрахунків наведено на рисунку 4.23 (на прикладі сполуки **32a** у «рентгенівській» конформації) та в таблиці 4.9.

На рисунку 4.23, на якому приведені розраховані геометрії молекул, для нормальної форми чітко простежується просторове зближення карбонільної та гідроксильної груп. Це є відображенням підсилення внутрішньомолекулярного водневого зв'язку  $\text{C}=\text{O}\cdots\text{HO}$  в електронно-збудженому стані, яке й є рушійною силою реакції фотопереносу протона.

В цьому зближенні головним чинником є зменшення валентних кутів  $\text{O}=\text{C}_4-\text{C}_3$  до  $114.5^\circ$  та  $\text{C}_4-\text{C}_3-\text{O}$  до  $112.4^\circ$  у площині молекули. Ця обставина підтверджує гіпотезу про те, що в ESIPT є активними не високочастотні валентні коливання O-H гідроксильної групи ( $\sim 3600 \text{ cm}^{-1}$ ), а низькочастотні площинні деформаційні «ножичні» коливання карбонільної та гідроксильної груп діапазону  $200-400 \text{ cm}^{-1}$  (240, 241).

Для усіх сполук цієї роботи енергія активації зворотного ESIPT у 2.5-4 рази перевищувала аналогічну характеристику прямої реакції. Дана обставина дозволяє зробити припущення щодо незворотності переносу протона у сполук тіазольного ряду (242). Це вирізняє їх від широко досліджених аналогів – диметиламінозаміщених похідних 3-гідроксифлавону. В той час як оцінені для останніх швидкості прямого і зворотного ESIPT є величинами одного порядку, і на цій основі можна було б очікувати для тіазольних аналогів менших зручностей у застосуванні принципу раціометричної флуоресцентної детекції (243).

Дещо несподіваною виявилась оцінка константи швидкості фотопереносу протона двох конформацій сполуки **32a**. Додатковий слабкий неklasичний водневий зв'язок  $\text{C}-\text{H}\cdots\text{OH}$  за усіма ознаками мав би

підсилювати кислотність гідроксильної групи, і, таким чином, хоча б частково пришвидшувати ESIPT. Проведені розрахунки продемонстрували протилежний ефект – реакція фотопереносу протона у «рентгенівській» конформації виявилась майже у півтори рази більш швидкою. Як пояснення можна запропонувати, що додатковий водневий зв'язок може протидіяти зближенню гідроксильної та карбонільної груп у електронно-збудженій молекулі **32a**, і, таким чином, відігравати роль фактора, який певною мірою стримує внутрішньомолекулярну хімічну реакцію.

Введення атомів галогену у положення 4 тіазольного циклу досліджуваних сполук приводить до майже трикратного пришвидшення ESIPT. При цьому, швидкість фотопереносу протона у Br-похідної є ненабагато, але все ж таки вищою, аніж у Cl-похідної (табл. 4.9). Ці факти дозволяють зробити припущення, що головним чинником впливу атома галогену є мезомерний ефект, який вищий у атома бром.

Останнім питанням, на яке мало відповісти проведе нами квантово-хімічне моделювання, є роль важкого атома у фотофізиці тіазольних аналогів 3-гідроксихромону. Відомо, що важкі атоми, введені у органічні молекули, підсилюють спін-орбітальну взаємодію в молекулі, яка, у свою чергу, веде до часткового зняття спінової заборони, і як наслідок – пришвидшення безвипромінювального процесу інтеркомбінаційної конверсії (ISC) (244). Остання є конкурентом для процесу випромінювання флуоресценції з нижнього синглетного збудженого стану  $S_1$ , а також для можливих фотохімічних процесів, які відбуваються у обговорюваному збудженому стані. Пришвидшення ISC зазвичай веде до суттєвого зменшення квантового виходу флуоресценції.

Спін-орбітальну взаємодію між досліджуваними молекулами у стані  $S_1$  розраховували для усіх розташованих нижче енергії триплетних станів. Константу швидкості ISC оцінювали за емпіричним рівнянням Робінсона-Фроша (233) (рівн. 4.6).

$$k_{ISC} = 0.71 \cdot 10^{12} \cdot \beta^2 \cdot \exp(-0.25 \cdot \Delta E^{0.4}) \quad (4.6)$$

$\beta$ -матричний елемент оператора спіно-орбітальної взаємодії синглетного та триплетного станів, що розглядаються, ( $\text{см}^{-1}$ ),

$\Delta E$  – різниця їх енергій ( $\text{см}^{-1}$ ).

Константи швидкості випромінювання флуоресценції оцінювали за відомим співвідношенням (4.7),

$$k_f = 3/2 \cdot f \cdot \nu^2 \quad (4.7)$$

$f$  – розрахована квантово-хімічними методами сила осцилятора,

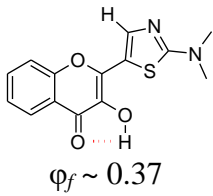
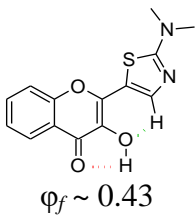
$\nu$  – енергія довгохвильового переходу в спектрі поглинання, виражена в шкалі хвильових чисел ( $\text{см}^{-1}$ ).

Квантові виходи флуоресценції ( $\phi_f$ ) розраховували як співвідношення константи швидкості випромінювальної дезактивації нижнього синглетного збудженого стану  $S_1$  та суми констант швидкостей усіх первинних фотофізичних та фотохімічних процесів, які приводять до його депопуляції (флуоресценція, ISC, ESIPT, тощо). Для нормальної форми у відповідності з правилом Єрмолаєва-Свешнікової (245, 246) нехтували безвипромінювальним процесом внутрішньої конверсії  $S_1$ - $S_0$ . Отримані результати наведено в таблиці 4.10.

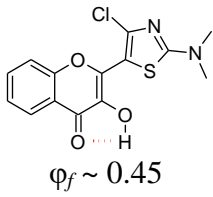
У відповідності до правила Ель-Сайєда (247, 248), сильний спіно-орбітальний зв'язок існує між синглетними та триплетними станами різної орбітальної природи, наприклад,  $\pi\pi^*$  та  $n\pi^*$ . Він може бути причиною високих швидкостей інтеркомбінаційної конверсії, які можуть у разі і навіть на порядки перевищувати швидкість випромінювання флуоресценції. В такому разі остання є повністю або суттєво зниженою. У цьому контексті нас насамперед цікавило положення  $\pi\pi^*$ -станів у системі синглетних і триплетних рівнів досліджуваних сполук (249, 250).

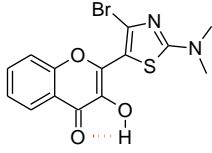
Таблиця 4.10.

**Фотофізичні параметри, розраховані для досліджених тiazолільних аналогів 3-гідроксифлавону у Франк-Кондонівській геометрії (приведені оцінки квантових виходів не враховують ESIPT)**

Сполука, конформація	Флуоресцентний стан $S_1$	Параметри процесу ISC $\beta$ , $\text{cm}^{-1}$ $k_{ISC}$ , $\text{s}^{-1}$	Триплетні стани $T_i$
 <p><math>\phi_f \sim 0.37</math></p>	<p>383 нм 26090 <math>\text{cm}^{-1}</math> <math>f = 0.697</math> <math>k_f = 3.16 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}</math></p>	<p>8.63 <math>\text{cm}^{-1}</math> -</p>	<p><math>T_4</math>, <math>\pi\pi^*</math> 339 нм 29500 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.165 <math>\text{cm}^{-1}</math> -</p>	<p><math>T_3</math>, <math>\pi\pi^*</math> 363 нм 27580 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.173 <math>\text{cm}^{-1}</math> <math>5.43 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}</math></p>	<p><math>T_2</math>, <math>\pi\pi^*</math> 396 нм 25260 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.091 <math>\text{cm}^{-1}</math> <math>4 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}</math></p>	<p><math>T_1</math>, <math>\pi\pi^*</math> 595 нм 16820 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
 <p><math>\phi_f \sim 0.43</math></p>	<p>377 нм 26530 <math>\text{cm}^{-1}</math> <math>f = 0.763</math> <math>k_f = 3.58 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}</math></p>	<p>9.58 <math>\text{cm}^{-1}</math> -</p>	<p><math>T_4</math>, <math>\pi\pi^*</math> 337 нм 29650 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.212 <math>\text{cm}^{-1}</math> -</p>	<p><math>T_3</math>, <math>\pi\pi^*</math> 361 нм 27710 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.198 <math>\text{cm}^{-1}</math> <math>4.82 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}</math></p>	<p><math>T_2</math>, <math>\pi\pi^*</math> 393 нм 25470 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.136 <math>\text{cm}^{-1}</math> <math>7 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}</math></p>	<p><math>T_1</math>, <math>\pi\pi^*</math> 599 нм 16690 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>

Продовження таблиці 4.10.

 <p><math>\phi_f \sim 0.45</math></p>	<p>378 нм 26440 <math>\text{cm}^{-1}</math> <math>f = 0.698</math> <math>k_f = 3.25 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}</math></p>	<p>10.73 <math>\text{cm}^{-1}</math> -</p>	<p><math>T_4</math>, <math>\pi\pi^*</math> 337 нм 29710 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.415 <math>\text{cm}^{-1}</math> -</p>	<p><math>T_3</math>, <math>\pi\pi^*</math> 358 нм 27900 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.188 <math>\text{cm}^{-1}</math> <math>3.85 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}</math></p>	<p><math>T_2</math>, <math>\pi\pi^*</math> 397 нм 25210 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>
		<p>0.522 <math>\text{cm}^{-1}</math></p>	<p><math>T_1</math>, <math>\pi\pi^*</math></p>

		$1.2 \cdot 10^7 \text{ c}^{-1}$	590 нм $16960 \text{ cm}^{-1}$
 <p><math>\phi_f \sim 0.014</math></p>		$13.23 \text{ cm}^{-1}$ -	$T_4, \pi\pi^*$ 337 нм $29690 \text{ cm}^{-1}$
	381 нм $26280 \text{ cm}^{-1}$ $f = 0.684$ $k_f = 3.15 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$1.974 \text{ cm}^{-1}$ -	$T_3, \pi\pi^*$ 359 нм $27860 \text{ cm}^{-1}$
		$1.396 \text{ cm}^{-1}$ $2.15 \cdot 10^{10} \text{ c}^{-1}$	$T_2, \pi\pi^*$ 398 нм $25140 \text{ cm}^{-1}$
		$1.550 \text{ cm}^{-1}$ $1.05 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$T_1, \pi\pi^*$ 592 нм $16900 \text{ cm}^{-1}$

За результатами проведеного моделювання ми дійшли висновку, що синглетний  $\pi\pi^*$  рівень сполук **32a,б,г-е** не є нижнім за енергією, він розташований при  $\sim 310$  нм і не впливає на спектрально-флуоресцентні характеристики тiazолільних аналогів 3-гідроксифлавоу.

Триплетний  $\pi\pi^*$  рівень у всіх досліджуваних сполук розташований при  $\sim 337$  нм (за порядком рівнів це  $T_4$ ), це також значно вище їх флуоресцентного стану і робить вірогідність його термічного заселення зневажливо малою.

Таким чином, незважаючи на підвищений спін-орбітальний зв'язок з рівнем  $S_1$  ( $8-13 \text{ cm}^{-1}$ ), триплетний  $\pi\pi^*$  стан не підвищує вірогідність переходу у триплетну систему енергетичних рівнів, адже різниця енергій  $S_1$  та  $T_4$  ( $\sim 3000 \text{ cm}^{-1}$ ) робить маловірогідним заселення останнього за умов термічної активації. Це означає, що фотофізичний механізм підсилення спін-орбітальної взаємодії за рахунок ефекту важкого атому має чільне значення у регулюванні спектральних властивостей досліджуваних сполук. Це підтверджується даними бромпохідної, для якої спін-орбітальний зв'язок

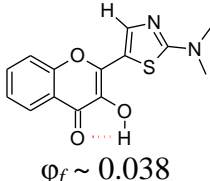
суттєво підсилюється, і матричні елементи оператора СОВ досягають значень, вищих за  $1-1.5 \text{ см}^{-1}$ .

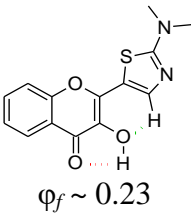
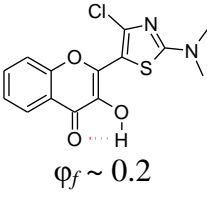
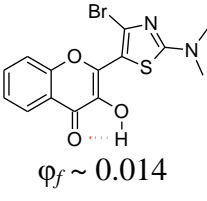
Слід зазначити, що в таблиці 4.10 наведені величини гіпотетичних квантових виходів флуоресценції нормальної форми, які б спостерігались за умов відсутності процесів фотопереносу протона. Вони є достатньо великими. Оцінка швидкості ESIPT для сполук у нерелаксованій Франк-Кондонівській геометрії не є можливою, адже розрахунок енергій активації будь-яких хімічних процесів електронно-збуджених молекул можливий тільки між повністю оптимізованими початковим та кінцевим станами у їх взаємній трансформації.

Для наближеної до реальності оцінки швидкості фотофізичних процесів в досліджуваних сполуках, нами була проведена оптимізація геометрії їх молекул у електронно-збудженому стані, після цього були зроблені оцінки СОВ для структурно-релаксованих збуджених станів. Відповідні дані приведені в таблиці 4.11, в якій ми обмежились тільки флуоресцентним станом  $S_1$  та триплетними рівнями, що розташовані нижче нього за енергією.

Таблиця 4.11.

**Фотофізичні параметри, розраховані для досліджених тiazолільних аналогів 3-гідроксифлавону у структурно-релаксованій геометрії флуоресцентного стану (приведені квантові виходи не враховують ESIPT)**

Сполука, конформація	Флуоресцентний стан $S_1$	Параметри процесу ISC $\beta, \text{см}^{-1}$ $k_{ISC}, \text{с}^{-1}$	Триплетні стани $T_i$
 $\Phi_f \sim 0.038$	429 нм $23320 \text{ см}^{-1}$ $f = 0.595$ $k_f = 2.16 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1}$	$0.149 \text{ см}^{-1}$ $5.46 \cdot 10^9 \text{ с}^{-1}$	$T_2, \text{пл}^*$ 428 нм $23360 \text{ см}^{-1}$
		$0.222 \text{ см}^{-1}$ $3.7 \cdot 10^6 \text{ с}^{-1}$	$T_1, \text{пл}^*$ 659 нм $15190 \text{ см}^{-1}$

 $\phi_f \sim 0.23$	418 нм $23910 \text{ cm}^{-1}$ $f = 0.672$ $k_f = 2.56 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$0.203 \text{ cm}^{-1}$ $8.39 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$T_2, \text{пл}^*$ 432 нм $23140 \text{ cm}^{-1}$
		$0.297 \text{ cm}^{-1}$ $4.7 \cdot 10^6 \text{ c}^{-1}$	$T_1, \text{пл}^*$ 667 нм $15000 \text{ cm}^{-1}$
 $\phi_f \sim 0.2$	419 нм $23870 \text{ cm}^{-1}$ $f = 0.644$ $k_f = 2.45 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$0.196 \text{ cm}^{-1}$ $9.63 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$T_2, \text{пл}^*$ 431 нм $23220 \text{ cm}^{-1}$
		$0.331 \text{ cm}^{-1}$ $6.1 \cdot 10^6 \text{ c}^{-1}$	$T_1, \text{пл}^*$ 663 нм $15090 \text{ cm}^{-1}$
 $\phi_f \sim 0.014$	421 нм $23770 \text{ cm}^{-1}$ $f = 0.638$ $k_f = 2.40 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$0.745 \text{ cm}^{-1}$ $1.69 \cdot 10^{10} \text{ c}^{-1}$	$T_2, \text{пл}^*$ 431 нм $23200 \text{ cm}^{-1}$
		$0.614 \text{ cm}^{-1}$ $2.13 \cdot 10^7 \text{ c}^{-1}$	$T_1, \text{пл}^*$ 666 нм $15010 \text{ cm}^{-1}$

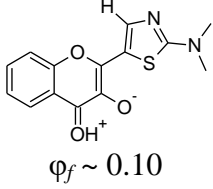
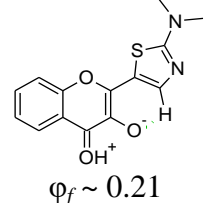
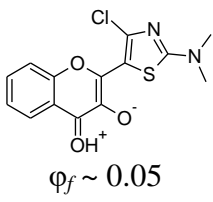
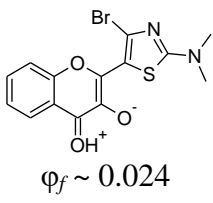
Структурна релаксація приводить до зниження енергії відповідних рівнів і їх зсуву у довгохвильовий діапазон. Триплетні рівні зміщуються меншою мірою, таким чином енергетична відстань між ними та флуоресцентним станом може зменшуватись. Це за усіх рівних умов веде до пришвидшення безвипромінювальних процесів інтеркомбінаційної конверсії, які конкурують із випромінюванням флуоресценції. В результаті розраховані для структурно-релаксованих станів квантові виходи можуть формально знижуватись. У випадку сполуки **32a** розрахунки спрогнозували аномально низький квантовий вихід флуоресценції, це трапилось за рахунок суттєвого зближення рівнів  $S_1$  та  $T_2$  за енергією.

Таблиця 4.12.

**Фотофізичні параметри, розраховані для фототаутомерних форм досліджених тіазолільних аналогів 3-гідроксифлавону (квантові виходи відносяться до гіпотетичного випадку прямого збудження фототаутомеру)**

Сполука, конформація	Флуоресцентний стан $S_1$	Параметри процесу ISC $\beta, \text{cm}^{-1}$	Триплетні стани $T_i$
----------------------	---------------------------	---	-----------------------



		$k_{ISC}, c^{-1}$	
 $\varphi_f \sim 0.10$	472 нм $21200 \text{ cm}^{-1}$ $f = 0.937$ $k_f = 2.81 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$0.426 \text{ cm}^{-1}$ $2.54 \cdot 10^9 \text{ c}^{-1}$	$T_2, \text{пл}^*$ 495 нм $20220 \text{ cm}^{-1}$
		$0.420 \text{ cm}^{-1}$ $1.7 \cdot 10^6 \text{ c}^{-1}$	$T_1, \text{пл}^*$ 1290 нм $7750 \text{ cm}^{-1}$
 $\varphi_f \sim 0.21$	466 нм $21460 \text{ cm}^{-1}$ $f = 0.879$ $k_f = 2.70 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$0.177 \text{ cm}^{-1}$ $1.03 \cdot 10^9 \text{ c}^{-1}$	$T_2, \text{пл}^*$ 478 нм $20930 \text{ cm}^{-1}$
		$0.041 \text{ cm}^{-1}$ $1 \cdot 10^4 \text{ c}^{-1}$	$T_1, \text{пл}^*$ 1265 нм $7910 \text{ cm}^{-1}$
 $\varphi_f \sim 0.05$	472 нм $21170 \text{ cm}^{-1}$ $f = 0.905$ $k_f = 2.71 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$0.391 \text{ cm}^{-1}$ $5.26 \cdot 10^9 \text{ c}^{-1}$	$T_2, \text{пл}^*$ 484 нм $20660 \text{ cm}^{-1}$
		$0.480 \text{ cm}^{-1}$ $2.5 \cdot 10^6 \text{ c}^{-1}$	$T_1, \text{пл}^*$ 1230 нм $8110 \text{ cm}^{-1}$
 $\varphi_f \sim 0.024$	475 нм $21050 \text{ cm}^{-1}$ $f = 0.903$ $k_f = 2.67 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	$0.745 \text{ cm}^{-1}$ $1.69 \cdot 10^{10} \text{ c}^{-1}$	$T_2, \text{пл}^*$ 486 нм $20570 \text{ cm}^{-1}$
		$0.614 \text{ cm}^{-1}$ $2.13 \cdot 10^7 \text{ c}^{-1}$	$T_1, \text{пл}^*$ 1236 нм $8090 \text{ cm}^{-1}$

У структурно-релаксованій геометрії частково змінилися також параметри COB, але це не вплинуло принципово на співвідношення розрахованих квантових виходів флуоресценції нормальної форми у «рентгенівській» конформації: хлорпохідна показала майже однаковий результат з незаміщеною сполукою, а для бромпохідної було зпрогнозовано значне падіння ефективності флуоресценції.

Порівняння даних таблиць 4.8 та 4.10 дозволяє дійти висновку, що в усіх досліджених випадках швидкість ESIPT на 1-2 порядки повинна перевищувати швидкість безвипромінювальної дезактивації флуоресцентного стану за механізмом інтеркомбінаційної конверсії. Таким чином, навіть у випадку бромпохідної, заселення фототаутомерних форм буде достатньо ефективним.

В таблиці 4.12 не враховані процеси внутрішньої конверсії  $S_1$ - $S_0$ , які для відносно довгохвильової флуоресценції фототаутомерних форм можуть

мати певне значення. Хоча, згідно правила Єрмолаєва-Свешнікової (245), розрахована енергія електронно-збуджених фототаутомерних форм ще не опускається нижче умовної межі  $20000 \text{ см}^{-1}$ , за якою це врахування стає обов'язковим.

Грунтуючись на оцінених розрахунковим методом константах первинних фотофізичних та фотохімічних процесів, які наведені в таблицях 4.9, 4.11 та 4.12, можна спробувати теоретично вирахувати загальну квантову ефективність флуоресценції сполук досліджуваної серії.

Співвідношення 3.4 було отримано у стандартному фотостаціонарному наближенні для незворотного ESIPT (242), воно використовувалось у одній з попередніх публікацій нашої дослідницької групи:

$$\varphi_f = \varphi_N + \varphi_T = \frac{k_f^N}{k_f^N + k_{ISC}^N + k_{ESIPT}} + k_f^T \cdot \frac{k_{ESIPT}}{k_f^N + k_{ISC}^N + k_{ESIPT}} / (k_f^T + k_{ISC}^T) \quad (4.8)$$

Тут  $k_f^N$  та  $k_f^T$  - константи швидкості випромінювання флуоресценції відно нормальної та фототаутомерних форм,

$k_{ISC}^N$  та  $k_{ISC}^T$  - константи швидкості процесів інтеркомбінаційної конверсії відповідно нормальної та фототаутомерних форм,

$k_{ESIPT}$  - константа швидкості внутрішньомолекулярного перенесення протона у електронно-збудженому стані ( $\text{с}^{-1}$ )

Застосування співвідношення 4.8 до сполук досліджуваної серії приводить до наступних результатів:  $\varphi_f(\mathbf{1aX}) \sim 0.096$ ,  $\varphi_f(\mathbf{1aA}) \sim 0.21$ ,  $\varphi_f(\mathbf{1c}) \sim 0.05$  та  $\varphi_f(\mathbf{1e}) \sim 0.023$ . Видно, що усі сполуки за винятком бромпохідної, зберігають помірні квантові виходи флуоресценції, а повного гасіння флуоресценції за рахунок ефекту важкого атому не досягається.

Таким чином, у сполук досліджуваної серії проявляється загальна тенденція збереження ESIPT у конкуренції з безвипромінювальними процесами у електронно-збуджених нормальній та фототаутомерній формах.

Втім, повністю позбутися ефекту важкого атому, який має вплив також на фотофізичні параметри продукту реакції ESIPT - фототаутомерної форми, як це відбувається у випадку досліджуваної бромпохідної **32e**, не вдається.

#### **4.8. Методика одержання та фізико хімічні характеристики продуктів.**

##### **Загальна методика одержання 2-арил-3-гідрокси-хромонів 27а-в**

Відповідний пропенон **26а-в** (5 ммоль) розчиняють в 5 мл метанолу та додають КОН (561 мг, 10 ммоль). Потім додають 1.7 мл (15 ммоль) 30% водного розчину, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> та кип'яють реакційну суміш протягом 3 годин. Про завершення реакції свідчить зміна кольору суміші з темно-червоного на світло червоний. Після охолодження суміші її нейтралізують оцтовою кислотою до рН = 7, осад, що утворюється після нейтралізації, фільтрують та висушують при зниженому тиску.

##### **4.8.1. 3-Гідрокси-2-феніл-хромен-4-он (27а).**

Білий порошок, вихід 1.92 г (81%). T<sub>пл</sub>=170-172 °С. <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 9.65 (с, 1H), 8.23 (д, J = 7.40 Гц, 2H), 8.13 (дд, J = 8.04, 1.12 Гц, 1H), 7.82 – 7.76 (м, 2H), 7.60 – 7.56 (м, 2H), 7.53 – 7.46 (м, 2H). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 172.97, 154.56, 145.15, 139.05, 133.71, 131.27, 129.85, 128.49, 127.63, 124.77, 124.54, 121.28, 118.39. Мас-спектр, m/z (I<sub>відн</sub>, %): 238 (100).

##### **4.8.2. 3-Гідрокси-2-(4'-хлорофеніл)-хромен-4-он (27б)**

Білий порошок, вихід 2.02 г (74%). T<sub>пл</sub>=197-199 °С. <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 8.26 (д, J = 8.3 Гц, 2H), 8.13 (д, J = 7.9 Гц, 1H), 7.80 (дт, J = 7.4, 8.3 Гц, 2H), 7.65 (д, J = 8.3 Гц, 2H), 7.48 (т, J = 7.4 Гц, 1H). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, м.ч.: 172.97, 154.49, 143.93, 139.30, 134.39, 133.82, 130.16, 129.28, 128.62, 124.78, 124.59, 121.26, 118.39. Мас-спектр, m/z (I<sub>відн</sub>, %): 274 (100).

### 4.8.3. 3-Гідрокси-2-(4'-(трифторметил)феніл)-хромен-4-он (27в)

Бежевий порошок, вихід 1.89 г (62%).  $T_{пл}=186.5-187.0$  °C. Розраховано для  $C_{16}H_9F_3O_3$ , %: C 62.75; H 2.96. Знайдено, %: C 62.69; H 2.91.  $^1H$  NMR (400 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 7.42 (т, 1H, H-6), 7.67 (д, 1H, H-8), 7.74 (дд, 1H, H-7), 7.83 (д, 2H, H-3', H-5'), 8.06 (д, 1H, H-5), 8.35 (д, 2H, H-2', H-6'), 10.0 (ус, 1H, OH).  $^{13}C$  NMR (126 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ , м.ч.: 118.8, 121.7, 125.0, 125.3, 125.6, 125.7, 128.5, 134.4, 135.6, 140.6, 143.5, 154.9, 173.5. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{відн}$ , %): 307 (100).

#### Загальна методика зняття діоксоланового захисту

До 5г  $SiO_2$  додають 0.25 мл 5% водного розчину щавлевої кислоти та розчин (1 ммоль) відповідного діоксолан захищеного альдегіду в 20 мл  $CH_2Cl_2$ , перемішують 24 години. Потім фільтрують через шар  $Na_2SO_4$  та видаляють розчинник на ротаційному випарювачі.

### 4.8.4. 4-Бром-[2,4'-бітіазол]-5-карбальдегід (30є)

Жовтий порошок, вихід 227 мг (83%). Розраховано для  $C_7H_3BrN_2OS_2$ , %: C, 30.56; H, 1.10; Br, 29.04; N, 10.18; O, 5.81; S, 23.30. Знайдено, %: C 30.54; H 1.12; Br 29.06; N 10.15; S 23.31.  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 8.24 (д,  $J = 2.0$  Гц, 1H, S-CH=N-C=CH), 8.88 (д,  $J = 2.1$  Гц, 1H, S-CH=N), 10.01 (с, 1H, CHO). Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{відн}$ , %): 274 (100), 276(98).

### 4.8.5. 4-Бром-2-(1-метил-1H-пірол-2-іл)тіазол-5-карбальдегід (4h)

Жовтий порошок, вихід 235 мг (87%). Розраховано для  $C_8H_6BrN_3OS$ , %: C, 35.31; H, 2.22; Br, 29.36; N, 15.44; O, 5.88; S, 11.78. Знайдено, %: C 35.32; H 2.22; Br 29.37; N 10.12; S 11.77.  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ )  $\delta$ , м.ч.: 4.02 (с, 3H,  $CH_3$ ), 6.19 (дд,  $J = 4.1, 2.5$  Гц, 1H, N-CH=CH-CH), 6.83 (с, 1H, N-CH=CH-CH), 6.89 (дд,  $J = 4.1, 1.7$  Гц, 1H, N-CH=CH-CH), 9.91 (с, 1H, CHO).  $^{13}C$  NMR (101 МГц,  $CDCl_3$ )  $\delta$ , м.ч.: 37.44, 98.42, 109.86, 116.53, 125.49, 128.67, 130.26, 135.28, 182.61. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{відн}$ , %): 270 (100), 272(98).

### Загальна методика синтезу сполук 31(а,б,д,е-з).

2-Гідроксиацетофенон (1 ммоль) та відповідний альдегід (1 ммоль) послідовно розчиняють у 15 мл ДМФ. При перемішуванні додають метилат натрію (3 ммоль). Реакційну суміш перемішують протягом 2 годин. До розчину додають воду та нейтралізують оцтовою кислотою до рН=7. Утворений осад фільтрують та промивають водою.

#### 4.8.6. 1-(2-Гідроксифеніл)-3-(тіазол-4-іл)проп-2-ен-1-он (31и).

Жовтий порошок, вихід 197 мг (85%).  $T_{\text{пл}}=110-112^{\circ}\text{C}$ . Розраховано для  $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{NO}_2\text{S}$ , %: С, 62.32; Н, 3.92; N, 6.06; О, 13.84; S, 13.86. Знайдено, %: С 62.31; Н 3.93; N, 6.05; S 13.87.  $^1\text{H NMR}$  (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 6.99 (т,  $J = 8.0$  Гц, 2H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}-\text{CH}$ ), 7.48–7.63 (м, 1H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\underline{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.84 (д,  $J = 15.2$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{O})-\underline{\text{CH}}=\text{CH}$ ), 7.98 (д,  $J = 2.8$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\underline{\text{CH}}$ ), 8.01 (д,  $J = 11.0$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{O})-\text{CH}=\underline{\text{CH}}$ ), 8.32 (д,  $J = 1.8$  Гц, 1H,  $\text{S}-\text{CH}=\text{N}-\text{C}=\underline{\text{CH}}$ ), 9.23 (д,  $J = 1.8$  Гц, 1H,  $\text{S}-\underline{\text{CH}}=\text{N}$ ), 12.16 (с, 1H,  $\text{OH}$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (126 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 117.68, 119.35, 121.26, 123.44, 125.06, 130.37, 136.08, 136.33, 152.07, 155.75, 161.13, 193.37. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 232 (100).

#### 4.8.7. 1-(2-Гідроксифеніл)-3-(тіазол-5-іл)проп-2-ен-1-он (31з).

Жовтий порошок, вихід 188 мг (81%).  $T_{\text{пл}}=111^{\circ}\text{C}$ . Розраховано для  $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{NO}_2\text{S}$ , %: С, 62.32; Н, 3.92; N, 6.06; О, 13.84; S, 13.86. Знайдено, %: С 62.32; Н 3.94; N, 6.04; S 13.86.  $^1\text{H NMR}$  (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 6.99 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}-\text{CH}$ ), 7.55 (т,  $J = 7.2$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\underline{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 8.12 (д,  $J = 7.6$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\underline{\text{CH}}$ ), 8.07 (д,  $J = 15.5$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{O})-\underline{\text{CH}}=\text{CH}$ ), 7.74 (д,  $J = 15.3$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{O})-\text{CH}=\underline{\text{CH}}$ ), 8.44 (с, 1H,  $\text{S}-\text{CH}=\text{N}-\underline{\text{CH}}=\text{C}$ ), 9.26 (с, 1H,  $\text{S}-\underline{\text{CH}}=\text{N}$ ), 12.22 (с, 1H,  $\text{OH}$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (126 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 117.64, 119.21, 120.94, 124.16, 130.76, 133.88, 135.17, 136.20, 148.27, 157.50, 161.33, 192.43. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 232 (100).

**4.8.8. 3-(2-(Диметиламіно)тіазол-5-іл)-1-(2-гідроксифеніл)проп-2-ен-1-он (31a).**

Жовтий порошок, вихід 230 мг (84%).  $T_{пл}=178^{\circ}\text{C}$ . Розраховано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ , %: С, 61.29; Н, 5.14; N, 10.21; О, 11.66; S, 11.69. Знайдено, %: С 61.30; Н 5.14; N, 10.19; S 11.68.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 3.70 (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 7.48 (дд,  $J = 7.7, 6.1$  Гц, 2H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.67 (д,  $J = 14.6$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{O})-\text{CH}=\text{CH}$ ), 8.05 (т,  $J = 7.8$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 8.37 (с, 1H,  $\text{S}-\text{C}=\text{N}-\text{CH}=\text{C}$ ), 8.51 (д,  $J = 14.7$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{O})-\text{CH}=\text{CH}$ ), 8.63 (д,  $J = 8.4$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 13.46 (с, 1H, ОН).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 39.99, 115.48, 118.12, 119.43, 120.90, 124.39, 130.63, 136.16, 137.40, 151.84, 162.38, 173.32, 192.68. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{відн}$ , %): 274 (100).

**4.8.9. 1-(2-Гідроксифеніл)-3-(2-(піролідин-1-іл)тіазол-5-іл)проп-2-ен-1-он (31b).**

Жовтий порошок, вихід 225 мг (75%).  $T_{пл}=210^{\circ}\text{C}$ . Розраховано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ , %: С, 63.98; Н, 5.37; N, 9.33; О, 10.65; S, 10.67. Знайдено, %: С 63.97; Н 5.37; N, 9.35; S 10.68.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 2.03 (с, 4H,  $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 3.50 (с, 4H,  $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 6.95 (с, 2H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.15 (д,  $J = 14.7$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{O})-\text{CH}=\text{CH}$ ), 7.52 (с, 1H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.87 (с, 1H,  $\text{C}(\text{OH})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 8.00 (д,  $J = 14.5$  Гц, 1H,  $\text{C}(\text{O})-\text{CH}=\text{CH}$ ), 8.11 (с, 1H,  $\text{S}-\text{C}=\text{N}-\text{CH}=\text{C}$ ), 12.97 (с, 1H, ОН).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 25.19, 51.11, 118.18, 120.04, 121.15, 124.17, 129.29, 130.49, 135.38, 136.18, 140.66, 151.96, 162.18, 193.42. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{відн}$ , %): 300 (100).

**4.8.10. 3-(4-Бром-2-(диметиламіно)тіазол-5-іл)-1-(2-гідроксифеніл)проп-2-ен-1-он (31e).**

Жовтий порошок, вихід 245 мг (70%).  $T_{пл}=190^{\circ}\text{C}$ . Розраховано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}$ , %: С, 47.60; Н, 3.71; Br, 22.62; N, 7.93; О, 9.06; S, 9.08.

Знайдено, %: С 46.59; Н 3.72; Br 22.64; N 7.94; S 9.07.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 3.15 (с, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ), 6.94 (дд,  $J = 8.5, 7.3$  Гц, 2H, C(OH)= $\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.21 (д,  $J = 14.7$  Гц, 1H, C C(O)- $\text{CH}=\text{CH}$ ), 7.47 – 7.57 (м, 1H, C(OH)= $\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.78 (д,  $J = 14.7$  Гц, 1H, C(O)- $\text{CH}=\text{CH}$ ), 8.05 – 8.13 (м, 1H, C(OH)= $\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 12.68 (с, 1H, ОН).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 39.09, 118.18, 120.06, 121.16, 123.86, 126.64, 127.72, 130.32, 134.84, 135.33, 162.51, 167.04, 192.90. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 351 (100), 353(97).

**4.8.11. 3-(4-Бром-2-(1-метил-пірол-2-іл)тіазол-5-іл)-1-(2-гідроксифеніл)проп-2-ен-1-он (31ж).**

Жовтий порошок, вихід 251 мг (65%).  $T_{\text{пл}}=195^\circ\text{C}$ . Розраховано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}$ , %: С, 52.45; Н, 3.37; Br, 20.53; N, 7.20; O, 8.22; S, 8.24. Знайдено, %: С 52.47; Н 3.36; Br 20.54; N 7.18; S 8.23.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 3.79 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.04 (дд,  $J = 4.1, 2.6$  Гц, 1H, N- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 6.72 (дд,  $J = 4.1, 1.7$  Гц, 1H, N- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 6.82 (т,  $J = 8.2$  Гц, 2H, C(OH)= $\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.00 (д,  $J = 2.2$  Гц, 1H, N- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.36 – 7.41 (м, 1H, C(OH)= $\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.46 (д,  $J = 15.2$  Гц, 1H, C(O)- $\text{CH}=\text{CH}$ ), 7.62 (д,  $J = 15.1$  Гц, 1H, C(O)- $\text{CH}=\text{CH}$ ), 7.90 – 7.98 (м, 1H, C(OH)= $\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 12.04 (с, 1H, ОН).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 36.68, 109.44, 115.25, 117.66, 119.23, 120.97, 124.15, 124.77, 126.54, 130.42, 130.68, 132.20, 132.60, 136.22, 143.03, 161.67, 191.72. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 388 (100), 390(98).

**4.8.12. 3-(4-Бром-[2,4'-бітіазол]-5-іл)-1-(2-гідроксифеніл)проп-2-ен-1-он (31є).**

Жовтий порошок, вихід 215 мг (55%).  $T_{\text{пл}}=172^\circ\text{C}$ . Розраховано для  $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ , %: С, 45.81; Н, 2.31; Br, 20.32; N, 7.12; O, 8.14; S, 16.30. Знайдено, %: С 45.80; Н 2.32; Br 20.34; N 7.11; S 8.13.  $^1\text{H}$  NMR (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 6.93 (д,  $J = 15.3$  Гц, 1H, C(O)- $\text{CH}=\text{CH}$ ), 7.00 (д,  $J = 8.4$  Гц, 1H, C(OH)= $\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.44 – 7.53 (м, 2H, C(OH)= $\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.81 (д,

$J = 8.1$  Гц, 1H, C(OH)=CH-CH=CH-CH), 7.99 (д,  $J = 15.3$  Гц, 1H, C(O)-CH=CH), 8.18 (с, 1H, N-CH=CH-CH), 8.87 (с, 1H, S-CH=N), 12.65 (с, 1H, OH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 118.21, 118.54, 119.19, 122.49, 128.94, 130.47, 132.67, 133.43, 136.25, 148.28, 153.61, 162.08, 163.15, 170.62, 191.80. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 392 (100), 394(98).

#### **Загальна методика синтезу сполук 32(а,б,д,е,и).**

Відповідний пропенон (1 ммоль) розчиняють у метанолі та при перемішуванні до розчину додають гідроксид калію (3 ммоль), перемішують 10 хвилин. Додають 30%-ий пероксид водню (3 ммоль), реакційну суміш перемішують протягом 3 годин. Розчин нейтралізують оцтовою кислотою, утворений осад фільтрують та промивають метанолом.

#### **4.8.13. 3-Гідрокси-2-тіазол-4-іл-хромен-4-он (32и).**

Білий порошок, вихід 152 мг (62%).  $T_{\text{пл}}=229-232^\circ\text{C}$ . Розраховано для  $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$ , %: С, 58.77; Н, 2.88; N, 5.71; О, 19.57; S, 13.07. Знайдено, %: С 58.77; Н 2.87; N, 5.71; S 13.08.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 7.48 (б,  $J = 7.3$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 7.72 (дд,  $J = 8.5, 4.2$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 7.77 – 7.88 (м, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 8.13 (дд,  $J = 8.4, 4.2$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 8.56 (дд,  $J = 4.3, 2.0$  Гц, 1H, S-CH=N-C=CH), 9.35 (дд,  $J = 4.3, 2.0$  Гц, 1H, S-CH=N).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 118.31, 121.88, 122.95, 124.51, 124.85, 133.75, 138.99, 141.54, 146.29, 154.27, 155.01, 172.45. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 246 (100). Максимум поглинання  $\lambda=340\text{нм}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=515\text{нм}$ .

#### **4.8.14. 3-Гідрокси-2-тіазол-5-іл-4Н-хромен-4-он (32з).**

Білий порошок, вихід 156 мг (64%).  $T_{\text{пл}}=230^\circ\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$ , %: С, 58.77; Н, 2.88; N, 5.71; О, 19.57; S, 13.07. Знайдено, %: С 58.76; Н 2.88; N, 5.72; S 13.08.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 7.47 (т,  $J = 7.5$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 7.74 (д,  $J = 8.6$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-



CH=CH-CH), 7.81 (т,  $J = 7.7$  Гц, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 8.11 (д,  $J = 8.0$  Гц, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 8.67 (с, 1H, S-CH=N-CH=C), 9.33 (с, 1H, S-CH=N).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 118.20, 121.79, 124.66, 124.84, 127.77, 133.85, 137.46, 141.45, 143.20, 154.25, 157.63, 172.08. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 245 (100). Максимум поглинання  $\lambda=350\text{нм}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=535\text{нм}$ . За прямим методом без виділення проміжного вихід 49%. Усі характеристики співпадають.

#### 4.8.15. 2-(2-(Диметиламіно)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32а).

Жовтий порошок, вихід 172 мг (60%).  $T_{\text{пл}}=255^\circ\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ , %: С, 58.32; Н, 4.20; N, 9.72; О, 16.65; S, 11.12. Знайдено, %: С 58.31; Н 4.21; N, 9.72; S 11.13.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 2.00 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 6.93 (с, 2H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 7.21 (с, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 7.49 (с, 1H, S-CH=N-CH=C), 8.07 (с, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 39.44, 114.75, 117.75, 121.97, 124.35, 124.62, 133.00, 134.67, 143.61, 153.92, 170.71, 173.27. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 288 (100). Максимум поглинання  $\lambda=400\text{нм}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=580\text{нм}$ . За прямим методом без виділення проміжного вихід 48%. Усі характеристики співпадають.

#### 4.8.16. 3-Гідрокси-2-(2-(піролідин-1-іл)тіазол-5-іл)-4Н-хромен-4-он (32б).

Жовтий порошок, вихід 197 мг (63%).  $T_{\text{пл}}=261^\circ\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ , %: С, 61.13; Н, 4.49; N, 8.91; О, 15.27; S, 10.20. Знайдено, %: С 61.13; Н 4.49; N, 8.92; S 10.20.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 2.1 (с, 4H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.52 (с, 4H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 6.93 (с, 2H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 7.21 (с, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 7.49 (с, 1H, S-CH=N-CH=C), 8.07 (с, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 25.17, 49.67, 117.55, 119.66, 122.58, 124.42, 124.88, 134.28, 134.80, 141.18, 142.49,

153.43, 161.69, 175.31. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 314 (100). Максимум поглинання  $\lambda=405\text{нм}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=580\text{нм}$ .

#### **4.8.17. 2-(4-Бром-2-(диметиламіно)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32е).**

Жовтий порошок, вихід 233 мг (64%).  $T_{\text{пл}}=259^{\circ}\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_3\text{S}$ , %: С, 45.79; Н, 3.02; Br, 21.76; N, 7.63; O, 13.07; S, 8.73. Знайдено, %: С 45.80; Н 3.01; Br 21.77; N 7.63; S 8.73.  $^1\text{H}$  NMR (500 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 3.09 (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 7.44 (т,  $J = 7.4$  Гц, 1H,  $\text{C}(-\text{O})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.61 (д,  $J = 8.5$  Гц, 1H,  $\text{C}(-\text{O})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.75 (т,  $J = 6.9$  Гц, 1H,  $\text{C}(-\text{O})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 8.07 (д,  $J = 8.1$  Гц, 1H,  $\text{C}(-\text{O})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 10.11 (с, 1H, OH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 39.29, 107.62, 117.71, 121.93, 124.57, 124.68, 125.28, 133.42, 136.27, 153.93, 170.65, 171.28. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 366 (100), 368(97). Максимум поглинання  $\lambda=395\text{нм}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=585\text{нм}$ . За прямим методом без виділення проміжного вихід 42%. Усі характеристики співпадають.

#### **4.8.18. 2-(4-Бром-2-(1-метил-пірол-2-іл)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32ж).**

Жовтий порошок, вихід 241 мг (60%).  $T_{\text{пл}}=265^{\circ}\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_3\text{S}$ , %: С, 50.64; Н, 2.75; Br, 19.82; N, 6.95; O, 11.90; S, 7.95. Знайдено, %: С 50.64; Н 2.76; Br 19.83; N 6.94; S 7.94.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 4.04 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.18 (с, 1H,  $\text{N}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 6.80 (д,  $J = 3.3$  Гц, 2H,  $\text{N}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.22 – 7.38 (м, 1H,  $\text{C}(-\text{O})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.62 (д,  $J = 8.8$  Гц, 1H,  $\text{C}(-\text{O})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 7.71 (д,  $J = 7.7$  Гц, 1H,  $\text{C}(-\text{O})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ), 8.23 (д,  $J = 7.9$  Гц, 1H,  $\text{C}(-\text{O})=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 34.22, 108.02, 112.15, 117.71, 121.98, 122.62, 124.36, 124.88, 125.67, 126.03, 134.46, 134.86, 142.86, 153.29, 153.48, 175.10. Мас-

спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 402 (100), 404(98). Максимум поглинання  $\lambda=400\text{нм}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=600\text{нм}$ .

#### 4.8.19. 2-(4-Бром-2-(тіазол-4-іл)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32є).

Жовтий порошок, вихід 232 мг (57%).  $T_{\text{пл}}=265^{\circ}\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{15}\text{H}_7\text{BrN}_2\text{O}_3\text{S}_2$ , %: С, 44.24; Н, 1.73; Br, 19.62; N, 6.88; O, 11.79; S, 15.74. Знайдено, %: С 44.24; Н 1.73; Br 19.63; N 6.87; S 15.74.  $^1\text{H NMR}$  (500 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 6.73 – 6.57 (м, 2H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 7.16 (т,  $J = 7.6$  Гц, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 7.45 (с, 1H, S-CH=N-C=CH), 7.70 (д,  $J = 7.7$  Гц, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 9.25 (с, 1H, S-CH=N). Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 407 (100), 409(98).

#### Загальна методика синтезу сполук б(а,в,г,д,е,з)

2-Гідроксиацетофенон (1 ммоль) та відповідний альдегід (1 ммоль) послідовно розчиняють у 10 мл метанолу, додають каталітичну кількість гідроксиду калію та реакційну суміш перемішують протягом 10 годин. Після проходження реакції додають 0.112 г (2 ммоль) гідроксиду калію та 2 мл 30%-ого розчину пероксиду водню. Утворену суміш кип'ятять протягом 1 години зі зворотнім холодильником, охолоджують та нейтралізують хлоридною кислотою до  $\text{pH}=7$ . Утворений осад фільтрують та послідовно промивають метанолом та водою.

#### 4.8.20. 2-(4-Хлор-2-(диметиламіно)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32г).

Жовтий порошок, вихід 209 мг (61%).  $T_{\text{пл}}=254^{\circ}\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$ , %: С, 52.10; Н, 3.44; Cl, 10.98; N, 8.68; O, 14.87; S, 9.93. Знайдено, %: С 52.10; Н 3.43; Cl 10.98; N 8.68; S 9.94.  $^1\text{H NMR}$  (400 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 3.08 (д,  $J = 6.2$  Гц, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 7.43 (т,  $J = 7.8$  Гц, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 7.60 (д,  $J = 8.5$  Гц, 1H, C(-O)=CH-CH=CH-CH), 7.74 (т,  $J$

= 6.9 Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 8.06 (д,  $J = 8.0$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 39.30, 105.34, 117.78, 121.91, 124.53, 124.63, 133.35, 135.91, 137.26, 141.53, 153.91, 169.53, 171.11. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 322 (100), 324(33). Максимум поглинання  $\lambda=390\text{нм}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=580\text{нм}$ .

#### 4.8.21. 2-(4-Хлор-2-(піролідин-1-іл)тіазол-5-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-он (32д).

Жовтий порошок, вихід 226 мг (65%).  $T_{\text{пл}}=255^\circ\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$ , %: С, С, 55.10; Н, 3.76; Cl, 10.16; N, 8.03; O, 13.76; S, 9.19. Знайдено, %: С 55.11; Н 3.76; Cl 10.16; N 8.02; S 9.19.  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1.99 (с, 4H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.40 (с, 4H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 7.38 (с, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 7.57 (с, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 7.68 (с, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 8.04 (с, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 25.17, 49.65, 115.08, 117.77, 122.59, 124.33, 124.96, 134.49, 134.86, 136.78, 143.68, 153.85, 162.33, 175.27. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 348 (100), 350 (33). Максимум поглинання  $\lambda=395\text{нм}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=585\text{нм}$ .

#### 4.8.22. 3-гідрокси-2-(2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-4Н-хромен-4-он (32в).

Жовтий порошок, вихід 208 мг (65%).  $T_{\text{пл}}=255^\circ\text{C}$  (розпад). Розраховано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ , %: С, 63.35; Н, 3.13; N, 8.69; O, 14.89; S, 9.95. Знайдено, %: С 63.34; Н 3.13; N, 8.68; S 9.95.  $^1\text{H}$  NMR (500 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 7.48 (т,  $J = 7.6$  Гц, 1H, N-CH=CH-CH=CH), 7.51 – 7.59 (м, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 7.76 (д,  $J = 8.5$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 7.82 (т,  $J = 7.8$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 8.00 (т,  $J = 7.8$  Гц, 1H, N-CH=CH-CH=CH), 8.11 (д,  $J = 8.0$  Гц, 1H, N-CH=CH-CH=CH), 8.20 (д,  $J = 7.8$  Гц, 1H, C(-O-)=CH-CH=CH-CH), 8.67 (д,  $J = 5.7$  Гц, 1H, N-CH=CH-CH=CH), 8.69 (с, 1H, CH(THz)), 10.72 (с, 1H, OH).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 МГц, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 117.55, 120.97, 122.57, 123.00, 124.25, 124.87, 125.62, 125.72, 134.38, 134.89, 137.30, 140.97, 142.55,

145.39, 149.69, 152.65, 162.61, 175.35. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 322 (100).

Максимум поглинання  $\lambda=380\text{nm}$ ; максимум люмінесценції  $\lambda=570\text{nm}$ .

## ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4

1. Показано, що взаємодія флавонолів з  $\beta$ -глікозидазою веде до підсилення люмінесценція, а ефективність ферменту зменшується.
2. Ваємодія флавонолів з  $\beta$ -глікозидазою добре описується як специфічною моделю зв'язування, так і з точки зору розподілу флавонолу між фазами води та ферменту.
3. 2-Тіазолілхромони можна одержувати за стандартними методами одержання флавонолів, одержання з альдегіду без виділення проміжного ди(гет)арилпропенону не призводить до значних втрат.
4. Замісник в 2 положенні тіазолільного циклу 2-тіазолілхромонів не має вагомого впливу на електронну структуру хромону, на відміну від замісника в положенні 4.
5. 2'-Заміщені-2-тіазолілхромони характеризуються великим батохромним зсувом люмінесценції таутомерної форми, тому такі похідні є одними з найбільш зручних зондів для люмінесцентних досліджень.

Результати досліджень даного розділу наведені в публікації здобувача:  
(260,261)

## РОЗДІЛ 5

### ГЛІКОЗИЛЮВАННЯ ХРОМОНІВ

Як ми зазначали в 1 розділі вже було продемонстровано, що 4'-флуорофлавонол  $\beta$ -D-глікозид можна використовувати як флуоресцентний індикатор активності  $\beta$ -глікозидази. (146, 147). Крім того,  $\beta$ -глікозидази використовуються в різних біотехнологічних процесах, таких як виробництво біопалива та синтез олігосахаридів. Роль  $\beta$ -глікозидаз, що містяться в ґрунті, надзвичайно важлива, оскільки вони беруть участь у каталітичному гідролізі та біодеградації різноманітних  $\beta$ -глікозидів у рослинах. Також, активність і концентрація глікозидази є показником якості ґрунту (148). Повідомлялося про важливу роль  $\beta$ -глікозидази в різних аспектах фізіології рослин (251), наприклад, він ініціює хімічний захист від патогенів (252). Регуляція активності глікозидази впливає на перебіг хвороби Гоше (149), а також при хіміотерапії раку молочної залози (152).

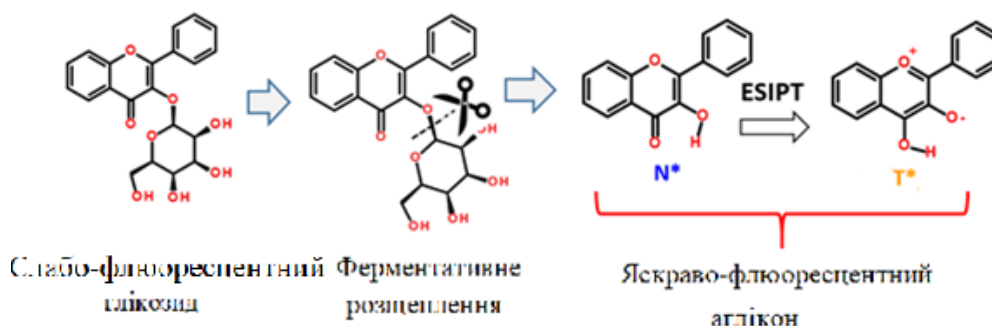


Рисунок 5.1 Принцип використання глікозидів в якості зондів для  $\beta$ -глікозидази (Слабо-флуоресцентний на рис.)

Тому був синтезований ряд глікозилізованих похідних хромонів для їх дослідження як флуоресцентних індикаторів для скринінгу активності ферменту  $\beta$ -глікозидази. В основі цього дослідження лежить той факт, що в глікозилізованому стані хромони не мають внутрішньомолекулярного переносу протона в збудженому стані, тому ми бачимо лише 1 смугу

флуоресценції глікозиду в розчині. За наявності ж  $\beta$ -глікозидази в зразку O-глікозидний зв'язок буде поступово розщеплюватись вивільняючи відповідний аглікон, в якому вже буде наявний ESIPT як показано раніше, що дозволяє виявити наявність ферменту (рисунок 5.1). Таким чином при відомій концентрації глікозиду та константі розщеплення можна встановити концентрацію ферменту в досліджуваному зразку. Тому для майбутнього практичного використання глікозидів хромону були проведені кінетичні вимірювання флуоресценції для оцінки констант швидкості ферментативного розщеплення O-глікозидного зв'язку в глікозильованих похідних хромонів.

### 5.1. Синтез глікозильованих похідних хромонів

Одержання флавонолів та 2-гетарилхромонів описано в розділі 4. Що до проведення глікозилування, то в літературі описано декілька підходів. Для вибору методу модельною реакцією було обрано взаємодію незаміщеного флавонолу з 2,3,4,6-тетра-O-ацетил- $\alpha$ -D-глюкопіранозилбромідом. (Схема 5.1).

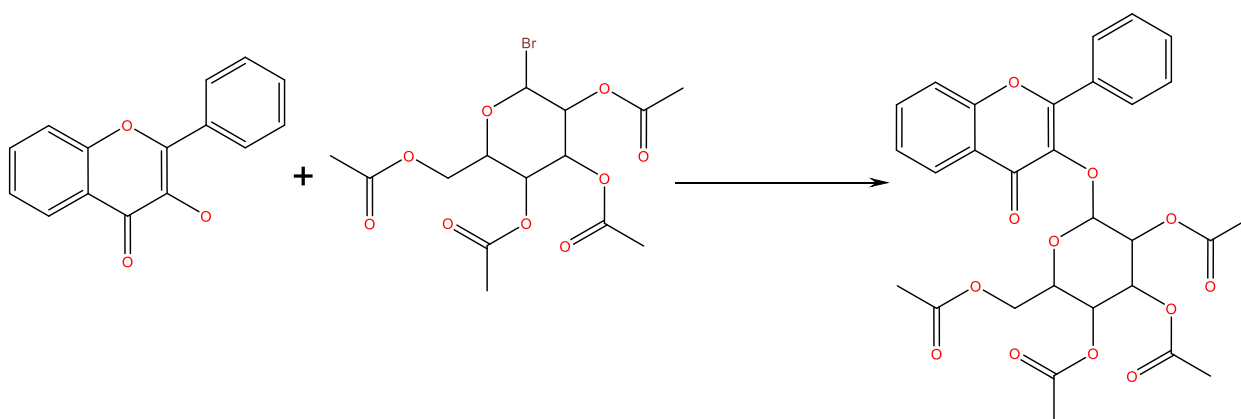


Схема 5.1

Як виявилось усі методи показали низьку ефективність (Таблиця 5.1). Так, синтез Кенігса-Кнора, як і міжфазний синтез, що був проведений в системі вода/дихлорметан з тетрабутиламоній бромідом, показали дуже низьку ефективність. Через те що за цими методами вихід реакції залежить



від структури похідного 3-гідроксихромону. А також значною мірою визначається вологістю середовища у випадку метода Кенігса-Кнорра. Та ступенем активності каталізатора в випадку міжфазного синтезу що часто призводить до збільшення часу синтезу. Таким чином, головним недоліком цих методів є надчутливість до умов синтезу і якості реагентів, і, як внаслідок цього низька відтворюваність.

Таблиця 5.1

**Порівняльна характеристика методів глюкозилювання хромонів**

Метод глюкозилювання	Вихід реакції, %	Час протікання реакції	Каталізатор
Синтез Кенігса-Кнорра	~ 1-2	48 год.	Ag <sub>2</sub> O
Міжфазний синтез	~ 0.5	48 год.	Bu <sub>4</sub> N <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
Пряма етерифікація	~ 10-11	1 тижд.	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
	~ 2-3	48 год.	
Розроблений метод	~ 26-30	48 год.	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>

Пряма етерифікація, за методиками описаними в літературі, показала трохи кращий результат, хоча час протікання реакції залишався надто великим. Зниженню виходу кінцевого глюкозиду сприяє невелика синтетична здатність глюкозильної етерифікації (що характерна для усіх вищезазначених способів). Однак цей останній спосіб, на відміну від інших, не потребує дорогих специфічних каталізаторів, громіздкої міжфазної екстракції.

Тому було проведено взаємодію за цим методом в різних розчинниках, з використанням різних основ та за різних температур. Таким чином, метод був модифікований та виявлено найкращі умови для проведення реакції: серед розчинників найкращий результат був одержаний в диметилформаміді, каталізатор – карбонат калію. Найбільш сприйнятлива температура для проведення реакції 80°C (табл. 5.2), в цьому випадку реакція проходить впродовж 24 годин. При зниженні температури різко зменшується швидкість реакції, а збільшення веде до значної кількості побічних реакцій, що суттєво зменшує вихід. Для подальшого відщеплення ацетильних груп зазвичай використовується метилат натрію, однак він є нестійким і розкладається при зберіганні. Тому активність метилату натрію поступово зменшується, що негативно впливає на ефективність реакції і, як наслідок, на вихід кінцевого продукту. Тому для реакції він був згенерований взаємодією трет-бутилату натрію з розчинником – метанолом.

Таблиця 5.2

**Температурна залежність реакції глюкозилювання хромонів**

Температура реакційного середовища, °C	Тривалість синтезу, год.	Вихід кінцевого глюкозиду, %	Примітки
20	48	~ 3	Вихідні реагенти залишаються в значній кількості після закінчення реакції
50	48	~ 6	Вихідні реагенти залишаються і після закінчення реакції
80	48	~ 26	Незначна кількість вихідних реагентів
100	48	~ 17	Суміш містить невелику кількість вихідних реагентів і продуктів їх розкладу

Так за розробленим методом було одержано глюкозилзовані похідні хромів **34a, в, д, е**. (Схема 5.2).

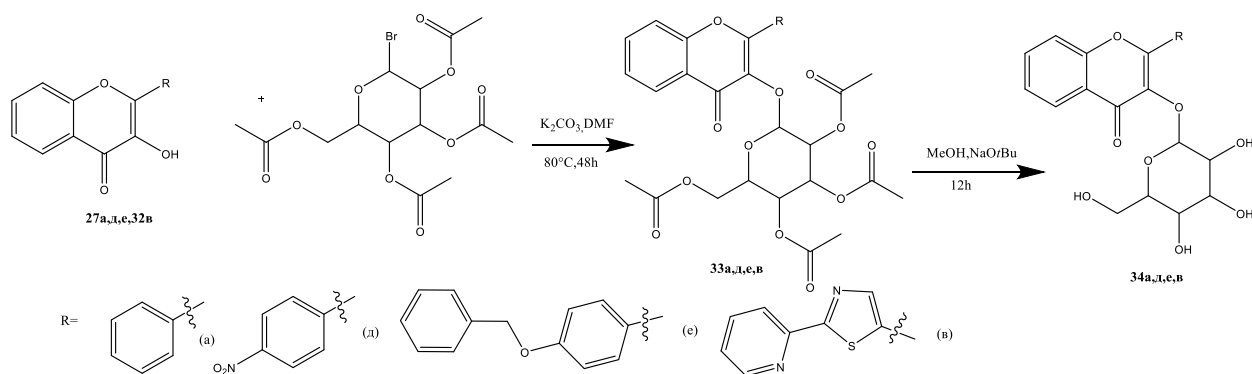


Схема 5.2

### 5.1. Скринінг активності ферментів за допомогою флуоресцентних індикаторів

Спектри поглинання записували за допомогою двопроменевого спектрофотометра Agilent Cary 3500 UV-Vis. Флуоресценцію вимірювали за допомогою стаціонарного флуоресцентного спектрометра Hitachi-850, оснащеного монохроматорами збудження та випромінювання з подвійною решіткою, і флуоресцентного спектрометра Cary Eclipse (Varian). Вимірювання флуоресценції проводили в буфері pH 6,86 (100 мМ) у кюветі  $10 \times 10$  мм, яку підтримували при  $20^\circ C$ .

Кінетичні дослідження ферментативного гідролізу зондів **34a,e** були проведені після змішування двох окремих вихідних розчинів глікозиду флавонолу та ферменту  $\beta$ -глікозидази. Після змішування ініціюється зв'язування зонда з ферментом, після чого відбувається розщеплення O-глікозидного зв'язку в зондах **34a,e**.

Розчин флавонолглікозиду готували шляхом розчинення його зразка в ДМСО. Розчин  $\beta$ -глікозидази готували шляхом розчинення зразка фермента у водному фосфатному буфері з pH=6,86. Далі аліквоти обох розчинів переносили в 1 мл буферного розчину (pH 6,86) і отриману суміш далі використовували для кінетичних досліджень. Об'єми аліквот обох вихідних

розчинів підбирали таким чином, щоб кінцева суміш містила однакові концентрації флавонолглікозиду та ферменту  $\beta$ -глікозидази в межах від 5,0 до  $7,0 \times 10^{-5}$  моль/л.

Реакцію ферментативного гідролізу проводили при перемішуванні суміші при постійній температурі. Під час процесу гідролізу аліквоти по 0,1 мл відбирали через 1, 2, 6, 10, 15 і 30 хв після початку реакції. Відразу після відбору кожен аліквоту переносили в 2,5 мл дихлорметану та інтенсивно струшували. За допомогою екстракції від ферменту відокремили суміш вихідного флавонолглікозиду та його гідролізованої похідної – флавонолаглікону. Далі в органічній фазі реєстрували спектри флуоресценції суміші глікозиду та аглікону.

Флуоресценцію збуджували при 360 нм в діапазоні поглинання глікозиду та аглікону. Спектри флуоресценції реєстрували в діапазоні 380-600 нм. Як кількісний параметр для досліджень кінетики використовували інтенсивність випромінювання ( $I_{\phi}$ ) у максимумі довгохвильової смуги флуоресценції в діапазоні 510-540 нм залежно від структури флавонолу.

Значення  $I_{\phi}$ , яке пропорційне концентрації аглікону та обернено пропорційне концентрації глікозиду ( $C_{\text{глікозид}}$ ) в реакційній суміші, було перетворено в  $C_{\text{глікозид}}$ , а потім використано для визначення порядку реакції та розрахунку константи швидкості ферментативного гідролізу.

Глікозиди незаміщеного флавонолу **34a** та 4'-бензилоксифлавонолу **34e** були досліджені як флуоресцентні зонди для  $\beta$ -глікозидазної активності, оскільки, як зазначалось вище, вони та їхні аглікони мають різні флуоресцентні властивості.

Таутомерна форма агліконів випромінює інтенсивну флуоресценцію в зелено-жовтому діапазоні спектра, уникаючи спектрального перекриття з іншими видами синього випромінювання (130). Ключовими умовами, необхідними для процесу ESIPT, є висока основність збудженого стану карбонільної групи і кислотність 3-гідроксигрупи, а також наявність водневого зв'язку, що з'єднує ці дві групи (130, 131, 253).

Незаміщений флавонол-аглікон **27a** у своєму початковому збудженому стані  $N^*$  не виявляє флуоресценції в апротонних розчинниках через більшу швидкість перенесення протонів порівняно зі швидкістю випромінювання (130). Отже, лише смуга випромінювання фототаутомера спостерігається у спектрі флуоресценції. У протонних розчинниках внутрішньомолекулярний водневий зв'язок розривається частково або повністю, внаслідок утворення міжмолекулярних водневих зв'язків з молекулами розчинника можна виявити слабку флуоресценцію від форми  $N^*$  (128, 131, 253). Слабку інтенсивність  $N^*$  випромінювання можна пояснити вираженим міжсистемним перетином, що є результатом невеликого енергетичного розриву між найнижчими збудженими станами типів  $\pi\pi^*$  і  $n\pi^*$ . Коли незаміщений флавонол-аглікон **27a** безпосередньо взаємодіє з  $\beta$ -глікозидазою, він потрапляє в активний центр ферменту, який є менш полярним і гідрофільним, ніж водне середовище. Це сприяє утворенню молекул флавонолу з внутрішньомолекулярними водневими зв'язками, що призводить до збільшення флуоресценції фототаутомеру.

У глюкозильованому похідному флавонолу **34a** атом водню 3-гідроксигрупи заміщений глюкопіранозидним фрагментом, що робить ESIPT неможливим. Таким чином, флуоресцентні властивості **34a** у водних розчинах, у комплексі з  $\beta$ -глікозидазою або в неполярних розчинниках мають бути подібними до  $N^*$  флуоресценції **27a**. У результаті можна очікувати наступних спектральних ефектів: гідроліз сполуки **34a**  $\beta$ -глікозидазою та утворення продукту **27a** у водному середовищі не приведе до змін спектрів флуоресценції. Дуже слабка флуоресценція  $N^*$  у водному середовищі може спостерігатися як до, так і після гідролізу. При проведенні екстракції сполуки **34a** в органічне середовище перед гідролізом флуоресцентні властивості органічної фази дозволять досліджувати склад водної. При проведенні екстракції після гідролізу органічна фаза демонструватиме яскраву флуоресценцію фототаутомера **27a**. Таким чином, поява флуоресценції  $T^*$  в органічній фазі після взаємодії **34a** з ферментом і подальшої екстракції може довести наявність активності  $\beta$ -глікозидази.

Результати скринінгу активності ферменту з використанням глікозиду **34a**, згідно з процедурою гідролізу, зображені на рисунку 5.2. Можна побачити, що під час реакції гідролізу між глюкозидом **34a** та  $\beta$ -глікозидазою інтенсивність флуоресценції фототаутомера зростає, що свідчить про утворення агліконової T\* форми. Слабка флуоресценція форми N\*, яка спостерігається при 425 нм, стає помітною через 10-30 хвилин гідролізу за високих концентрацій **34a** в органічній фазі. Спектральні характеристики відповідних агліконів і флавонолових глікозидів наведені в таблиці 5.2.

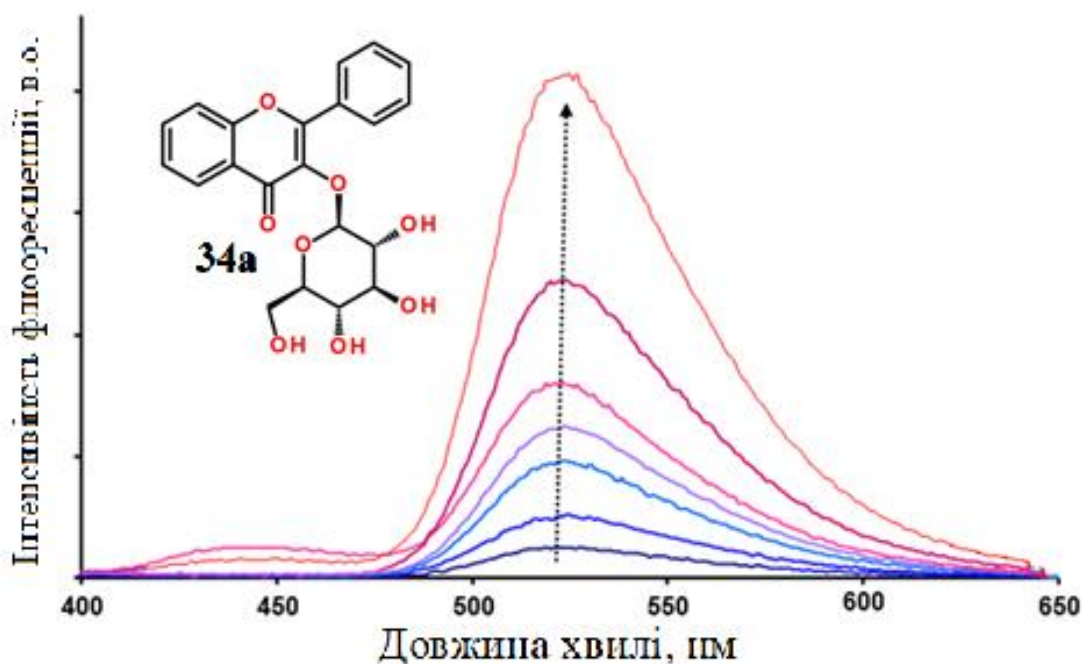


Рисунок 5.2. Зміни флуоресцентних спектрів під час реакції гідролізу в системі **34a** –  $\beta$ -глікозидаза. Спектри були виміряні через 2, 4, 6, 10, 15 і 30 хвилин після початку гідролізу.

Наш вищезазначений експеримент показує, що глюкозид незаміщеного флавонолу **34a** може бути використаний як флуоресцентний індикатор, що сигналізує про наявність активності  $\beta$ -глікозидази; однак кількісна оцінка абсолютної активності вимагає використання додаткового флуоресцентного стандарту (146, 147).

**Флуоресцентні властивості аглікону та глікозиду флавонолів у  
дихлорметані.**

Флавонол	Максимум Флюоресценції, нм (см <sup>-1</sup> )	
	N* форма	T* форма
Глюкозид флавонолу <b>34a</b> (до гідролізу)	–	–
Флавонол <b>27a</b> (після гідролізу)	443 (22575)	524 (19085)
Глюкозид флавонолу <b>34e</b> (до гідролізу)	417 (23980)	–
Флавонол <b>27e</b> (після гідролізу)	413 (24215)	532 (18800)

Флуоресцентні властивості 4'-бензилоксифлавонол аглікону **27e** та його глюкозиду **34e** відрізняються від властивостей **27a** та **34a**. З одного боку, присутність електродонорної бензилоксигрупи в пара-положенні до фрагмента хромону в флаванолі **27e** веде до зниження кислотності 3-гідроксигрупи в електронному збудженому стані і, отже, до зменшення частки ESIPT. З іншого боку, наявність електродонорного замісника веде до зменшення енергії найнижчого  $\pi\pi^*$  стану відносно енергії  $\pi\pi^*$  стану, таким чином, він збільшує енергетичний розрив між цими станами, і, до зниження ефективності переходу. Обидва ці ефекти сприяють значному зростанню інтенсивності флуоресценції форми N\* **27e** порівняно з інтенсивністю флуоресценції N\* форми **32a**. Через відсутність ESIPT у протонних середовищах спектри флуоресценції водних розчинів **27e** мають лише одну короткохвильову смугу N\*-форми. У апротонному середовищі спектри **27e** демонструють смуги випромінювання N\* і T\*.

4'-Бензилоксифлавонолглюкозид **34e** має односмуговий спектр флуоресценції в усіх середовищах завдяки випромінюванню форми N\*. Спектр **34e** в органічній фазі зображений на рисунку 5.3 пунктирною лінією.

Проходження реакції між глюкозидом **34e** і  $\beta$ -глікозидазою показано на рисунку 5.3. Спектри флуоресценції, зареєстровані в розчинах дихлорметану, отриманих екстракцією аліквот, зразки яких були відібрані через різні інтервали часу після початку реакції, показали наявність двох смуг випромінювання. Збільшення інтенсивності довгохвильової смуги T\* зі збільшенням часу реакції свідчить про процес утворення аглікону **27e**, що свідчить про активність  $\beta$ -глікозидази. Також відзначимо постійну інтенсивність короткохвильової смуги випромінювання, яка є сумою смуг випромінювання глікозиду **34e** і N\* форми **27e**. Якщо припустити, що глікозид **34e** і N\*-форма аглікону **27e** мають однакові квантові виходи (через подібну структуру флуорофора), то стає зрозумілим, що сумарна інтенсивність короткохвильової смуги помітно не змінюється під час гідролізу.

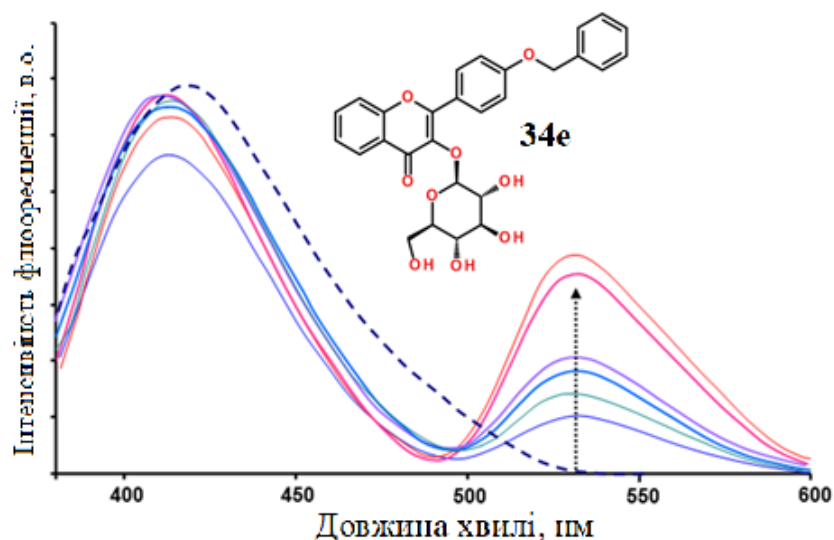


Рисунок 5.3. Зміна спектру люмінесценції під час реакції гідролізу в системі зонд **34e** –  $\beta$ -глікозидаза. Спектри були виміряні через 2, 4, 6, 10, 15 і 30 хвилин після початку гідролізу. Штрихова лінія – спектр флуоресценції зонда **3b** органічної фази.



Через те що інтенсивність короткохвильової смуги залишається постійною в процесі гідролізу, як видно на рисунку 5.3, вона може бути використана як внутрішній флуоресцентний стандарт. Це дає змогу використовувати глікозид 4'-бензилоксифлавонолу **34e** не тільки для виявлення активності β-глікозидази в біологічних зразках, але й для кількісної оцінки цієї активності.

## 5.2. Кінетика ферментативного гідролізу флавонолглікозидів

Дослідження кінетики реакції гідролізу проведено за значеннями інтенсивності флуоресценції в максимумах смуг T\* агліконів **27a** та **27e**. Аналіз залежності між інтенсивністю флуоресценції T\* і часом реакції проводили за допомогою рівнянь, що описують кінетичні реакції першого та другого порядку відповідно рівняння 5.1-5.2:

$$\ln C_{\text{глікозиду},t} = \ln C_{\text{глікозиду},0} - K_1 t \quad (5.1)$$

$$\frac{1}{C_{\text{глікозиду},t}} = \frac{1}{C_{\text{глікозиду},0}} + K_2 t \quad (5.2)$$

$C_{\text{глікозиду},t}$  – поточна концентрація глікозиду,

$C_{\text{глікозиду},0}$  – початкова концентрація глікозиду,

t – час,

$K_1$  – константа гідролізу

Було виявлено, що інтенсивності флуоресценції, які відповідають зворотним значенням концентрацій глікозидів, демонструють лінійну залежність від часу реакції, що відповідає реакції 2-го порядку. Графіки залежності зворотних концентрацій глікозиду від часу реакції для **34a** і **34e** зображені на рисунку 5.4.

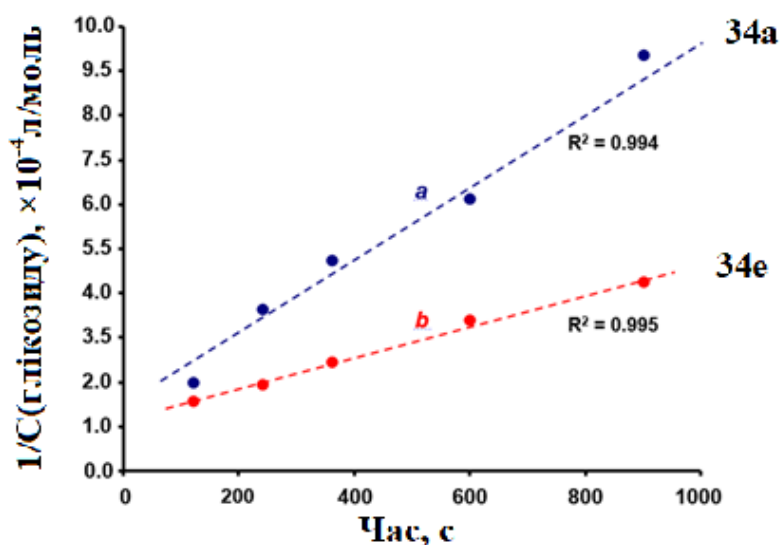


Рисунок 5.4. Графіки кінетики для реакції гідролізу 2-го порядку, оцінені за рівнянням 5.2

Константи швидкості реакцій гідролізу **34a** та **34e**, отримані в результаті аналізу лінійних вищезгаданих залежностей, становлять 81,5 л/моль/с та 35,2 л/моль/с, відповідно. Таким чином, можна зробити висновок, що додавання електродонорного замісника в 4'-положення флавонолу веде до зниження його чутливості до дії β-глікозидази у 2,3 раза. Це можна пояснити тим фактом, що донор електронної густини в пара-положенні відносно фрагмента хромону збільшує негативний заряд на атомі Оксигену в положенні 3. Ці електронні ефекти, у свою чергу, зміцнюють хімічний зв'язок між флавонолом і глюкозидним фрагментом, таким чином підвищуючи стабільність глюкозиду флавонолу щодо дії ферменту.

Той факт, що ферментативний гідроліз є реакцією другого порядку, вказує на те, що лімітуючою стадією процесу є зв'язування глюкозильованих похідних флавонолів **34a,e** з β-глікозидазою, а не ферментативне розщеплення O-глікозидного зв'язку у флавонолі, вивільняючи відповідний флавонолаглікон і глюкозу.

### 5.3. Молекулярний докінг флавонолів з $\beta$ -глікозидазою

#### 5.3.1. Налаштування молекулярного докінгу

Приготування рецептора та лігандів проводили за допомогою програмного забезпечення AutoDock Tools (ADT) версії 1.5.7 (186). Додавання атомів водню, розрахунок зарядів Гаштайгера на молекулах рецептора та лігандів також проводили за допомогою програмного забезпечення ADT. Розрахунки молекулярного докінгу проводили за допомогою програмного забезпечення AutoDock Vina 1.1.2 (187). Тривимірну структуру  $\beta$ -глікозидази *B Paenibacillus polymyxa* (BglB, PDB ID: 2O9R) (188) було завантажено з банку даних білків RCSB.

Докінг був проведений в напівгнучкому варіанті, так що рецептор залишався жорстким, а молекули ліганду були конформаційно гнучкими. Розмір кубічної рамки, згенерованої програмним забезпеченням ADT, в області взаємодії рецептора (залишки Glu167 і Glu356) для bBG було визначено як  $65 \times 65 \times 65$  Å. Центр комірки було встановлено в декартових координатах  $x=61,980$ ,  $y=31,109$  і  $z=40,606$  з інтервалом між точками сітки, встановленим на  $0,375$  Å, відповідно. Кількість режимів зв'язування було встановлено на 9. Для кожного ліганду було виконано три незалежні прогони з використанням різних вихідних даних. Найкращий режим зв'язування відповідає найбільшій молекулярній спорідненості. Рисунки молекул та візуалізація виконана за допомогою VMD 1.9.3.

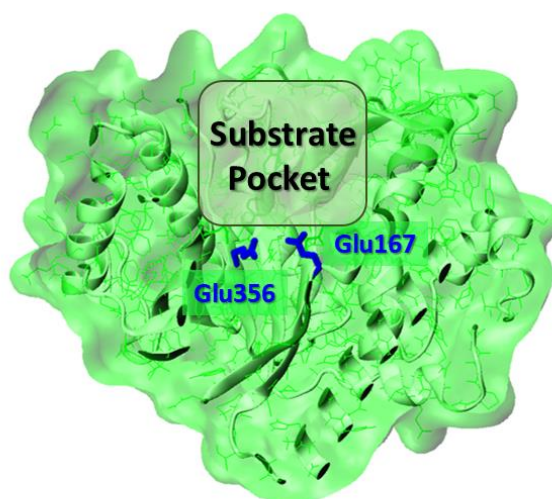
#### 5.3.2. Молекулярний докінг глікозилъованих флавонолів з $\beta$ -глікозидазою

$\beta$ -Глікозидази - це ферменти, які широко поширені серед усіх видів живих організмів. Їх спільною ознакою є ферментативний гідроліз  $\beta$ -глікозидних зв'язків у дисахаридах, олігосахаридах або полісахаридах (202).

Тривимірна структура високої роздільної здатності комерційної  $\beta$ -глікозидази, отриманої з мигдалю, наразі ще не доступна. Таким чином, для вивчення взаємодії флавонол-фермент за допомогою розрахунків методом

молекулярного докінгу ми використали рентгенівську структуру ферменту  $\beta$ -глікозидази з *Paenibacillus polymyxa* (BglB), який представляє загальний шаблон розпізнавання для всіх бактеріальних  $\beta$ -глікозидаз (188, 191, 203-205).

Фермент BglB має глибоку гідрофобну кишеню з активним центром, розташованим на дні цієї кишені (приблизно 16 Å глибиною) (рис. 5.5). Активний центр містить два залишки глутамату Glu167 і Glu356, розташовані в безпосередній близькості один від одного (рис. 5.5). Кристалографічна структура  $\beta$ -глікозидази BglB (PDB 2O9R) (188) була використана як рецептор для розрахунків молекулярного докінгу.



*Paenibacillus polymyxa*  $\beta$ -glucosidase B (BglB)

Рисунок 5.5. Кристалографічна структура  $\beta$ -глікозидази *Paenibacillus polymyxa* (BglB, PDB ID: 2O9R)<sup>188</sup>. Залишки активного центру Glu167 і Glu356 зображені в вигляді синіх паличок.

Дослідження з використанням молекулярного докінгу продемонстрували, що афінність зв'язування з білком  $\beta$ -глікозидази залежить від природи замісників, розташованих у флавонольному ядрі (254). Молекулярний докінг флавонолових агліконів **27a,e** та їх глікозидів **34a, e** з макромолекулою  $\beta$ -глікозидази BglB показав, що всі досліджувані зонди зв'язуються з центральною порожниною ферменту. Встановлено, що

афінність зв'язування зондів **27a,e** і **34a,e** залежить від їх будови і коливається в діапазоні від -8,2 до -10,8 ккал/моль (табл. 5.4). Введення об'ємної гідрофобної бензилоксигрупи в 4'-арильне кільце збільшує спорідненість зонда **34** до ферменту  $\beta$ -глікозидази порівняно з флавонолом **27** та його глікозидом.

Таблиця 5.4

**Афінність зв'язування агліконів флавонолу 27a, e та їх глікозидів 34a, e з  $\beta$ -глікозидазою BglB (PDB: 2O9R).**

Ліганд	Афінність зв'язування, ккал/моль
<b>27a</b>	-8.2
<b>27e</b>	-9.0
<b>34a</b>	-9.9
<b>34e</b>	-10.8

На рисунку 5.6 показано спосіб зв'язування флавонолових глікозидів **34a, e** з  $\beta$ -глікозидазою BglB, оцінений за допомогою розрахунків молекулярного докінгу. Докінг ліганд-рецептор свідчить про те, що обидва похідні флавонолу глибоко проникають у гідрофобну порожнину BglB, як показано на рисунках 5.6a і 5.6в. В обох випадках D-глюкопіранозильний фрагмент був розташований у каталітичній суб-кишені в безпосередній близькості до каталітичної діади Glu167-Glu356, як видно з рисунків 5.6б і 5.6г. Зв'язування зонда з ферментом відбувається в основному за рахунок гідрофобної взаємодії з ароматичними бічними ланцюгами триптофану W328, W402, W412, а також з ароматичним кільцем F412 відповідно.

На рисунках 5.6б і 5.6г показано, що, незважаючи на структурну модифікацію зондів **34a, e**, режим зв'язування їх глюкопіранозного фрагмента в кишені активного центру ферменту BglB виявився подібним у багатьох аспектах. В обох зондах **34a** і **34e** глюкопіранозний фрагмент

проникає глибоко в каталітичну кишеню, так що його гідроксильні групи утворюють водневі зв'язки (Н-зв'язок) з карбоксильними атомами кисню каталітичної діади Glu167-Glu356.

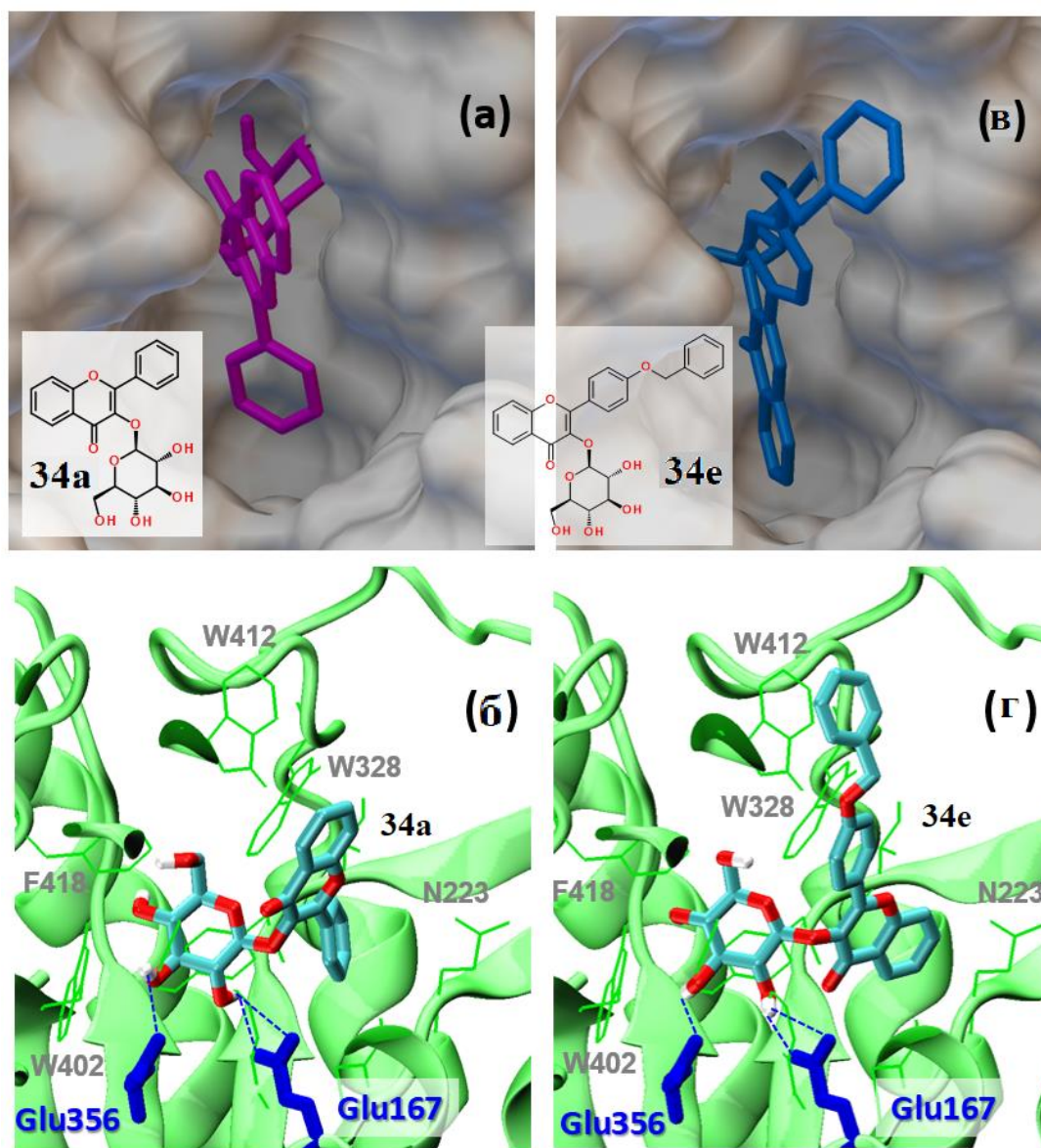


Рисунок 5.6. Найкращий режим зв'язування флавонолових глікозидів **34a** (а-б) і **34e** (в-г) з  $\beta$ -глікозидазою В (BglB) *Paenibacillus polymyxa* (код PDB 2O9R), оцінений за допомогою розрахунків молекулярного докінгу.

Фермент показаний у форматі VdW для виду зверху (а, в) і стрічковою моделлю для виду збоку (б, г), відповідно. Молекули-зонди **3a** і **3b** показані стрижневою моделлю. Каталітична діада Glu167-Glu356 рецептора  $\beta$ -глікозидази показана синім кольором.



Поглиблений аналіз взаємодій зв'язування глікозилізованого флавонолу **34e** з ферментом BglV виявив, що об'ємна 4'-бензилоксигрупа не може бути розміщена в каталітичній кишені ферменту, тому вона була звернена назовні від каталітичної діади (рис. 5.6г. і рис. 5.7а). Однак слід також зазначити, що така конформація зв'язування була додатково стабілізована стекінг  $\pi$ - $\pi$  взаємодіями з бічними ланцюгами залишку триптофану W412. Повідомлялося, що  $\pi$ - $\pi$  стекінг можна вважати незначною силою для стабілізації згортання білків і надмолекулярної збірки (255). На малюнку 5.7б показано, що внесок цих взаємодій  $\pi$ - $\pi$  стекінгу може бути суттєвою силою для стабілізації зв'язаної конформації зонда **34e** всередині кишені ферменту.  $\pi$ - $\pi$  Стекінг між ароматичним бензилом і кільцями W412 характеризується короткими контактами 3,6-3,9 Å. У поєднанні з водневим зв'язком між глюкопіранозильним фрагментом і каталітичною діадою ці взаємодії можуть пояснити природу більш міцного зв'язування глікозиду флавонолу **34e** з ферментом BglV. З іншого боку, цей режим міцного зв'язування та додаткові взаємодії  $\pi$ - $\pi$  стекінгу між зондом **34e** і ферментом BglV вимагали б вищого енергетичного бар'єру активації для формування відповідного перехідного стану субстрат-рецептор для реакції гідролізу, що каталізується комплексом ферменту з субстратом.

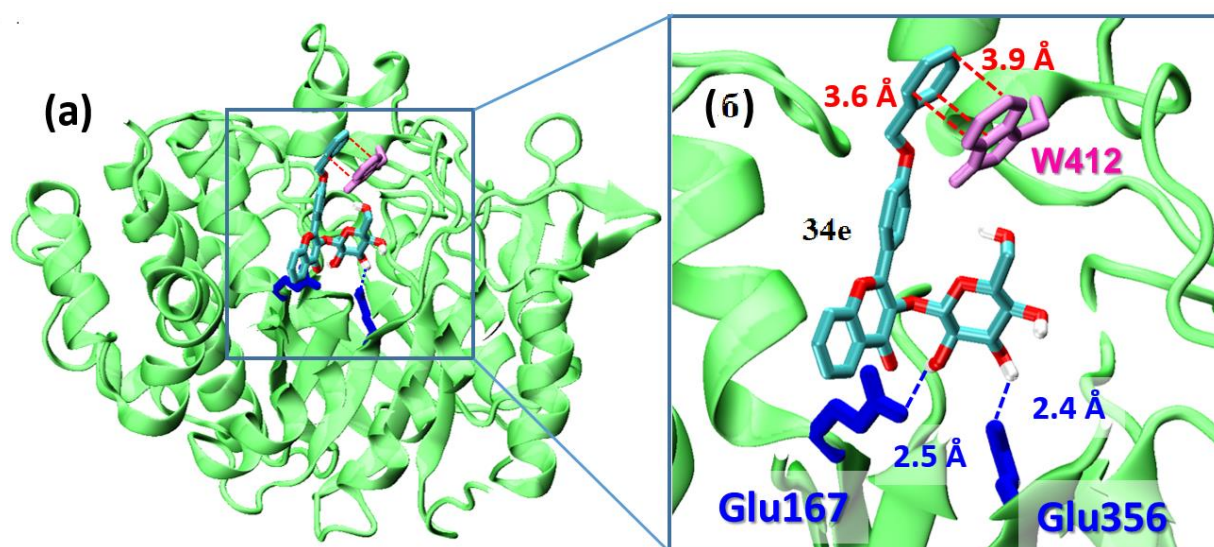


Рисунок 5.7. (а) Структура фермент-субстратного комплексу для глікозиду флаванолу **34e** і ферменту VglB, оцінена шляхом розрахунків молекулярного докінгу. (б) Вставка показує зв'язану конформацію **34e** в кишені активного центру ферменту VglB, у якій молекула ліганду утворює численні короткочасні контакти з бічними ланцюгами ферменту, такими як Н-зв'язки та  $\pi$ - $\pi$  стекинги, які показано пунктирними лініями.

Серед багатьох факторів, що регулюють зв'язування білок-ліганд, електростатична комплементарність і селективність зв'язування відіграють вирішальну роль (256). Відповідно до цього принципу, оптимальне зв'язування рецептору з субстратом відбувається в точках з оптимальним узгодженням між картами електростатичного потенціалу каталітичної кишені та субстрату (257). З цією метою було розраховано поверхню електростатичного потенціалу (ESP) для флавонолглікозидів **34a**, **e** і флавоном – аглікону **27a** методом DFT, як показано на малюнку 5.8. Можна помітити значні зміни заряду в полярному глікопіранозильному фрагменті зондів **34a**, **e**, який міг би керувати його електростатичними взаємодіями із зарядженими карбоксильними групами глутаміну та орієнтувати цей фрагмент на каталітичну діаду Glu167-Glu356 (рис. 5.6б і 5.6г).

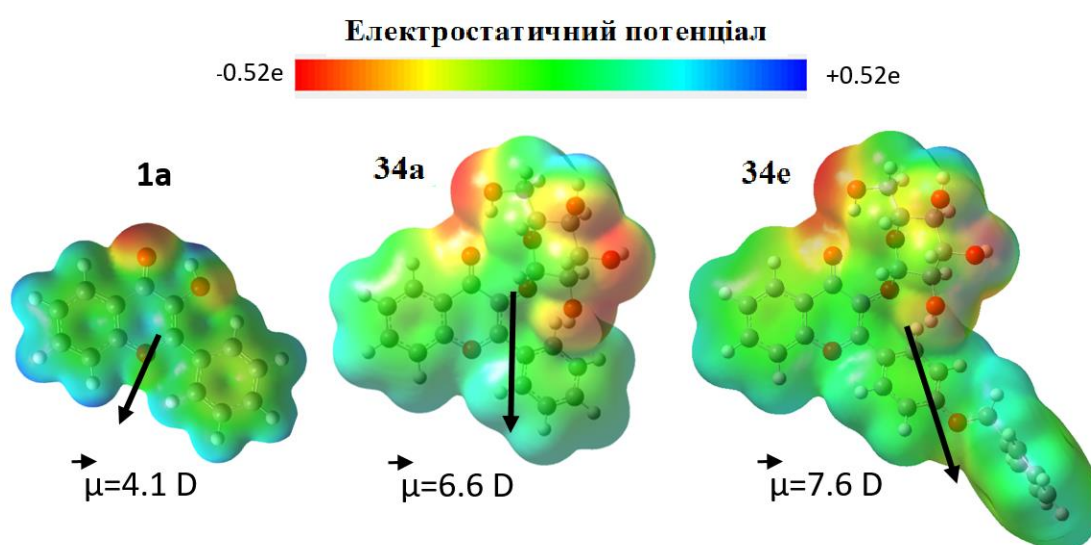




Рисунок 5.8. Карти електростатичного потенціалу (ESP) для зондів **27a**, і **34a**, **e**, розраховані на рівні B3LYP/cc-pVDZ. Дипольний момент основного стану показаний у вигляді вектора, а його абсолютне значення подано в Дебаях (D).

#### **5.4. Методика одержання та фізико хімічні характеристики продуктів.**

##### **Загальна методика глікозилування хромонів.**

Відповідний хромон (0,4 ммоль) і 172 мг (0,4 ммоль) 2,3,4,6-О-тетраацетил- $\alpha$ -глюкопіранозилброміду розчиняють в 5 мл диметилформаміду і при перемішуванні додають 120 мг (0,8 ммоль)  $K_2CO_3$ . Суміш перемішують в атмосфері аргону протягом 48 годин при 80°C. Потім розчинник випарюють при зниженому тиску, і отриманий залишок розчиняють в етилацетаті. Органічну фазу промивають водою, сушать безводним  $Na_2SO_4$  і випарюють розчинник. Очищають градієнтною флеш-хроматографією, етилацетат-гексан від 0:100 до 60:40.

##### **5.4.1 2-(Ацетоксиметил)-6-((4-оксо-2-феніл-4Н-хромен-3-іл)окси)тетрагідро-2Н-піран-3,4,5-триілтриацетат (33a)**

Жовтий порошок, вихід 62 мг (26%).  $T_{пл}=175-177^\circ C$ ,  $^1H$  NMR (500 МГц,  $CDCl_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1.87 (с, 3H), 1.98 (с, 3H), 2.00 (с, 3H), 2.09 (с, 3H), 3.61 (д,  $J = 10.4$  Гц, 1H), 3.89 – 4.03 (м, 2H), 5.06 (т,  $J = 9.7$  Гц, 1H), 5.33 – 5.23 (м, 1H), 5.15 – 5.22 (м, 1H), 5.70 (д,  $J = 7.8$  Гц, 1H), 7.42 (т,  $J = 7.6$  Гц, 1H), 7.49 (д,  $J = 2.4$  Гц, 3H), 7.54 (д,  $J = 8.5$  Гц, 1H), 7.69 (т,  $J = 7.7$  Гц, 1H), 8.05 (д,  $J = 5.3$  Гц, 2H), 8.23 (д,  $J = 8.1$  Гц, 1H).  $^{13}C$  NMR (126 МГц,  $DMSO-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 175.6, 171.1, 170.6, 170.4, 169.4, 161.1, 158.4, 154.5, 134.4, 134.2, 130.6, 127.0, 124.1, 123.0, 122.4, 118.3, 115.1, 97.5, 70.3, 69.9, 69.4, 67.3, 61.9, 20.7, 20.6. Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{відн}$ , %): 569 (100), 331(29).

**5.4.2. 2-(Ацетоксиметил)-6-((2-(4-(бензилокси)феніл)-4-оксо-4Н-хромен-3-іл)окси)тетрагідро-2Н-піран-3,4,5-триілтриацетат (33е)**

Жовтий порошок, вихід 67 мг (25%). Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 675 (100), 331(29).

**5.4.3.2-(Ацетоксиметил)-6-((2-(4-нітрофеніл)-4-оксо-4Н-хромен-3-іл)окси)тетрагідро-2Н-піран-3,4,5-триілтриацетат. (33д)**

Жовтий порошок, вихід 69 мг (28%).  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ , м.ч.: 1.87 (с, 3H), 2.00 (с, 3H), 2.03 (с, 3H), 2.09 (с, 3H), 3.87–4.01 (м, 2H), 5.07 (т,  $J = 9.7$  Гц, 1H), 5.19 (т,  $J = 7.8$  Гц, 1H), 5.25 (т,  $J = 9.6$  Гц, 1H), 5.70 (д,  $J = 7.8$  Гц, 1H), 7.42 (с, 1H), 7.49 (д,  $J = 2.5$  Гц, 2H), 7.54 (д,  $J = 8.5$  Гц, 1H), 7.69 (т,  $J = 7.8$  Гц, 1H), 8.05 (д,  $J = 5.5$  Гц, 2H), 8.23 (д,  $J = 8.0$  Гц, 1H). Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 614 (100), 331(29).

**5.4.4. 2-(Ацетоксиметил)-6-((4-оксо-2-(2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-4Н-хромен-3-іл)окси)тетрагідро-2Н-піран-3,4,5-триілтриацетат (33в)**

Жовтий порошок, вихід 57 мг (22%).  $^1\text{H NMR}$  (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ , м.ч.: 1.58 (с, 3H), 1.97 (с, 3H), 1.98 (с, 3H), 2.08 (с, 3H), 3.86–4.01 (м, 2H), 4.99 (т,  $J = 9.7$  Гц, 1H), 5.23 (т,  $J = 8.8$  Гц, 1H), 5.47 (т,  $J = 9.8$  Гц, 1H), 5.92 (д,  $J = 7.9$  Гц, 2H), 7.50–7.62 (м, 2H), 7.83 (д,  $J = 8.4$  Гц, 1H), 7.89 (т,  $J = 7.6$  Гц, 1H), 7.94 (с, 1H), 8.03 (т,  $J = 7.8$  Гц, 1H), 8.11 (д,  $J = 7.8$  Гц, 1H), 8.24 (д,  $J = 7.8$  Гц, 1H), 8.76 (д,  $J = 4.9$  Гц, 1H), 8.86 (с, 1H). Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %): 653 (100).

**Загальна методика деацилювання глюкозильованих похідних хромонів.**

(0,1 ммоль) відповідного глюкозильованого похідного хромону розчиняють в 5 мл метанолу, потім додають 10 мг (~ 0,1 ммоль) трет-бутилату натрію і отриману суміш перемішують протягом 12 годин при кімнатній температурі. Потім суміш розбавляють 5 мл води і нейтралізують

розведеним водним розчином HCl. Метанол далі випарюють з водного розчину під зниженим тиском та екстрагують етилацетатом. Органічний екстракт сушать безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і випарюють розчинник.

#### **5.4.5. 2-Феніл-3-((3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)тетрагідро-2Н-піран-2-іл)окси)-4Н-хромен-4-он (34а)**

Білий порошок, вихід 38 мг (95%). T<sub>пл</sub>=185-186°C, <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>), δ, м.ч.: 3.07 (с, 2H), 3.14 (с, 1H), 3.22 (с, 1H), 3.34 (с, 1H), 4.27 (с, 1H), 3.53 (с, 1H), 4.95 (с, 1H), 5.39 (д, J = 4.8 Гц, 1H), 5.06 (д, J = 5.0 Гц, 1H), 5.58 (д, J = 7.2 Гц, 1H), 7.54 (дд, J = 6.5, 5.2 Гц, 4H), 7.71 – 7.79 (м, 1H), 7.83 (с, 1H), 8.10 (с, 1H), 8.16 (с, 2H). <sup>13</sup>C NMR (126 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>), δ, м.ч.: 173.5, 155.6, 154.7, 136.2, 134.1, 130.6, 129.0, 128.1, 125.1, 125.0, 123.2, 100.4, 77.4, 76.4, 74.0, 69.8, 60.7. Мас-спектр, m/z (I<sub>відн</sub>, %): 401(100).

#### **5.4.6. 2-(4-(Бензилокси)феніл)-3-((3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)тетрагідро-2Н-піран-2-іл)окси)-4Н-хромен-4-он (34е)**

Білий порошок, вихід 49 мг (97%). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>), δ, м.ч.: 1.24 (д, J = 9.5 Гц, 2H), 3.08 (с, 2H), 3.13 – 3.28 (м, 2H), 3.47 – 3.64 (м, 1H), 4.27 (с, 1H), 7.17 (д, J = 8.8 Гц, 2H), 4.96 (с, 1H), 5.07 (д, J = 4.7 Гц, 1H), 5.22 (с, 2H), 5.42 (д, J = 4.3 Гц, 1H), 5.57 (д, J = 7.5 Гц, 1H), 7.32-7.45 (м, 2H), 7.46-7.51 (м, 4H), 7.74 (д, J = 8.3 Гц, 2H), 7.81 (д, J = 7.7 Гц, 1H), 8.09 (д, J = 7.7 Гц, 1H), 8.19 (д, J = 8.6 Гц, 2H). Мас-спектр, m/z (I<sub>відн</sub>, %): 507(100).

#### **5.4.7. 2-(4-нітрофеніл)-3-((3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)тетрагідро-2Н-піран-2-іл)окси)-4Н-хромен-4-он (34д)**

Жовтий порошок, вихід 41 мг (93%). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>), δ, м.ч.: 3.07 (с, 2H), 3.14 (с, 1H), 3.22 (с, 1H), 3.34 (с, 1H), 3.54 (с, 1H), 4.27 (с, 1H), 4.95 (с, 1H), 5.06 (д, J = 5.0 Гц, 1H), 5.39 (д, J = 4.8 Гц, 1H), 5.58 (д, J = 7.2 Гц, 1H), 7.47 – 7.59 (м, 3H), 7.75 (ус, 1H), 7.82 (ус, 1H), 8.04 – 8.26 (м, 3H). Мас-спектр, m/z (I<sub>відн</sub>, %): 446 (100).

**5.4.8. 2-(2-(піридин-2-іл)тіазол-5-іл)-3-((3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)тетрагідро-2H-піран-2-іл)окси)-4H -хромен-4-он (34в)**

Жовтий порошок, вихід 44 мг (91%). Мас-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{відн}}$ , %):  
485(100).

## ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5

1. Розроблений метод глікозилювання є ефективнішим за описані в літературі.
2. Глюкозильовані похідні хромонів мають великий потенціал як зонди для аналізу концентрацій  $\beta$ -глікозидази.
3. Гідроліз глюкозильованих похідних хромонів  $\beta$ -глікозидазою добре описується кінетичним рівнянням для реакцій 2-го порядку.
4. При дослідженні  $\beta$ -глікозидази з використанням глюкозильованих похідних хромонів короткохвильова смуга люмінесценції може бути використана як внутрішній флуоресцентний стандарт

Результати досліджень даного розділу наведені в публікаціях здобувача:

(262,263)

## ВИСНОВКИ

Виявлено що одним з найбільш ефективних методів одержання 2-гетарил-5-формілтiazолів є реакція крос-сполучення Стілле з використанням системи паладієвого каталізатору та CuI .

Одержані 2-тіазолілбензімідазоли показали селективність до утворення комплексів з іонами Cd<sup>2+</sup> та Mg<sup>2+</sup>, що проявляється в батохромному зсуву люмінесценції.

Розроблений метод глікозилювання є ефективнішим за описані в літературі.

Виявлено взаємодію флавонолів з β-глікозидазою внаслідок якої люмінесценція посилюється, а ефективність ферменту зменшується.

Глюкозильовані похідні хромонів мають великий потенціал як зонди для аналізу концентрацій β-глікозидази.

2-Тіазолілхромони можна одержувати за стандартними методами, в тому числі за прямим методом одержання з альдегіду без значних втрат.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Farghaly, T.; El-Metwaly, N.; Alsoliemy, A.; Katouah, H.; Muhammad, Z.; Sabour, R., Synthesis, Molecular Docking and Antitumor Activity of New Dithiazoles. *Polycyclic Aromatic Compounds* **2019**, *41*, 1-17.
2. Kirk, M. Organic Chemistry - A "Carbonyl Early" Approach. Washington, Libretexts, **2024**, 7-33.
3. Kerdesky, F. A. J.; Seif, L. S., A Novel and Efficient Synthesis of 5-(Hydroxymethyl) Thiazole: An Important Synthone for Preparing Biologically Active Compounds. *Synthetic Communications* **1995**, *25* (17), 2639-2645.
4. Pereira, R.; Gaudon, C.; Iglesias, B.; Germain, P.; Gronemeyer, H.; de Lera, A. R., Synthesis of the PPARbeta/delta-selective agonist GW501516 and C4-thiazole-substituted analogs. *Bioorg Med Chem Lett* **2006**, *16* (1), 49-54.
5. Dereka, B.; Svechkarev, D.; Doroshenko, A., Facile ultrasensitive monitoring of mercury ions in water by fluorescent ratiometric detection. *Open Chemistry* **2013**, *11* (4), 584-593.
6. Boys, M. L.; Schretzman, L. A.; Chandrakumar, N. S.; Tollefson, M. B.; Mohler, S. B.; Downs, V. L.; Penning, T. D.; Russell, M. A.; Wendt, J. A.; Chen, B. B.; Stenmark, H. G.; Wu, H.; Spangler, D. P.; Clare, M.; Desai, B. N.; Khanna, I. K.; Nguyen, M. N.; Duffin, T.; Engleman, V. W.; Finn, M. B.; Freeman, S. K.; Hanneke, M. L.; Keene, J. L.; Klover, J. A.; Nickols, G. A.; Nickols, M. A.; Steininger, C. N.; Westlin, M.; Westlin, W.; Yu, Y. X.; Wang, Y.; Dalton, C. R.; Norring, S. A., Convergent, parallel synthesis of a series of beta-substituted 1,2,4-oxadiazole butanoic acids as potent and selective alpha(v)beta3 receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett* **2006**, *16* (4), 839-44.
7. Qin, M.; Meng, Y.; Yang, H.; Liu, L.; Zhang, H.; Wang, S.; Liu, C.; Wu, X.; Wu, D.; Tian, Y.; Hou, Y.; Zhao, Y.; Liu, Y.; Xu, C.; Wang, L., Discovery of 4-Arylindolines Containing a Thiazole Moiety as Potential Antitumor Agents Inhibiting the Programmed Cell Death-1/Programmed Cell Death-Ligand 1 Interaction. *J Med Chem* **2021**, *64* (9), 5519-5534.

8. Francisco, G. D.; Li, Z.; Albright, J. D.; Eudy, N. H.; Katz, A. H.; Petersen, P. J.; Labthavikul, P.; Singh, G.; Yang, Y.; Rasmussen, B. A.; Lin, Y. I.; Mansour, T. S., Phenyl thiazolyl urea and carbamate derivatives as new inhibitors of bacterial cell-wall biosynthesis. *Bioorg Med Chem Lett* **2004**, *14* (1), 235-8.
9. Masuda, N.; Yamamoto, O.; Fujii, M.; Ohgami, T.; Fujiyasu, J.; Kontani, T.; Moritomo, A.; Orita, M.; Kurihara, H.; Koga, H.; Nakahara, H.; Kageyama, S.; Ohta, M.; Inoue, H.; Hatta, T.; Suzuki, H.; Sudo, K.; Shimizu, Y.; Kodama, E.; Matsuoka, M.; Fujiwara, M.; Yokota, T.; Shigeta, S.; Baba, M., Studies of nonnucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. Part 1: Design and synthesis of thiazolidenebenzenesulfonamides. *Bioorg Med Chem* **2004**, *12* (23), 6171-82.
10. Reichelt, A.; Bailis, J. M.; Bartberger, M. D.; Yao, G.; Shu, H.; Kaller, M. R.; Allen, J. G.; Weidner, M. F.; Keegan, K. S.; Dao, J. H., Synthesis and structure-activity relationship of trisubstituted thiazoles as Cdc7 kinase inhibitors. *Eur J Med Chem* **2014**, *80*, 364-82.
11. He, H.; Wang, X.; Shi, L.; Yin, W.; Yang, Z.; He, H.; Liang, Y., Synthesis, antitumor activity and mechanism of action of novel 1,3-thiazole derivatives containing hydrazide-hydrazone and carboxamide moiety. *Bioorg Med Chem Lett* **2016**, *26* (14), 3263-3270.
12. Sun, J.; Ge, H.; Zhen, X.; An, X.; Zhang, G.; Zhang-Negrerie, D.; Du, Y.; Zhao, K., TBHP/AIBN-Mediated Synthesis of 2-Amino-thioazoles from Active Methylene Ketones and Thiourea under Metal-free Conditions. *Tetrahedron* **2018**, *74* (17), 2107-2114.
13. Kotb, A.; Abutaleb, N. S.; Hagra, M.; Bayoumi, A.; Moustafa, M. M.; Ghiaty, A.; Seleem, M. N.; Mayhoub, A. S., tert-Butylphenylthiazoles with an oxadiazole linker: a novel orally bioavailable class of antibiotics exhibiting antibiofilm activity. *RSC Adv* **2019**, *9* (12), 6770-6778.
14. Ali, M. R.; Kumar, S.; Afzal, O.; Shalmali, N.; Sharma, M.; Bawa, S., Development of 2-(Substituted Benzylamino)-4-Methyl-1, 3-Thiazole-5-



Carboxylic Acid Derivatives as Xanthine Oxidase Inhibitors and Free Radical Scavengers. *Chem Biol Drug Des* **2016**, *87* (4), 508-16.

15. Yavari, I.; Sayyed-Alangi, S. Z.; Hajinasiri, R.; Sajjadi-Ghotbabadi, H., A one-pot synthesis of functionalized ethyl 1,3-thiazole-5-carboxylates from thioamides or thioureas and 2-chloro-1,3-dicarbonyl compounds in an ionic liquid. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2008**, *140* (2), 209-211.

16. Soai, K.; Ookawa, A., Mixed solvents containing methanol as useful reaction media for unique chemoselective reductions within lithium borohydride. *The Journal of Organic Chemistry* **1986**, *51* (21), 4000-4005.

17. Waitkins, G. R.; Clark, C. W., Selenium Dioxide: Preparation, Properties, and Use as Oxidizing Agent. *Chemical Reviews* **1945**, *36* (3), 235-289.

18. Heravi, M. M.; Momeni, T.; Zadsirjan, V.; Mohammadi, L., Application of The Dess-Martin Oxidation in Total Synthesis of Natural Products. *Current organic synthesis* **2021**, *18* (2), 125-196.

19. Klymchenko, A. S.; Demchenko, A. P., Multiparametric probing of intermolecular interactions with fluorescent dye exhibiting excited state intramolecular proton transfer. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2003**, *5* (3), 461-468.

20. Chou, H.-H.; Hsu, C.-Y.; Hsu, Y.-C.; Lin, Y.-S.; Lin, J. T.; Tsai, C., Dipolar organic pyridyl dyes for dye-sensitized solar cell applications. *Tetrahedron* **2012**, *68* (2), 767-773.

21. Miyaura, N.; Suzuki, A., Stereoselective synthesis of arylated (E)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium catalyst. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1979**, (19), 866-867.

22. Zhang, Y.; Deng, Y.; Ji, N.; Zhang, J.; Fan, C.; Ding, T.; Cao, Z.; Li, Y.; Fang, Y., A rationally designed flavone-based ESIPT fluorescent chemodosimeter for highly selective recognition towards fluoride and its application in live-cell imaging. *Dyes and Pigments* **2019**, *166*, 473-479.

23. Woo, H.; Lee, K.; Park, J. C.; Park, K. H., Facile synthesis of Pd/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/charcoal bifunctional catalysts with high metal loading for high product yields in Suzuki–Miyaura coupling reactions. *New J. Chem.* **2014**, *38* (11), 5626-5632.
24. Bruno, N., Buchwald S. Buchwald ligands and precatalysts. Strem Chemicals, Inc., **2018**, 1-68.
25. Pizar, M.; Schutznerova, E.; Hancik, F.; Popa, I.; Travnicek, Z.; Cankar, P., Modification of Boc-Protected CAN508 via Acylation and Suzuki-Miyaura Coupling. *Molecules* **2018**, *23* (1).
26. Liu, L.; Zhang, Y.; Xin, B., Synthesis of biaryls and polyaryls by ligand-free Suzuki reaction in aqueous phase. *J Org Chem* **2006**, *71* (10), 3994-7.
27. Strotman, N. A.; Chobanian, H. R.; He, J.; Guo, Y.; Dormer, P. G.; Jones, C. M.; Steves, J. E., Catalyst-controlled regioselective Suzuki couplings at both positions of dihaloimidazoles, dihalooxazoles, and dihalothiazoles. *J Org Chem* **2010**, *75* (5), 1733-9.
28. Yao, C.; Jiao, B.; Yang, X.; Xu, X.; Dang, J.; Zhou, G.; Wu, Z.; Lv, X.; Zeng, Y.; Wong, W. Y., Tris(cyclometalated) Iridium(III) Phosphorescent Complexes with 2-Phenylthiazole-Type Ligands: Synthesis, Photophysical, Redox and Electrophosphorescent Behavior. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2013**, *2013* (27), 4754-4763.
29. Xi, B.; Wang, N.; Ma, B.-B.; Tao, T.; Huang, W., A family of extended heterocyclic oligomers with thienylene/thiazolylene vinylene cores and triphenylamino/carbazolyl terminals. *Tetrahedron* **2015**, *71* (23), 3966-3975.
30. Akram, M. O.; Shinde, P. S.; Chintawar, C. C.; Patil, N. T., Gold(i)-catalyzed cross-coupling reactions of aryldiazonium salts with organostannanes. *Org Biomol Chem* **2018**, *16* (16), 2865-2869.
31. Haraguchi, K.; Horii, C.; Yoshimura, Y.; Ariga, F.; Tadokoro, A.; Tanaka, H., An access to the beta-anomer of 4'-thio-C-ribonucleosides: hydroboration of 1-C-aryl- or 1-C-heteroaryl-4-thiofuranoid glycals and its regiochemical outcome. *J Org Chem* **2011**, *76* (21), 8658-69.

32. Mee, S. P.; Lee, V.; Baldwin, J. E., Stille coupling made easier-the synergic effect of copper(I) salts and the fluoride ion. *Angew Chem Int Ed Engl* **2004**, *43* (9), 1132-6.
33. Abbott, L.; Betschmann, P.; Burchat, A.; Calderwood, D. J.; Davis, H.; Hrcnciar, P.; Hirst, G. C.; Li, B.; Morytko, M.; Mullen, K.; Yang, B., Discovery of thienopyridines as Src-family selective Lck inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* **2007**, *17* (5), 1167-71.
34. Boy, K. M.; Guernon, J. M., Synthesis of 2-aminoethyl-5-carbomethoxythiazoles utilizing a Michael-like addition strategy. *Tetrahedron Letters* **2005**, *46* (13), 2251-2252.
35. Colon, A.; Hoffman, T. J.; Gebauer, J.; Dash, J.; Rigby, J. H.; Arseniyadis, S.; Cossy, J., Catalysis-based enantioselective total synthesis of myxothiazole Z, (14S)-melithiazole G and (14S)-cystothiazole F. *Chem Commun (Camb)* **2012**, *48* (85), 10508-10.
36. Preston, P. N., Synthesis, reactions, and spectroscopic properties of benzimidazoles. *Chemical Reviews* **1974**, *74* (3), 279-314.
37. Wright, J. B., The Chemistry of the Benzimidazoles. *Chemical Reviews* **1951**, *48* (3), 397-541.
38. K., H., Imidazole and its Derivatives Part-1. *New York: Wiley Interscience* **1953**, 267-271.
39. Rajabi, F.; De, S.; Luque, R., An Efficient and Green Synthesis of Benzimidazole Derivatives Using SBA-15 Supported Cobalt Nanocatalysts. *Catalysis Letters* **2015**, *145* (8), 1566-1570.
40. Wang, Z. g.; Zhu, J.; Zhu, Z. s.; Xu, J.; Lu, M., A green and efficient method for synthesis of benzimidazoles using nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> in PEG-400/H<sub>2</sub>O aqueous system under ambient conditions at room temperature. *Applied Organometallic Chemistry* **2014**, *28* (6), 436-440.
41. Bandyopadhyay, P.; Sathe, M.; Tikar, S. N.; Yadav, R.; Sharma, P.; Kumar, A.; Kaushik, M. P., Synthesis of some novel phosphorylated and thiophosphorylated benzimidazoles and benzothiazoles and their evaluation for

larvicidal potential to *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioorg Med Chem Lett* **2014**, *24* (13), 2934-9.

42. Bahrami, K.; Khodaei, M. M.; Nejati, A., Synthesis of 1,2-disubstituted benzimidazoles, 2-substituted benzimidazoles and 2-substituted benzothiazoles in SDS micelles. *Green Chemistry* **2010**, *12* (7).

43. Kokare, N.; Sangshetti, J.; Shinde, D., One-Pot Efficient Synthesis of 2-Aryl-1-arylmethyl-1H-benzimidazoles and 2,4,5-Triaryl-1H-imidazoles Using Oxalic Acid Catalyst. *Synthesis* **2007**, *2007* (18), 2829-2834.

44. Yu, B.; Zhang, H.; Zhao, Y.; Chen, S.; Xu, J.; Huang, C.; Liu, Z., Cyclization of o-phenylenediamines by CO<sub>2</sub> in the presence of H<sub>2</sub> for the synthesis of benzimidazoles. *Green Chem.* **2013**, *15* (1), 95-99.

45. Phatake, V. V.; Bhanage, B. M., Cu@U-g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> Catalyzed Cyclization of o-Phenylenediamines for the Synthesis of Benzimidazoles by Using CO<sub>2</sub> and Dimethylamine Borane as a Hydrogen Source. *Catalysis Letters* **2018**, *149* (1), 347-359.

46. Bhanage, B.; Nale, D., N-Substituted Formamides as C<sub>1</sub>-Sources for the Synthesis of Benzimidazole and Benzothiazole Derivatives by Using Zinc Catalysts. *Synlett* **2015**, *26* (20), 2835-2842.

47. Rasal, K. B.; Yadav, G. D., Carbon Dioxide Mediated Novel Synthesis of Quinazoline-2,4(1H,3H)-dione in Water. *Organic Process Research & Development* **2016**, *20* (12), 2067-2073.

48. Sun, Z.; Bottari, G.; Barta, K., Supercritical methanol as solvent and carbon source in the catalytic conversion of 1,2-diaminobenzenes and 2-nitroanilines to benzimidazoles. *Green Chemistry* **2015**, *17* (12), 5172-5181.

49. Sharma, S.; Sharma, A.; Yamini; Das, P., Supported Rhodium (Rh@PS) Catalyzed Benzimidazoles Synthesis Using Ethanol/Methanol as C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>/CH Source. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2018**, *361* (1), 67-72.

50. Mishra, K.; Datta Khanal, H.; Rok Lee, Y., Facile N-Formylation of Amines on Magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-CuO Nanocomposites. *European Journal of Organic Chemistry* **2021**, *2021* (31), 4477-4484.

51. Zhang, Z.-H.; Li, T.-S.; Li, J.-J., A Highly Effective Sulfamic Acid/Methanol Catalytic System for the Synthesis of Benzimidazole Derivatives at Room Temperature. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2006**, *138* (1), 89-94.
52. Nguyen, T. B.; Ermolenko, L.; Al-Mourabit, A., Selective autoxidation of benzylamines: application to the synthesis of some nitrogen heterocycles. *Green Chemistry* **2013**, *15* (10).
53. Xiao, T.; Xiong, S.; Xie, Y.; Dong, X.; Zhou, L., Copper-catalyzed synthesis of benzazoles via aerobic oxidative condensation of o-amino/mercaptan/hydroxyanilines with benzylamines. *RSC Advances* **2013**, *3* (36).
54. Deng, X.; McAllister, H.; Mani, N. S., CuI-catalyzed amination of arylhalides with guanidines or amidines: a facile synthesis of 1-H-2-substituted benzimidazoles. *J Org Chem* **2009**, *74* (15), 5742-5.
55. Qu, Y.; Pan, L.; Wu, Z.; Zhou, X., Synthesis of benzimidazoles by Cu<sub>2</sub>O-catalyzed cascade reactions between o-haloaniline and amidine hydrochlorides. *Tetrahedron* **2013**, *69* (6), 1717-1719.
56. Boddapati, S. N. M.; Tamminana, R.; Gollapudi, R. K.; Nurbasha, S.; Assal, M. E.; Alduhaish, O.; Siddiqui, M. R. H.; Bollikolla, H. B.; Adil, S. F., Copper-Promoted One-Pot Approach: Synthesis of Benzimidazoles. *Molecules* **2020**, *25* (8).
57. Sayahi, M. H.; Khoshneviszadeh, M.; Soheilizad, M.; Saghanezhad, S. J.; Mahdavi, M., Efficient copper-catalyzed synthesis of 2-arylbenzimidazole derivatives by reaction of 1-fluoro-2-nitrobenzene with benzamidine hydrochlorides. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2018**, *54* (3), 351-354.
58. Li, J.; Bénard, S.; Neuville, L.; Zhu, J., Copper catalyzed N-arylation of amidines with aryl boronic acids and one-pot synthesis of benzimidazoles by a Chan-Lam-Evans N-arylation and C-H activation/C-N bond forming process. *Organic letters* **2012**, *14* (23), 5980-3.

59. Brasche, G.; Buchwald, S. L., C-H functionalization/C-N bond formation: copper-catalyzed synthesis of benzimidazoles from amidines. *Angew Chem Int Ed Engl* **2008**, *47* (10), 1932-4.
60. Srivastava, R. G.; Venkataramani, P. S., Barium Manganate Oxidation in Organic Synthesis: Part III: Oxidation of Schiff'S Bases to Benzimidazoles Benzoxazoles and Benzthiazoles. *Synthetic Communications* **1988**, *18* (13), 1537-1544.
61. Algar, J.; Flynn, J. P., A New Method for the Synthesis of Flavonols. *Proceedings of the Royal Irish Academy. Section B: Biological, Geological, and Chemical Science* **1934**, *42*, 1-8.
62. Dias, T. A.; Duarte, C. L.; Lima, C. F.; Proenca, M. F.; Pereira-Wilson, C., Superior anticancer activity of halogenated chalcones and flavonols over the natural flavonol quercetin. *Eur J Med Chem* **2013**, *65*, 500-10.
63. Varadi, L.; Najib, E. Y.; Hibbs, D. E.; Perry, J. D.; Groundwater, P. W., A Selective, Dual Emission beta-Alanine Aminopeptidase Activated Fluorescent Probe for the Detection of *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, and *Serratia marcescens*. *Molecules* **2019**, *24* (19).
64. Dofe, V. S.; Sarkate, A. P.; Lokwani, D. K.; Shinde, D. B.; Kathwate, S. H.; Gill, C. H., Novel O-Alkylated Chromones as Antimicrobial Agents: Ultrasound Mediated Synthesis, Molecular Docking and ADME Prediction. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2017**, *54* (5), 2678-2685.
65. Bouraiou, A.; Berree, F.; Bouacida, S.; Carboni, B.; Debache, A.; Roynel, T.; Belfaitah, A., Efficient Syntheses of New Chromone- and Chromanequinoline Hybrids and their Aza-analogs. *Letters in Organic Chemistry* **2011**, *8* (6), 374-379.
66. Seoane, G.; Sagrera, G., Acidic Rearrangement of (Benzyloxy)chalcones: A Short Synthesis of Chamanetin. *Synthesis* **2009**.
67. Seoane, G.; Sagrera, G., Total Synthesis of 3',3'''-Binaringenin and Related Biflavonoids. *Synthesis* **2010**, *2010* (16), 2776-2786.

68. Safavi, M.; Esmati, N.; Ardestani, S. K.; Emami, S.; Ajdari, S.; Davoodi, J.; Shafiee, A.; Foroumadi, A., Halogenated flavanones as potential apoptosis-inducing agents: synthesis and biological activity evaluation. *Eur J Med Chem* **2012**, *58*, 573-80.
69. Satyanarayana, M.; Tiwari, P.; Tripathi, B. K.; Srivastava, A. K.; Pratap, R., Synthesis and antihyperglycemic activity of chalcone based aryloxypropanolamines. *Bioorg Med Chem* **2004**, *12* (5), 883-9.
70. Barros, A. I. R. N. A.; Silva, A. M. S.; Alkorta, I.; Elguero, J., Synthesis, experimental and theoretical NMR study of 2'-hydroxychalcones bearing a nitro substituent on their B ring. *Tetrahedron* **2004**, *60* (31), 6513-6521.
71. Ozturk, T.; Klymchenko, A. S.; Capan, A.; Oncul, S.; Cikrikci, S.; Taskiran, S.; Tasan, B.; Kaynak, F. B.; Ozbey, S.; Demchenko, A. P., New 3-hydroxyflavone derivatives for probing hydrophobic sites in microheterogeneous systems. *Tetrahedron* **2007**, *63* (41), 10290-10299.
72. Uddin, M. N.; Knock, M. N. H.; Uzzaman, M.; Bhuiyan, M. M. H.; Sanaullah, A. F. M.; Shumi, W.; Sadrul Amin, H. M., Microwave assisted synthesis, characterization, molecular docking and pharmacological activities of some new 2'-hydroxychalcone derivatives. *Journal of Molecular Structure* **2020**, *1206*.
73. Svechkarev, D. A.; Baumer, V. N.; Syzova, Z. A.; Doroshenko, A. O., New benzimidazolic 3-hydroxychromone derivative with two alternative mechanisms of the excited state intramolecular proton transfer reaction. *Journal of Molecular Structure* **2008**, *882* (1-3), 63-69.
74. Sum, T. J.; Sum, T. H.; Galloway, W. R. J. D.; Twigg, D. G.; Ciardiello, J. J.; Spring, D. R., Synthesis of structurally diverse biflavonoids. *Tetrahedron* **2018**, *74* (38), 5089-5101.
75. Simiti, I.; Zaharia, V.; Mager, S.; Köteles-Popa, T., Heterocyclen, 67. Mitt.: Darstellung und Charakterisierung einiger 2-(2-Aryl-thiazol-4-yl)-3-hydroxy-chromone. *Archiv der Pharmazie* **1991**, 324.

76. Zhang, L.; Ge, Y.; Wang, Q. M.; Zhou, C. H., Identification of novel imidazole flavonoids as potent and selective inhibitors of protein tyrosine phosphatase. *Bioorg Chem* **2019**, *88*, 102900.
77. Hatzade, K.; Sheikh, J.; Taile, V.; Ghatole, A.; Ingle, V.; Genc, M.; Lahsasni, S.; Ben Hadda, T., Antimicrobial/antioxidant activity and POM analyses of novel 7-o- $\beta$ -d-glucopyranosyloxy-3-(4,5-disubstituted imidazol-2-yl)-4H-chromen-4-ones. *Medicinal Chemistry Research* **2015**, *24* (6), 2679-2693.
78. van Acker, F. A. A.; Hageman, J. A.; Haenen, G. R. M. M.; van der Vijgh, W. J. F.; Bast, A.; Menge, W. M. P. B., Synthesis of Novel 3,7-Substituted-2-(3',4'-dihydroxyphenyl)flavones with Improved Antioxidant Activity. *Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, *43* (20), 3752-3760.
79. Perry, J. D.; Morris, K. A.; James, A. L.; Oliver, M.; Gould, F. K., Evaluation of novel chromogenic substrates for the detection of bacterial beta-glucosidase. *J Appl Microbiol* **2007**, *102* (2), 410-5.
80. Mughal, E. U.; Javid, A.; Sadiq, A.; Murtaza, S.; Zafar, M. N.; Khan, B. A.; Sumrra, S. H.; Tahir, M. N.; Kanwal; Khan, K. M., Synthesis, structure-activity relationship and molecular docking studies of 3-O-flavonol glycosides as cholinesterase inhibitors. *Bioorg Med Chem* **2018**, *26* (12), 3696-3706.
81. Chen, L.; Li, J.; Luo, C.; Liu, H.; Xu, W.; Chen, G.; Liew, O. W.; Zhu, W.; Puah, C. M.; Shen, X.; Jiang, H., Binding interaction of quercetin-3-beta-galactoside and its synthetic derivatives with SARS-CoV 3CL(pro): structure-activity relationship studies reveal salient pharmacophore features. *Bioorg Med Chem* **2006**, *14* (24), 8295-306.
82. Kajjout, M.; Rolando, C., Regiospecific synthesis of quercetin O- $\beta$ -d-glucosylated and O- $\beta$ -d-glucuronidated isomers. *Tetrahedron* **2011**, *67* (25), 4731-4741.
83. Agbo, E. N.; Gildenhuis, S.; Mphahlele, M. J., Inhibitory Effects of Novel 7-Substituted 6-iodo-3-O-Flavonol Glycosides against Cholinesterases and beta-secretase Activities, and Evaluation for Potential Antioxidant Properties. *Molecules* **2019**, *24* (19).



84. Brown, H. D.; Matzuk, A. R.; Ilves, I. R.; Peterson, L. H.; Harris, S. A.; Sarett, L. H.; Egerton, J. R.; Yakstis, J. J.; Campbell, W. C.; Cuckler, A. C., ANTIPARASITIC DRUGS. IV. 2-(4'-THIAZOLYL)-BENZIMIDAZOLE, A NEW ANTHELMINTIC. *Journal of the American Chemical Society* **1961**, 83 (7), 1764-1765.
85. Rosenblum, C., Non-drug-related residues in tracer studies. *Journal of toxicology and environmental health* **1977**, 2 (4), 803-14.
86. Singh, J. M., Possible anthelmintic thiazol-5-ylbenzimidazoles. 3. *J Med Chem* **1969**, 12 (3), 553.
87. Averkin, E. A.; Beard, C. C.; Dvorak, C. A.; Edwards, J. A.; Fried, J. H.; Kilian, J. G.; Kistner, T. P.; Drudge, J. H.; Lyons, E. T.; Sharp, M. L.; Corwin, R. M.; Schiltz, R. A., Methyl 5(6)-phenylsulfinyl-2-benzimidazolecarbamate, a new, potent anthelmintic. *J Med Chem* **1975**, 18 (11), 1164-6.
88. Krapivin, G. D.; Usova, E. B.; Zavodnik, V. E.; Kul'nevich, V. G., Thiuronium salts in the synthesis of thiazole derivatives. Synthesis of benzimidazolylthiazoles. Molecular and crystal structure of 2-acetylamino-5-(2-benzimidazolyl)-4-methylthiazole. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **1992**, 28 (8), 890-894.
89. Xiang, P.; Zhou, T.; Wang, L.; Sun, C. Y.; Hu, J.; Zhao, Y. L.; Yang, L., Novel benzothiazole, benzimidazole and benzoxazole derivatives as potential antitumor agents: synthesis and preliminary in vitro biological evaluation. *Molecules* **2012**, 17 (1), 873-83.
90. Gowda, N. R.; Kavitha, C. V.; Chiruvella, K. K.; Joy, O.; Rangappa, K. S.; Raghavan, S. C., Synthesis and biological evaluation of novel 1-(4-methoxyphenethyl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid derivatives and their precursors as antileukemic agents. *Bioorg Med Chem Lett* **2009**, 19 (16), 4594-600.
91. Omar, M. A.; Shaker, Y. M.; Galal, S. A.; Ali, M. M.; Kerwin, S. M.; Li, J.; Tokuda, H.; Ramadan, R. A.; El Diwani, H. I., Synthesis and docking studies of novel antitumor benzimidazoles. *Bioorg Med Chem* **2012**, 20 (24), 6989-7001.

92. Liu, T.; Sun, C.; Xing, X.; Jing, L.; Tan, R.; Luo, Y.; Huang, W.; Song, H.; Li, Z.; Zhao, Y., Synthesis and evaluation of 2-[2-(phenylthiomethyl)-1H-benzo[d]imidazol-1-yl]acetohydrazide derivatives as antitumor agents. *Bioorg Med Chem Lett* **2012**, *22* (9), 3122-5.
93. Karthikeyan, C.; Solomon, V. R.; Lee, H.; Trivedi, P., Synthesis and biological evaluation of 2-(phenyl)-3H-benzo[d]imidazole-5-carboxylic acids and its methyl esters as potent anti-breast cancer agents. *Arabian Journal of Chemistry* **2017**, *10*, S1788-S1794.
94. Yoon, Y. K.; Ali, M. A.; Wei, A. C.; Choon, T. S.; Osman, H.; Parang, K.; Shirazi, A. N., Synthesis and evaluation of novel benzimidazole derivatives as sirtuin inhibitors with antitumor activities. *Bioorg Med Chem* **2014**, *22* (2), 703-10.
95. El-Nassan, H. B., Synthesis, antitumor activity and SAR study of novel [1,2,4]triazino[4,5-a]benzimidazole derivatives. *Eur J Med Chem* **2012**, *53*, 22-7.
96. Luo, Y.; Yao, J. P.; Yang, L.; Feng, C. L.; Tang, W.; Wang, G. F.; Zuo, J. P.; Lu, W., Design and synthesis of novel benzimidazole derivatives as inhibitors of hepatitis B virus. *Bioorg Med Chem* **2010**, *18* (14), 5048-55.
97. Gudmundsson, K. S.; Sebahar, P. R.; Richardson, L. D.; Miller, J. F.; Turner, E. M.; Catalano, J. G.; Spaltenstein, A.; Lawrence, W.; Thomson, M.; Jenkinson, S., Amine substituted N-(1H-benzimidazol-2-ylmethyl)-5,6,7,8-tetrahydro-8-quinolinamines as CXCR4 antagonists with potent activity against HIV-1. *Bioorg Med Chem Lett* **2009**, *19* (17), 5048-52.
98. Miller, J. F.; Turner, E. M.; Gudmundsson, K. S.; Jenkinson, S.; Spaltenstein, A.; Thomson, M.; Wheelan, P., Novel N-substituted benzimidazole CXCR4 antagonists as potential anti-HIV agents. *Bioorg Med Chem Lett* **2010**, *20* (7), 2125-8.
99. Kirubakaran, S.; Gorla, S. K.; Sharling, L.; Zhang, M.; Liu, X.; Ray, S. S.; Macpherson, I. S.; Striepen, B.; Hedstrom, L.; Cuny, G. D., Structure-activity relationship study of selective benzimidazole-based inhibitors of *Cryptosporidium parvum* IMPDH. *Bioorg Med Chem Lett* **2012**, *22* (5), 1985-8.

100. Zheng, F.; Xiao, H. M.; Zhu, Q. F.; Yu, Q. W.; Feng, Y. Q., Profiling of benzimidazoles and related metabolites in pig serum based on SiO(2)@NiO solid-phase extraction combined precursor ion scan with high resolution orbitrap mass spectrometry. *Food Chem* **2019**, *284*, 279-286.
101. Varnes, J. G.; Geschwindner, S.; Holmquist, C. R.; Forst, J.; Wang, X.; Dekker, N.; Scott, C. W.; Tian, G.; Wood, M. W.; Albert, J. S., Fragment-assisted hit investigation involving integrated HTS and fragment screening: Application to the identification of phosphodiesterase 10A (PDE10A) inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* **2016**, *26* (1), 197-202.
102. Moszczynski-Petkowski, R.; Majer, J.; Borkowska, M.; Bojarski, L.; Janowska, S.; Matloka, M.; Stefaniak, F.; Smuga, D.; Bazydło, K.; Dubiel, K.; Wieczorek, M., Synthesis and characterization of novel classes of PDE10A inhibitors - 1H-1,3-benzodiazoles and imidazo[1,2-a]pyrimidines. *Eur J Med Chem* **2018**, *155*, 96-116.
103. Tkachev, V. V.; Pushkina, L. N., Luminescence and scintillation properties of some 1, 2-disubstitution products of benzimidazole. *Journal of Applied Spectroscopy* **1965**, *2* (1), 39-42.
104. Tway, P. C.; Love, L. J. C., Photophysical properties of benzimidazole and thiabendazole and their homologs. Effect of substituents and solvent on the nature of the transition. *The Journal of Physical Chemistry* **1982**, *86* (26), 5223-5226.
105. Jia, T.-T.; Zhang, M.-Y.; Wang, J.; Xu, H.-B.; Kurmoo, M.; Zeng, M.-H., Fragmentation of a One-Dimensional Zinc Coordination Polymer and Partial Reassembly Evidenced by Mass Spectrometry. *Crystal Growth & Design* **2019**, *19* (11), 6801-6805.
106. Maiore, L.; Aragoni, M. C.; Deiana, C.; Cinellu, M. A.; Isaia, F.; Lippolis, V.; Pintus, A.; Serratrice, M.; Arca, M., Structure-activity relationships in cytotoxic Au(I)/Au(III) complexes derived from 2-(2'-pyridyl)benzimidazole. *Inorg Chem* **2014**, *53* (8), 4068-80.
107. Pal, M. K.; Kushwah, N.; Manna, D.; Wadawale, A.; Sudarsan, V.; Ghanty, T. K.; Jain, V. K., Diorgano-Gallium and -Indium Complexes Derived

from Benzoazole Ligands: Synthesis, Characterization, Photoluminescence, and Computational Studies. *Organometallics* **2012**, 32 (1), 104-111.

108. Das, K.; Sarkar, N.; Ghosh, A. K.; Majumdar, D.; Nath, D. N.; Bhattacharyya, K., Excited-State Intramolecular Proton Transfer in 2-(2-Hydroxyphenyl)benzimidazole and -benzoxazole: Effect of Rotamerism and Hydrogen Bonding. *The Journal of Physical Chemistry* **1994**, 98 (37), 9126-9132.

109. Dey, J.; Dogra, S. K., Dual Fluorescence of 2-[4-(Dimethylamino)phenyl]benzothiazole and Its Benzimidazole Analog: Effect of Solvent and pH on Electronic Spectra. *The Journal of Physical Chemistry* **1994**, 98 (14), 3638-3644.

110. Klymchenko, A. S., Solvatochromic and Fluorogenic Dyes as Environment-Sensitive Probes: Design and Biological Applications. *Acc Chem Res* **2017**, 50 (2), 366-375.

111. Roshal, A. D., Complexation of Flavonoids: Spectral Phenomena, Regioselectivity, Interplay with Charge and Proton Transfer. *Chem Rec* **2023**, e202300249.

112. Wang, D.; Fan, X.; Sun, S.; Du, S.; Li, H.; Zhu, J.; Tang, Y.; Chang, M.; Xu, Y., Substituent effect: A new strategy to construct a ratiometric fluorescent probe for detection of Al<sup>3+</sup> and imaging in vivo. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, 264, 304-311.

113. Jin, X.; Sun, X.; Di, X.; Zhang, X.; Huang, H.; Liu, J.; Ji, P.; Zhu, H., Novel fluorescent ESIPT probe based on flavone for nitroxyl in aqueous solution and serum. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, 224, 209-216.

114. Liu, J.; Chen, X.; Zhang, Y.; Gao, G.; Zhang, X.; Hou, S.; Hou, Y., A novel 3-hydroxychromone fluorescent probe for hydrogen sulfide based on an excited-state intramolecular proton transfer mechanism. *New Journal of Chemistry* **2018**, 42 (15), 12918-12923.

115. Voicescu, M.; Ionescu, S.; Gatea, F., Photophysical Properties of Some Flavones Probes in Homogeneous Media. *Journal of fluorescence* **2013**, 24.

116. Klymchenko, A. S.; Demchenko, A. P., Multiparametric probing of microenvironment with solvatochromic fluorescent dyes. *Methods Enzymol* **2008**, *450*, 37-58.
117. M'Baye, G.; Martyloga, O. V.; Duportail, G.; Pivovarenko, V. G., 3-Hydroxy-4'-[di-(2-hydroxyethyl)amino]flavone as a new step in search of an ideal membrane ratiometric fluorescent probe. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2006**, *184* (1-2), 113-124.
118. Klymchenko, A. S.; Mely, Y., Fluorescent environment-sensitive dyes as reporters of biomolecular interactions. *Prog Mol Biol Transl Sci* **2013**, *113*, 35-58.
119. Sholokh, M.; Zamotaiev, O. M.; Das, R.; Postupalenko, V. Y.; Richert, L.; Dujardin, D.; Zaporozhets, O. A.; Pivovarenko, V. G.; Klymchenko, A. S.; Mely, Y., Fluorescent amino acid undergoing excited state intramolecular proton transfer for site-specific probing and imaging of peptide interactions. *J Phys Chem B* **2015**, *119* (6), 2585-95.
120. Svechkarev, D.; Sadykov, M. R.; Bayles, K. W.; Mohs, A. M., Ratiometric Fluorescent Sensor Array as a Versatile Tool for Bacterial Pathogen Identification and Analysis. *ACS Sens* **2018**, *3* (3), 700-708.
121. Pahari, B.; Chakraborty, S.; Sengupta, P. K., Encapsulation of 3-hydroxyflavone in  $\gamma$ -cyclodextrin nanocavities: Excited state proton transfer fluorescence and molecular docking studies. *Journal of Molecular Structure* **2011**, *1006* (1-3), 483-488.
122. Serdiuk, I. E.; Roshal, A. D., Exploring double proton transfer: A review on photochemical features of compounds with two proton-transfer sites. *Dyes and Pigments* **2017**, *138*, 223-244.
123. Klymchenko, A. S., Solvatochromic and Fluorogenic Dyes as Environment-Sensitive Probes: Design and Biological Applications. *Accounts of Chemical Research* **2017**, *50* (2), 366-375.
124. Höfener, S.; Kooijman, P. C.; Groen, J.; Ariese, F.; Visscher, L., Fluorescence behavior of (selected) flavonols: a combined experimental and

computational study. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, *15* (30), 12572-12581.

125. Chumak, A. Y.; Mudrak, V. O.; Kotlyar, V. M.; Doroshenko, A. O., 4'-Nitroflavonol fluorescence: Excited state intramolecular proton transfer reaction from the non-emissive excited state. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2021**, *406*, 112978.

126. Xu, Z.; Zhao, X.; Zhou, M.; Zhang, Z.; Qin, T.; Wang, D.; Wang, L.; Peng, X.; Liu, B., Donor engineering on flavonoid-based probes to enhance the fluorescence brightness in water: Design, characterization, photophysical properties, and application for cysteine detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2021**, *345*, 130367.

127. Qin, T.; Liu, B.; Huang, Y.; Yang, K.; Zhu, K.; Luo, Z.; Pan, C.; Wang, L., Ratiometric fluorescent monitoring of methanol in biodiesel by using an ESIPT-based flavonoid probe. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, *277*, 484-491.

128. Qin, T.; Liu, B.; Xu, Z.; Yao, G.; Xu, H.; Zhao, C., Flavonol-based small-molecule fluorescent probes. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2021**, *336*, 129718.

129. Roshal, A. D.; Organero, J. A.; Douhal, A., Tuning the mechanism of proton-transfer in a hydroxyflavone derivative. *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *379* (1), 53-59.

130. Serdiuk, I. E.; Roshal, A. D., Single and double intramolecular proton transfers in the electronically excited state of flavone derivatives. *RSC Adv.* **2015**, *5* (124), 102191-102203.

131. Pivovarenko, V. G., Multi-parametric sensing by multi-channel molecular fluorescent probes based on excited state intramolecular proton transfer and charge transfer processes. *BBA Adv.* **2023**, *3*, 100094.

132. Doroshenko, A. O.; Kyrychenko, A. V.; Valyashko, O. M.; Kotlyar, V. N.; Svechkarev, D. A., 4'-Methoxy-3-hydroxyflavone excited state intramolecular proton transfer reaction in alcoholic solutions: Intermolecular versus

intramolecular hydrogen bonding effect. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2019**, 383, art. no. 111964.

133. Demchenko, A. P.; Ercelen, S.; Roshal, A. D.; Klymchenko, A. S., Excited-State Proton Transfer Reaction in a New Benzofuryl 3-Hydroxychromone Derivative: The Influence of Low-Polar Solvents. *Polish J. Chem.* **2002**, 76 (9), 1287-1299.

134. Valuk, V. F.; Duportail, G.; Pivovarenko, V. G., A wide-range fluorescent pH-indicator based on 3-hydroxyflavone structure. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2005**, 175 (2–3), 226-231.

135. Poteau, X.; Saroja, G.; Spies, C.; Brown, R. G., The photophysics of some 3-hydroxyflavone derivatives in the presence of protons, alkali metal and alkaline earth cations. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2004**, 162 (2–3), 431-439.

136. Liu, W.; Wang, Y.; Jin, W.; Shen, G.; Yu, R., Solvatochromogenic flavone dyes for the detection of water in acetone. *Analytica Chimica Acta* **1999**, 383 (3), 299-307.

137. Svechkarev, D.; Kyrychenko, A.; Payne, W.; Mohs, A., Self-assembly dynamics and inner morphology of hydrophobically modified hyaluronic acid nanoparticles: towards design of optimized drug nanocarriers. In *255th ACS National Meeting and Expo*, New Orleans, Louisiana, USA, 2018; p POLY 363.

138. Liu, B.; Pang, Y.; Bouhenni, R.; Duah, E.; Paruchuri, S.; McDonald, L., A step toward simplified detection of serum albumin on SDS-PAGE using an environment-sensitive flavone sensor. *Chem. Commun.* **2015**, 51 (55), 11060-11063.

139. Bertman, K. A.; Abeywickrama, C. S.; Baumann, H. J.; Alexander, N.; McDonald, L.; Shriver, L. P.; Konopka, M.; Pang, Y., A fluorescent flavonoid for lysosome detection in live cells under “wash free” conditions. *J. Mater. Chem. B* **2018**, 6 (31), 5050-5058.

140. Bertman, K. A.; Abeywickrama, C. S.; Ingle, A.; Shriver, L. P.; Konopka, M.; Pang, Y., A Fluorescent Flavonoid for Lysosome Imaging: the Effect of

Substituents on Selectivity and Optical Properties. *J. Fluoresc.* **2019**, *29* (3), 599-607.

141. Serdiuk, I. E.; Reszka, M.; Synak, A.; Liberek, B.; Bojarski, P., Determination of low-activity hydrolases using ESIPT fluorescent indicators on silver surfaces. *Dyes and Pigments* **2018**, *149*, 224-228.

142. Concilio, S.; Di Martino, M.; Nardiello, A. M.; Panunzi, B.; Sessa, L.; Miele, Y.; Rossi, F.; Piotto, S., A Flavone-Based Solvatochromic Probe with A Low Expected Perturbation Impact on the Membrane Physical State. *Molecules* **2020**, *25* (15), 3458.

143. McDonald, L.; Liu, B.; Taraboletti, A.; Whiddon, K.; Shriver, L. P.; Konopka, M.; Liu, Q.; Pang, Y., Fluorescent flavonoids for endoplasmic reticulum cell imaging. *J. Mater. Chem. B* **2016**, *4* (48), 7902-7908.

144. Liu, B.; Wang, J.; Zhang, G.; Bai, R.; Pang, Y., Flavone-Based ESIPT Ratiometric Chemodosimeter for Detection of Cysteine in Living Cells. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6* (6), 4402-4407.

145. Liu, B.; McDonald, L.; Liu, Q.; Bi, X.; Zheng, J.; Wang, L.; Pang, Y., A flavonoid-based light-up bioprobe with intramolecular charge transfer characteristics for wash-free fluorescence imaging in vivo. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, *235*, 309-315.

146. Serdiuk, I. E.; Reszka, M.; Myszka, H.; Krzysiński, K.; Liberek, B.; Roshal, A. D., Flavonol-based fluorescent indicator for determination of  $\beta$ -glucosidase activity. *RSC Adv.* **2016**, *6* (48), 42532-42536.

147. Reszka, M.; Serdiuk, I. E.; Kozakiewicz, K.; Nowacki, A.; Myszka, H.; Bojarski, P.; Liberek, B., Influence of a 4'-substituent on the efficiency of flavonol-based fluorescent indicators of  $\beta$ -glycosidase activity. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18* (38), 7635-7648.

148. Adetunji, A. T.; Lewu, F. B.; Mulidzi, R.; Ncube, B., The biological activities of  $\beta$ -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. *J. Soil Plant Nutr.* **2017**, *17*, 794-807.



149. Butters, T. D., Gaucher disease. *Curr Opin Struct Biol* **2007**, *11* (4), 412-418.
150. Heightman, T. D.; Vasella, A. T., Recent Insights into Inhibition, Structure, and Mechanism of Configuration-Retaining Glycosidases. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38* (6), 750-770.
151. Maurya, A. K.; Mulpuru, V.; Mishra, N., Discovery of Novel Coumarin Analogs against the  $\alpha$ -Glucosidase Protein Target of Diabetes Mellitus: Pharmacophore-Based QSAR, Docking, and Molecular Dynamics Simulation Studies. *ACS Omega* **2020**, *5* (50), 32234-32249.
152. Zhou, X.; Huang, Z.; Yang, H.; Jiang, Y.; Wei, W.; Li, Q.; Mo, Q.; Liu, J.,  $\beta$ -Glucosidase inhibition sensitizes breast cancer to chemotherapy. *Biomed Pharmacotherapy* **2017**, *91*, 504-509.
153. Ghani, U.; Nur-e-Alam, M.; Yousaf, M.; Ul-Haq, Z.; Noman, O. M.; Al-Rehaily, A. J., Natural flavonoid  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Retama raetam*: Enzyme inhibition and molecular docking reveal important interactions with the enzyme active site. *Bioorg. Chem.* **2019**, *87*, 736-742.
154. Schröder, S. P.; Wu, L.; Artola, M.; Hansen, T.; Offen, W. A.; Ferraz, M. J.; Li, K.-Y.; Aerts, J. M. F. G.; van der Marel, G. A.; Codée, J. D. C.; Davies, G. J.; Overkleeft, H. S., Gluco-1H-imidazole: A New Class of Azole-Type  $\beta$ -Glucosidase Inhibitor. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140* (15), 5045-5048.
155. Tseng, P.-S.; Ande, C.; Moremen, K. W.; Crich, D., Influence of Side Chain Conformation on the Activity of Glycosidase Inhibitors. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2023**, *62* (8), e202217809.
156. Liu, X.; Li, F.; Su, L.; Wang, M.; Jia, T.; Xu, X.; Li, X.; Wei, C.; Luo, C.; Chen, S.; Chen, H., Design and synthesis of novel benzimidazole-iminosugars linked a substituted phenyl group and their inhibitory activities against  $\beta$ -glucosidase. *Bioorg. Chem.* **2022**, *127*, 106016.
157. Legler, G., Glycoside Hydrolases: Mechanistic Information from Studies with Reversible and Irreversible Inhibitors. In *Advances in Carbohydrate*

*Chemistry and Biochemistry*, Tipson, R. S.; Horton, D., Eds. Academic Press: 1990; Vol. 48, pp 319-384.

158. Lillelund, V. H.; Jensen, H. H.; Liang, X.; Bols, M., Recent Developments of Transition-State Analogue Glycosidase Inhibitors of Non-Natural Product Origin. *Chemical Reviews* **2002**, *102* (2), 515-554.

159. Demchenko, A. P., The concept of lambda-ratiometry in fluorescence sensing and imaging. *J Fluoresc* **2010**, *20* (5), 1099-128.

160. Demchenko, A. P., Practical aspects of wavelength ratiometry in the studies of intermolecular interactions. *Journal of Molecular Structure* **2014**, *1077*, 51-67.

161. Sultana Poly, S.; Siddiki, S. M. A. H.; Touchy, A. S.; Ting, K. W.; Toyao, T.; Maeno, Z.; Kanda, Y.; Shimizu, K.-i., Acceptorless Dehydrogenative Synthesis of Pyrimidines from Alcohols and Amidines Catalyzed by Supported Platinum Nanoparticles. *ACS Catalysis* **2018**, *8* (12), 11330-11341.

162. Kotlyar, V. N.; Pushkarev, P. A.; Orlov, V. D.; Chernenko, V. N.; Desenko, S. M., Thiazole analogs of chalcones, capable of functionalization at the heterocyclic nucleus. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2010**, *46*, 334+.

163. Kolomoitsev, O. O.; Kotliar, V. M.; Tarasenko, D. O.; Buravov, O. V.; Doroshenko, A. O., 2,4-Disubstituted 4-(1,3-thiazol-5-yl)but-3-en-2-ones: synthetic approaches to and consequent chemical modification. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2020**, *151* (5), 765-772.

164. Pinto, L. M. A.; Adeoye, O.; Thomasi, S. S.; Francisco, A. P.; Carvalheiro, M. C.; Cabral-Marques, H., Preparation and characterization of a synthetic curcumin analog inclusion complex and preliminary evaluation of in vitro antileishmanial activity. *International journal of pharmaceutics* **2020**, *589*, 119764.

165. Cerveira, M. M.; Vianna, H. S.; Ferrer, E. M. K.; da Rosa, B. N.; de Pereira, C. M. P.; Baldissera, M. D.; Lopes, L. Q. S.; Rech, V. C.; Giongo, J. L.; de Almeida Vaucher, R., Bioprospection of novel synthetic monocurcuminoids: Antioxidant, antimicrobial, and in vitro cytotoxic activities. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* **2021**, *133*, 111052.

166. Patel, J.; Patel, A.; Chikhaliya, K., An efficient Pd-catalyzed intramolecular cyclization reaction followed by formation of benzimidazole derivatives: Synthesis of novel quinolin-fused benzo[d] azeto[1,2-a]benzimidazole analogues. *Synthetic Communications* **2020**, *51*, 1-13.
167. Uozumi, Y.; Hamasaka, G., Suzuki Coupling with Polymer-Supported Pd Nanoparticles in Water. *Synfacts* **2012**, *8* (08), 0922-0922.
168. Bruno, N. C.; Tudge, M. T.; Buchwald, S. L., Design and Preparation of New Palladium Precatalysts for C-C and C-N Cross-Coupling Reactions. *Chemical science* **2013**, *4*, 916-920.
169. Kalita, P. K.; Phukan, P., Facile chemoselective carbonyl allylation of chalcones with allyltributylstannane catalyzed by CuI. *Tetrahedron Letters* **2013**, *54* (33), 4442-4445.
170. Doganc, F.; Celik, I.; Eren, G.; Kaiser, M.; Brun, R.; Goker, H., Synthesis, in vitro antiprotozoal activity, molecular docking and molecular dynamics studies of some new monocationic guanidinobenzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2021**, *221*, 113545.
171. Kotlyar, V.; Kolomoitsev, O.; Tarasenko, D.; Bondarenko, Y. H.; Butenko, S. V.; Buravov, O. V.; Kotlyar, M. I.; Roshal, A., Prospective biologically active compounds based on 5-formylthiazole. *Functional Materials* **2021**, *28*, 301-307.
172. Kotlyar, V. N.; Pushkarev, P. A.; Orlov, V. D.; Chernenko, V. N.; Desenko, S. M., Thiazole analogs of chalcones, capable of functionalization at the heterocyclic nucleus. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2010**, *46* (3), 334-341.
173. Tomin, V. I.; Demchenko, A. P.; Chou, P.-T., Thermodynamic vs. kinetic control of excited-state proton transfer reactions. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **2015**, *22*, 1-18.
174. Gesztelyi, R.; Zsuga, J.; Kemeny-Beke, A.; Varga, B.; Juhasz, B.; Tosaki, A., The Hill equation and the origin of quantitative pharmacology. *Archive for History of Exact Sciences* **2012**, *66* (4), 427-438.

175. Chebil, L.; Humeau, C.; Anthoni, J.; Dehez, F.; Engasser, J.-M.; Ghoul, M., Solubility of Flavonoids in Organic Solvents. *J. Chem. Eng. Data* **2007**, *52* (5), 1552-1556.
176. Koenigs, W.; Knorr, E., Ueber einige Derivate des Traubenzuckers und der Galactose. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, *34* (1), 957-981.
177. Miller, D. W.; Dill, K. A., Ligand binding to proteins: The binding landscape model. *Prot. Sci.* **1997**, *6* (10), 2166-2179.
178. McGhee, J. D.; von Hippel, P. H., Theoretical aspects of DNA-protein interactions: Co-operative and non-co-operative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *J. Mol. Biol.* **1974**, *86* (2), 469-489.
179. Hill, T. L., *Cooperativity Theory in Biochemistry: Steady-State and Equilibrium Systems*. Springer-Verlag: New York Berlin Heidelberg Tokyo, 1985.
180. Kuusk, S.; Väljamäe, P., When substrate inhibits and inhibitor activates: implications of  $\beta$ -glucosidases. *Biotechnol. Biofuels* **2017**, *10* (1), 7.
181. He, C.; Liu, X.; Jiang, Z.; Geng, S.; Ma, H.; Liu, B. Interaction Mechanism of Flavonoids and  $\alpha$ -Glucosidase: Experimental and Molecular Modelling Studies *Foods* [Online], 2019.
182. Fu, M.; Shen, W.; Gao, W.; Namujia, L.; Yang, X.; Cao, J.; Sun, L., Essential moieties of myricetins, quercetins and catechins for binding and inhibitory activity against  $\alpha$ -Glucosidase. *Bioorg. Chem.* **2021**, *115*, 105235.
183. Ding, X.; Yu, Y.; Ding, Z., Interaction between active compounds from *Rosa roxburghii* Tratt and  $\beta$ -glucosidase: Characterization of complexes and binding mechanism. *LWT* **2022**, *165*, 113707.
184. Liu, D.; Cao, X.; Kong, Y.; Mu, T.; Liu, J., Inhibitory mechanism of sinensetin on  $\alpha$ -glucosidase and non-enzymatic glycation: Insights from spectroscopy and molecular docking analyses. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *166*, 259-267.
185. White, S. H.; Wimley, W. C.; Ladokhin, A. S.; Hristova, K., Protein folding in membranes: Determining the energetics of peptide-bilayer interactions. *Methods Enzymol.* **1998**, *295*, 62-87.

186. Goodsell D. S., Morris G. M., Olson A. J. Automated docking of flexible ligands: Applications of Autodock. *J. Mol. Recognit.* **1996**, 9 (1), 1-5.
187. Trott O., Olson A. J. Autodock vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* **2010**, 31 (2), 455-461.
188. Isorna P., Polaina J., Latorre-García L., Cañada F. J., González B., Sanz-Aparicio J. Crystal structures of *paenibacillus polymyxa*  $\beta$ -glucosidase b complexes reveal the molecular basis of substrate specificity and give new insights into the catalytic machinery of family i glycosidases. *J. Mol. Biol.* **2007**, 371 (5), 1204-1218.
- 189 Xia L., Ruppert M., Wang M., Panjikar S., Lin H., Rajendran C., Barleben L., Stöckigt J. Structures of alkaloid biosynthetic glucosidases decode substrate specificity. *ACS Chem. Biol.* **2012**, 7 (1), 226-234.
190. Zechel D. L., Boraston A. B., Gloster T., Boraston C. M., Macdonald J. M., Tilbrook D. M. G., Stick R. V., Davies G. J. Iminosugar glycosidase inhibitors: Structural and thermodynamic dissection of the binding of isofagomine and 1-deoxynojirimycin to  $\beta$ -glucosidases. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125 (47), 14313-14323.
- 191 Tribolo S., Berrin J.-G., Kroon P. A., Czjzek M., Juge N. The crystal structure of human cytosolic  $\beta$ -glucosidase unravels the substrate aglycone specificity of a family 1 glycoside hydrolase. *J. Mol. Biol.* **2007**, 370 (5), 964-975.
- 192 Humphrey W., Dalke A., Schulten K. Vmd: Visual molecular dynamics. *J. Mol. Graphics* **1996**, 14 (1), 33-38.
193. Dodda L. S., Cabeza de Vaca I., Tirado-Rives J., Jorgensen W. L. LigParGen web server: An automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. *Nucl. Acids Res.* **2017**, 45 (W1), W331-W336.
194. Dodda L. S., Vilseck J. Z., Tirado-Rives J., Jorgensen W. L. 1.14\*cm1a-lbcc: Localized bond-charge corrected cm1a charges for condensed-phase simulations. *J. Phys. Chem. B* **2017**, 121 (15), 3864-3870.

195. Jorgensen W. L., Maxwell D. S., Tirado-Rives J. Development and testing of the opls all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (45), 11225-11236.
196. Jorgensen W. L., Chandrasekhar J., Madura J. D., Impey R. W., Klein M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* **1983**, *79* (2), 926-935.
197. Bussi G., Donadio D., Parrinello M. Canonical sampling through velocity
175. Darden T., York D., Pedersen L. Particle mesh ewald: An  $n \cdot \log(n)$  method for ewald sums in large systems. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (12), 10089-10092.
198. Hess B., Bekker H., Berendsen H. J. C., Fraaije J. G. E. M. Lincs: A linear constraint solver for molecular simulations. *J. Comput. Chem.* **1997**, *18* (12), 1463-1472.
199. Hess B. P-lincs: A parallel linear constraint solver for molecular simulation. *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4* (1), 116-122.
200. Van Der Spoel D., Lindahl E., Hess B., Groenhof G., Mark A. E., Berendsen H. J. C. Gromacs: Fast, flexible, and free. *J. Comput. Chem.* **2005**, *26* (16), 1701-1718.
201. Bhatia Y., Mishra S., Bisaria V. S. Microbial  $\beta$ -glucosidases: Cloning, properties, and applications. *Crit. Rev. Biotech.* **2002**, *22* (4), 375-407.
202. Ketudat Cairns J. R., Mahong B., Baiya S., Jeon J.-S. B-glucosidases: Multitasking, moonlighting or simply misunderstood? *Plant Sci.* **2015**, *241* 246-259.
203. He S., Withers S. G. Assignment of sweet almond  $\beta$ -glucosidase as a family 1 glycosidase and identification of its active site nucleophile. **1997**, *272* (40), 24864-24867.
204. Snizhko A. D., Kyrychenko A. V., Gladkov E. S. Synthesis of novel derivatives of 5,6,7,8-tetrahydro-quinazolines using of  $\alpha$ -aminoamidines and in silico screening of their biological activity. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23* (7), 3781.

205. Chen G.-Y., Zhang H., Yang F.-Q. A simple and portable method for  $\beta$ -glucosidase activity assay and its inhibitor screening based on a personal glucose meter. *Analyt. Chim. Acta* **2021**, *1142* 19-27.
206. Kazmi M., Zaib S., Ibrar A., Amjad S. T., Shafique Z., Mehsud S., Saeed A., Iqbal J., Khan I. A new entry into the portfolio of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors as potent therapeutics for type 2 diabetes: Design, bioevaluation and one-pot multi-component synthesis of diamine-bridged coumarinyl oxadiazole conjugates. *Bioorg. Chem.* **2018**, *77* 190-202.
207. Riaz S., Khan I. U., Yar M., Ashraf M., Rehman T. U., Shaukat A., Jamal S. B., Duarte V. C. M., Alves M. J. Novel pyridine-2,4,6-tricarbohydrazide derivatives: Design, synthesis, characterization and *in vitro* biological evaluation as  $\alpha$ - and  $\beta$ -glucosidase inhibitors. *Bioorg. Chem.* **2014**, *57* 148-154.
208. Khan S., Pozzo T., Megyeri M., Lindahl S., Sundin A., Turner C., Karlsson E. N. Aglycone specificity of *thermotoga neapolitana*  $\beta$ -glucosidase 1a modified by mutagenesis, leading to increased catalytic efficiency in quercetin-3-glucoside hydrolysis. *BMC Biochem.* **2011**, *12* (1), 11.
209. Proença C., Freitas M., Ribeiro D., Oliveira E. F. T., Sousa J. L. C., Tomé S. M., Ramos M. J., Silva A. M. S., Fernandes P. A., Fernandes E.  $\alpha$ -glucosidase inhibition by flavonoids: An *in vitro* and *in silico* structure–activity relationship study. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2017**, *32* (1), 1216-1228.
210. Zeng L., Zhang G., Lin S., Gong D. Inhibitory mechanism of apigenin on  $\alpha$ -glucosidase and synergy analysis of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64* (37), 6939-6949.
211. He C., Liu X., Jiang Z., Geng S., Ma H., Liu B. Interaction mechanism of flavonoids and  $\alpha$ -glucosidase: Experimental and molecular modelling studies *Foods*, **2019**, *8*(9), 355.
212. Tadera K., Minami Y., Takamatsu K., Matsuoka T. Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase by flavonoids. *J. Nutrition. Sci. Vitaminology* **2006**, *52* (2), 149-153.

213. Ghani U., Nur-e-Alam M., Yousaf M., Ul-Haq Z., Noman O. M., Al-Rehaily A. J. Natural flavonoid  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from retama raetam: Enzyme inhibition and molecular docking reveal important interactions with the enzyme active site. *Bioorg. Chem.* **2019**, *87* 736-742.
214. Horikoshi S., Saburi W., Yu J., Matsuura H., Cairns J. R. K., Yao M., Mori H. Substrate specificity of glycoside hydrolase family 1  $\beta$ -glucosidase atbglu42 from arabidopsis thaliana and its molecular mechanism. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2021**, *86* (2), 231-245.
215. Uehara R., Iwamoto R., Aoki S., Yoshizawa T., Takano K., Matsumura H., Tanaka S.-I. Crystal structure of a GH1  $\beta$ -glucosidase from hamamotoa singularis. *Prot. Sci.* **2020**, *29* (9), 2000-2008.
216. Gloster T. M., Roberts S., Perugino G., Rossi M., Moracci M., Panday N., Terinek M., Vasella A., Davies G. J. Structural, kinetic, and thermodynamic analysis of glucoimidazole-derived glycosidase inhibitors. *Biochem.* **2006**, *45* (39), 11879-11884.
217. Liu X., Li F., Su L., Wang M., Jia T., Xu X., Li X., Wei C., Luo C., Chen S., Chen H. Design and synthesis of novel benzimidazole-iminosugars linked a substituted phenyl group and their inhibitory activities against  $\beta$ -glucosidase. *Bioorg. Chem.* **2022**, *127* 106016.
218. Van Der Spoel D., Lindahl E., Hess B., van Buuren A. R., Apol E., Meulenhoff P. J., Tieleman D. P., Sijbers A. L. T. M., Feenstra K. A., van Drunen R., Berendsen H. J. C. *Gromacs user manual version 4.5.4*. [www.gromacs.org](http://www.gromacs.org): 2010; p 372.
219. Rigaku O. D. *Crysalis pro*, Rigaku Oxford Diffraction: Yarnton, England, 2018.
220. Sheldrick G. Shelxt - integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Cryst. A* **2015**, *71* (1), 3-8.



221. Dolomanov O. V., Bourhis L. J., Gildea R. J., Howard J. A. K., Puschmann H. Olex2: A complete structure solution, refinement and analysis program. *J. Appl. Cryst.* **2009**, *42* (2), 339-341.
222. Macrae C. F., Sovago I., Cottrell S. J., Galek P. T. A., McCabe P., Pidcock E., Platings M., Shields G. P., Stevens J. S., Towler M., Wood P. A. Mercury 4.0: From visualization to analysis, design and prediction. *J. Appl. Cryst.* **2020**, *53* (1), 226-235.
223. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G. A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H. P., Izmaylov A. F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J. L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J., J.A. , Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J. J., Brothers E., Kudin K. N., Staroverov V. N., Keith T., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J. M., Klene M., Knox J. E., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Zakrzewski V. G., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Dapprich S., Daniels A. D., Farkas O., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cioslowski J., Fox D. J. *Gaussian 09, revision b.01*, Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2010.
224. Becke A. D. Density-functional thermochemistry. Iii. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (7), 5648-5652.
225. Woon D. E., Dunning T. H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. Iii. The atoms aluminum through argon. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (2), 1358-1371.
226. Bader R. F. W. Atoms in molecules. *Acc. Chem. Res.* **1985**, *18* (1), 15-18.
227. Bader R. F. W. A quantum theory of molecular structure and its applications. *Chem. Rev.* **1991**, *91* (5), 893-928.

228. Espinosa E., Molins E., Lecomte C. Hydrogen bond strengths revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 285 (3), 170-173.
229. Bylaska E. J., de Jong W. A., Govind N., Kowalski K., Straatsma T. P., Valiev M., Wang D., Apra E., Windus T. L., Hammond J., Nichols P., Hirata S., Hackler M. T., Zhao Y., Fan P.-D., Harrison R. J., Dupuis M., Smith D. M. A., Nieplocha J., Tipparaju V., Krishnan M., Wu Q., Van Voorhis T., Auer A. A., Nooijen M., Brown E., Cisneros G., Fann G. I., Fruchtl H., Garza J., Hirao K., Kendall R., Nichols J. A., Tsemekhman K., Wolinski K., Anchell J., Bernholdt D., Borowski P., Clark T., Clerc D., Dachsel H., Deegan M., Dyall K., Elwood D., Glendening E., Gutowski M., Hess A., Jaffe, Johnson B., Ju J., Kobayashi R., Kutteh R., Lin Z., Littlefield R., Long X., Meng B., Nakajima T., Niu S., Pollack L., Rosing M., Sandrone G., Stave M., Taylor H., Thomas G., van Lenthe J., Wong A., Zhang Z. *Nwchem, a computational chemistry package for parallel computers, version 5.1*, Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington, 99352-0999, USA: 2007.
230. de Souza B., Farias G., Neese F., Izsák R. Predicting phosphorescence rates of light organic molecules using time-dependent density functional theory and the path integral approach to dynamics. *J. Chem. Theor. Comp.* **2019**, 15 (3), 1896-1904.
231. Neese F. The orca program system. *WIREs Comp. Molec. Sci.* **2012**, 2 (1), 73-78.
232. Neese F. Software update: The orca program system, version 4.0. *WIREs Comp. Molec. Sci.* **2018**, 8 (1), e1327.
233. Robinson G. W., Frosch R. P. Electronic excitation transfer and relaxation. *J. Chem. Phys.* **1963**, 38 (5), 1187-1205.
234. Chumak A. Y., Mudrak V. O., Kotlyar V. M., Doroshenko A. O. 4'-nitroflavonol fluorescence: Excited state intramolecular proton transfer reaction from the non-emissive excited state. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2021**, 406 112978.

235. Peng C., Ayala P. Y., Schlegel H. B., Frisch M. J. Using redundant internal coordinates to optimize equilibrium geometries and transition states. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17* (1), 49-56.
236. Luzanov A. V., Zhikol O. A. Electron invariants and excited state structural analysis for electronic transitions within cis, rpa, and tddft models. *Int. J. Quant. Chem.* **2009**, *110* (4), 902-924.
237. Luzanov A. V., Zhikol O. A. Excited state structural analysis: Tddft and related models. In *Practical aspects of computational chemistry i*, Leszczynski, J.; Shukla, M. K., Eds. Springer: Dordrecht, 2011.
238. Chumak A. Y., Denysieva Y. O., Kolomoitsev O. O., Kotlyar V. M., Shvets E. H., Doroshenko A. O. N-ethyl substituted 2-benzimidazolyl-3-hydroxychromone: Atypical to highly fluorescent dyes of flavonol series excited state intramolecular proton transfer to nitrogen. *J. Lumin.* **2020**, *223* 117206.
239. Schwartz B. J., Peteanu L. A., Harris C. B. Direct observation of fast proton transfer: Femtosecond photophysics of 3-hydroxyflavone. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96* (9), 3591-3598.
240. Schrieffer C., Barbatti M., Stock K., Aquino A. J. A., Tunega D., Lochbrunner S., Riedle E., de Vivie-Riedle R., Lischka H. The interplay of skeletal deformations and ultrafast excited-state intramolecular proton transfer: Experimental and theoretical investigation of 10-hydroxybenzo[h]quinoline. *Chem. Phys.* **2008**, *347* (1-3), 446-461.
241. Lochbrunner S., Wurzer A. J., Riedle E. Ultrafast excited-state proton transfer and subsequent coherent skeletal motion of 2-(2'-hydroxyphenyl)benzothiazole. *J. Phys. Chem.* **2000**, *112* (24), 10699-10702.
242. Doroshenko A. O., Matsakov A. Y., Nevskii O. V., Grygorovych O. V. Excited state intramolecular proton transfer reaction revisited: S<sub>1</sub> state or general reversibility? *J. Photochem. Photobiol., A* **2012**, *250* 40-49.
243. Doroshenko A. O., Kyrychenko A. V., Valyashko O. M., Kotlyar V. M., Svechkarev D. A. 4'-methoxy-3-hydroxyflavone excited state intramolecular proton transfer reaction in alcoholic solutions: Intermolecular versus

- intramolecular hydrogen bonding effect. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2019**, 383 111964.
244. Kasha M. Characterization of electronic transitions in complex molecules. *Disc. Faraday Soc.* **1950**, 9 14.
245. Ermolaev V. L. Ultrafast nonradiative transitions between higher excited states in organic molecules. *Russ. Chem. Rev.* **2001**, 70 (6), 471-490.
246. Ermolaev V. L., Sveshnikova E. B. Limits to the applicability of the rule of equality to unity of the sum of quantum yields of fluorescence and transition to the triplet state for complex organic molecules in the condensed phase (a review). *Opt. Spectr.* **2015**, 119 (4), 642-655.
247. El-Sayed M. A. The radiationless processes involving change of multiplicity in the diazenes. *J. Chem. Phys.* **1962**, 36 (2), 573-574.
248. El-Sayed M. A. Spin-orbit coupling and the radiationless processes in nitrogen heterocyclics. *J. Chem. Phys.* **1963**, 38 (12), 2834-2838.
249. Plotnikov V. G. Regularities of the processes of radiationless conversion in polyatomic molecules. *Int. J. Quant. Chem.* **1979**, 16 527-541.
250. Plotnikov V. G. Theoretical foundations of the classification of molecules by luminescence spectra. *Russ. Chem. Rev.* **1980**, 49 (2), 327-361.
251. Escamilla-Treviño, L. L.; Chen, W.; Card, M. L.; Shih, M.-C.; Cheng, C.-L.; Poulton, J. E., Arabidopsis thaliana  $\beta$ -Glucosidases BGLU45 and BGLU46 hydrolyse monolignol glucosides. *Phytochemistry* **2006**, 67 (15), 1651-1660.
252. Morant, A. V.; Jørgensen, K.; Jørgensen, C.; Paquette, S. M.; Sánchez-Pérez, R.; Møller, B. L.; Bak, S.,  $\beta$ -Glucosidases as detonators of plant chemical defense. *Phytochemistry* **2008**, 69 (9), 1795-1813.
253. Roshal, A. D., Complexation of Flavonoids: Spectral Phenomena, Regioselectivity, Interplay with Charge and Proton Transfer. *The Chemical Record* **2023**, e202300249.
254. Demidov, O.; Gladkov, E.; Kyrychenko, A.; Roshal, A., Synthetic and natural flavonols as promising fluorescence probes for  $\beta$ -glucosidase activity screening. *Functional Materials* **2022**, 29, 252-262.

255. Deng, J. H.; Luo, J.; Mao, Y. L.; Lai, S.; Gong, Y. N.; Zhong, D. C.; Lu, T. B.,  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions: Non-negligible forces for stabilizing porous supramolecular frameworks. *Science advances* **2020**, *6* (2), eaax9976.
256. Willow, S. Y.; Xie, B.; Lawrence, J.; Eisenberg, R. S.; Minh, D. D. L., On the polarization of ligands by proteins. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2020**, *22* (21), 12044-12057.
257. Sulea, T.; Purisima, E. O., Profiling charge complementarity and selectivity for binding at the protein surface. *Biophysical journal* **2003**, *84* (5), 2883-96.
258. Tarasenko, D.; Volodymyr, K., The Synthesis of Novel 2-Hetarylthiazoles via the Stille Reaction. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry* **2023**, *21*, 17-22.
259. Тарасенко, Д.О., Чумак, А.Ю., Коломойцев, О.О., Котляр, В.М., Дорошенко А.О., Новітні 2-тіазол-5-іл-бензімідазоли: синтез та визначення їх потенціалу як хемосенсорних реагентів на іони полівалентних металів. *Вісник ХНУ серія Хімія*. **2022**, *39*, 38-44.
260. Demidov, O. O.; Gladkov, E. S.; Kyrychenko, A. V.; Roshal, A. D., Synthetic and Natural Flavonols as Promising Fluorescence Probes for  $\beta$ -Glucosidase Activity Screening *Functional Materials* **2022**, *29* (2), 252-262.
261. Tarasenko, D.; Chumak, A.; Kolomoitsev, O.; Kotliar, V.; Roshal, A., Synthesis of a New Series of Chromones Based on Formylthiazoles. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry* **2023**, *22*, 3-10.
262. Chepeleva, L.; Tarasenko, D.; Chumak, A.; Demidov, O.; Snizhko, A.; Kolomoitsev, O.; Volodymyr, K.; Gladkov, E.; Tatars, A.; Kyrychenko, A.; Roshal, A., 4'-Benzyloxyflavonol glucoside as fluorescent indicator for  $\beta$ -glucosidase activity. *Functional Materials* **2023**, *30*.
263. Тарасенко, Д.О., Коломойцев, О.О., Чумак, А. Ю., Котляр, В.М., Рошаль О.Д., Спосіб глікозилювання похідних 3-гідроксихромону. Патент України № а202303325, **2023**.

## ДОДАТОК А СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Публікації у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus, держав, які входять до Організації економічного співробітництва та розвитку та/або Європейського Союзу.*

*Публікації у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus, держав, які входять до Організації економічного співробітництва та розвитку та/або Європейського Союзу.*

Chepeleva, L.V., Demidov, O.O., Snizhko, A.D., Tarasenko, D.O., Chumak, A.Y., Kolomoitsev, O.O., Kotliar, V.M., Gladkov, E.S., Kyrychenko, A.V., Roshal, A.D., Binding interactions of hydrophobically-modified flavonols with  $\beta$ -glucosidase: fluorescence spectroscopy and molecular modelling study. *RSC Advances* **2023**, *13* (48), 34107-34121.

DOI: 10.1039/D3RA06276G

*Особистий внесок кожного автора: Чепелева Л. В.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. Демидов О. О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Сніжко А. Д.: Проведення синтезу цільових сполук, Тарасенко Д. О.: Проведення синтезу цільових сполук. Чумак А. Ю.: Проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінесценції: Коломойцев О. О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів. Гладков Є. С.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Кириченко О.В.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування, проведення молекулярного докінгу та молекулярно-динамічних розрахунків. Рошаль О. Д.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. перегляд і редагування.*

Chepeleva, L.V., Tarasenko, D.O., Chumak, A.Y., Demidov, O.O., Snizhko, A.D., Kolomoitsev, O.O., Kotliar, V.M., Gladkov, E.S., Tatarets, A.L., Kyrychenko, A.V., Roshal, A. D., 4'-Benzyloxyflavonol glucoside as fluorescent indicator for  $\beta$ -glucosidase activity. *Funct. Mater.* **2023**; 30 (4): 494-505.

DOI: 10.15407/fm30.04.494

*Особистий внесок кожного автора: Чепелева Л. В.: Постановка задач та формулювання результатів, вимірювання спектрів поглинання та люмінесценції, написання тексту. Тарасенко Д. О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Чумак А. Ю.: Проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінесценції: Демидов О. О.: Проведення синтезу цільових сполук. Сніжко А. Д.: Проведення синтезу цільових сполук, Коломойцев О. О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів. Гладков Є. С.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Татарець А. Л.: Вимірювання спектрів поглинання та люмінесценції: Кириченко О.В.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування, проведення молекулярного докінгу, розрахунок кінетики процесу ферментативного гідролізу глікозидів флавонолів.: Рошаль О. Д.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. перегляд і редагування.*

**Публікації у виданнях, включених до переліку фахових видань  
України**

Tarasenko, D.O., Kotliar, V.M., The Synthesis of Novel 2-Hetarylthiazoles via the Stille Reaction. *J. Org. Pharm. Chem.* **2023**, 21, 17-22.

DOI: 10.24959/ophcj.23.288204

*Особистий внесок кожного автора: Тарасенко Д. О.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту, розробка методу синтезу 2-гетари-5-формілтіазолів за реакцією Стілле, порівняння ефективності серії каталітичних систем для цієї реакції, проведення синтезу цільових сполук. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування.*

Тарасенко, Д.О., Чумак, А.Ю., Коломойцев, О.О., Котляр, В.М., Дорошенко А.О. Новітні 2-тіазол-5-іл-бензімідазоли: синтез та визначення їх потенціалу як хемосенсорних реагентів на іони полівалентних металів. *Вісник ХНУ серія Хімія. 2022, 39, 38-44.*

DOI:10.26565/2220-637X-2022-39-0 4

*Особистий внесок кожного автора: Тарасенко Д.О.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту, проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінісценції. Чумак А.Ю.: Проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінісценції а також дослідження комплексоутворення з рядом катіонів металів. Коломойцев О.О.: Проведення синтезу цільових сполук, написання тексту. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. перегляд і редагування. Дорошенко А.О.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування.*

Tarasenko, D.O., Chumak, A.Y., Kolomoitsev, O.O., Kotliar, V.M., Roshal A.D., Synthesis of a new series of chromones based on formalthiazoles *J. Org. Pharm. Chem. 2023, 22, 3-10.*

DOI: 10.24959/ophcj.23.292844

*Особистий внесок кожного автора: Тарасенко Д.О.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту, проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінісценції. Чумак А.Ю.: Проведення синтезу цільових сполук, вимірювання спектрів поглинання та люмінісценції. Коломойцев О.О.: Проведення синтезу цільових сполук,*



написання тексту. Котляр В. М.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту. перегляд і редагування. Рошаль А.Д.: Постановка задач та формулювання результатів, написання тексту – рецензія та редагування.

### **Патенти**

Тарасенко, Д.О., Коломойцев, О.О., Чумак, А. Ю., Котляр, В.М., Рошаль О.Д., Спосіб глікозилювання похідних 3-гідроксихромону. Патент України № а202303325, **2023**.

### **Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

Тарасенко, Д.О., Коломойцев, О.О., Чумак, А.Ю., Буравов, О.В., Котляр, В.М., Дорошенко, А.О., Тіазолвмісні похідні бензімідазолу синтез та люмінесцентні властивості. «Всеукраїнська конференція наукових дослідників». Тези доповідей, 19–25 вересня 2021 року. Львівський національний університет імені Івана Франка. Львів, **2021**, с 114.

*Особистий внесок здобувача: здобувачем одержано експериментальні дані, сформульовано мету, задачі і зроблено висновки.*

Горбаточкін, Ю.О., Тарасенко, Д.О., Котляр, В.М., Нові похідні (Е)-4-(4-хлоро-2-(диметиламіно)тіазол-5-іл)бут-3-ен-2-ону в реакціях циклізації. «XIV Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів “Хімічні Каразінські читання - 2023”». Тези доповідей, 24 квітня 2023; Харківський Національний Університет імені В.Н.Каразіна. Харків, **2023**, с. 114.

*Особистий внесок здобувача: здобувачем одержано експериментальні дані, сформульовано мету, задачі і зроблено висновки.*

Тарасенко, Д.О., Горбаточкін, Ю.О., Коломойцев, О.О., Котляр, В.М., Дорошенко, А.О., Функціоналізовані гетарілтіазоли за реакцією крос-сполучення Стілльє. «XIX Наукова конференція “Львівські хімічні читання – 2023” ». Тези доповідей, 29-31 травня 2023 року. Львівський Національний Університет імені Івана Франка. Львів, **2023**, с 42.

*Особистий внесок здобувача: здобувачем одержано експериментальні дані, сформульовано мету, задачі і зроблено висновки.*

Tarasenko, D.O., Chumak, A.Y., Kolomoitsev, O.O., Demydov, O.O., Horbatochkin, Y.O., Kotliar, V.M., Novel 5-(1h-benzimidazol-2-yl)thiazoles. Synthesis and complexation ability evaluation. «Current problems of chemistry, materialsscience and ecology». Тези доповідей, 7-9 грудня 2023 року. Волинський національний університет імені Лесі Українки. Луцьк, **2023**, с 9-10.

*Особистий внесок здобувача: здобувачем одержано експериментальні дані, сформульовано мету, задачі і зроблено висновки.*

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 19:20:31 12.06.2024

Назва файлу з підписом: Дисертація Тарасенко.pdf.asice

Розмір файлу з підписом: 3.9 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Дисертація Тарасенко.pdf

Розмір файлу без підпису: 4.3 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Тарасенко Дмитро Олегович

П.І.Б.: Тарасенко Дмитро Олегович

Країна: Україна

РНОКПП: 3558411071

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 19:20:22 12.06.2024

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 382367105294AF97040000005E5268005B0A8201

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2024.04.15 13:00