



УДК 547.782

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВОГО АНАЛОГА ХРОМОФОРА ЗЕЛЕНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА С *sp*-ГИБРИДИЗОВАННЫМ УГЛЕРОДНЫМ ФРАГМЕНТОМ¹

© 2026 г. С. А. Краснова*, **, #, А. А. Михайлов*, ***, М. С. Баранов*, ***

* ФГБУН ГНЦ “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН, Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

** Национальный исследовательский университет “Высшая школа экономики”, Россия, 101000 Москва, ул. Мясницкая, 20

*** Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

Поступила в редакцию 01.08.2025 г.

После доработки 16.08.2025 г.

Принята к публикации 18.08.2025 г.

Синтезирован новый аналог хромофора зеленого флуоресцентного белка – (Z)-5-(3-(4-гидроксифенил)проп-2-ин-1-илиден)-2,3-диметил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он, содержащий *sp*-гибридизованный углеродный фрагмент. Исследованы оптические свойства полученного соединения. Показано, что новый хромофор, имеющий тройную связь в сопряжении с ароматической частью молекулы, демонстрирует батохромный сдвиг максимумов поглощения и испускания. Полученное соединение сопоставимо по своим спектральным характеристикам с синтезированным нами ранее арилаллилиден-имидазолоном. Предложенный хромофор потенциально может быть использован в качестве флуорогенного красителя для живых систем.

Ключевые слова: арилиден-имидазолы, арилпропилиден-имидазолы, хромофоры, GFP, оптические свойства

DOI: 10.7868/S1998286026010126

ВВЕДЕНИЕ

Арилиден-имидазолы и их производные – аналоги хромофора белка GFP – важный класс флуоресцентных [1–3] и флуорогенных [4–6] красителей. Такие соединения отличаются высокой растворимостью, интенсивной окраской, разнообразными спектральными характеристиками и сольватохромными свойствами, что позволяет использовать их в химико-биологических исследованиях [7]. Аналоги хромофора белка GFP способны проявлять как постоянную [2], так и настраиваемую флуоресценцию [8]. Например, флуорогенные красители на основе арилиден-имидазолонов обладают выраженной флуоресценцией лишь при связывании с целевыми объектами [9], благодаря чему используются в качестве ионных и pH-сенсоров [10, 11], а также для визуализации клеточных структур [12].

Известно, что в испытаниях на живых объектах сложно использовать коротковолновое излучение, которое фототоксично, поэтому более перспективно применять красители, характеризующиеся батохромным смещением спектральных максимумов [13]. Нередко к такому сдвигу приводит расширение π -системы молекулы красителя [8]. Наиболее распространенный подход такой модификации арилиден-имидазолонов связан с включением стирильного фрагмента во второе положение имидазольного цикла, что позволяет получить аналоги хромофора белка Kaede [14] (схема 1). Кроме того, известно, что увеличение количества кратных связей в сопряжении с ароматической частью молекулы также может быть перспективным [15] (схема 1). Ранее мы показали, что данные соединения могут быть получены из производных коричневого альдегида [16, 17]. Такие хромофоры от-

Сокращения: КВФ – квантовый выход флуоресценции.

¹ Дополнительные материалы к этой статье доступны по doi 10.7868/S1998286026010126 для авторизованных пользователей.

Автор для связи: (тел.: +7 (964) 865-16-24; эл. почта: svetlanakr2002@mail.ru).

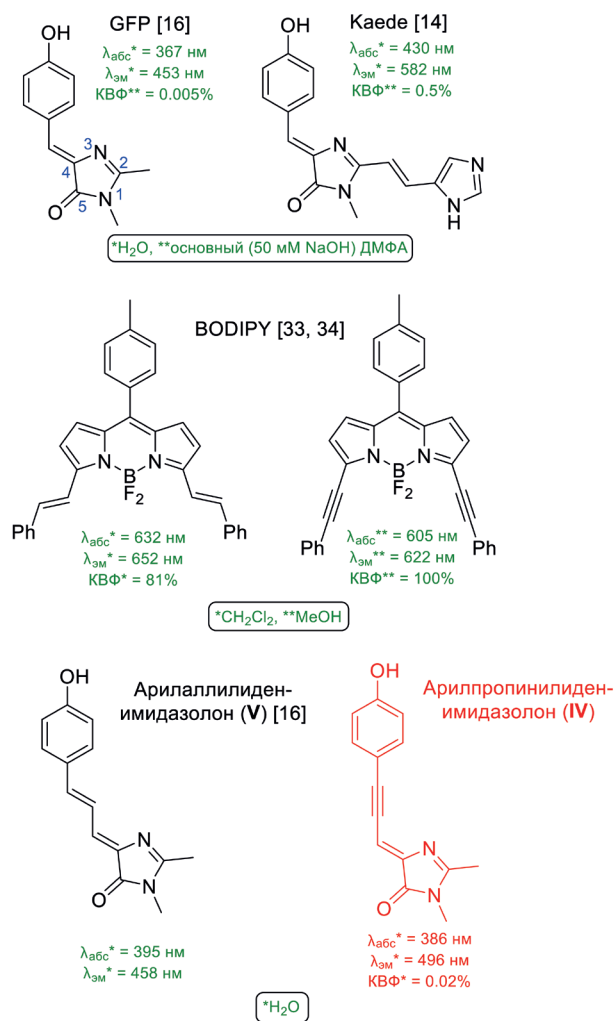


Схема 1. Структурные формулы известных красителей: хромофоров белков GFP и Kaede, BODIPY, арилаллиден-имидазолон (V), а также нового предложенного арилпропинилен-имидазолон (IV).

личаются выдающимися оптическими и сольватохромными свойствами, благодаря чему могут быть использованы в качестве потенциальных “сенсоров полярности”, способных селективно окрашивать отдельные клеточные органеллы [17]. Кроме того, они могут выступать флуорогенными красителями, позволяющими конструировать эффективные генетически кодируемые флуоресцентные метки для биологических приложений [18].

Важно отметить, что увеличение π -системы молекулы также возможно за счет введения тройной связи. Наличие *sp*-гибридизованного углеродного фрагмента в структуре красителя позволяет не только сместить спектральные максимумы в длинноволновый диапазон [19], но и провести интересные модификации, например, азид-алкиновое [3+2]циклоприсоединение [20]. Подобные “клик-

реакции” приводят к образованию 1,4-дизамещенных 1,2,3-триазолов, обладающих биологической активностью и применяющихся для идентификации и валидации терапевтических мишеней [21]. Кроме того, известно использование терминальных арилацетиленов для конструирования флуоресцентных и иных зондов, например, нуклеозидов для изучения локального микроокружения ДНК и ее мутаций [22]. Таким образом, структурная простота и реакционная способность замещенной тройной связи делают ее универсальным строительным блоком для органического синтеза, химико-биологических исследований и медицинской химии [23]. Преимуществами арилиден-имидазолонов, содержащих *sp*-гибридизованный углеродный фрагмент, по сравнению с более известными арилаллиден-имидазолонными могут стать потенциально большая яркость за счет меньшего количества степеней свободы и снижение вероятности безызлучательного сброса энергии возбуждения. В частности, ранее мы продемонстрировали, что один из лигандов флуороген-активирующего белка папо-frFAST, содержащий две двойные связи в арилиденовой части молекулы, характеризуется низким квантовым выходом флуоресценции (КВФ) именно по этой причине [18]. Тем не менее к настоящему моменту в литературе не существует примеров получения таких арилпропинилен-имидазолонов (схема 1).

Целью данной работы стал синтез нового аналога хромофора зеленого флуоресцентного белка, содержащего *sp*-гибридизованный углеродный фрагмент, а также исследование его оптических свойств.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Новый арилпропинилен-имидазолон (IV) был синтезирован в шесть стадий из коммерчески доступного 4-иодфенола (схема 2). На первом этапе по модифицированной литературной методике [24] под действием *трет*-бутилхлордифенилсилана с высоким выходом (82%) была установлена *трет*-бутилдифенилсилильная защитная группа (TBDPS), позволившая снизить возможность протекания побочных процессов на следующих стадиях синтеза. Полученное силильное производное фенола (I) вступало в реакцию Соногаширы с коммерчески доступным диэтилацеталем проп-2-иналя в присутствии триэтиламина, Pd(PPh₃)₄ и CuI [25]. Целевой продукт (II) образовывался с умеренным выходом 60%, что может объясняться протеканием побочных процессов, например, катализируемого медью гомосочетания терминальных алкинов [26] или восстановления соответствующего арилгалогенида до арена под действием палладиевого катализатора в условиях избытка третичного амина [27].

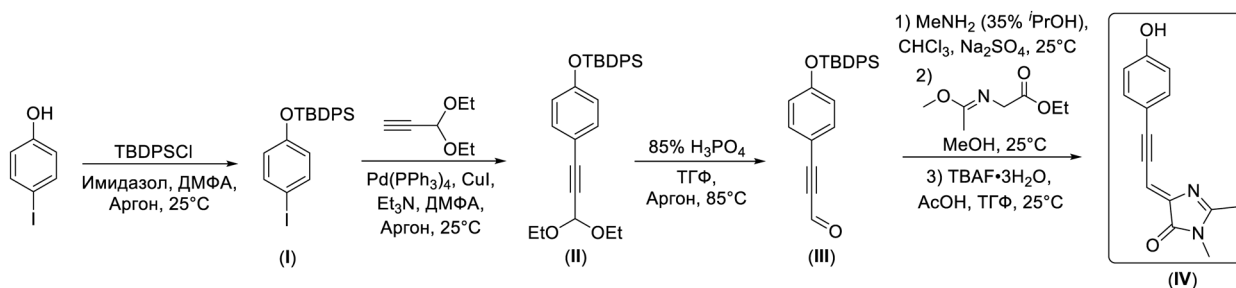


Схема 2. Схема синтеза арилпропинилиден-имидазолон (IV).

Затем соединение (II) подвергли гидролизу под действием 85%-ной фосфорной кислоты и получали соответствующий альдегид (III) с высоким выходом (81%) [17]. Интересно, что в ходе подбора условий для проведения гидролиза именно фосфорная кислота позволила получить целевой продукт с наибольшим выходом. Вероятная побочная реакция в этом процессе – окисление образующейся альдегидной группы. Далее из карбонильного соединения (III), содержащего *sp*-гибридизованный углеродный фрагмент, по модифицированным литературным методикам [8, 28] в три стадии синтезировали арилпропинилиден-имидазолон (IV). Сначала альдегид (III) вводили в реакцию с 35%-ным раствором метиламина в изопропанол с образованием имина. После полной конверсии исходного альдегида к полученному основанию Шиффа добавляли этил-(*Z*)-2-((1-метоксиэтилиден)амино)ацетат и перемешивали при 25°C для образования защищенного арилпропинилиден-имидазолон. На последнем этапе данный продукт смешивали с тригидратом фторида тетрабутил-аммония и каталитическим количеством уксусной кислоты для удаления защитной группы. Перемешивание полученной смеси при 25°C в течение 5 ч позволило получить целевой арилпропинилиден-имидазолон (IV) с умеренным выходом 63% (схема 2). Известно, что данная реакция нередко может сопровождаться образованием побочного продукта – арилиден-имидазолон, содержащего сложноэфирную группу при имидазольном атоме азота – в ходе взаимодействия альдегида или имина с карбоксиимидатом [29]. По этой причине суммарный выход целевого хромофора по трем стадиям синтеза, равный 63%, – это достойный результат.

Строение новых соединений (II–IV) было доказано комплексом методов, включающих ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектроскопию и масс-спектрометрию высокого разрешения (HRMS). Во всех случаях спектральные данные соответствовали структурам предложенных веществ.

Далее мы исследовали оптические свойства нового арилпропинилиден-имидазолон (IV) в наборе растворителей различной степени полярности (см. табл. 1 и п. 1 дополнительных материалов). Установлено, что максимумы абсорбции соединения (IV) находятся в диапазоне 380–440 нм, а максимумы эмиссии – в области 443–561 нм. Значения КВФ для соединения (IV) варьируются в зависимости от растворителя, но не превышают 1%. Было показано, что наибольший КВФ наблюдался в апротонных и неполярных средах – диоксане (0.66%) и этилацетате (0.45%), тогда как в остальных растворителях – ацетонитриле, этаноле и воде – значения КВФ были близки к 0.1% (см. п. 1 дополнительных материалов). Важно отметить, что такое сольватохромное поведение типично для данного класса веществ [8].

Как оказалось, полученное соединение (IV) очень похоже по своим оптическим свойствам на арилаллилиден-имидазолон (V), синтезированный нами ранее [16] (схема 1). Так, максимумы поглощения хромофора (V) с двумя двойными связями располагаются в диапазоне 385–458 нм, а максимумы испускания – в области 458–600 нм (табл. 1). Таким образом, можно сделать вывод о том, что введение тройной связи в арилиденную часть молекулы красителя, как и в случае с дополнительной двойной связью, приводит к батохромному сдвигу максимумов абсорбции и эмиссии относительно оригинального хромофора белка GFP [16] (схема 1). В подобных случаях смещение в длинноволновый диапазон спектра объясняется увеличением системы сопряженных связей в молекуле красителя, которое приводит к понижению энергии возбужденного состояния, а значит, к уменьшению энергии электронного перехода $S_0 \rightarrow S_1$. Ранее подобные эффекты наблюдались и для красителей BODIPY, содержащих несколько дополнительных двойных или тройных связей [30, 31]. При этом положение максимумов поглощения и испускания заметно зависело от заместителей в ароматической части молекулы и количества введенных кратных связей [32]. Например, можно заметить, что два

Таблица 1. Положения максимумов поглощения и испускания известного арилаллилиден-имидазолон (V) [16] и нового арилпропинилиден-имидазолон (IV)

Растворитель	Арилаллилиден-имидазолон (V) [16]		Арилпропинилиден-имидазолон (IV)	
	Максимум поглощения, нм	Максимум испускания, нм	Максимум поглощения, нм	Максимум испускания, нм
Диоксан	388	482	383	443
EtOAc	386	491	382	448
MeCN	385	508	380	462
MeOH/EtOH	397	513	393	464
Вода (нейтр.)	395	458	386	496
Вода (депротонир.)	458	600	440	561

красителя BODIPY, которые так же, как и предложенное нами в статье производное (IV) и его аналог (V), отличаются лишь кратностью связей в заместителях, имеют разные оптические свойства [33, 34] (схема 1). Так, спектры соединения со стирольными фрагментами находятся в более длинноволновом диапазоне спектра по сравнению со спектрами красителя с арилацетиленовыми заместителями, однако производное с тройными связями обладает большим КВФ [33, 34] (схема 1). Похожая тенденция наблюдается для аналогов родамина [35].

В ходе спектрофотометрического титрования было установлено, что хромофор (IV) демонстрирует заметное изменение положения и формы спектров поглощения при различных значениях pH (см. п. 2 дополнительных материалов). Первый pH-зависимый переход находится в слабощелочном диапазоне ($pK_a = 8.5$) и объясняется депротонированием атома кислорода в ароматической части молекулы. Кроме того, был найден и второй переход в сильнокислой области ($pK_a = 2.1$), вероятно, связанный с протонированием атома азота имидазольного цикла. Ранее нами было продемонстрировано [36], что аналоги хромофора белка GFP, содержащие гидроксильную группу в *пара*-положении арилиденового фрагмента, также имеют три спектральные формы в зависи-

мости от pH: анионную, нейтральную и катионную. При этом значения pK_a , связанные с протонированием имидазольного азота, для нового арилпропинилиден-имидазолон (IV) и описанных ранее соединений сопоставимы [36].

Таким образом, в данной работе мы рассмотрели новый аналог хромофора белка GFP, содержащий *sp*-гибридизованный углеродный фрагмент. Показано, что данное соединение отличается батохромным сдвигом спектральных максимумов, однако это смещение относительно полученного ранее арилаллилиден-имидазолон (V) незначительно. Кроме того, новый арилпропинилиден-имидазолон (IV) демонстрирует заметное изменение положения и формы спектров поглощения в зависимости от pH и обладает низкими величинами КВФ.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование. Коммерчески доступные реагенты использовали без дополнительной очистки. Для колоночной хроматографии применяли силикагель Kieselgel 60 (Merck, Германия). Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на силикагеле 60 F₂₅₄ на стеклянных пластинах (Merck, Германия). Визуализацию осуществляли УФ-светом (254 или 312 нм). Спектры ЯМР (δ , м.д.; J, Гц) регистрировали на спектрометре Fourier 300 (Bruker,

Германия) при 303 K в DMSO- d_6 и CDCl_3 - d (внутренний стандарт – Me_4Si). Температуры плавления определяли на приборе SMP 30 (Stuart Scientific, Великобритания) и не исправляли. Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) регистрировали на приборе TripleTOF 5600+ (AB Sciex, США) с ионизацией методом электроспрея (ESI). Напряжение на капилляре составляло 5.5 кВ в режиме регистрации положительных ионов. Поток газа-носителя – 30 Arb, газа-распылителя – 25 Arb, вспомогательного газа – 50 Arb. Пробы вводили через петлю объемом 20 мкл с помощью шприцевого насоса со скоростью потока 100 мкл/мин. Смесь метанола и 0.1%-ного раствора муравьиной кислоты использовали в качестве элюента. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Cary 100 Bio (Varian, США), спектры флуоресценции – на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Varian, США). Спектрофотометрическое титрование проводили с использованием настольного измерителя pH Starter 2100 (Ohaus, США). Все графики были построены с использованием программного обеспечения Origin 8.6 (<https://www.originlab.com/>). Названия соединений по IUPAC генерировали с использованием программного обеспечения ChemBioDraw Ultra 13.0 (<https://revvitysignals.com/>).

Синтез *трет*-бутил(4-иодфенокси)дифенилсилана (I). К раствору 4-иодфенола (1.1 г, 5 ммоль, 1 экв.) в сухом ДМФА (10 мл) добавляли имидазол (680 мг, 10 ммоль, 2 экв.) при 25°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивали при данной температуре в течение 10 мин, после чего добавляли по каплям раствор *трет*-бутилхлордифенилсилана (1.95 мл, 7.5 ммоль, 1.5 экв.) в сухом ДМФА (3 мл). Полученный раствор перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Протекание реакции контролировали с помощью ТСХ (гексан–EtOAc, 3 : 1). Реакционную смесь выливали в холодную воду со льдом (50 мл), отделяли органический слой. Водный слой экстрагировали EtOAc (3 × 25 мл). Органические слои объединяли, промывали водой (2 × 35 мл), насыщенным раствором NaCl (2 × 35 мл), сушили над Na_2SO_4 , растворитель упаривали при пониженном давлении. Полученный продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан–EtOAc, 20 : 1).

Выход: 1.88 г (82%), бесцветное масло. ^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl_3 - d ; d , м.д.): 7.71 (м, 4H), 7.34–7.50 (м, 8H), 6.50–6.60 (ддд, J 8.9, 3.1, 2.1, 2H), 1.11 (с, 9H). Спектр соответствует литературным данным [24].

Синтез *трет*-бутил(4-(3,3-диэтоксипроп-1-ин-1-ил)фенокси)дифенилсилана (II). К раствору *трет*-бутил(4-иодфенокси)дифенилсилана (I)

(1.83 г, 4 ммоль, 1 экв.) в сухом ДМФА (10 мл) добавляли триэтиламин (5.55 мл, 40 ммоль, 10 экв.) при 25°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивали при данной температуре в течение 10 мин, после чего добавляли 3,3-диэтоксипроп-1-ин (1151 мкл, 8 ммоль, 2 экв.), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (139 мг, 0.12 ммоль, 0.03 экв.) и CuI (46 мг, 0.24 ммоль, 0.06 экв.). Полученную смесь перемешивали при 25°C в течение 21 ч. Протекание реакции контролировали с помощью ТСХ (гексан–EtOAc, 3 : 1). Реакционную смесь разбавляли водой (50 мл), отделяли органический слой. Водный слой экстрагировали EtOAc (3 × 25 мл). Органические слои объединяли, промывали насыщенным раствором NaCl (1 × 50 мл), сушили над Na_2SO_4 , растворитель упаривали при пониженном давлении. Полученный продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан–EtOAc, 20 : 1).

Выход: 1.1 г (60%), бесцветное масло. ^1H -ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 ; d , м.д.): 7.62–7.69 (м, 4H), 7.40–7.53 (м, 6H), 7.27 (ддд, J 8.7, 2.7, 2.0, 2H), 6.73 (ддд, J 8.7, 2.7, 2.0, 2H), 5.45 (с, 1H), 3.64 (д.кв., J 9.6, 7.1, 2H), 3.52 (д.кв., J 9.6, 7.1, 2H), 1.13 (т, J 7.1, 6H), 1.04 (с, 9H); ^{13}C -ЯМР (75 МГц, DMSO- d_6 ; d , м.д.): 155.7, 135.0 (4C), 133.1 (2C), 131.6 (2C), 130.4 (2C), 128.1 (4C), 119.9 (2C), 113.9, 91.1, 84.2 (2C), 60.2 (2C), 26.2 (3C), 18.9, 15.0 (2C); HRMS (ESI) m/z : найдено 459.2343 (рассчитано для $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{O}_3\text{Si}^+$, $[M + \text{H}]^+$ 459.2350).

Синтез 3-(4-((*трет*-бутилдифенилсилил)-окси)фенил)пропиоальдегида (III). К раствору *трет*-бутил(4-(3,3-диэтоксипроп-1-ин-1-ил)фенокси)дифенилсилана (II) (1.08 г, 2.35 ммоль, 1 экв.) в ТГФ (50 мл) добавляли 85%-ный раствор H_3PO_4 (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при 85°C в течение 11 ч в атмосфере аргона, после чего медленно охлаждали до 25°C. Протекание реакции контролировали с помощью ТСХ (гексан–EtOAc, 3 : 1). Растворитель упаривали при пониженном давлении. Полученный остаток разбавляли водой (50 мл), экстрагировали CH_2Cl_2 (3 × 25 мл), органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 , растворитель упаривали при пониженном давлении. Получившийся продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан–EtOAc, 50 : 1).

Выход: 732 мг (81%), желтое масло. ^1H -ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 ; d , м.д.): 9.37 (с, 1H), 7.67 (м, 4H), 7.41–7.55 (м, 8H), 6.83 (д, J 8.7, 2H), 1.05 (с, 9H); ^{13}C -ЯМР (75 МГц, DMSO- d_6 ; d , м.д.): 178.3, 158.0, 135.3 (2C), 135.0 (4C), 131.3 (2C), 130.5 (2C), 128.2 (4C), 120.3 (2C), 111.2, 94.6, 88.5, 26.1 (3C), 18.9; HRMS (ESI) m/z : найдено 385.1621 (рассчитано для $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{Si}^+$, $[M + \text{H}]^+$ 385.1618).

Синтез (Z)-5-(3-(4-гидроксифенил)проп-2-ин-1-илиден)-2,3-диметил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (IV). К раствору 3-(4-((трет-бутилдифенилсилил)окси)фенил)пропиоальдегида (III) (693 мг, 1.8 ммоль, 1 экв.) в CHCl_3 (5 мл) добавляли 35%-ный раствор метиламина в изопропанол (1139 мкл, 9 ммоль, 5 экв.) и Na_2SO_4 (2 г). Смесь перемешивали в течение 24 ч при 25°C, протекание реакции контролировали методом ЯМР-спектроскопии. Далее фильтровали от Na_2SO_4 , растворитель упаривали при пониженном давлении. Полученный продукт растворяли в метаноле (5 мл), добавляли этил-(Z)-2-((1-метоксиэтилиден)амино)ацетат (372 мг, 2.34 ммоль, 1.3 экв.). Смесь перемешивали в течение 21 ч при 25°C. Протекание реакции контролировали с помощью ТСХ (CH_2Cl_2 – EtOH , 10 : 1). Растворитель упаривали при пониженном давлении, получившийся остаток растворяли в ТГФ (5 мл), добавляли тригидрат фторида тетрабутиламмония (680 мг, 2.16 ммоль, 1.2 экв.) и каплю ледяной уксусной кислоты. Раствор перемешивали в течение 5 ч при 25°C, после чего разбавляли EtOAc (100 мл) и промывали насыщенным раствором NH_4Cl (3×25 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 , растворитель упаривали при пониженном давлении. Полученный продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (CH_2Cl_2 – EtOH , 20 : 1).

Выход: 272 мг (63%), светло-коричневый порошок, т. пл. (с разложением) 215°C. ^1H -ЯМР (300 МГц, $\text{DMSO}-d_6$; d, м.д.): 10.16 (с, 1H), 7.38 (д, J 8.6, 2H), 6.83 (д, J 8.6, 2H), 6.36 (с, 1H), 3.07 (с, 3H), 2.33 (с, 3H); ^{13}C -ЯМР (75 МГц, $\text{DMSO}-d_6$; d, м.д.): 168.3, 165.2, 159.1, 146.8, 133.7 (2C), 116.0 (2C), 111.9, 106.1, 104.3, 85.6, 26.3, 15.2; HRMS (ESI) m/z : найдено 241.0972 (рассчитано для $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2^+$, $[M + \text{H}]^+$ 241.0972).

Оптические свойства (Z)-5-(3-(4-гидроксифенил)проп-2-ин-1-илиден)-2,3-диметил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (IV). Для регистрации спектров поглощения и испускания использовали 20 мкМ растворы синтезированного вещества в соответствующих растворителях (см. табл. 1 и п. 1 дополнительных материалов). Молярные коэффициенты экстинкции синтезированного соединения рассчитывали по формуле (1):

$$\varepsilon = \frac{A}{c \cdot l}, \quad (1)$$

где A – оптическая плотность исследуемого раствора в максимуме поглощения, c – молярная концентрация соединения в данном растворе, l – длина светового пути (для всех измерений равна 1 см).

Для проведения спектрофотометрического титрования использовали 10 мкМ раствор синтезированного соединения в 0.01 М растворе PBS. Регистрировали спектр поглощения полученного раствора, после чего титровали его растворами NaOH и HCl различной концентрации (0.01, 0.1, 1 и 5 М соответственно), регистрируя спектры поглощения после каждого добавления новой аликвоты основания или кислоты.

Квантовые выходы флуоресценции (КВФ) полученного вещества определяли в соответствии с описанным в литературе протоколом [37]. В качестве стандарта использовали сульфат хинина (QS). Расчет КВФ проводили по формуле (2):

$$\text{КВФ}_x = \text{КВФ}_{\text{ст}} \times \frac{F_x}{F_{\text{ст}}} \times \frac{1 - 10^{-A_{\text{ст}}}}{1 - 10^{-A_x}} \times \frac{n_{\text{ст}}^2}{n_x^2}, \quad (2)$$

где F – площадь под спектром испускания, A – оптическая плотность на длине волны возбуждения, n – показатель преломления растворителя; индекс x относится к исследуемому соединению, индекс ст – к стандарту.

Оптические характеристики нового хромофора (IV), а также копии спектров ЯМР всех синтезированных соединений приведены в дополнительных материалах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен новый аналог хромофора зеленого флуоресцентного белка – (Z)-5-(3-(4-гидроксифенил)проп-2-ин-1-илиден)-2,3-диметил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (IV), содержащий *sp*-гибридизованный углеродный фрагмент. Данное соединение синтезировано в шесть стадий из коммерчески доступных реагентов. Исследованы оптические свойства полученного вещества. Обнаружено, что новый хромофор демонстрирует батохромное смещение максимумов поглощения и испускания, которое тем не менее незначительно отличается от спектральных характеристик синтезированного ранее арилаллилиден-имидазолон (V). Кроме того, арилпропинилиден-имидазолон (IV) характеризуется двумя различными значениями pK_a и обладает низкими величинами КВФ.

Полученное соединение может быть использовано в качестве основы для дизайна перспективных “сенсоров полярности” или флуоресцентных красителей для применения в дальнейших биологических исследованиях.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-73-10004).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов исследований.

Информированное согласие не требовалось.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

САК синтезировала описанные соединения, исследовала оптические свойства нового аналога хромофора белка GFP, подготовила черновик рукописи и иллюстративные материалы. ААМ провел ЯМР-анализ и подтвердил строение полученных веществ. МСБ организовал проведение исследования и руководил работой.

Все авторы дали одобрение на окончательный вариант рукописи.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wu L., Burgess K. // J. Am. Chem. Soc. 2008. V. 130. P. 4089–4096.
<https://doi.org/10.1021/ja710388h>
2. Baranov M.S., Lukyanov K.A., Borissova A.O., Shamir J., Kosenkov D., Slipchenko L.V., Tolbert L.M., Yampolsky I.V., Solntsev K.M. // J. Am. Chem. Soc. 2012. V. 134. P. 6025–6032.
<https://doi.org/10.1021/ja3010144>
3. Collado S., Pueyo A., Baudequin C., Bischoff L., Jiménez A.I., Cativiela C., Hoarau C., Urriola-beitia E.P. // Eur. J. Org. Chem. 2018. V. 2018. P. 6158–6166.
<https://doi.org/10.1002/ejoc.201800966>
4. Ermakova Y.G., Bogdanova Y.A., Baleeva N.S., Zaitseva S.O., Guglya E.B., Smirnov A.Yu., Zagudaylova M.B., Baranov M.S. // Dyes Pigm. 2019. V. 170. P. 107550.
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107550>
5. Povarova N.V., Zaitseva S.O., Baleeva N.S., Smirnov A.Yu., Myasnyanko I.N., Zagudaylova M.B., Bozhanova N.G., Gorbachev D.A., Malyshevskaya K.K., Gavrikov A.S., Mishin A.S., Baranov M.S. // Chem. Eur. J. 2019. V. 25. P. 9592–9596.
<https://doi.org/10.1002/chem.201901151>
6. Ermakova Y.G., Sen T., Bogdanova Y.A., Smirnov A.Yu., Baleeva N.S., Krylov A.I., Baranov M.S. // J. Phys. Chem. Lett. 2018. V. 9. P. 1958–1963.
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.8b00512>
7. Walker C.L., Lukyanov K.A., Yampolsky I.V., Mishin A.S., Bommarius A.S., Duraj-Thatte A.M., Azizi B., Tolbert L.M., Solntsev K.M. // Curr. Opin. Chem. Biol. 2015. V. 27. P. 64–74.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.06.002>
8. Perfilov M.M., Zaitseva E.R., Smirnov A.Yu., Mikhaylov A.A., Baleeva N.S., Myasnyanko I.N., Mishin A.S., Baranov M.S. // Dyes Pigm. 2022. V. 198. P. 110033.
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.110033>
9. Krasnova S.A., Bogdanova Y.A., Sokolov A.I., Myasnyanko I.N., Smirnov A.Yu., Baranov M.S. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2024. V. 50. P. 251–259.
<https://doi.org/10.1134/s1068162024010059>
10. Krasnova S.A., Zaitseva E.R., Rudik D.I., Ivanov D.S., Mikhaylov A.A., Baranov M.S. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2024. V. 50. P. 617–624.
<https://doi.org/10.1134/S1068162024020195>
11. Olsen S., Baranov M.S., Baleeva N.S., Antonova M.M., Johnson K.A., Solntsev K.M. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2016. V. 18. P. 26703–26711.
<https://doi.org/10.1039/C6CP02423H>
12. Rudik D.I., Perfilov M.M., Sokolov A.I., Chen C., Baleeva N.S., Myasnyanko I.N., Mishin A.S., Fang C., Bogdanova Y.A., Baranov M.S. // Int. J. Mol. Sci. 2024. V. 25. P. 10448.
<https://doi.org/10.3390/ijms251910448>
13. Smirnov A.Yu., Perfilov M.M., Zaitseva E.R., Zagudaylova M.B., Zaitseva S.O., Mishin A.S., Baranov M.S. // Dyes Pigm. 2020. V. 177. P. 108258–108258.
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108258>
14. Yampolsky I.V., Kisluhin A.A., Amatov T.T., Shcherbo D., Potapov V.K., Lukyanov S., Lukyanov K.A. // Bioorg. Chem. 2008. V. 36. P. 96–104.
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2007.12.003>
15. Ye S., Zhang H., Fei J., Wolstenholme C.H., Zhang X. // Angew. Chem. Int. Ed. 2020. V. 60. P. 1339–1346.
<https://doi.org/10.1002/anie.202011108>
16. Zaitseva S.O., Baranov M.S. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2019. V. 45. P. 214–216.
<https://doi.org/10.1134/s1068162019030075>
17. Krasnova S.A., Eshtukov-Shcheglov A.V., Smirnov A.Yu., Bogdanova Y.A., Baranov M.S. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2025. V. 51. P. 712–720.
<https://doi.org/10.1134/S1068162024605433>
18. Sokolinskaya E.L., Bogdanova Y.A., Myasnyanko I.N., Sokolov A.I., Krasnova S.A., Baranov M.S. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2025. V. 51. P. 128–136.
<https://doi.org/10.1134/S1068162025010145>
19. Goeb S., Ziessel R. // Tetrahedron Lett. 2008. V. 49. P. 2569–2574.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.02.096>
20. Kolb H.C., Finn M.G., Sharpless K.B. // Angew. Chem. Int. Ed. 2001. V. 40. P. 2004–2021.
[https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010601\)-40:11%3C2004::AID-ANIE2004%3E3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)-40:11%3C2004::AID-ANIE2004%3E3.0.CO;2-5)

21. Tron G.C., Pirali T., Billington R.A., Canonico P.L., Sorba G., Genazzani A.A. // *Med. Res. Rev.* 2007. V. 28. P. 278–308.
<https://doi.org/10.1002/med.20107>
22. Bag S.S., Gogoi H. // *J. Org. Chem.* 2018. V. 83. P. 7606–7621.
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b03097>
23. Talele T.T. // *J. Med. Chem.* 2020. V. 63. P. 5625–5663.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01617>
24. Duchoslavová Z., Sivkova R., Hanková V., Sedláček J., Svoboda J., Vohlídal J., Zedník J. // *Macromol. Chem. Phys.* 2011. V. 212. P. 1802–1814.
<https://doi.org/10.1002/macp.201100160>
25. Wang B., Wang Z., Shen C., Dong K. // *Chem. Eur. J.* 2024. V. 31. P. e202404091.
<https://doi.org/10.1002/chem.202404091>
26. Navale B.S., Bhat R.G. // *RSC Adv.* 2013. V. 3. P. 5220–5226.
<https://doi.org/10.1039/C3RA23478A>
27. Wang X.Y., Leng J., Wang S.M., Asiri A.M., Marwani H.M., Qin H.L. // *Tetrahedron Lett.* 2017. V. 58. P. 2340–2343.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.04.070>
28. Yang H., Zhang Y., Chen W., Shi H., Huo L., Li J., Li H., Xie X., She X. // *Org. Lett.* 2023. V. 25. P. 1003–1007.
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c00132>
29. Zaitseva E.R., Smirnov A.Yu., Myasnyanko I.N., Sokolov A.I., Baranov M.S. // *Chem. Heterocycl. Comp.* 2020. V. 56. P. 116–119.
<https://doi.org/10.1007/s10593-020-02634-3>
30. Ulrich G., Goze C., Guardigli M., Roda A., Ziessel R. // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005. V. 44. P. 3694–3698.
<https://doi.org/10.1002/anie.200500808>
31. Doležel J., Poryvai A., Slanina T., Filgas J., Slaviček P. // *Chem. Eur. J.* 2023. V. 30. P. e202303154.
<https://doi.org/10.1002/chem.202303154>
32. Loudet A., Burgess K. // *Chem. Rev.* 2007. V. 107. P. 4891–4932.
<https://doi.org/10.1021/cr078381n>
33. Rohand T., Qin W., Boens N., Dehaen W. // *Eur. J. Org. Chem.* 2006. V. 2006. P. 4658–4663.
<https://doi.org/10.1002/ejoc.200600531>
34. Teng K.-X., Niu L.-Y., Li J., Jia L., Yang Q.-Z. // *Chem. Commun.* 2019. V. 55. P. 13761–13764.
<https://doi.org/10.1039/C9CC07730H>
35. Pastierik T., Šebej P., Medalová J., Štacko P., Klán P. // *J. Org. Chem.* 2014. V. 79. P. 3374–3382.
<https://doi.org/10.1021/jo500140y>
36. Baranov M.S., Solntsev K.M., Lukyanov K.A., Yampolsky I.V. // *Chem. Commun.* 2013. V. 49. P. 5778–5780.
<https://doi.org/10.1039/C3CC41948G>
37. Würth C., Grabolle M., Pauli J., Spieles M., Resch-Genger U. // *Nat. Protoc.* 2013. V. 8. P. 1535–1550.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2013.087>

Synthesis and Study of Optical Properties of the New Green Fluorescent Protein Chromophore Analogue with SP-Hybridized Carbon Fragment

S. A. Krasnova^{*, **}, A. A. Mikhaylov^{*, ***}, and M. S. Baranov^{*, ***}

[#] Phone: +7 (964) 865-16-24; e-mail: svetlanakr2002@mail.ru

^{*} Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

^{**} National Research University Higher School of Economics, ul. Myasnitskaya 20, Moscow, 101000 Russia

^{***} Pirogov Russian National Research Medical University, ul. Ostrovitianova 1, Moscow, 117997 Russia

We propose a new green fluorescent protein chromophore analogue – (Z)-5-(3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-yn-1-ylidene)-2,3-dimethyl-3,5-dihydro-4H-imidazol-4-one with *sp*-hybridized carbon fragment. The optical properties of the obtained compound were studied. We discovered that the new substance, which has a triple bond in conjugation with the aromatic part of the molecule, is characterized by a bathochromic shift of the absorption and emission maxima. The resulting compound is comparable in its spectral characteristics with the previously synthesized arylallylidene-imidazolone. The proposed chromophore can be potentially used as a fluorogenic dye for living systems.

Keywords: arylidene-imidazolones, arylpropynylidene-imidazolones, chromophores, GFP, optical properties