

Министерство науки и высшего образования  
Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
(СПбНЦ РАН)

УДК 621

Рег. № НИОКТР АААА-А18-118011590124-5

Рег. № ИКРБС

УТВЕРЖДАЮ

ВРИО председателя СПбНЦ РАН

к.б.н.



Ю. Н. Бубличенко

О Т Ч Е Т

о научно-исследовательской работе

«Наноструктуры: физика, химия, биология, основы  
технологий»

(тема № 0240-2018-0005 Государственного задания)

(промежуточный, этап 1)

Программа фундаментальных исследований Президиума РАН № 32

Зам. научного руководителя темы  
член-корреспондент РАН

А. Е. Жуков

Санкт-Петербург

2018

## СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Зам. научного  
руководителя темы  
г.н.с., д.ф.-м.н.,  
член-корр. РАН



А.Е. Жуков (введение,  
заключение, раздел 1)

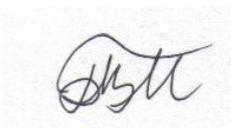
Исполнители темы:

в.н.с., д.ф.-м.н.



Г.Э. Цырлин (раздел 1)

с.н.с., к.х.н.



В.М. Бойцов (раздел 2)

в.н.с., к.х.н.



С.Ю. Вязьмин (раздел 2, 3)

с.н.с., к.х.н.



М.Н. Рязанцев (раздел 3)

## РЕФЕРАТ

Отчет 100 с., 1 кн., 53 рис., 6 табл., 8 схем, 40 ист., 1 прил.

ТЕРАГЕРЦОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ, КВАНТОВО-КАСКАДНЫЙ ЛАЗЕР, КАЛИБРОВКА ПОТОКОВ МАТЕРИАЛЛОВ, СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНЫЕ РЕАКЦИИ, АЗОМЕНИЛИДЫ, КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ, ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЗРИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ, ПОРАЖЕНИЕ СЕТЧАТКИ, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПЕРЕКЛЮЧАТЕЛИ, ЛАЗЕРНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ, МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

В соответствии с техническим заданием в течение 2018 года по теме «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий (код программы 1.1П)» в ФГБУН «Санкт-Петербургский научный центр РАН» исследования проводились по трем направлениям Программы Президиума РАН № 32.

По направлению 1.1.4.5 «Квантово-каскадные лазеры терагерцового диапазона: дизайн, синтез и свойства» проведены:

- исследования методов калибровки потоков материала из источников установки молекулярно-пучковой эпитаксии для учёта эффектов, влияющих на толщину слоёв активной области;

- синтез методом молекулярно-пучковой эпитаксии тестовых структур, необходимых для корректной реализации эпитаксиальной структуры квантово-каскадного лазера (скорости роста, химические составы, уровни легирования);

- синтез методом молекулярно-пучковой эпитаксии эпитаксиальной структуры квантово-каскадного лазера, имеющего усовершенствованный дизайн;

- характеристика эпитаксиальных структур методами атомно-силовой микроскопии, просвечивающей электронной микроскопии и рентгеновской дифрактометрии. Измерения вольт-амперных характеристик структур.

По направлению 3.2.1 «Разработка новых эффективных противоопухолевых препаратов на основе спирооксииндолов» проведены:

- экспериментальное исследование регио- и стереоселективности многокомпонентных межмолекулярных реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием нестабильных азометинилидов, содержащих индоло[2,1-b]-хиназолиновые фрагменты;

- наработка функционально замещенных спиро[азабицикло-гексан]оксиндолов согласно ранее разработанной схеме синтеза (реакцией [3+2]-циклоприсоединения циклопропенов и азометинилидов, генерированных *in situ* из замещенных изатинов и  $\alpha$ -аминокислот);

- оценка жизнеспособности, пролиферативной активности и морфологических характеристик нормальных и опухолевых клеточных линий.

По направлению 3.2.4 «Разработка новых лекарственных нанопрепаратов на основе фотохромных блокаторов ионных каналов для оптофармакологического протезирования сетчатки»:

- подобраны методологии квантово-химических расчетов, наиболее оптимальные для расчета кинетики термической изомеризации и оптических свойств молекулярных переключателей на основе азобензолов и азонфталинов, и подходящие для качественного описания механизмов реакции изомеризации изучаемых соединений;

- определены механизмы реакции изомеризации азобензолов и азонфталинов. На основании полученных данных были предложены новые варианты молекулярных переключателей с измененными оптическими свойствами и с измененной кинетикой термической изомеризации;

- разработаны и отработаны стратегии синтеза широкого ряда азобензолов, в том числе вариантов, отобранных по результатам вычислительного моделирования. Целевые соединения были синтезированы, их оптические свойства и кинетика термической изомеризации были изучены методами спектроскопии поглощения и спектроскопии поглощения с высоким временным разрешением;

- проведено тестирование физиологического действия известных молекулярных переключателей на основе азобензола, а также новых предложенных на основании рационального дизайна молекулярных переключателей.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	9
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	14
1 Квантово-каскадные лазеры терагерцового диапазона: дизайн, синтез и свойства (1.1.4.5).....	14
1.1 Калибровка потоков материала из источника галлия и особенности синтеза эпитаксиальных GaAs слоёв для терагерцового квантово-каскадного лазера.....	14
1.2 Эксперименты по синтезу терагерцовых ККЛ на основе материалов GaAs/AlGaAs.....	23
1.3 Исследования структурных свойств многослойных квантово-каскадных гетероструктур GaAs/AlGaAs.....	25
1.4 Исследования вольт-амперных и излучательных характеристик многослойных квантово-каскадных гетероструктур GaAs/AlGaAs с двойным металлическим волноводом.....	28
2 Разработка новых эффективных противоопухолевых препаратов на основе спирооксииндолов (3.2.1).....	33
2.1 Экспериментальное исследование регио- и стереоселективности многокомпонентных межмолекулярных реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием нестабильных азометинилидов, содержащих индоло[2,1-b]-хиназолиновые фрагменты.....	33
2.2 Нарботка функционально замещенных спиро[азабициклогексан]оксиндолов реакцией [3+2]-циклоприсоединения	

азометинилидов, генерированных <i>in situ</i> из замещенных изатинов и $\alpha$ -аминокислот, и циклопропенов.....	36
2.3 Оценка жизнеспособности, пролиферативной активности и морфологических характеристик нормальных и опухолевых клеточных линий.....	37
3 Разработка новых лекарственных нанопрепаратов на основе фотохромных блокаторов ионных каналов для оптофармакологического протезирования сетчатки (3.2.4)...	47
3.1 Компьютерный дизайн оптимальных молекулярных фотопереключателей на основе азобензолов и азонфталинов.....	47
3.2 Разработка методологий синтеза и синтез предложенных фотохромных переключателей.....	61
3.3 Измерение наносекундных спектров разностного поглощения производных азобензола в различных растворителях.....	69
3.4 Регистрация электроретинограммы (ЭРГ) от изолированной сетчатки амфибий.....	82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	91
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	95
ПРИЛОЖЕНИЕ А Сведения о публикациях по теме в 2018 году.....	100

## ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АСМ	– атомно-силовая микроскопия
АЦП	– аналого-цифровой преобразователь
ВАХ	– вольт-амперная характеристика
ИК	– инфракрасный
ККЛ	– квантово-каскадный лазер
КЯ	– квантовая яма
ТГц	– терагерцы
ТГц-ККЛ	– терагерцовый квантово-каскадный лазер
ЦР	– циклотронный резонанс
ЭВМ	– электронно-вычислительная машина
МПЭ	– молекулярно-пучковая эпитаксия
ПЭМ	– просвечивающая электронная микроскопия
AAQ	– 2-[(4-{(E)-[4-акрилоиламинофенил]дiazенил}фенил)амино]- N,N,N-триэтил-2-оксоэтанаммоний хлорид;
ЭРГ	– электроретинограмма

## ВВЕДЕНИЕ

В 2018 году исследования в ФГБУ Санкт-Петербургский научный центр Российской академии наук по теме «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» проводились по трем направлениям Программы Президиума РАН № 38:

(1) Квантово-каскадные лазеры (ККЛ) – малогабаритные высокоэффективные полупроводниковые источники излучения, реализованные как в среднем инфракрасном (ИК) (2–28 мкм), так и в терагерцевом (ТГц) (60–300 мкм) диапазонах частот. Идея ККЛ была впервые предложена Р. Ф. Казариновым и Р. А. Сурисом в 1971 году [1]. ККЛ представляют собой полупроводниковую гетеросистему с большим (до нескольких сотен) числом туннельно связанных квантовых ям (КЯ); генерация осуществляется за счет вынужденных переходов электронов между уровнями размерного квантования КЯ [1, 2], образующих при приложении внешнего электрического поля усилительный каскад. К настоящему времени реализованы ККЛ, работающие в среднем ИК диапазоне при комнатной температуре в непрерывном режиме [3] с мощностями, достигающих единиц Ватт [4].

Подходы, отработанные при создании ККЛ среднего ИК диапазона, позволили создать приборы ТГц диапазона [5]. Электромагнитные волны этого диапазона отражаются металлами, но проникают через пластмассы, бумагу, сухую древесину и любые мутные среды и мелкодисперсные материалы из-за резкого подавления рэлеевского рассеяния. В ТГц диапазоне лежат вращательные спектры многих органических молекул, включая колебания биологически важных коллективных мод ДНК и белков, а также фононные резонансы кристаллических решеток, что позволяет развивать новые методы спектроскопии биологических и полупроводниковых структур. Поскольку энергии фотонов ТГц излучения малы, оно не производит ионизацию среды и повреждение биомолекул, в отличие,

например, от рентгеновского излучения. Это позволяет использовать ТГц излучение для медицинской диагностики, в современных системах безопасности, экологического мониторинга, высокоскоростной связи, для контроля качества медикаментов и продуктов питания [6, 7]. Все это делает задачу создания компактных, эффективных и дешевых источников излучения ТГц диапазона стратегически важной. В то же время в России на данный момент имеются единичные сообщения лишь о создании ККЛ среднего ИК диапазона (5-8 мкм) [8-10]. Поэтому как создание ТГц ККЛ, так и их всестороннее исследование являются актуальной задачей.

Еще одной проблемой, стоящей на пути создания эффективных ТГц ККЛ, является формирование качественных эпитаксиальных слоёв сверхчистого материала строго заданной толщины у уровня легирования на протяжении длительного синтеза структур.

Исследуемые структуры были выращены методом молекулярно-пучковой эпитаксии на установке Riber Compact 21. За основу была взята конструкция многопериодной гетероструктуры AlGaAs/GaAs с тремя КЯ в периоде, описанная в [11] и позволившая получить лазерную генерацию вплоть до 200 К на частоте 3 ТГц.

(2) Онкологические заболевания являются второй причиной смертности после сердечно-сосудистых заболеваний. Повышение лекарственной устойчивости и возникновение резистентности опухолей, а также тяжелые побочные эффекты химиопрепаратов снижают клиническую эффективность используемых в настоящее время противоопухолевых препаратов и методов лечения. Кроме того, множественная лекарственная устойчивость злокачественных новообразований – одна из основных причин их клинического прогрессирования. Несмотря на все более широкое использование таргетных препаратов и методов иммунотерапии онкологических заболеваний, разработка цитостатических агентов общего действия остается актуальной задачей для лечения онкологических

заболеваний. Такие препараты как, например, цисплатин, доксорубицин, разработанные более полувека назад, до сих пор эффективны в схемах химиотерапии. В то же время, возникновение резистентности опухолей требует создания цитостатиков не просто являющихся производными «классических» препаратов, а происходящих из соединений новой природы.

Соединения природного происхождения и их синтетические производные – перспективные кандидаты для поиска новых лекарственных препаратов. Многие из успешно применяющихся в настоящее время (или находящихся в стадии клинических испытаний) противораковых препаратов или сами являются соединениями природного происхождения, или разработаны на основе встречающихся в природе соединений [1-4]. Спирооксиндолльные, спироазабициклогексановые, спироциклопропапирролизиновые и инденохиноксалиновые фрагменты являются гетероциклическим остовом большого числа природных алкалоидов широкого спектра действия и интересными структурными свойствами. Известно, что алкалоиды на основе индола (спиротрипростатины, Барвинка и др.) и их производные самостоятельно и в сочетании с терапевтическими средствами, используются в течение длительного времени для лечения различных видов рака. Таким образом, одной из важных стратегий в разработке эффективных противоопухолевых агентов является изучение противоопухолевых средств, полученных из природных источников, а также их синтетических производных.

Последние достижения в синтезе сложных конденсированных гетероциклических систем привели к существенному росту интереса к разработке методов синтеза различных производных и аналогов этих соединений в качестве потенциальных лекарственных средств или биологических зондов [5-9]. Во многих случаях реакции с участием нестабильных интермедиатов являются единственно возможными подходами

к синтезу сложных полициклических соединений, обладающих широким спектром фармакологической активности [10-11].

(3) Болезни, связанные с дегенерацией сетчатки глаза, такие как возрастная макулодистрофия и пигментный ретинит, являются широко распространенными заболеваниями. Разработка новых эффективных лекарственных средств и методов лечения этих заболеваний до сих пор является нерешенной фундаментальной задачей. К настоящему времени известно несколько подходов к решению этой проблемы. Было показано, что хирургически имплантируемые электронные протезы позволяют частично восстановить зрительные функции у пациентов с полным отсутствием зрения [1]. Трансплантация стволовых клеток в сетчатку позволяет восстановить реакцию на свет у слепых мышей [2], а трансплантация пигментного эпителия сетчатки позволяет улучшить зрение у пациентов с возрастной макулодистрофией [3]. Еще один перспективный подход к проблеме – оптогенетический. Так, Carorale et.al. успешно использовали этот подход для частичного восстановления реакции на свет у мышей с пигментным ретинитом [4].

Однако все эти методы либо инвазивные, либо необратимые. Альтернативный подход к восстановлению зрительных функций сетчатки с нефункциональным родопсином, лишенный указанных недостатков, был недавно предложен группой Р. Крамера (Richard H.Cramer). В этом методе в сетчатку вводится молекулярный фотосенсор (молекулярный переключатель), который после поглощения кванта света и перехода из одной стереоизомерной формы в другую, блокирует или открывает потенциал-зависимые калиевые каналы, что приводит к необходимому для регистрации фотосигнала изменению мембранного потенциала. Таким образом достигается эффект работы здоровой сетчатки, не требующий присутствия в сетчатке функционального родопсина.

На сегодняшний день группой Р. Крамера была продемонстрирована перспективность подобного подхода, предложены и успешно протестированы на мышах и крысах несколько фотоактивных соединений (молекулярных фотопереключателей). Однако до внедрения подобных подходов в реальную лечебную практику необходимы дополнительные исследования, направленные на поиск молекулярных переключателей с определенными оптическими и термодинамическими свойствами. Так, необходимы переключатели со спектром поглощения в видимом спектральном диапазоне и временем термической изомеризации из активной формы в неактивную форму порядка 1 мс.

Данное исследование направлено на поиск подобных оптимальных для восстановления зрительных функций молекулярных переключателей на основе азобензолов, и включает в себя компьютерный рациональный дизайн новых фотопереключателей, синтез и изучение фотофизических свойств наиболее перспективных переключателей, проверку их физиологического действия на дегенерированную сетчатку.

## ОСНОВАЯ ЧАСТЬ

### **1 Квантово-каскадные лазеры терагерцового диапазона: дизайн, синтез и свойства (1.1.4.5)**

#### **1.1 Калибровка потоков материала из источника галлия и особенности синтеза эпитаксиальных GaAs слоёв для терагерцового квантово-каскадного лазера**

Одним из главных условий синтеза качественных слоёв GaAs методом молекулярно-пучковой эпитаксии является наличие высокого вакуума в ростовой камере установки молекулярно-пучковой эпитаксии. Для достижения и поддержания уровня вакуума в ростовой камере установка перед началом роста была подвергнута термическому отжигу в течении не менее 2 недель при температуре 200<sup>0</sup>С. Кроме того, ростовая камера обладает мощной системой откачки (чаще всего комбинацией насосов разного принципа действия) и криопанелью, охлаждённой до температуры жидкого азота, для адсорбции атомов остаточных газов на поверхности криопанели. Помимо этого, в источники установки были загружены особо чистые материалы, а сами источники обезгажены как до, так и после загрузки материалов термически методом.

Особенности синтеза GaAs слоёв методом молекулярно-пучковой эпитаксии зависят от конструкции источников материалов, участвующих в росте. Для поддержания стабильного потока галлия на подложку в ходе работы был использован двузонный эфузионный источник. Геометрия самой установки также учитывалась для получения качественной и однородной структуры. С этой целью при росте структур подложка вращалась вокруг своей оси со скоростью от 10 оборотов в минуту. Фотография установки молекулярно-пучковой эпитаксии Riber Compact 21 приведена на рисунке 1.1.



Рисунок 1.1 – Установка молекулярно-пучковой эпитаксии RIBER Compact 21

Перед загрузкой подложки для роста, в ростовую камеру загружался заранее подготовленный образец для калибровки потока из источника галлия. Этот образец представлял собой пластину GaAs(100) небольшого размера (порядка  $1 \text{ см}^2$ ), приклеенную на центр поверхности целой пластины кремния с помощью индия. Малый размер GaAs пластины необходим для локализации области калибровки и воспроизводимости результатов. Сам процесс калибровки выполнялся с помощью метода дифракции быстрых электронов на отражение (ДБЭО). Принципиальная схема системы ДБЭО приведена на рисунке 1.2.

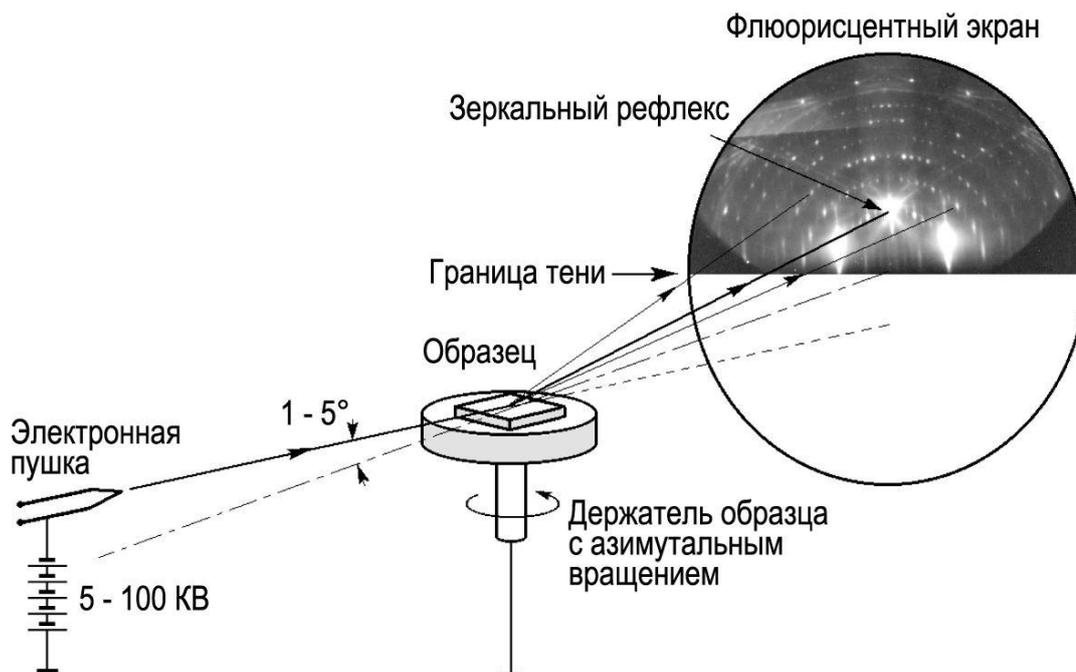


Рисунок 1.2 – Принципиальная схема системы ДБЭО в камере установки молекулярно-пучковой эпитаксии

Данный метод является одним из самых эффективных средств контроля морфологии поверхности твердого тела в режиме реального времени и широко используется в технологиях получения полупроводниковых структур. Информация в методе ДБЭО содержится в изображении, получаемом на флуоресцентном экране в результате дифракции электронов с энергией 5–50 кэВ, падающих на поверхность твердого тела под скользящими углами. Анализ статических дифракционных изображений позволяет судить о кристаллической структуре поверхностного слоя, а также изучать микрорельеф поверхности, включая получение количественной информации о плотности моноатомных ступеней и распределении двумерных зародышей на поверхности. Наблюдение за динамикой картин ДБЭО при эпитаксиальном росте пленки дает возможность оценивать с большой точностью скорость роста, при этом время роста одного монослоя соответствует (в общем случае) периоду на осциллирующей временной зависимости интенсивности рефлекса на дифракционной картине. Для полного и эффективного использования

возможностей метода ДБЭО необходимо осуществлять регистрацию и количественный анализ дифракционных картин в целом, или их части. При этом обычно дискретность измерения изображений должна быть значительно меньше времени роста одного монослоя. Помимо этого с помощью метода ДБЭО можно определить реальную температуру подложки, так как переход от одной реконструкции поверхности к другой происходит при определённой температуре и соотношении потоков элементов V и III групп (рисунок 1.3).

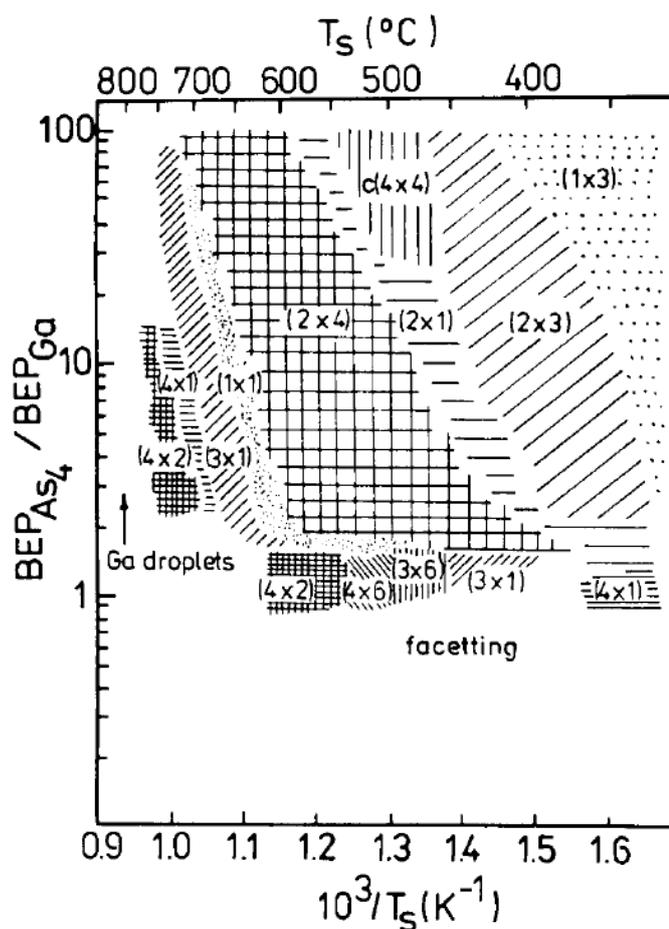


Рисунок 1.3 – Зависимость реконструкции поверхности от температуры поверхности и соотношении потоков Ga и As

Для проведения калибровки потока из источника третьей группы калибровочный образец нагревался до  $450^{\circ}C$  в ростовой камере, после чего происходило открытие заслонки и апертуры источника мышьяка, нагретого до рабочей температуры, для предотвращения разрушения поверхности. После этого температура образца повышалась для полного сгона остаточного

окисла с поверхности пластины без риска десорбции атомов мышьяка из подложки. Момент сгона однозначного определялся по характерной картине дифракции быстрых электронов на отражение и составил порядка  $630^{\circ}\text{C}$ . Пример картины ДБЭО после сгона окисла приведён на рисунке 1.4 в направлении  $[0-11]$ .

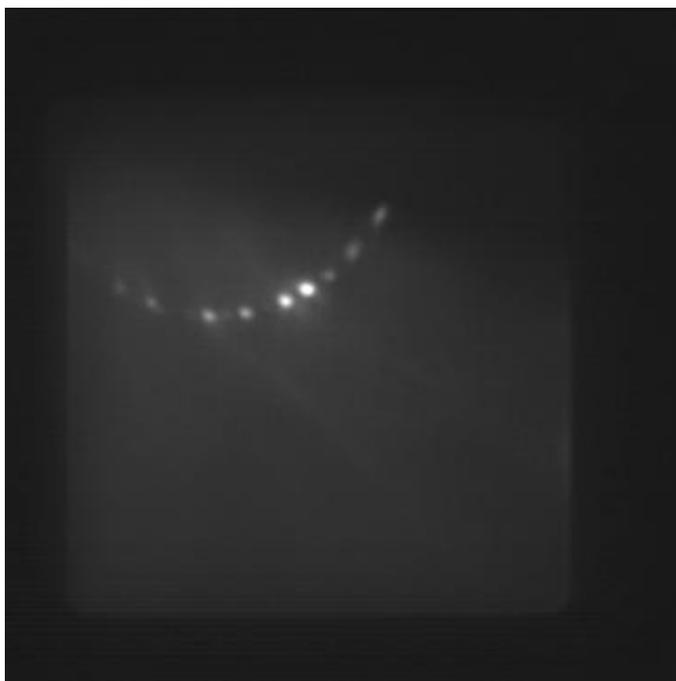


Рисунок 1.4 – Типичная картина ДБЭО после сгона окисла с калибровочной пластины GaAs(100) в направлении  $[0-11]$

На следующем этапе калибровки температура подложки снижалась до  $550^{\circ}\text{C}$  (при сохранении реконструкции поверхности  $(2\times 4)$ ), а угол её поворота относительно пучка падающих электронов устанавливался так, чтобы на флуоресцентном экране и экране компьютера, на который информация передавалась через камеру, в результате дифракции были чётко видны рефлексы (узлы обратной решётки) в направлении  $[011]$ . Затем, с помощью специализированного программного обеспечения, на мониторе выбиралась область, включающая в себя только один такой рефлекс (рисунок 1.5).

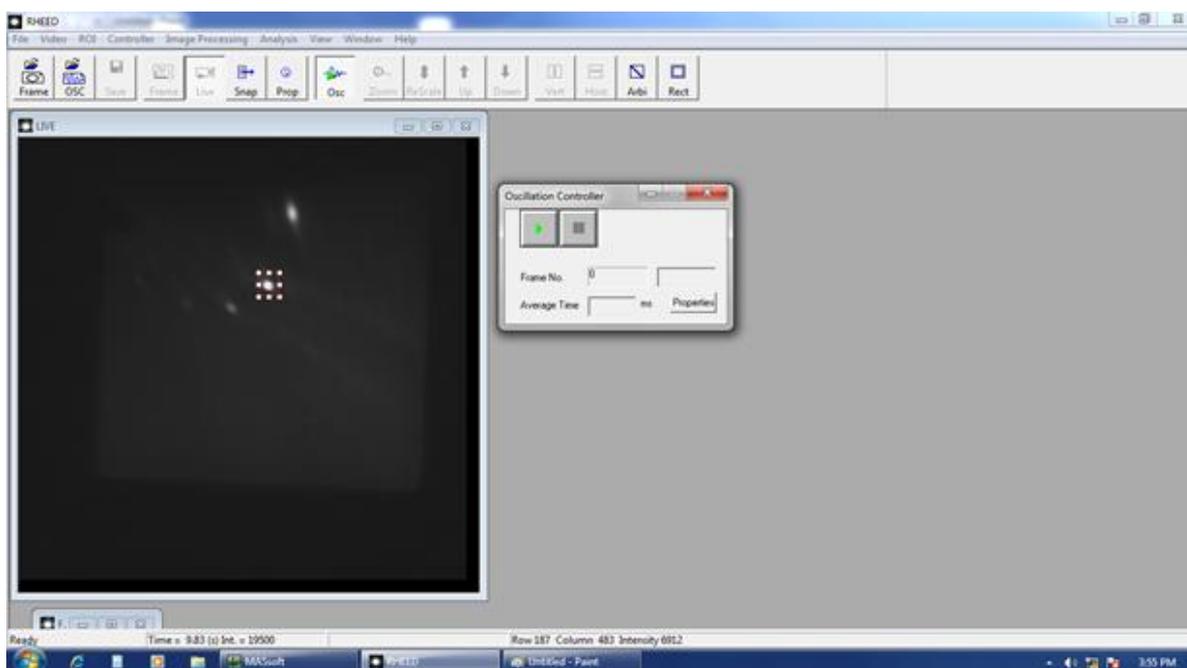


Рисунок 1.5 – Типичное изображение экрана компьютера при фиксировании осцилляций рефлексов

После этих подготовительных процедур непосредственно начиналась калибровка потоков материала третьей группы. Заслонка источника галлия открывалась в условиях превышения потока материала пятой группы, росли атомные слои GaAs, а рефлексы на экране претерпели периодические изменения интенсивности. За один период изменения интенсивности на поверхности подложки вырастал один монослой материала. Программное обеспечение рассчитало количество таких периодов, поделило на время измерений и показало, сколько моноатомных слоёв выросло за секунду (рисунок 1.6). Пока скорость роста отличалась от необходимой, температура источника галлия изменялась (поднималась или опускалась, для увеличения или уменьшения скорости роста, соответственно). На рисунке 1.7 приведена характерная экспериментальная зависимости скорости роста GaAs от температуры источника.

Как видно из рисунка 1.6, период первых осцилляций отличался от периода последующих. Причиной этому являлось сразу несколько факторов.

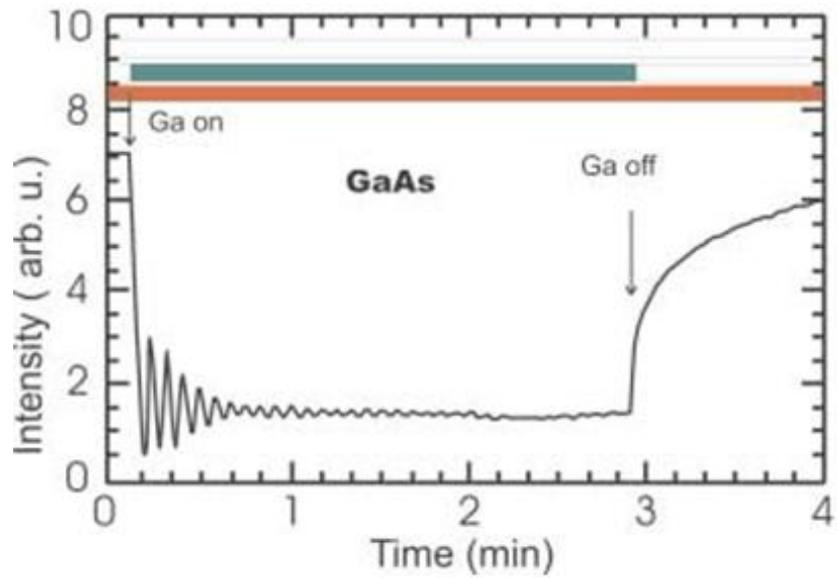


Рисунок 1.6 – Типичное изображение на экране компьютера при измерении скорости роста GaAs слоя

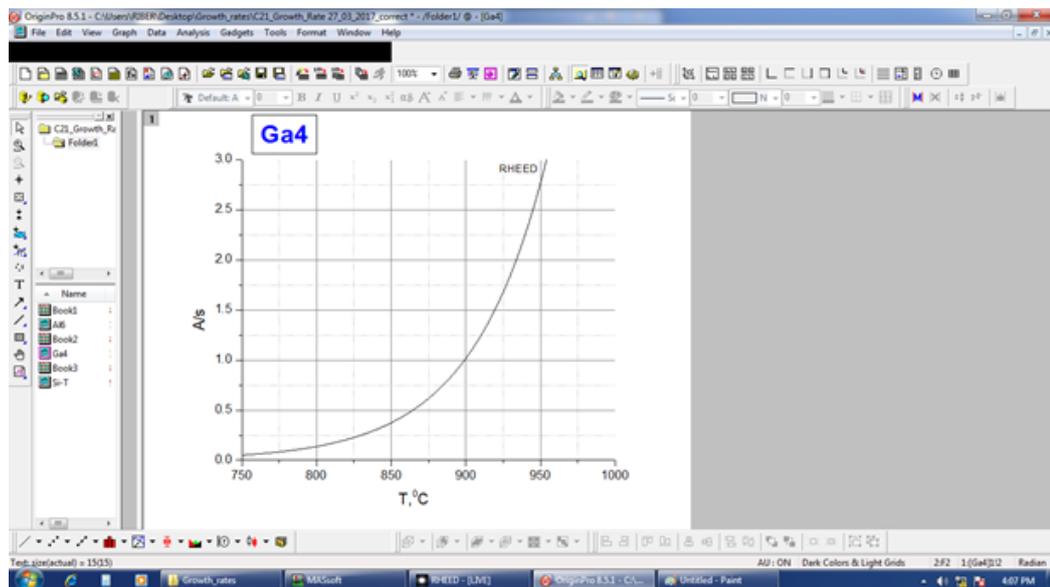


Рисунок 1.7 – Экспериментальная зависимость скорости роста GaAs от температуры источника галлия

Эффузионные источники третьей группы оснащены заслонками (рисунок 1.8). Время срабатывания этих заслонок конечно, то есть источники открываются не мгновенно, а постепенно. К тому же, после открытия заслонки температура источника на короткое время меняется, время стабилизации температуры составляет обычно несколько секунд. При этом происходит так называемый «перевсплеск» потока. Эти процессы могут влиять на рост первых монослоёв материала. Данные особенности необходимо было учитывать как при калибровке, так и при росте конечной структуры ККЛ.



Рисунок 1.8 – Изображение строения заслонки эффузионного источника третьей группы

После калибровки потока из источника галлия было определено соотношение потоков пятой и третьей группы с помощью метода ДБЭО. При постепенном закрытии апертуры источника мышьяка увеличивается соотношение  $Ga/As_n$ , и когда оно становится равным  $\frac{1}{2} n$ , реконструкция поверхности переходит из (2x4) в (4x2).

Поскольку подложка для синтеза GaAs загружалась в установку с атмосферы, то прежде чем переносить её в ростовую камеру, необходимо

было провести предварительную очистку подложки в специальном отсеке установки, оснащённым нагревателем. Когда вакуум в камере очистки заметно улучшается (на 2 порядка), подложка была перемещена в ростовую камеру. Это было сделано без нарушения условий сверх высокого вакуума.

Следующим этапом подготовки к синтезу являлось удаление слоя естественного окисла с поверхности пластины. Для этого она была нагрета до температуры порядка  $630^{\circ}\text{C}$  в атмосфере мышьяка. Контроль процесса происходил с помощью метода ДБЭО. Непосредственный синтез структур для ККЛ проходил в условиях превышения материала пятой группы.

## 1.2 Эксперименты по синтезу терагерцевых ККЛ на основе материалов GaAs/AlGaAs

ТГц ККЛ представляют собой последовательность трех туннельно-связанных квантовых ям (КЯ) (широкая КЯ – инжектор/экстрактор электронов и двойная лазерная КЯ – излучатель ТГц фотона). Структуры для ККЛ были выращены методом молекулярно-пучковой эпитаксии на установке Riber 21. Рост осуществлялся на полуизолирующих подложках GaAs(100) при As-стабилизированных условиях. Схематичная диаграмма выращенной структуры представлена на рисунке 1.9. Скорости роста GaAs и AlAs составляли 0,425 и 0,075 монослоев в секунду (Мс/с) соответственно.

Для получения высококачественных интерфейсов между слоями GaAs и AlGaAs использовались специальные заслонки источников, обладающие высокой скоростью открытия/закрытия, для уменьшения «перевсплесков» при синтезе слоёв. Время срабатывания таких заслонок источников не превышало 0,15 секунд. На буферном слое GaAs осаждался стоп-слой  $\text{Al}_{0.8}\text{Ga}_{0.2}\text{As}$  толщиной 200 нм.

Активная область содержала 226 периодов, каждый из которых содержал двойную квантовую яму GaAs / AlGaAs (КЯ), разделенных барьерами. Самая широкая КЯ служит экстрактором/инжектором электронов за счет резонансного испускания оптического фонона; она легировалась донорной примесью (Si) с концентрацией  $\sim 5 \cdot 10^{16} \text{ см}^{-3}$ . Снизу и сверху активная область была ограничена контактными слоями GaAs:Si ( $5 \times 10^{18} \text{ см}^{-3}$ ) толщиной по 60 нм.

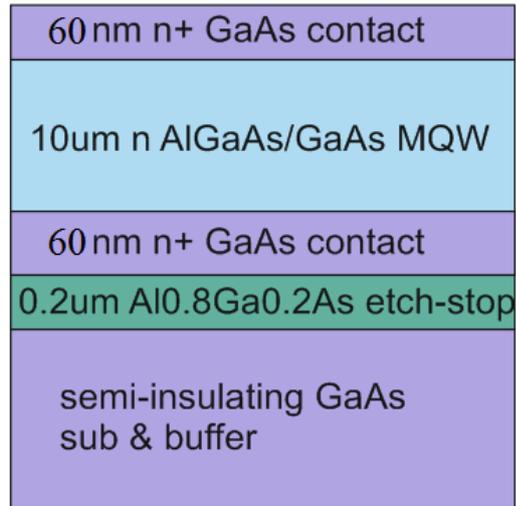


Рисунок 1.9 – Схематичное изображение выращенной структуры

### 1.3 Исследования структурных свойств многослойных квантово-каскадных гетероструктур GaAs/AlGaAs

Структурные свойства выращенного образца были изучены методами рентгеновской дифракции высокого разрешения (HR-XRD), атомно-силовой микроскопии (АСМ) и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Для метода HR-XRD использовался дифрактометр D8 DISCOVER Bruker AXS (длина волны излучения  $\lambda = 0,15406$  нм) с полушириной первичного пучка  $<12$  угловых секунд в режиме сканирования  $\Omega - 2\theta$ . На рисунке 1.10 показана кривая качания вокруг симметричного отражения GaAs (004). Полная ширина на полувысоте (FWHM) пиков из-за периодического повторения каскадов ККЛ составляет 15–19 угловых секунд.

Следует отметить, что полная ширина пиков сверхструктуры в спектре, определённая с учетом изгиба структуры при упругих напряжениях, составляет 22,4 угловых секунды. Это означает, что можно пренебречь как возможными эффектами из-за неточной толщины каскада во всей структуре, так и шероховатостью гетерограниц, что подтверждает верный выбор технологических параметров для случая синтеза активной области. Рассчитанная кривая качания для модельной структуры показала превосходное соответствие с экспериментальными данными, которые показаны на рисунке 1.10.

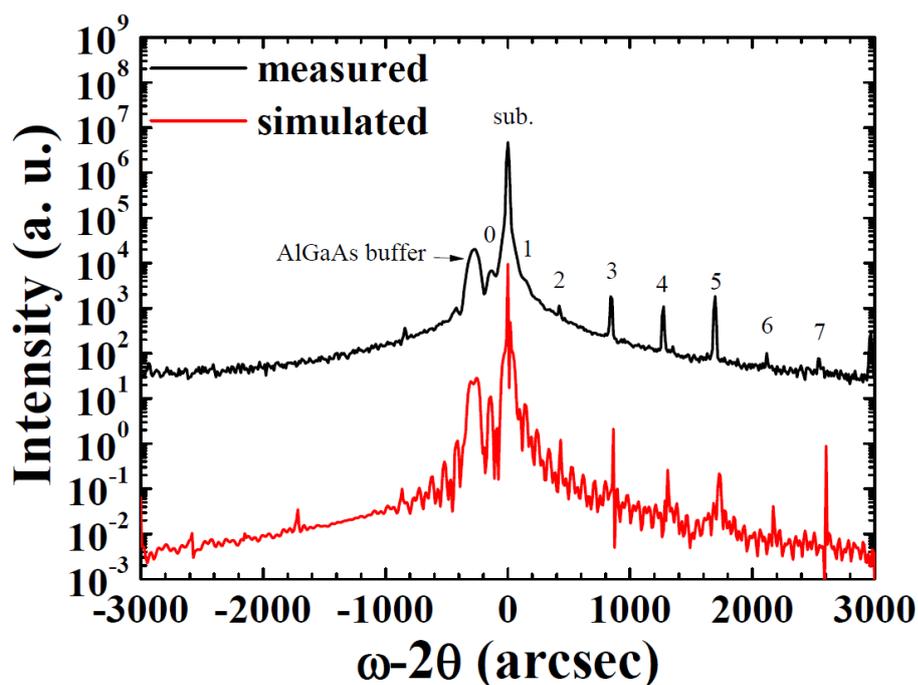


Рисунок 1.10 – Рентгеновские кривые качания структуры ККЛ вблизи отражения GaAs (004): экспериментальная и теоретическая

На рисунке 1.11 показаны типичные АСМ и ПЭМ изображения выращенной гетероструктуры. Согласно АСМ-измерениям, видно, что средняя шероховатость поверхности составляет  $2 \text{ \AA}$ , что соответствует идеальной гладкости выращенной структуры. В свою очередь, результаты исследований ПЭМ указывают на очень резкую границу раздела между слоями внутри всей структуры. Оба этих факта свидетельствуют о высоком кристаллографическом и эпитаксиальном качестве выращенной структуры.

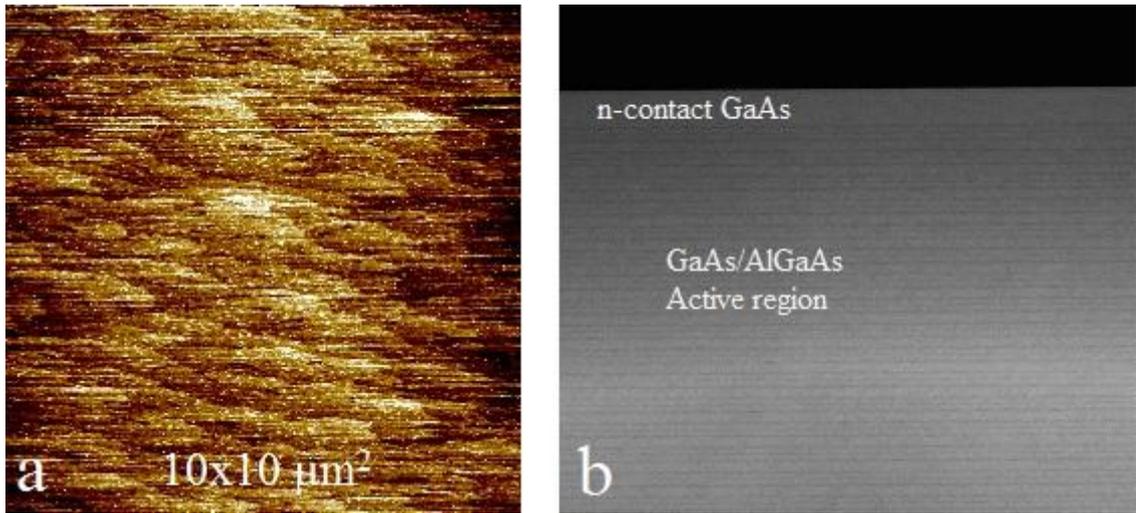


Рисунок 1.11 – (а) – АСМ изображение поверхности выращенной структуры: длина террасы - 0,7 ~ 0,96 мкм, среднеквадратичная шероховатость - 2 Å; (б) – ПЭМ изображение выращенной структуры

#### **1.4 Исследования вольт-амперных и излучательных характеристик многослойных квантово-каскадных гетероструктур GaAs/AlGaAs с двойным металлическим волноводом**

Для создания ККЛ в данной работе, как и в [11], была использована схема волновода типа металл-металл, в которой активная область заключается между двумя металлическими слоями. Такой волновод обеспечивает более сильную локализацию поля и меньшие потери по сравнению с плазмонным волноводом [12], хотя такой подход значительно усложняет постростовую обработку структур. Для создания как волноводного ограничения, так и омических контактов была использована металлизация Ti/Au (10/500 нм). Выращенную структуру помещали на проводящую подложку-носитель n<sup>+</sup>-GaAs, на поверхность которой были нанесены такие же металлические слои, и сращивали методом термокомпрессионного соединения с использованием пары Au-Au. Затем производилось последовательное стравливание исходной подложки до стоп-слоя, а затем и самого стоп-слоя, после чего сверху наносилась аналогичная последовательность металлических слоев Ti/Au.

В результате структура толщиной около 10 мкм оказывалась ограниченной двумя металлическими слоями. Далее с использованием электронно-лучевой литографии и сухого травления формировались полоски шириной 100 мкм. Подробное описание процессов формирования волновода дано в [13]. После утонения подложки-носителя до толщины около 100 мкм выкалывались лазерные чипы длиной около 1.5 мм (рисунок 12а). Какие-либо покрытия или линзы на сколотые грани не наносились. Чипы монтировались на медный теплопровод, являющийся нижним контактом к структуре. К верхнему контакту напаивалась золотая проволока (рисунок 1.12b).

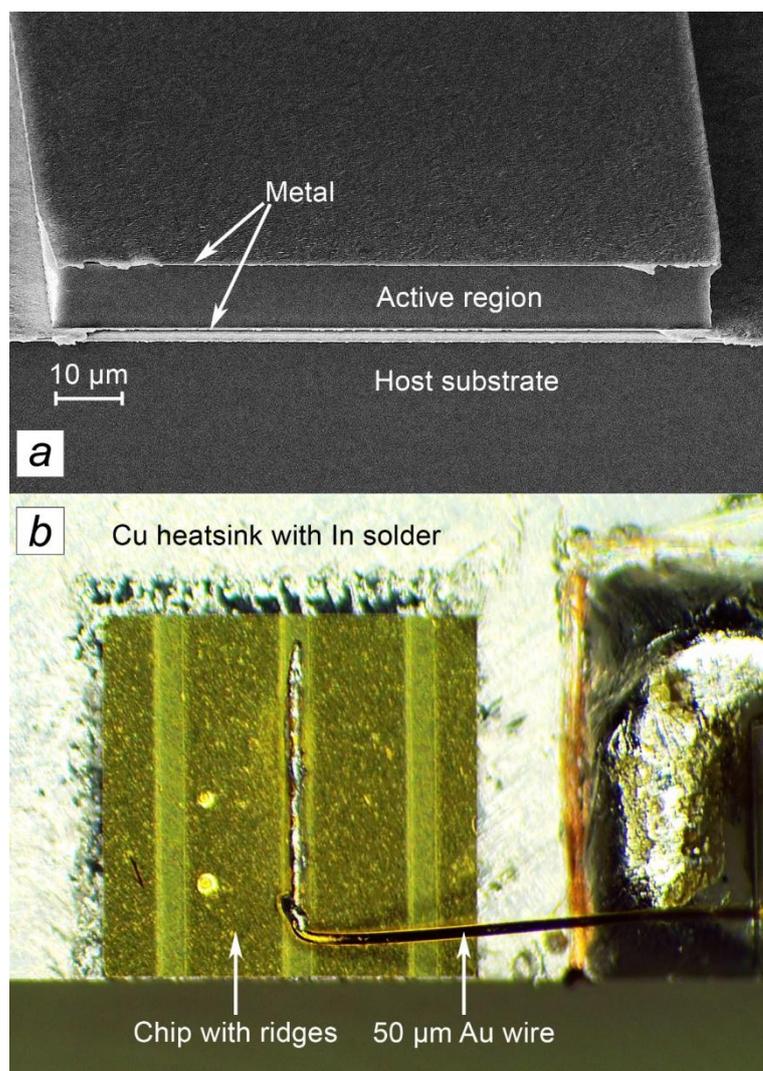


Рисунок 1.12 – Микрофотография сколотого торца излучателя (a) и фотография прибора, смонтированного на медном теплоотводе (b)

Исследования вольт-амперных (ВАХ) и излучательных характеристик полученных структур ККЛ проводились при  $T = 4,2$  К в импульсном режиме. Структура размещалась во вставке в транспортный гелиевый сосуд Дьюара СТГ-40. Для питания структур использовался специально изготовленный электронный ключ на основе полевого транзистора IRF 9510. Задающие прямоугольные импульсы длительностью 10–20 мкс и частотой повторения 100–1000 Гц формировались генератором Г5-56. Питание ключа осуществлялось от прибора Keithley 2400 SourceMeter, который позволял осуществлять пошаговую развертку выходного напряжения. С выхода ключа

импульсы напряжения до 16 В подавались на исследуемую структуру. При измерениях ВАХ сигналы, пропорциональные амплитуде импульсов напряжения и тока, подавались на двухканальный строб-интегратор Stanford Research Systems SR250. Постоянное напряжение с выхода каждого из каналов строб-интегратора оцифровывалось с помощью аналого-цифрового преобразователя (АЦП) и записывалось в память ЭВМ.

При измерениях интегральной интенсивности излучения ККЛ в зависимости от тока терагерцовое излучение детектировалось примесным фотоприемником Ge:Ga, который также располагался во вставке в СТГ-40 непосредственно рядом с исследуемым образцом. Смещение на приемник подавалось с предусилителя прибора UNIPAN 232В, использовавшегося в данном эксперименте в качестве широкополосного усилителя с полосой 150 кГц. Усиленный сигнал с приемника вместе с импульсом, пропорциональным току через лазер, подавались на два канала строб-интегратора. Сигналы с выхода строб-интегратора оцифровывались и записывались в ЭВМ.

Малая интенсивность излучения исследуемых каскадных структур не позволила использовать для изучения его спектральных характеристик фурье-спектрометр (ср. с [14]), поэтому спектральные исследования проводились с использованием перестраиваемого магнитным полем режекторного фильтра на циклотронном резонансе (ЦР). Использовалась криомагнитная вставка в СТГ-40, в которой между ККЛ и приемником располагался сверхпроводящий соленоид, в центре которого (в разрезе световодной трубки из нержавеющей стали диаметром 4 мм, по которой излучение от ККЛ подводилось к фотоприемнику) помещалась гетероструктура с КЯ  $\text{HgTe}/\text{Cd}_{0,7}\text{Hg}_{0,3}\text{Te}$  шириной 8 нм с двумерным электронным газом. Записывалась зависимость сигнала на фотоприемнике (спектр ЦР в геометрии Фарадея) от магнитного поля. В качестве референсного источника излучения использовался квантово-каскадный лазер, изготовленный фирмой

Trion Technology, работающий на частоте 2,99 ТГц [14]. Вследствие сильной непараболичности зоны проводимости, циклотронная масса электронов в КЯ HgTe/CdHgTe сильно зависит от концентрации [15], поэтому последняя специально контролировалась с помощью измерений магнитосопротивления гетероструктуры по двухконтактной схеме.

На рисунке 1.13 представлены ВАХ и зависимости интенсивности интегрального излучения от тока для исследуемой каскадной структуры. Такие зависимости вполне типичны для схем ККЛ с резонансным испусканием оптического фонона [16-18]. Наличие платообразных участков на ВАХ (0,32–0,42 А), скорее всего, связан с образованием доменов электрического поля внутри лазерной структуры. Это подтверждается наличием высокочастотных осцилляций на осциллограммах напряжения и «скачков» ВАХ в области плато. Подобные домены были подробно исследованы для ККЛ ИК диапазона [19]. Далее ВАХ претерпевает резкий излом, свидетельствующий о приближении уровня инжектора к верхнему рабочему лазерному уровню, что способствует эффективному туннелированию электронов и быстрому росту тока через структуру. Именно на этом участке в структурах с подобными ВАХ наблюдается возникновение лазерного излучения [16-18]. На зависимости интегральной интенсивности от тока видно (рисунок 1.13), что излом на ВАХ при токе 0,42 А (280 А/см<sup>2</sup>) соответствует началу резкого роста интенсивности излучения, что является признаком возникновения в структуре стимулированного излучения. Кроме того, расчеты, выполненные в работе [13] показывают, что напряжение, соответствующее порогу генерации для данной структуры, составляет около 12,4 В, что совпадает с изломом ВАХ.

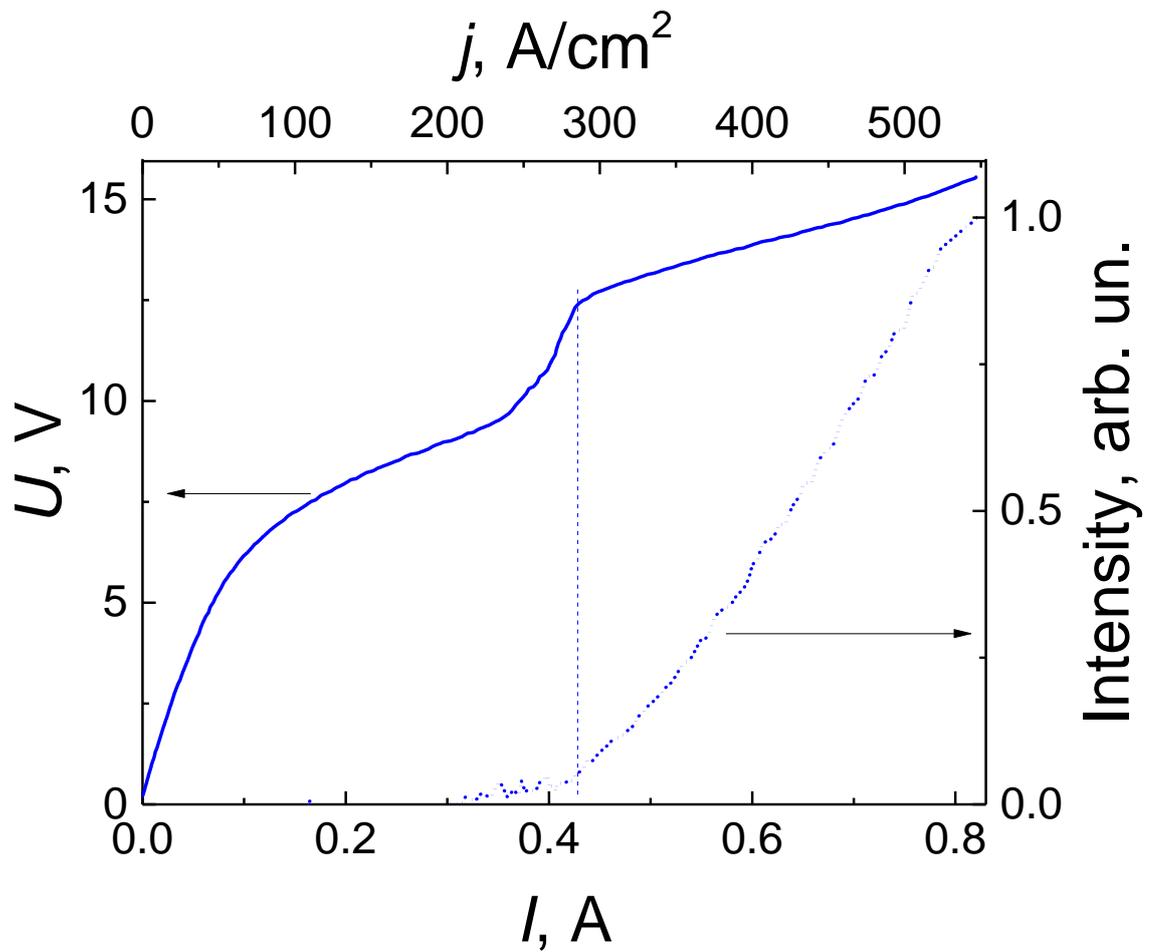


Рисунок 1.13 – ВАХ (сплошная линия) и зависимости интенсивности излучения от тока (точечная линия) исследуемой каскадной структуры

## 2 Разработка новых эффективных противоопухолевых препаратов на основе спирооксииндолов

### 2.1 Экспериментальное исследование регио- и стереоселективности многокомпонентных межмолекулярных реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием нестабильных азометинилидов, содержащих индоло[2,1-b]-хиназолиновые фрагменты

Реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения циклопропенов с азометинилидами, генерированными из триптантринов (индоло[2,1-b]хиназолин-6,12-дионов), представляют собой простой и удобный метод получения сложных алкалоидоподобных соединений со спиросочлененными индоло[2,1-b]хиназолиновым и циклопропа[а]пирролизиновым или 3-азабицикло[3.1.0]гексановым фрагментами (Схема 1). Однако, несмотря на кажущуюся простоту, данный подход до сих пор не был описан в литературе.

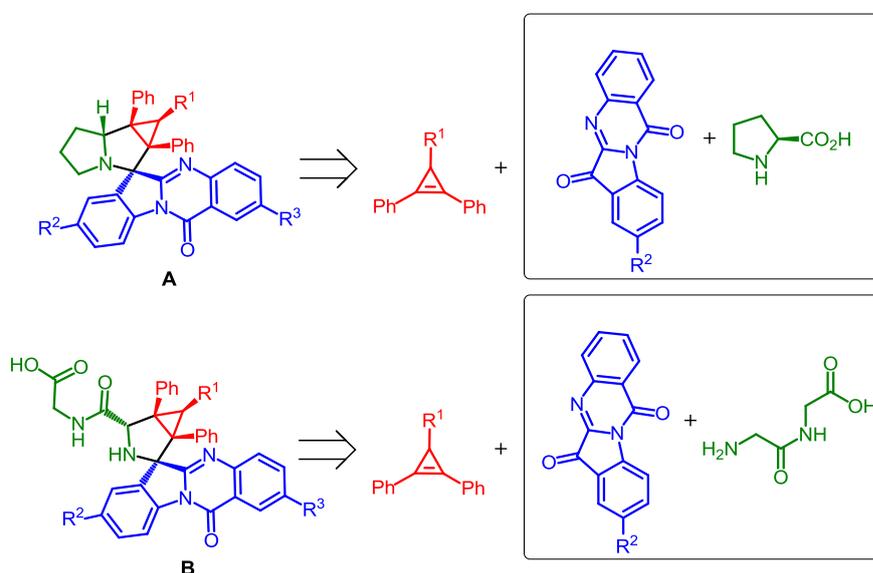


Схема 1 – Ретросинтетическая многокомпонентная стратегия синтеза производных спиро-триптостатинов

Нами было установлено, что взаимодействие триптантринов со вторичными  $\alpha$ -аминокислотами в смеси этанол-бензол приводит к

образованию нестабильных азометинилидов, которые в условиях реакции взаимодействуют с циклопропенами с образованием соответствующих спиросочлененных полигетероциклов в виде одного диастереомера (схема 2).

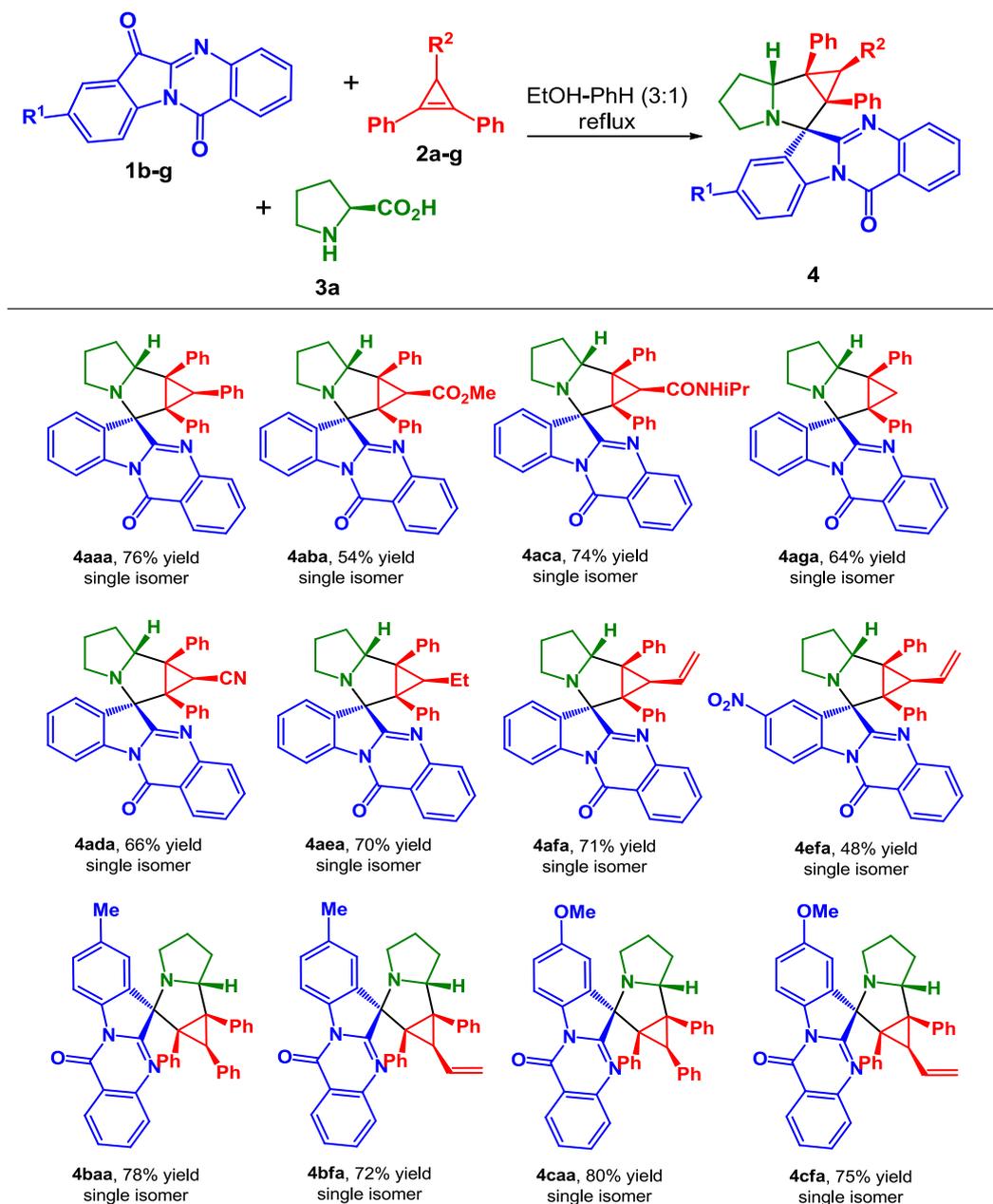


Схема 2 – Синтез спиро[циклопропа[а]пирролизин-2,6'-индоло[2,1-б]хиназолин-12'-онов

Взаимодействие трипантринов с простейшими пептидами в водном этаноле в присутствии уксусной кислоты так же приводит к образованию соответствующего нестабильного интермедиата (илида), который может

быть успешно зафиксирован с помощью циклопропенов. Данная реакция протекает селективно с образованием 3-азаспиро[бицикло[3.1.0]гексан-2,6'-индоло[2,1-б]хиназолин]-12'-онов в виде одного диастереоизомера (схемы 3, 4).

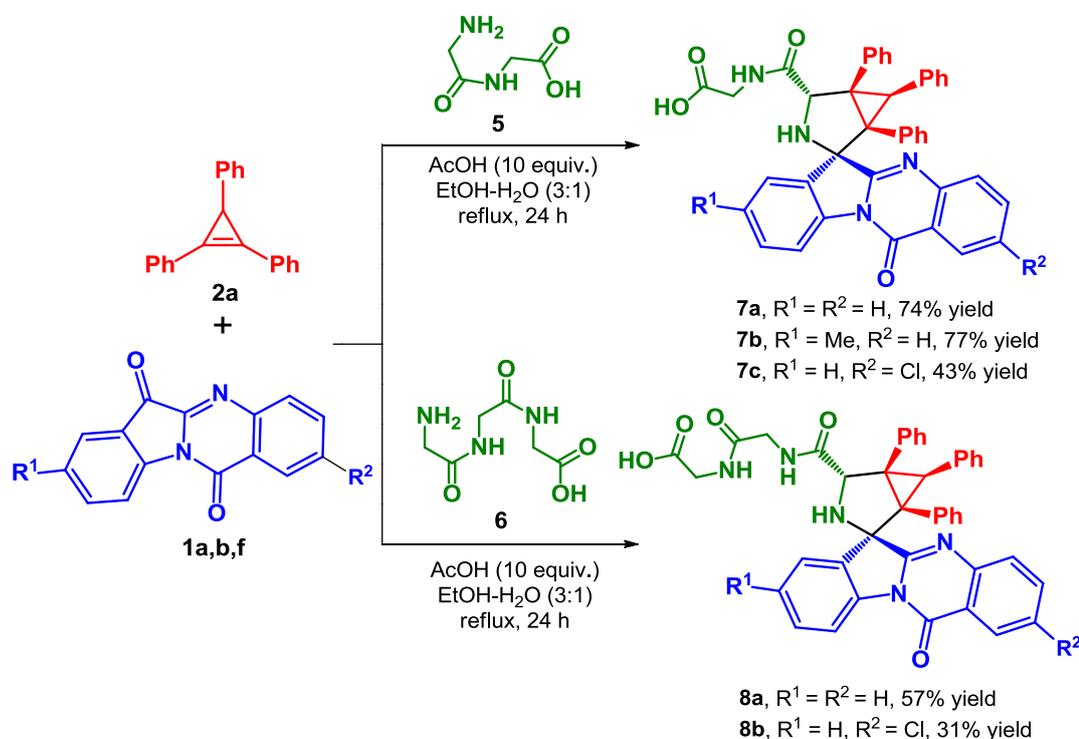


Схема 3 – Синтез 3-азаспиро[бицикло[3.1.0]гексан-2,6'-индоло[2,1-б]хиназолин]-12'-онов

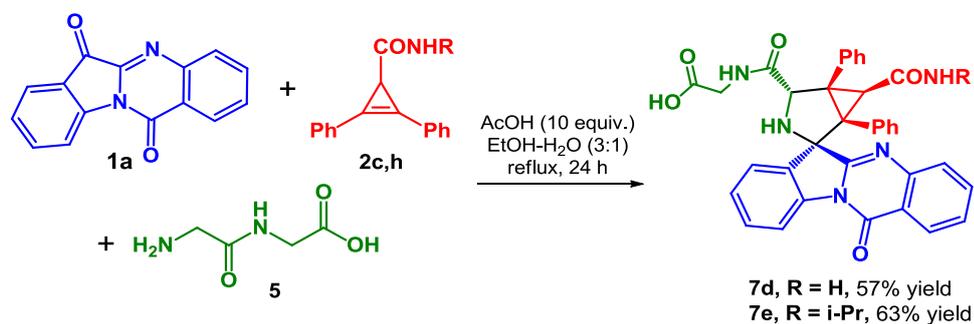


Схема 4 – Синтез 3-азаспиро[бицикло[3.1.0]гексан-2,6'-индоло[2,1-б]хиназолин]-12'-онов

## 2.2 Нарботка функционально замещенных спиро[азабицикло[3.1.0]гексан]оксиндолов реакцией [3+2]-циклоприсоединения циклопропенов и азометинилидов, генерированных *in situ* из замещенных изатинов и $\alpha$ -аминокислот

Функционально замещенные спиро[азабицикло[3.1.0]гексан]оксиндолы получены согласно ранее разработанной нами схеме в результате многокомпонентных межмолекулярных реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием трифенилциклопропена и азометинилидов, генерированных *in situ* из замещенных изатинов и  $\alpha$ -аминокислот (схема 5) [12].

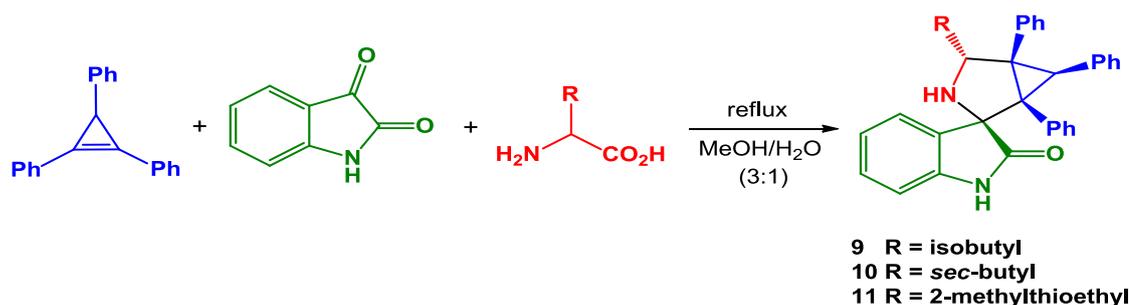


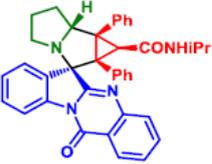
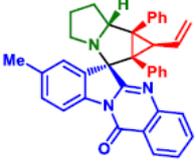
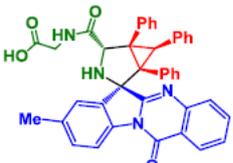
Схема 5 – Синтез замещенных спиро[азабицикло[3.1.0]гексан]оксиндолов

### **2.3 Оценка жизнеспособности, пролиферативной активности и морфологических характеристик нормальных и опухолевых клеточных линий**

Молекулы природного происхождения на основе 3-спирооксиндолов обладают выраженной биологической активностью такой как противовоспалительная, антибактериальная, противогрибковая и противоопухолевая [13-14]. Например, их производные коерулесцин, хорсфилин, и элакомин тормозят клеточный цикл млекопитающих в фазе G2/M. Известно, что такие индольные алкалоиды как спиротриптостатины А и В, винкрестин и винбластин проявляют некоторую противоопухолевую активность [15]. В основе действия этих соединений лежат процессы ингибирования взаимодействия белков p53 и MDM2 [16-17]. Можно предположить, что производные алкалоидов на основе спирооксиндолов являются перспективными для разработки и исследования их цитостатической и иммуномодулирующей противоопухолевой активности.

А) Противоопухолевая активность некоторых из полученных соединений, содержащих спиросочлененные индоло[2,1-b]хиназолиновый и азабицикло[3.1.0]гексановый или циклопропа[a]пирролизиновый фрагменты, в отношении клеток эритромиелолейкоза человека (K562), рака шейки матки (HeLa) и карциномы толстой кишки (CT26) оценивалась *in vitro* методом МТС-анализа. Клетки линии K562 были наиболее чувствительны среди изученных клеточных линий, в то время как HeLa и CT26 показали снижение восприимчивости к тестируемым соединениям. Лучшие результаты этих исследований показаны на рисунках 1-3, концентрации полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>) для наиболее активных соединений представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Противоопухолевая активность соединений 4аса, 4bfа, 7а и 7b в отношении тестируемых клеточных линий (48 ч)

Соединение	Структура	IC <sub>50</sub> (мкг/мл)		
		K562	HeLa	CT26
4аса		4,8	>50 (12.1)	>50 (5.2)
4bfа		>50	>50	(5.5)
7а		49.3	20.8	(6.3)
7b		6.6	43.4	>50 (7.8)

Установлено, что среди соединений с циклопропа[а]пирролизиновым фрагментом только соединение 4аса, в котором есть изопропилкарбамоильная группа при циклопропановом кольце, демонстрирует значительную активность на клетки линии K562 (IC<sub>50</sub> 4,8 мкг/мл, рис. 2.1), по сравнению с иматинибом – таргетным противолейкозным цитостатическим препаратом, используемым для лечения хронического миелогенного лейкоза (CML), острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), желудочно-кишечных стромальных опухолей (GIST), внутрирастительного мастоцитоза, и миелодиспластического синдрома. В то же время полученные из дипептида соединения 7d и 7e, имеющие амидные заместители при 3-азабицикло[3.1.0]гексановом фрагменте, неактивны, а соединение 7b (с фенильной группой) показывает активность, сравнимую с соединением 4аса (6.6 мкг/мл для 7b, рис. 2.1).

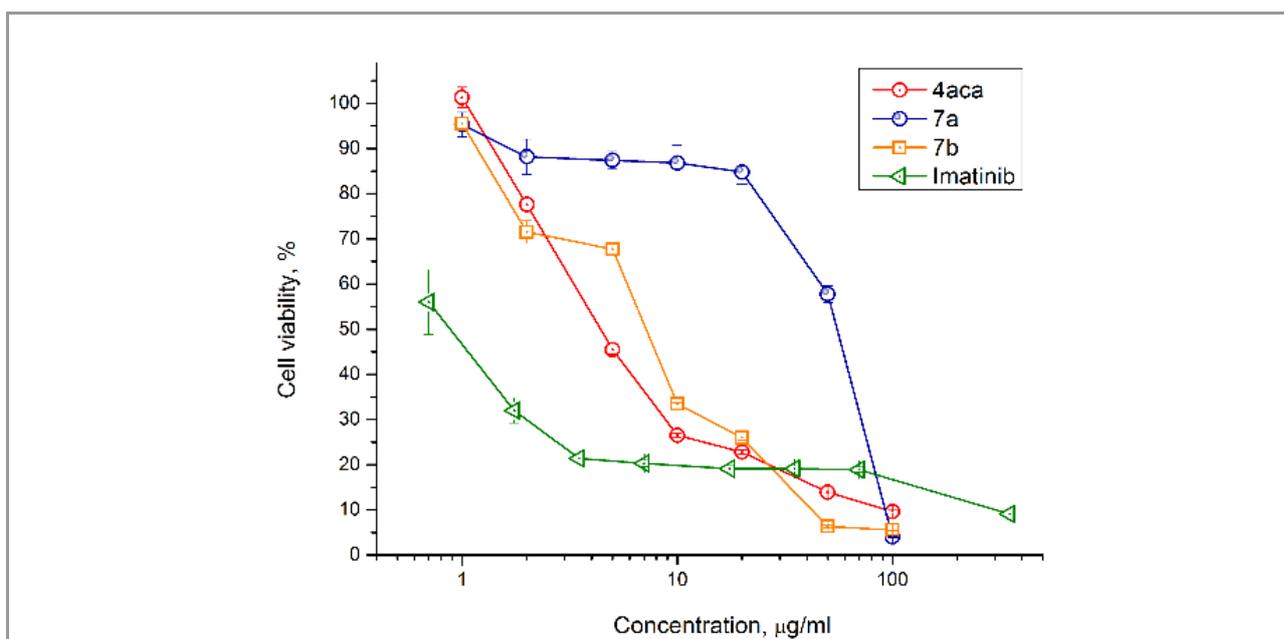


Рисунок 2.1 – Влияние соединений 4aca, 7a, 7b и Imatinib на жизнеспособность клеток линии K562 (48 ч)

При оценке противоопухолевой активности соединений на клетках линий HeLa и CT26 установлено, что иногда даже наиболее активные на клетках линии K562 соединения не оказывают цитотоксической активности и клетки остаются живыми и функционируют после 48 часов. Однако все они показали антипролиферативный эффект через 96 ч как для клеток линии HeLa, так и для клеток линии CT26 (рис. 2.2, 2.3).

Б) Исследование влияния разработанных ранее соединений со спиро[азабициклогексан]оксиндольным каркасом (которые демонстрировали выраженную цитотоксическую активность в отношении клеток эритромиелолейкоза человека K562) на клеточный цикл и организацию актинового цитоскелета клеток.

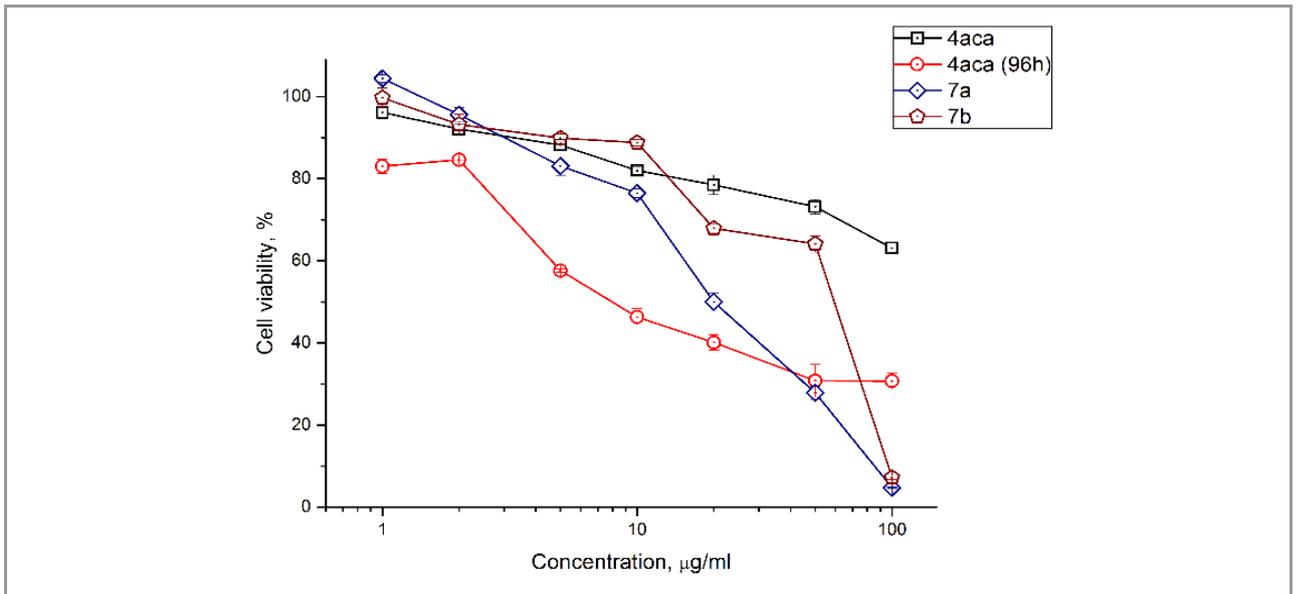


Рисунок 2.2 – Влияние соединений 4аса, 7а, 7б и Imatinib на жизнеспособность клеток линии HeLa (48 ч)

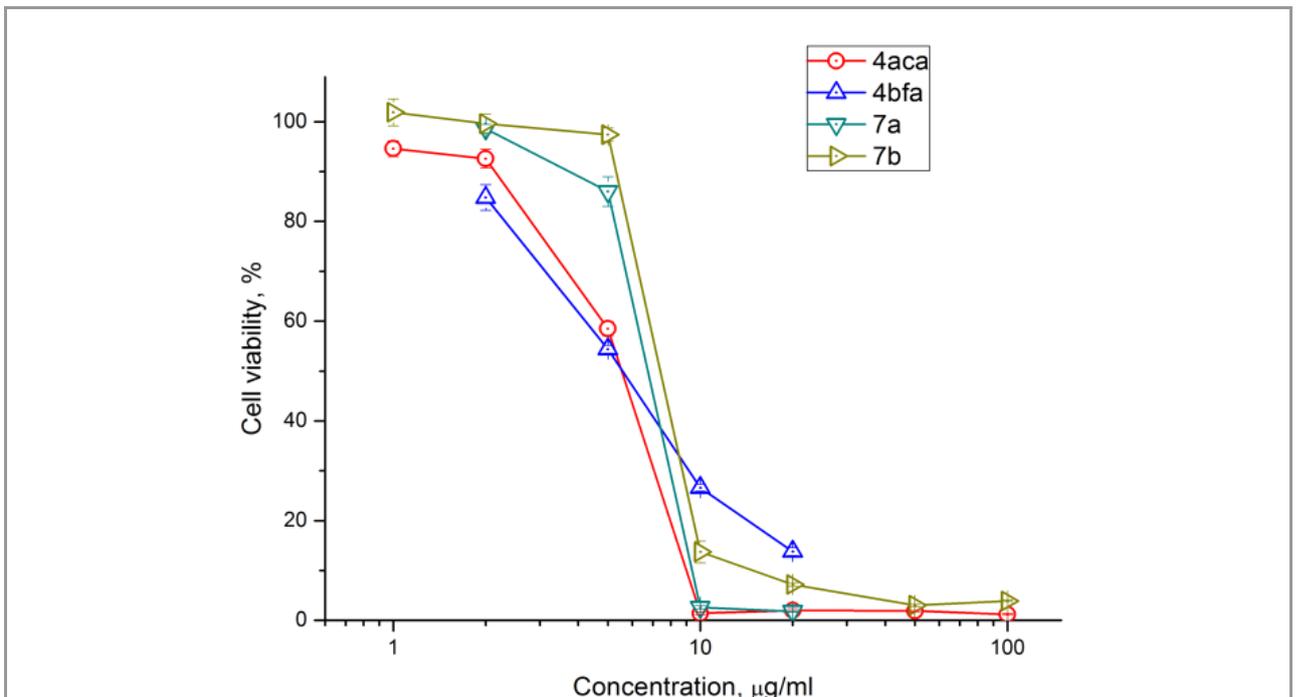


Рисунок 2.3 – Влияние соединений 4аса, 7а, 7б и Imatinib на жизнеспособность клеток линии СТ26 (96 ч)

Полученные нами данные показывают значительное влияние на клеточный цикл после воздействия веществ 9, 10 и 11 на эмбриональные фибробласты мыши 3Т3 и 3Т3 модифицированные вирусом SV40. Результаты представлены на рисунках 2.4, 2.5. Через 24 часа после обработки линии 3Т3 количество клеток в S и G2M фазах снижается с 58.02% и 15.21 % до 15.65 % и 2.12 % для вещества с изобутильным заместителем (9), 32.11 % и 0.91 % для вещества с втор-бутильным заместителем (10) и 26.74 % и 3.76 % для вещества с 2-метилтиоэтильным заместителем (11), соответственно.

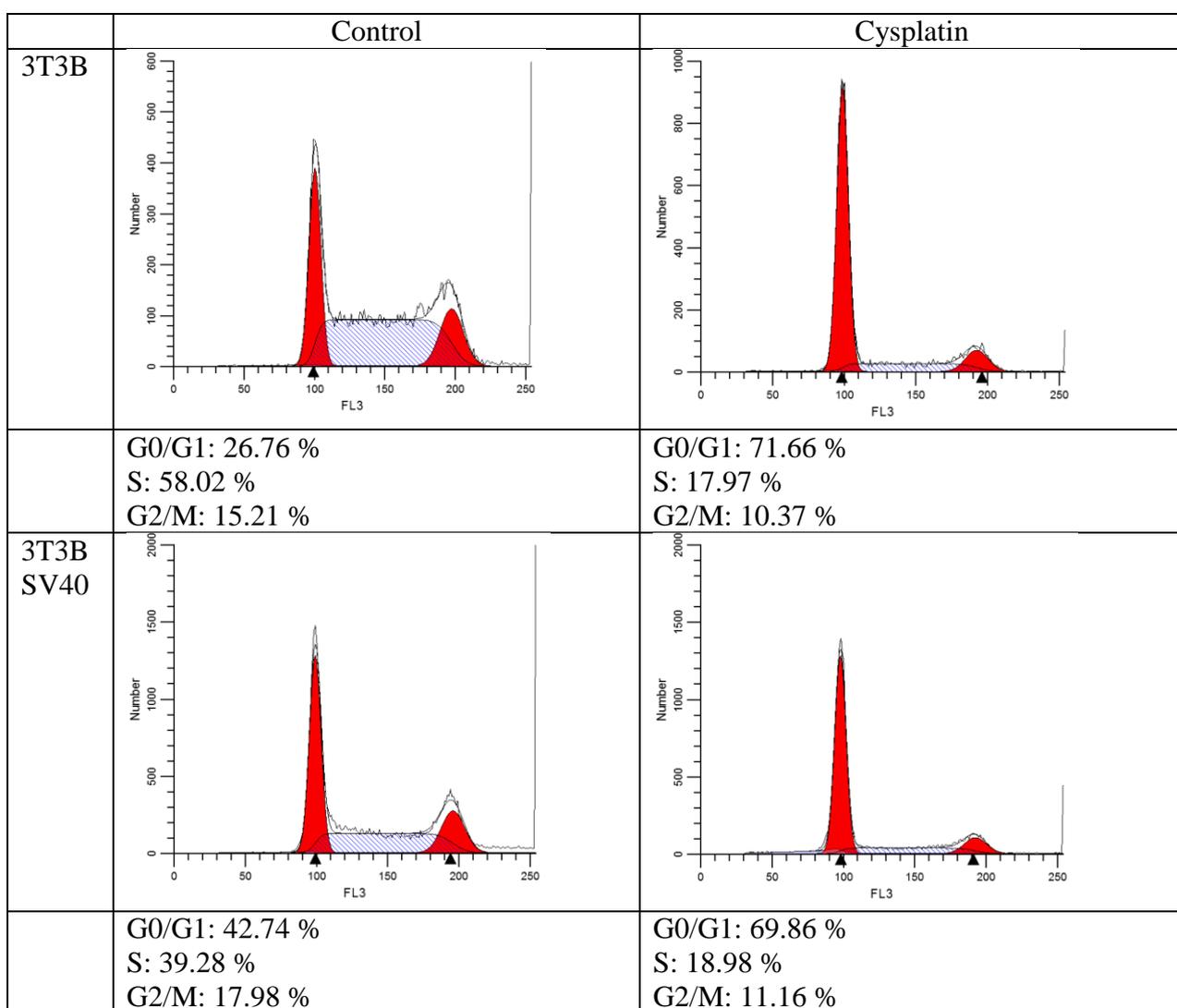


Рисунок 2.4 – Влияние цисплатина на клеточный цикл эмбриональных фибробластов мыши 3Т3 и 3Т3 модифицированных вирусом SV40

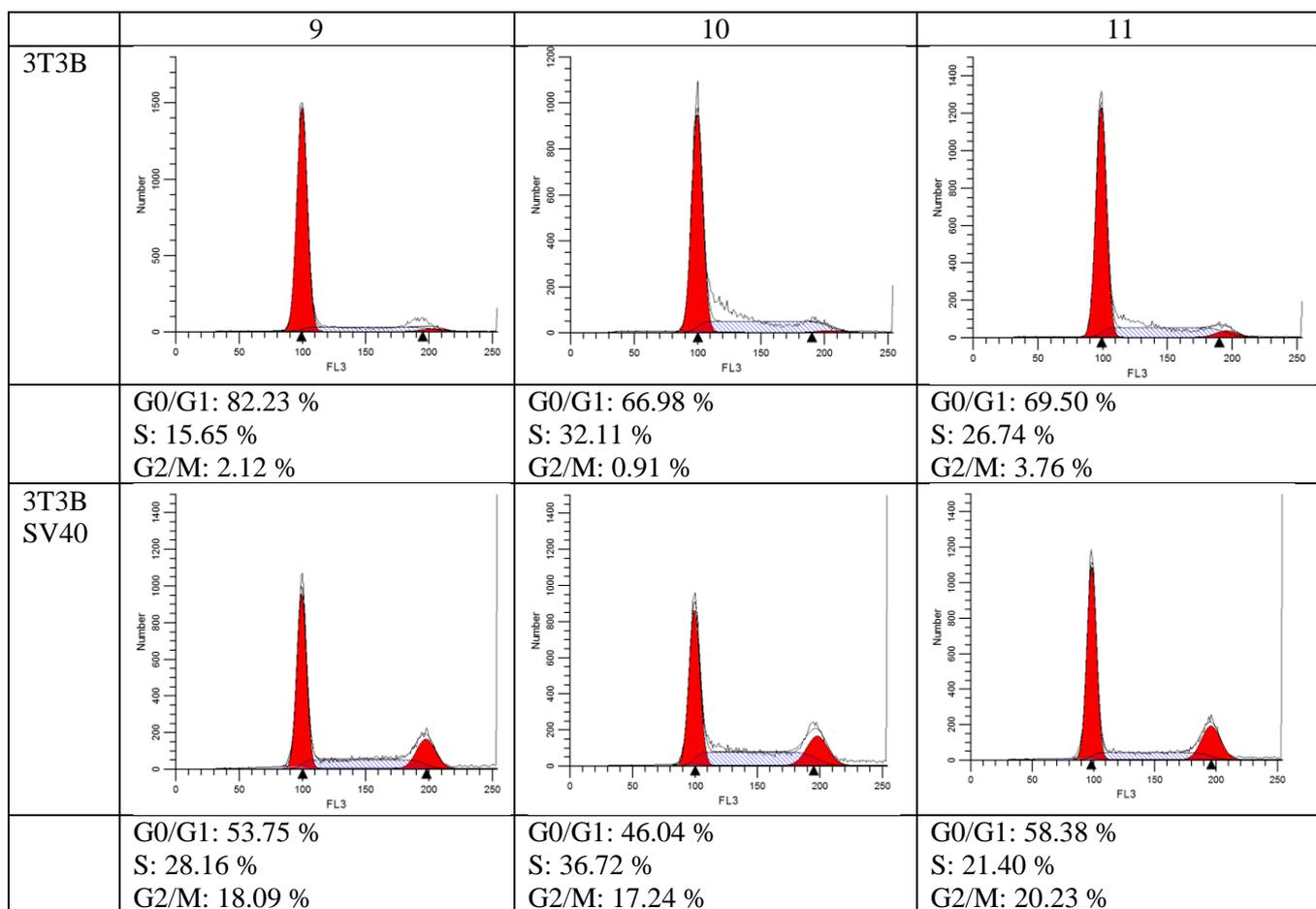


Рисунок 2.5 – Влияние веществ 9, 10 и 11 на клеточный цикл эмбриональных фибробластов мыши 3Т3 и 3Т3 модифицированных вирусом SV40

После воздействия на клетки 3Т3 модифицированные вирусом SV40 также происходит снижение количества клеток в фазе S. Так для вещества 9 количество клеток в фазе S снижалось с 39.28 % до 28.16 %, а для вещества 3 до 21.40 %. Вещество 10 не оказывало значимого влияния на клетки 3Т3 SV40. Также показано, что после обработки каждым из веществ количество мертвых клеток не изменялось и не превышало 5%. Обработка клеток 3Т3 каждым из веществ не приводила к значительному снижению количества живых клеток. Действие на клетки 3Т3 SV40 веществами 9 и 11 приводило к снижению количества живых клеток. Результаты представлены на рисунке 2.6. Полученные данные подтверждают предположение о том, что изученные вещества обладают цитостатической активностью.

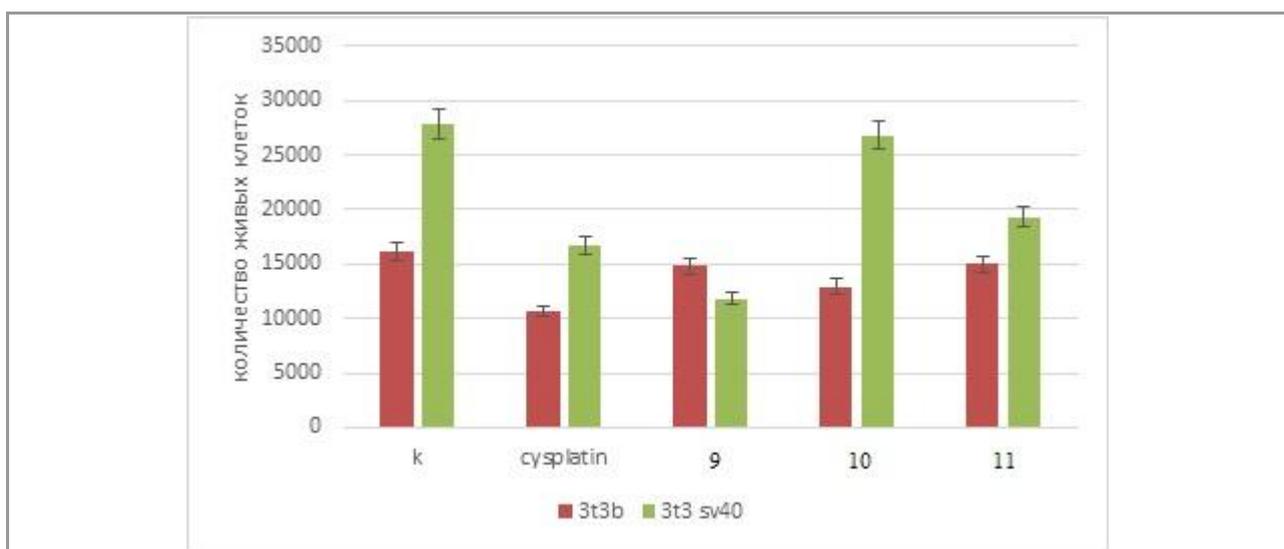


Рисунок 2.6 – Влияние веществ на основе 3-спирооксиндолов на жизнеспособность эмбриональных фибробластов мыши 3Т3 и 3Т3 модифицированных вирусом SV40

Так же нами было изучено влияние полученных соединений 9, 10 и 11 на организацию актинового цитоскелета клеток 3Т3 и 3Т3 SV40. Установлено, что каждое из исследованных веществ приводит к дезорганизации активного цитоскелета в клетках 3Т3. У 80% необработанных клеток структура актинового цитоскелета представляет собой высокоорганизованные фибриллы, в то время как после обработки каждым из веществ большая часть клеток (до 90%) имеет гранулярную структуру цитоскелета.

В случае с клетками 3Т3 SV40 цитоскелет также реорганизуется в гранулярную структуру. Наиболее характерные варианты организации актинового цитоскелета после обработки каждым из веществ представлены на рисунках 2.7, 2.8. Подобные изменения цитоскелета могут говорить об изменении двигательной активности клеток, что может говорить о снижении способности опухолевых клеток к метастазированию.

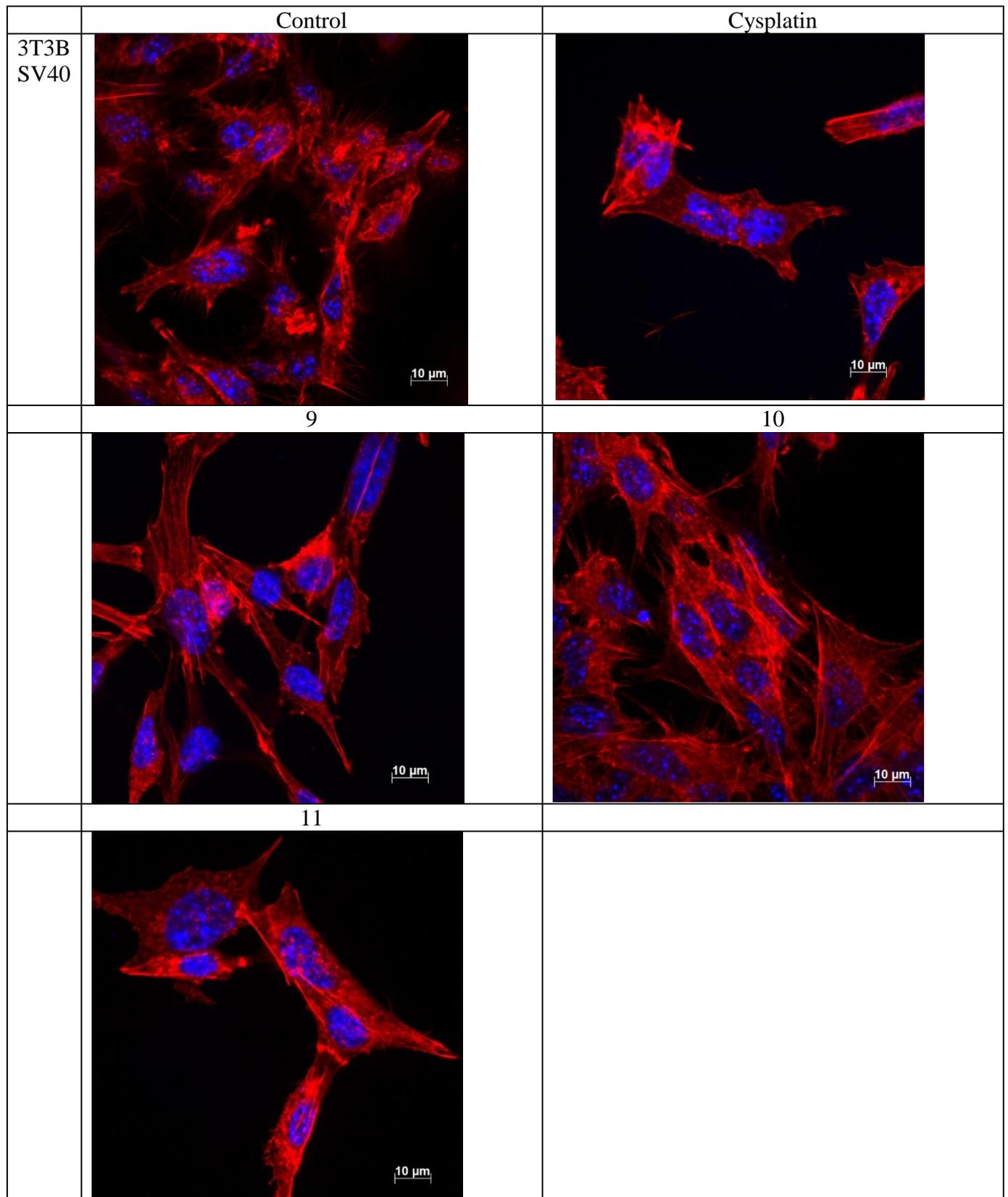


Рисунок 2.7 – Влияние веществ на основе 3-спирооксиндолов на актиновый цитоскелет эмбриональных фибробластов мыши 3Т3 модифицированных вирусом SV40

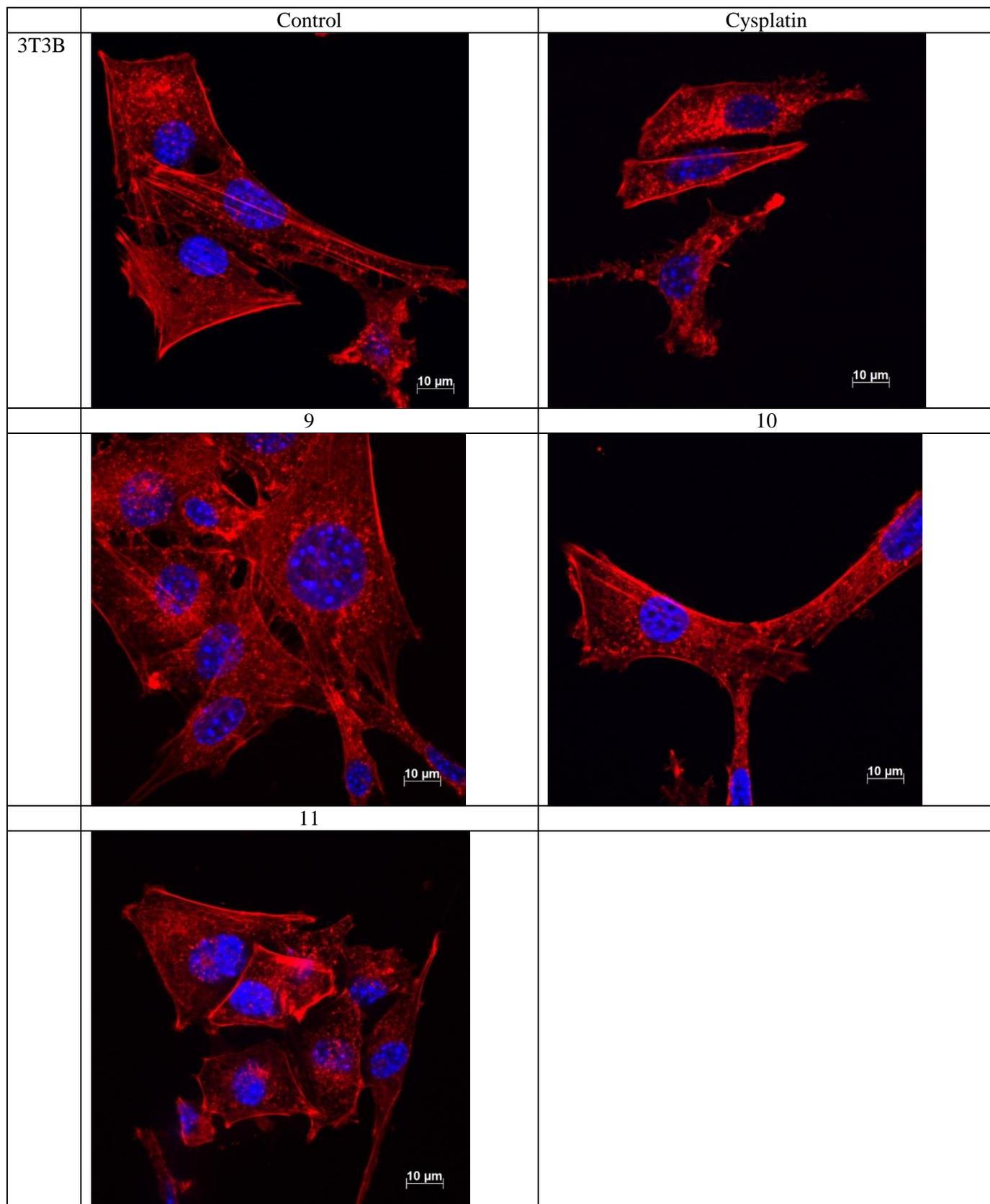


Рисунок 2.8 – Влияние веществ на основе 3-спирооксиндолов на актиновый цитоскелет эмбриональных фибробластов мыши 3Т3

Таким образом, соединения, содержащие спиросочлененные оксиндольный или индоло[2,1-b]хиназолиновый и азабицикло[3.1.0]-гексановый или циклопропа[a]пирролизиновый фрагменты представляют интерес для дальнейших биологических испытаний.

### **3 Разработка новых лекарственных нанопрепаратов на основе фотохромных блокаторов ионных каналов для оптофармакологического протезирования сетчатки**

#### **3.1 Компьютерный дизайн оптимальных молекулярных фотопереключателей на основе азобензолов и азонфталинов**

За отчетный период были проведены квантово-химические исследования оптических свойств ряда азобензолов и азонфталинов, а также кинетики их термической изомеризации для выявления перспективных блокаторов ионных каналов, которые могут быть использованы для протезирования сетчатки и восстановления зрительной функции дегенерированной сетчатки.

Так как результаты расчетов сильно зависят от выбранного метода квантово-химических расчетов, то на первом этапе мы провели сравнительное исследование, направленное на выбор наиболее оптимального метода расчета. Результаты оптимального метода расчета должны быть хорошо согласованы с экспериментальными результатами, при этом метод должен быть не слишком вычислительно затратным.

Мы провели предварительный анализ литературы. Во многих работах утверждалось, что наиболее оптимальным методом для описания термической изомеризации является В3lyp. Мы провели расчеты термодинамических характеристик ряда производных азобензолов (свободная энергия Гиббса термической изомеризации и константы скоростей реакции) для проверки этого утверждения. Расчеты проводились на уровнях В3lyp/6-31g\*//В3lyp/6-31g\* и Мр2/6-31g\*//Мр2/6-31g\*. Полученные результаты были сравнены с экспериментальными данными (таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Экспериментальные и рассчитанные значения констант скоростей реакции и свободной энергии Гиббса для термической цис-транс изомеризации производных азобензолов

Соединение	Раств.	Темп.	V3lyp/сс-pVDZ// V3lyp/сс-pVDZ		Mp2/сс-pVDZ// Mp2/сс-pVDZ		Эксп. К (сек <sup>-1</sup> )
			$\Delta G^\ddagger$ ккал/м.	К (сек <sup>-1</sup> )	$\Delta G^\ddagger$ ккал/м.	К (сек <sup>-1</sup> )	
DinitroAB	ц-гексан	308,15	19,2	1,6E-01	30,3	2,1E-09	4,0E-04
4'-MethylDAAB	ц-гексан	308,15	21,8	2,2E-03	31,8	1,7E-10	1,7E-04
4'-ChlorDAAB	ц-гексан	308,15	20,8	1,2E-02	30,9	7,3E-10	1,9E-04
2'-MethylDAAB	ц-гексан	308,15	21,7	2,8E-03	30,8	9,5E-10	9,9E-05
2-MethylDAAB	ц-гексан	308,15	21,1	6,7E-03	31,5	2,9E-10	3,1E-04
2',4'- DiMethylDAAB	ц-гексан	308,15	22,8	4,3E-04	31,8	1,7E-10	1,7E-04
2,4'- MethylChlorDAAB	ц-гексан	308,15	21,4	4,6E-03	30,6	1,3E-09	1,9E-04
2,4'- DiMethylDAAB	ц-гексан	308,15	22,2	1,2E-03	32,5	6,2E-11	4,3E-04
2,4'- MethylChlorDAAB	ц-гексан	308,15	20,7	1,4E-02	31,2	4,5E-10	6,6E-04
DAAB	ц-гексан	308,15	21,2	6,0E-03	31,2	4,8E-10	1,1E-04
NDAAB	CCl4	298,15	14,7	1,1E+02	27,1	7,9E-08	4,4E-03
2-MethylNDAAB	CCl4	298,15	14,2	2,3E+02	27,2	6,7E-08	3,5E-03
2'-MethylNDAAB	CCl4	298,15	15,2	4,6E+01	26,9	1,3E-07	6,8E-03

Из таблицы 3.1 видно, что значения констант скоростей изомеризации, рассчитанных методом MP2 и методом V3lyp, различаются на 7 порядков. Так как MP2 является методом более высокого уровня, чем V3lyp, мы предположили, что для изучаемых производных азобензолов метод V3lyp не подходит. Для подтверждения данной гипотезы мы проверили корреляцию между экспериментальными и рассчитанными значениями (рис. 3.1).

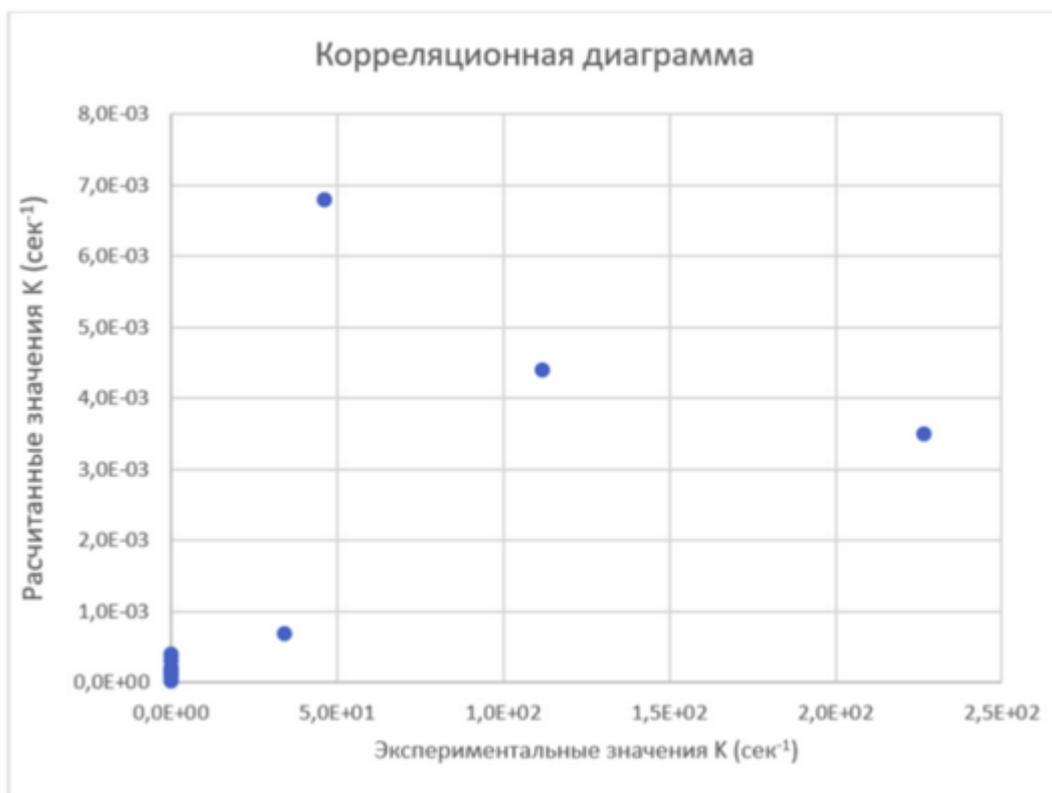


Рисунок 3.1 – Корреляционная диаграмма для всех изучаемых производных азобензолов (см. таблицу 3.1)

Значение коэффициента корреляции Пирсона для полученных данных равно 0.62. В данной выборке экспериментальные и рассчитанные на уровне B3lyp/cc-pVDZ//B3lyp/cc-pVDZ значения констант скоростей изомеризации для соединений DinitroAB, NDAAB, 2-MethylNDAAB, 2'-MethylNDAA различаются на 3 порядка. Мы построили корреляционную диаграмму, исключив из нее результаты для этих 4 соединений (рис. 3.2). Для новой диаграммы значение коэффициента корреляции Пирсона равно 0.333. На основании этих данных мы предполагаем, что метод B3lyp не подходит для описания термической изомеризации изучаемых азобензолов.

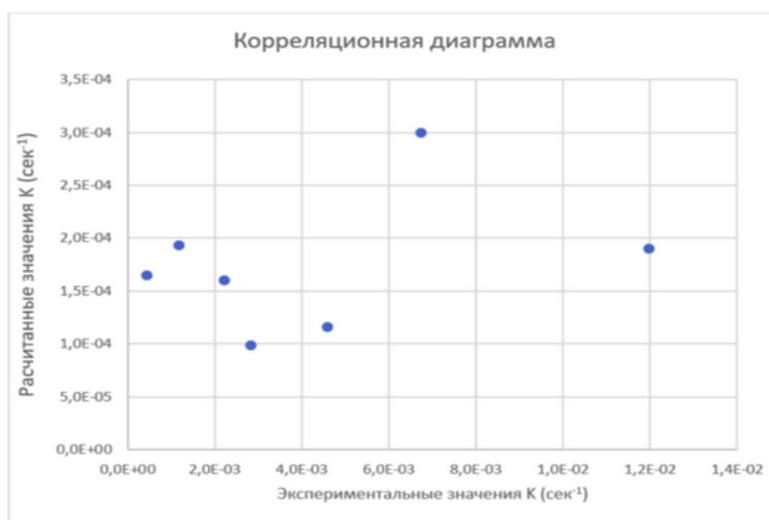


Рисунок 3.2 – Корреляционная диаграмма для производных азобензолов без значений для соединений DinitroAB, NDAAB, 2-MethylNDAAB, 2'-MethylNDAA

В связи с этим мы провели дополнительное исследование для поиска методологии, которая наиболее качественно описывает термическую изомеризацию азобензолов. Для проведения сравнительного исследования мы выбрали модельные соединения HNNH (соединение d) и CH<sub>2</sub>CHN<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (соединение Dd) (рис. 3.3). Для соединения d мы рассчитали двумерные сканы поверхности потенциальной энергии методами UCCSD(T)/cc-pVTZ, B3lyp/cc-pVTZ, CASPT2/cc-pVTZ (рис. 3.4 – 3.6).

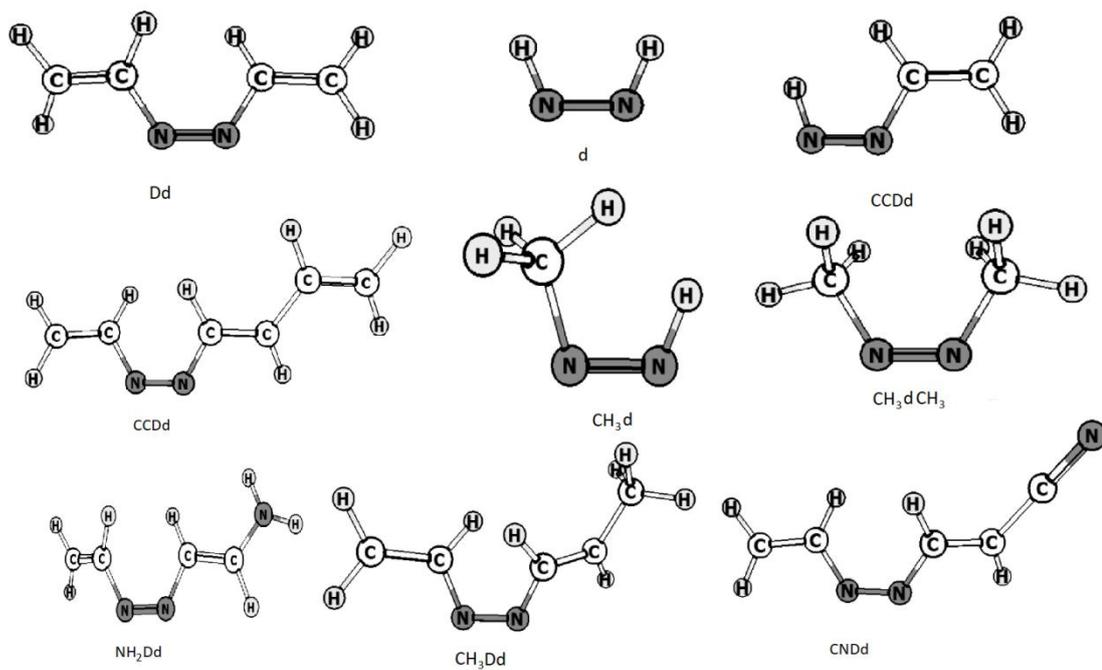


Рисунок 3.3– Геометрия цис-форм изучаемых соединений

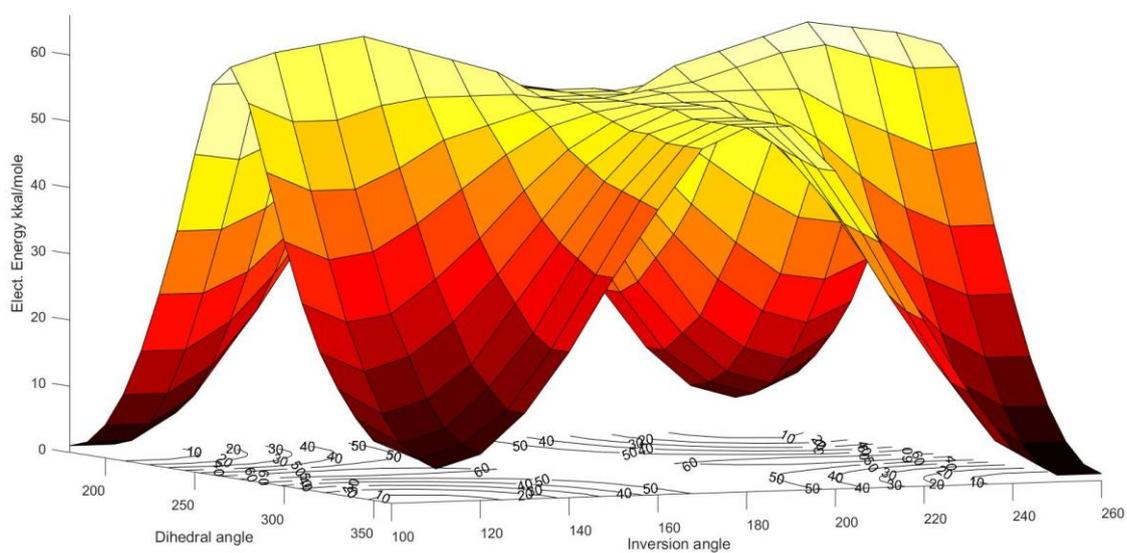


Рисунок 3.4 – Двухмерный скан поверхности потенциальной энергии для соединения d, рассчитанный методом UCCSD(T)/cc-pVDZ//MP2/cc-pVDZ

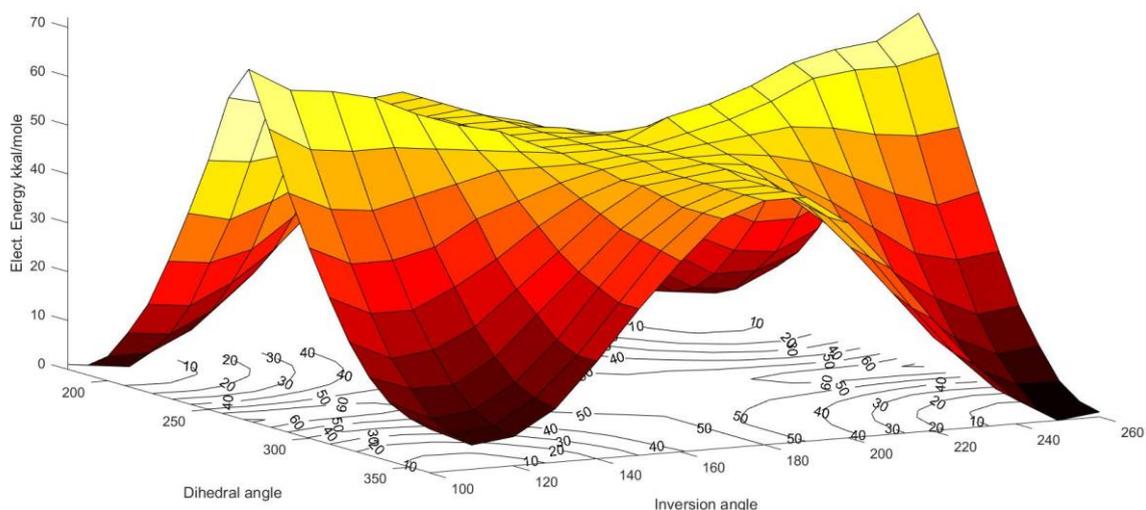


Рисунок 3.5 – Двухмерный скан поверхности потенциальной энергии для соединения d, рассчитанный методом B3LYP/cc-pVDZ//MP2/cc-Pvdz

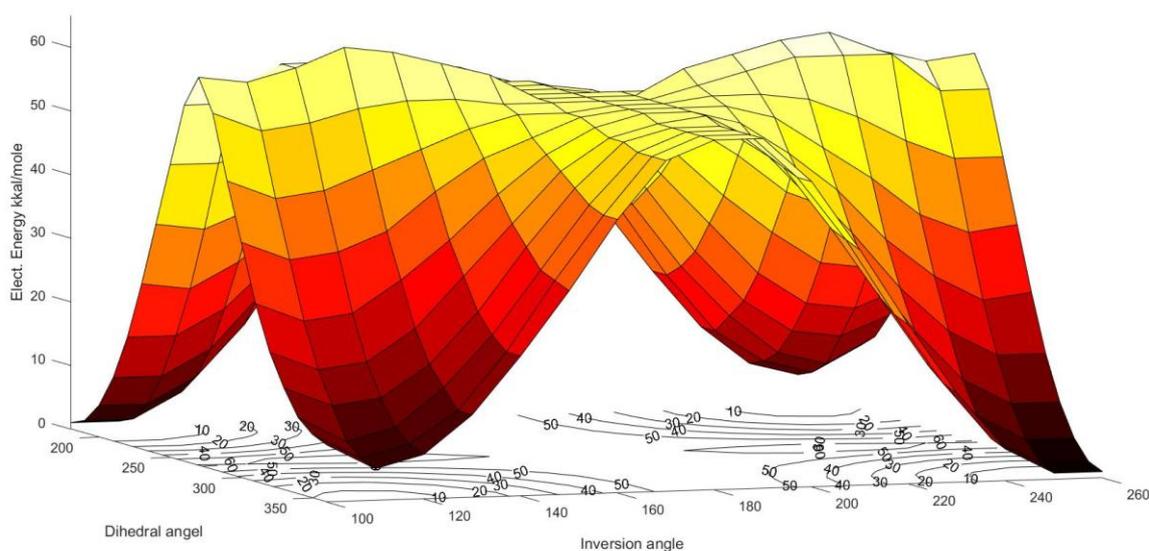


Рисунок 3.6 – Двухмерный скан поверхности потенциальной энергии для соединения d, рассчитанный методом CASPT2/cc-pVDZ//MP2/cc-pVDZ

На рис. 3.4 – 3.6 представлены расчеты поверхностей потенциальной энергии для двух основных реакционных координат. На основании полученных данных можно сделать следующий вывод: методы B3LYP/cc-pVDZ, CCSD(T)/cc-pVDZ для соединения d (HNNH) показывают только одно инверсионное переходное состояние. Методы, основанные на расчете

мультиконфигурационных волновых функций, показывают наличие двух переходных состояний (инверсионное, ротационное).

В предыдущих работах предполагалось, что для изучаемых соединений реакция может протекать вдоль ротационного пути с переходом на триплетную поверхность. Мы подтвердили данную гипотезу, рассчитав кривую потенциальной энергии для состояний S0 и T1 вдоль ротационной координаты реакции (рис. 3.7).

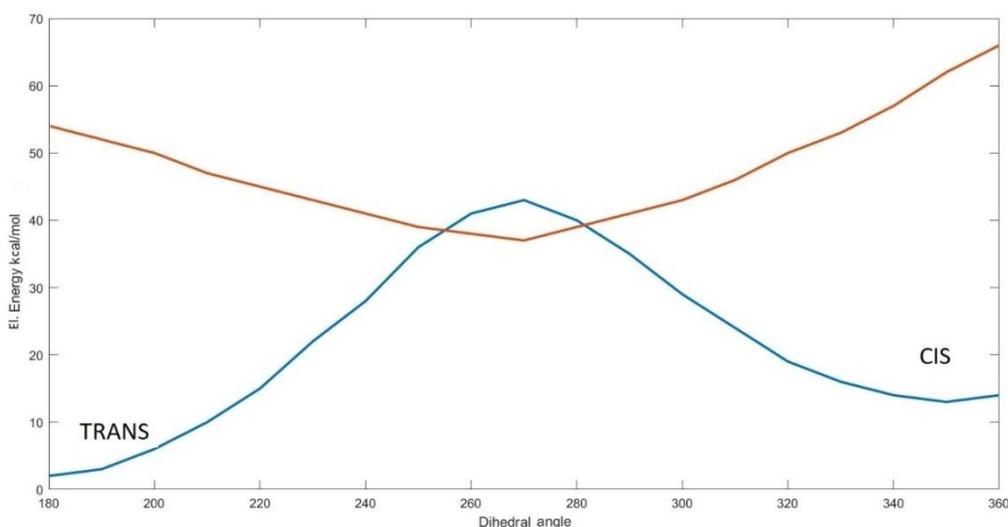


Рисунок 3.7 – Кривая потенциальной энергии для состояний S0 и T1 соединения d (HNNH) вдоль ротационной координаты реакции

На следующем шаге мы должны были подтвердить, что для изучаемых соединений расчеты, проводимые методом CASPT2/cc-pVDZ, хорошо описывают реальные процессы. Из экспериментальных данных известно, что для соединения d реализуется разложение на водород и азот, но неизвестно, происходит ли при этом изомеризация. Мы сравнили результаты расчетов, сделанных методом MRCI-Q/cc-pVDZ, который наиболее близко подходит к Full-CI среди доступных для данного соединения методов квантово-химических расчетов, с результатами, полученными другими методами (UCCSD(T)/cc-pVTZ, B3lyp/cc-pVTZ, CASPT2/cc-pVTZ).

Из данных представленных на рис. 3.8 видно, что результаты, полученные методом CASPT2 с полным валентным пространством, хорошо согласуются с результатами расчетов, сделанных методом MRCI-Q/сс-pVDZ. К сожалению, метод CASPT2 является слишком вычислительно затратным для азобензола и его производных, поэтому необходимо было подобрать менее вычислительно затратный метод. Для этого мы провели сравнительное исследование, рассчитав характеристики соединений d, Dd и их производных (рис. 3.3) различными одноконфигурационными методами и мультikonфигурационным методом (MRCI). Для предварительной оптимизации геометрии изучаемых соединений использовался метод CASPT2/сс-pVDZ.

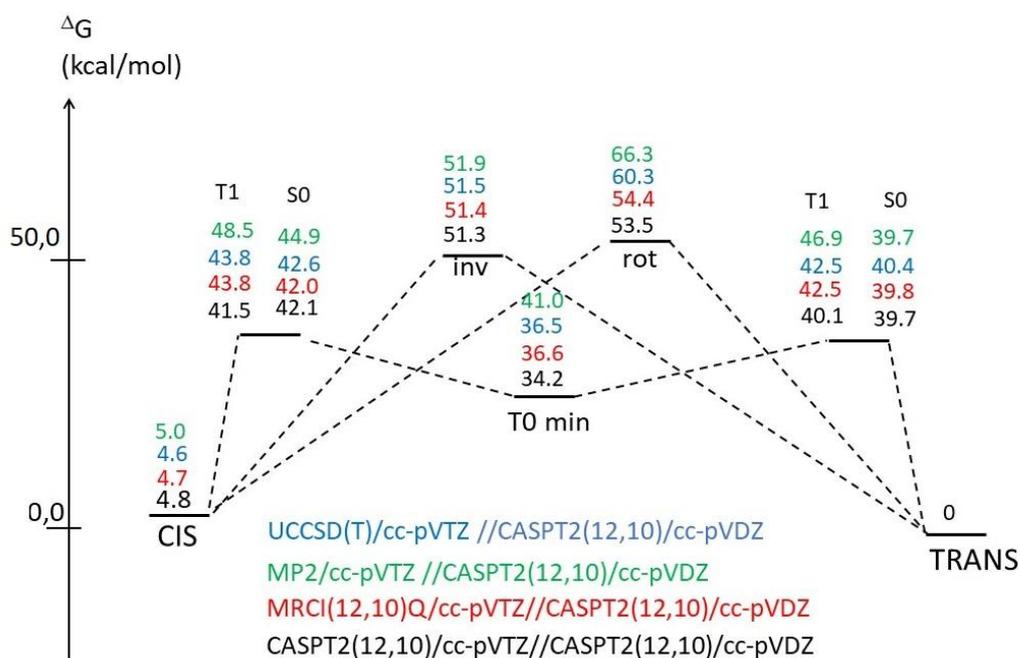


Рисунок 3.8 – Поверхность потенциальной энергии для реакции изомеризации соединения d (HNNH)

Из результатов сравнительного исследования стало видно, что для цис- и транс- форм изучаемых соединений все методы, кроме CASSCF, согласуются между собой. В связи с этим мы выбрали метод B3lyp для оптимизации цис- и транс- форм изучаемых соединений. Для инверсионного переходного состояния согласуются методы M06HF и MP2, CASPT2, MRCI, UCCSD(T). В связи с этим, мы выбрали метод M06HF для дальнейших расчетов инверсионных переходных состояний.

В ряду соединений d, CCd, Dd, CCD (рис. 3.3) с ростом размера сопряженной системы значения энергии активации, рассчитанные методами CASSCF и RASSCF, приближаются к значениям, рассчитанным методом CASPT2 для ротационного переходного состояния и межконфигурационной конверсии. В связи с этим мы выбрали метод RASSCF(x,22,y,2,z) для оптимизации соответствующих состояний. Для пересчета энергии был выбран метод RASPT2(x,22,y,2,z).

Для расчета оптических свойств производных азобензола и тетраалкиламмоний- замещенных азнафталинов использовался метод TD-DFT CAM-B3lyp/6-31g(d,p)//B3lyp/6-31g\*. В предыдущих исследованиях было показано, что данный метод хорошо описывает оптические свойства азобензола. Мы рассчитали электронные спектры ряда соединений, экспериментальные данные для которых были найдены в литературе. Результаты расчета для соединений в транс-форме совпали с экспериментальными данными (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Спектры поглощения транс-изомеров тетраалкиламмоний-замещенных азнафталинов и азобензолов, рассчитанные методом CAM-B3LYP/6-31g(d,p)//B3LYP/6-31g(d).

Соединение	Форма	Расч. значения (нм.)	Эксп. значения (нм.)
4-NMe <sub>2</sub> -Naphth-AQ	транс	422	420
4-HO-Naphth-AQ	транс	450	500
	транс прот.	503	500
AAQ	транс	377	364
BzAQ	транс	367	367
PrAQ	транс	357	338
DENAQ	транс	377	470
PhENAQ	транс	411	456
QAQ	транс	368	362
DENAQ-4F	транс	391	487

Для соединения 4-NMe<sub>2</sub>-Naphth-AQ из экспериментальных данных было известно, что при pH=7 имеется одна полоса поглощения с максимумом на 422 нм, при pH=2 имеется две полосы поглощения (максимумы 355 и 560 нм). Мы предположили, что разница возникает из-за сосуществования двух различным образом протонированных форм в растворе при pH=2. Протонирование может проходить по двум группам – амино-группе и одному из азотов в N=N связи. Мы проверили это предположение, и рассчитали спектры поглощения с этими двумя типами протонирования. Результаты сравнили с экспериментальными (рис. 3.9). Из рис. 3.9 видно, что рассчитанные методом TD-DFT полосы поглощения хорошо согласуются с экспериментальными данными.

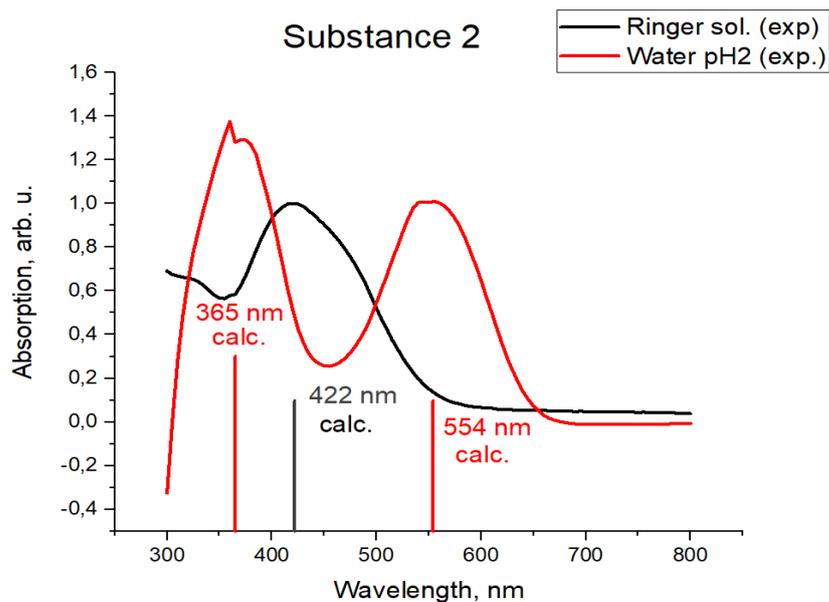


Рисунок 3.9– Сравнение экспериментального спектра поглощения соединения 4-NMe<sub>2</sub>-Naphth-AQ при pH=2 с рассчитанными полосами поглощения (метод TD-DFT CAM-B3lyp/6-31g(d,p)//B3lyp/6-31g\*)

Так как при pH=2 протонируется один из атомов азота, входящих в активный центр, то изомеризация может протекать через протонированное переходное состояние. На рис. 3.10, 3.11 представлены поверхности потенциальной энергии для соединений 4-НО-Naphth-AQ и AAQ. Из представленных данных видно, что поверхность потенциальной энергии, соответствующая протонированному состоянию, находится ниже по энергии.

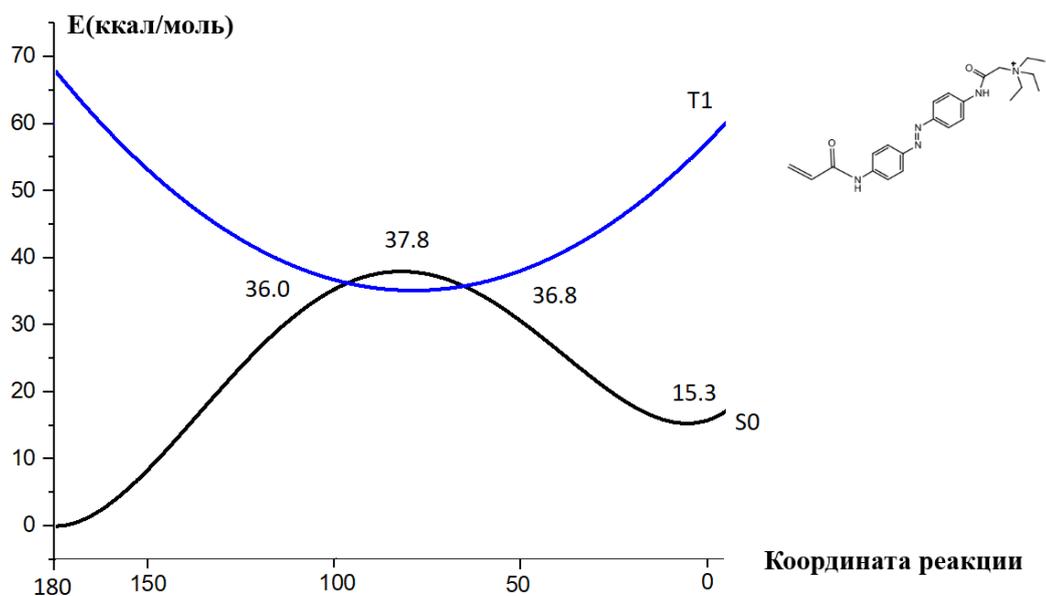


Рисунок 3.10 – Поверхность потенциальной энергии изомеризации соединения AAQ (структурная формула представлена на рисунке)

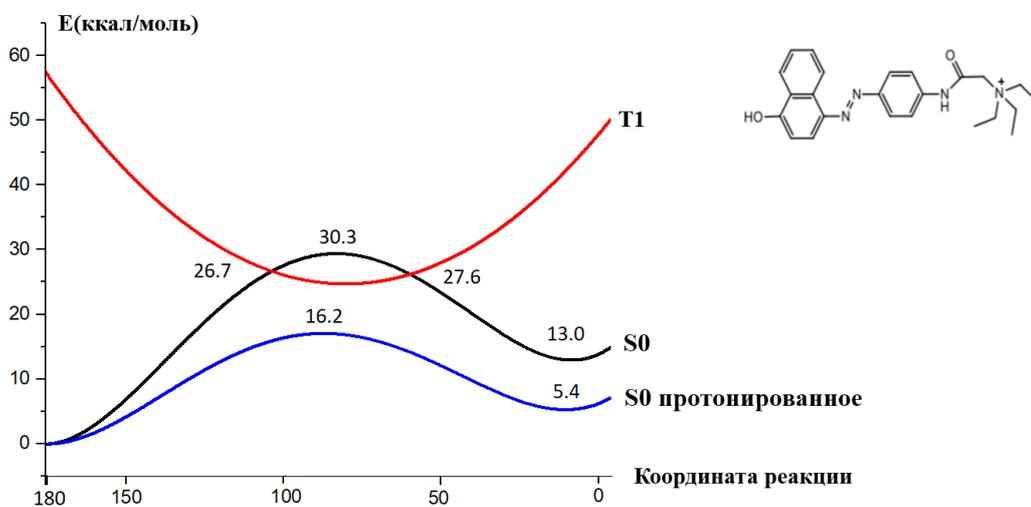


Рисунок 3.11 – Поверхность потенциальной энергии изомеризации соединения 4-НО-Napht-AQ (структурная формула представлена на рисунке)

Были рассчитаны значения энергий активации и констант реакции для ряда производных азофталинов и азобензолов (таблицы 3.3, 3.4). Из таблицы 3.3 видно, что переходное состояние, соответствующее протонированной форме, всегда находится ниже по энергии. Из этого следует, что если транс-форма соединения при интересующем значении рН является протонированной, то реакция изомеризации пойдет через протонированное S0 состояние.

Таблица 3.3 – Рассчитанные значения энергии активации для серии производных азофталинов и азобензолов

Соединение	Акт. Простр. (x,y,z)	RASPT2(x22y2z)/cc-pVDZ		
		$\Delta G^\ddagger$ ккал/м. (прот.)	$\Delta G^\ddagger$ ккал/м. (межк.)	$\Delta G^\ddagger$ ккал/м. (рот.)
DENAQ	24,11,7	15,9	19,3	22,1
PhENAQ	26,12,8	15,4	18,9	21,8
EtOAQ	24,11,7	13,3	19,4	20,4
AAQ	28,12,9	15,4	21,0	23,0
PrAQ	22,10,7	17,1	21,1	23,4
QAQ	28,13,7	17,1	21,0	23,2
CNAQ	24,11,8	15,8	18,2	20,0
2,4-diHO-NAQ	26,12,7	14,3	19,6	21,3
2-HO-4-EtO-AQ	26,12,7	14,6	20,1	22,7
Napht-AQ	26,12,9	16,1	20,3	22,8
4-NMe <sub>2</sub> -Napht-AQ	28,13,9	14,8	18,7	21,4
4-HO-Napht-AQ	28,13,9	10,8	14,6	17,3
4-CN-Napht-AQ	28,13,10	15,6	18,7	21,3
2-Me <sub>2</sub> N-Napht-AQ	28,13,9	15,9	20,0	22,4
2-HO-Napht-AQ	28,13,9	11,7	16,6	19,1

Таблица 3.4 – Сравнение рассчитанных констант реакций для производных азобензолов и азнафталинов с экспериментальными значениями. Водный растворитель, pH=7

Соединение	RASPT2(x22y2z)/cc-pVDZ		Эксперимент К (сек <sup>-1</sup> )	Путь реакции
	$\Delta G^\ddagger$ ккал/м.	К (сек <sup>-1</sup> )		
DENAQ	15,9	1,4E+01	2,3E+00	Прот.
PhENAQ	15,4	8,6E-02	4,3E-01	Прот.
AAQ	21,0	2,5E-03	1,1E-03	Не прот.
PrAQ	21,1	9,0E-04	8,9E-03	Не прот.
4-NMe <sub>2</sub> -Napht-AQ	14,8	9,0E+01	1,9E+00	Прот.
4-HO-Napht-AQ	10,8	7,5E+04	1,8E+04	Прот.
2-HO-Napht-AQ	15,9	1,6E+04	3,1E+03	Прот.

*Выводы:*

(1) Было проведено сравнительное исследование, направленное на подбор наиболее оптимальной методологии для моделирования термической изомеризации азобензолов. Было показано, что DFT методы (B3lyp) не подходят для моделирования термической изомеризации азобензолов. Была подобрана методика для моделирования производных азосоединений.

(2) Был исследован механизм изомеризации модельных соединений (включающих активный центр азобензолов) и производных азобензолов. Было показано, что поверхность потенциальной энергии протонированной формы производных азобензолов находится ниже по энергии.

(3) Было показано, что методологии TD-DFT CAM-B3lyp/6-31g(d,p)//B3lyp/6-31g\* позволяют точно воспроизводить положения максимумов поглощения производных азобензола.

## 3.2 Разработка методологий синтеза и синтез предложенных фотохромных переключателей

За отчетный период с помощью современных экспериментальных методов синтетической органической химии осуществлен синтез и наработка 9 азопроизводных для оптических и физиологических исследований. Структуры полученных соединений представлены на рисунке 3.12.

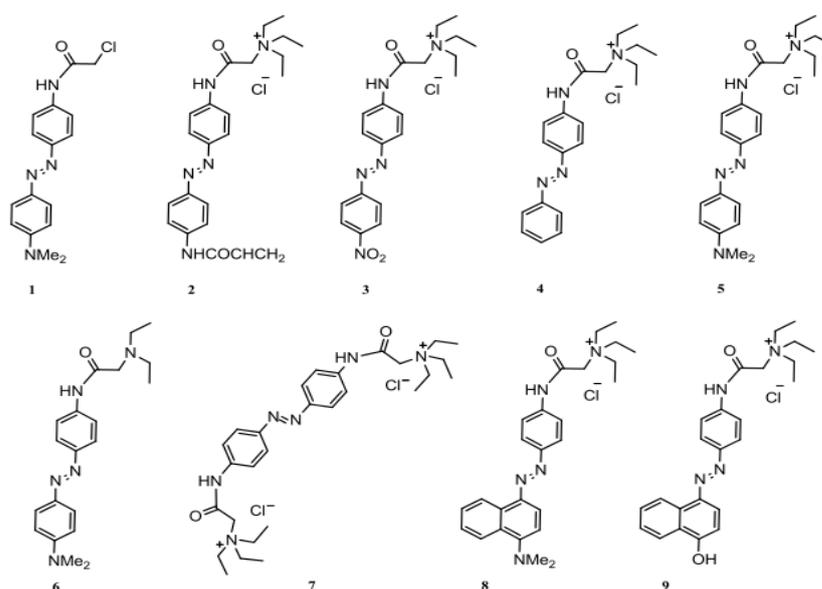


Рисунок 3.12 – Структуры синтезированных азопроизводных

### *Синтез азобензолов, содержащих тетраэтиламмонийный фрагмент*

Водорастворимые азобензолы, содержащие тетраэтиламмонийный фрагмент, синтезировали в несколько стадий из простых и легкодоступных соединений. Азогруппа вводилась реакцией азосочетания соли диазония с соответствующим ароматическим амином или нафт-1-олом (схемы 3.1, 3.3).

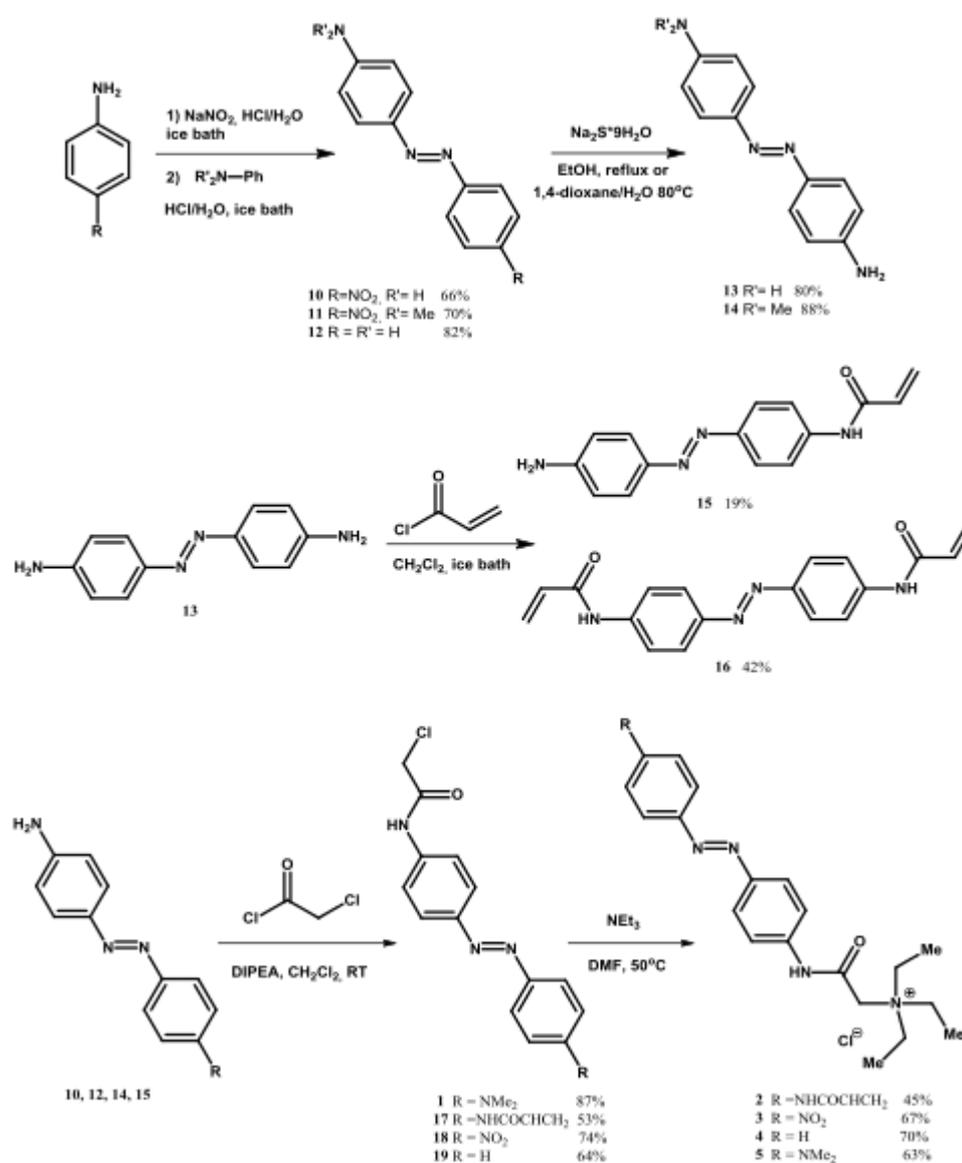


Схема 3.1 – Синтез азобензолов, содержащих четвертичный аммонийный катион

Четвертичный аммонийный катион вводился в целевой продукт в две стадии. На первой стадии в результате обработки аминоазобензолов хлорангидридом хлоруксусной кислоты происходило образование соответствующих амидов. Взаимодействие последних с триэтиламином приводило к образованию целевых соединений с умеренными выходами. Симметрично замещенный аддукт **7** (QAQ, схема 3.2) был получен аналогичным образом из 4,4'-диаминоазобензола (схема 3.3).

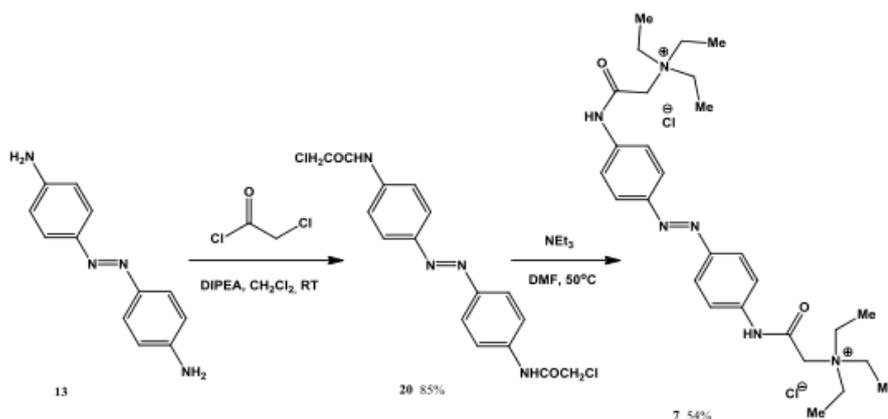


Схема 3.2 – Синтез симметрично замещенного азобензола, содержащего четвертичный аммонийный катион

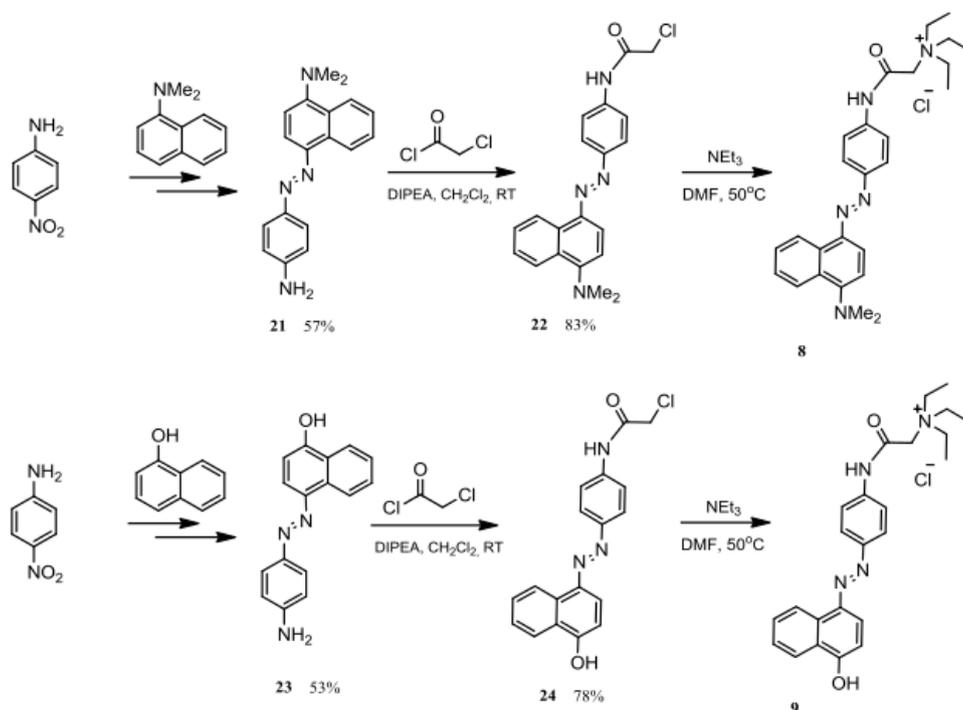


Схема 3.3 – Синтез азобензонафталинов, содержащих четвертичный аммонийный катион

4-[(E)-(4-Нитрофенил)дiazенил]анилин (10). 4-Нитроанилин (16.9 г, 0.12 моль) растворяли в смеси воды (50 мл) и водной концентрированной соляной кислоты (50 мл) при нагревании на водяной бане. К полученному раствору при охлаждении льдом добавляли раствор нитрита натрия (8.4 г, 0.12 моль) в воде (31 мл). Образовавшийся гомогенный раствор перемешивали в течение 1 ч и затем медленно добавляли раствор анилина

(11.4 г, 0.12 моль) в смеси воды (122 мл) и водной концентрированной соляной кислоты (25 мл) при температуре 0-5°C. Смесь перемешивали при охлаждении еще в течение 2 ч и затем нейтрализовали с помощью водного раствора аммиака. Полученную смесь отфильтровали и промыли водой и этанолом. Красно-коричневый порошок высушили в вакууме. Получали (10) с выходом 66%.

*(E)-N,N-Диметил-4-((4-аминофенил)дiazенил)анилин (11)* получали согласно вышеприведенной методике из 4-нитроанилина (1 экв.) и N,N-диметиланилина (1 экв.). Выход продукта 70%.

*(E)-4-((4-фенил)дiazенил)анилин (12)* получали согласно вышеприведенной методике из 4-нитроанилина (1 экв.) и анилина (1 экв.). Выход продукта 82%.

*4-(E)-((4-Аминофенил)дiazенил)-N,N-диметилнафталин-1-амин (21)* получали согласно вышеприведенной методике из 4-нитроанилина (1 экв.) и N,N-диметилнафталин-1-амин (1 экв.). Выход продукта 57%.

*4-(E)-((4-Аминофенил)дiazенил)нафт-1-ол (23)* получали согласно вышеприведенной методике из 4-нитроанилина (1 экв.) и 1-нафтола (1 экв.). Выход продукта 53%.

*4,4'-(E)-Диазено-1,2-диилданилин (13)*. Раствор амина 10 (5.0 г, 18.5 ммоль) и наонагидрата сульфида натрия (9.8 г, 37 ммоль, 2 экв.) в этаноле (300 мл) кипятили 3 ч. Растворитель отогоняли в вакууме. Образовавшееся коричневое масло перерастворяли в смеси воды (250 мл) и насыщенного водного раствора соли (15 мл), экстрагировали этилацетатом (3 x 100 мл), сушили над сульфатом магния, упарили до примерно 50 мл и отфильтровали через слой силикагеля (25 г). Получали 13 в виде красноватого порошка с выходом 80%.

*(E)-N,N-Диметил-4-((4-аминофенил)дiazенил)анилин (14)*. К раствору п-нитроазобензола 11 (1 экв) в смеси 1,4-диоксан-вода (10:1) добавили раствор наонагидрата сульфида натрия (1 экв) и реакционную смесь оставили

на 1 ч при 90°C. Протекание реакции контролировали по ТСХ, добавляя новую порцию сульфида натрия каждый час при наличии в смеси исходного азобензола. После завершения реакции раствор вылили в насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Продукт экстрагировали хлористым метиленом, объединенные органические экстракты промыли насыщенным водным раствором соли, сушили над сульфатом магния. Растворитель упарили при пониженном давлении, продукт чистили колоночной хроматографией (элюент гексан-этилацетат, 7:3). Выход продукта 88%.

*N*-{4-[(*E*)-(4-Аминофенил)дiazенил]фенил}акриламид (15) и *N,N'*-[(*E*)-diazен-1,2-диилбис(4,1-фенилен)]бисакриламид (16). К интенсивно перемешиваемому раствору амина 13 (1.0 г, 4.7 ммоль) в хлористом метиле (200 мл) прикапывали раствор хлорангидрида акриловой кислоты (0.38 мл, 4.7 ммоль) в хлористом метиле (10 мл) при 0 °С. Реакционную смесь перемешивали 12 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. Растворитель отгоняли в вакууме. Продукты анализировали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) и разделяли на колонке с силикагелем (элюент гексан – этилацетат). Соединение 15: красно-оранжевый порошок (19%); соединение 16: красно-коричневый порошок (42%).

*N*-[4-((*E*)-{4-[(2-Хлоацетил)амино]фенил}diazенил)фенил]акриламид (17). К интенсивно перемешиваемому раствору амина 15 (0.5 г, 1.8 ммоль) и DIPEA (диизопропилэтиламин, 0.9 мл, 3 экв.) в хлористом метиле (15 мл) добавляли раствор хлорангидрида хлоруксусной кислоты (0.17 мл, 1.2 экв.) в хлористом метиле (5 мл) при 0 °С. Реакционную смесь перемешивали еще 12 ч при комнатной температуре, разбавляли водой и экстрагировали хлористым метиленом (2 x 20 мл). Объединенные органические вытяжки промывали 5% водным раствором соляной кислоты (15 мл) и воды (15 мл), сушили над сульфатом магния. Полученный после отгонки растворителя коричневый порошок очищали с помощью флэш-хроматографии на

силикагеле (элюент гексан – этилацетат). Получали 17 в виде красного порошка с выходом 53%.

*(E)-2-Хлор-N-(4-((4-нитрофенил)дiazенил)фенил)ацетамид* (18)

получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего аминоазобензола 10 (1 экв.) и хлорангидрида хлоруксусной кислоты (1.5 экв.). Выход продукта 74%.

*(E)-2-Хлор-N-(4-(фенилdiazенил)фенил)ацетамид* (19)

получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего аминоазобензола 12 (1 экв.) и хлорангидрида хлоруксусной кислоты (1.5 экв.). Выход продукта 64%.

*(E)-2-Хлор-N-(4-((4-диметиламинофенил)дiazенил)фенил)ацетамид* 1

получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего аминоазобензола 14 (1 экв.) и хлорангидрида хлоруксусной кислоты (1.5 экв.). Выход продукта 87%. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.06 (с, 6H), 4.30 (с, 2H), 6.84 (д, J=8 Гц, 2H), 7.70-7.80 (м, 6H). HRMS (ESI): m/z [MH]<sup>+</sup> вычислено для C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O 316.1091, найдено: 316.1085

*(E)-N,N'-(Diazen-1,2-диилбис(4,1-фенилен))бис(2-хлорацетамид)* (20)

получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего диаминоазобензола 13 (1 экв.) и хлорангидрида хлоруксусной кислоты (3 экв.). Выход продукта 85%.

*2-(E)-Хлор-N-(4-((4-(диметиламино)нафт-1-*

*ил)дiazенил)фенил)ацетамид* (22) получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего аминоазопроизводного 21 (1 экв.) и хлорангидрида хлоруксусной кислоты (1.5 экв.). Выход продукта 83%.

*2-(E)-Хлор-N-(4-((4-гидрокинафт-1-ил)дiazенил)фенил)ацетамид* (24)

получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего аминоазопроизводного 23 (1 экв.) и хлорангидрида хлоруксусной кислоты (1.2 экв.). Выход продукта 78%.

2-[(4-((E)-[4-акрилоламино)фенил]дiazенил)фенил)амино]-N,N,N-триэтил-2-оксоэтанаммоний хлорид (2, AAQ). К раствору соединения 17 (0.3 г, 0.9 ммоль) в диметлформамиде (5мл) добавляли триэтиламин (0.2 мл). Смесь перемешивали 12 ч в атмосфере азота при 50 °С. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, растворитель отгоняли в вакууме. Образовавшийся красный продукт растворяли в дистиллированной воде и отфильтровывали нерастворившийся осадок. Растворитель отгоняли в вакууме с образованием чистого продукта 2, AAQ в виде красного порошка с выходом 45%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, D<sub>2</sub>O): δ 1.12 (т, J = 7 Гц, 9H), 3.37 (м, 6H), 4.35 (с, 2H), 5.77 (дд, J = 10 и 2 Гц, 1H), 6.29 (дд, J = 17 и 2 Гц, 1H), 6.47 (дд, J = 17 и 10 Гц, 1H), 7.69-7.75 (м, 4H), 7.82-7.89 (м, 4H), 11.71 (с, 1H), 12.11 (с, 1H). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, D<sub>2</sub>O): 7.8 (3C), 53.3, 56.5 (3C), 120.5 (2C), 121.1 (2C), 123.2, 125.2 (2C), 128.8 (2C), 132.8, 141.8, 142.6, 148.5, 149.7, 160.4, 163.9. HRMS (ESI): m/z [M]<sup>+</sup> вычислено для C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: 408.2394, найдено: 408.2405.

(E)-N,N,N-Триэтил-2-((4-((4-нитрофенил)дiazенил)фенил)амино)-2-оксоэтанаммоний хлорид 3, NO<sub>2</sub>-AQ) получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего азобензола 18 (1 экв.) и триэтиламина (1.5 экв.). Выход продукта 67%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1.32 (т, J=8 Гц, 9H), 3.40-3.60 (м, 6H), 4.45 (с, 2H), 7.90-8.05 (м, 4H), 8.07 (д, J=8 Гц, 2H), 8.44 (д, J=8 Гц, 2H), 12.0 (уш. с. 1H). HRMS (ESI): m/z [M]<sup>+</sup> вычислено для C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: 384.2030, найдено: 384.2032.

(E)-N,N,N-Триэтил-2-оксо-2-((4-(фенилдiazенил)фенил)амино)этанаммоний хлорид 4, Ph-AQ) получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего азобензола 19 (1 экв.) и триэтиламина (1.5 экв.). Выход продукта 70%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1.09 (т, J=8 Гц, 9H), 3.20-3.35 (м, 6H), 3.38 (с, 2H), 6.90-7.10 (м, 3H), 7.35-7.50 (м, 6H). HRMS (ESI): m/z [M]<sup>+</sup> вычислено для C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O: 339.2179, найдено: 339.2181.

*(E)-N,N,N-Триэтил-2-((4-((4-диметиламинофенил)диазенил)фенил)амино)-2-оксоэтанамоний хлорид* 5, *DMA-AQ*) получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего азобензола 1 (1 экв.) и триэтиламина (1.5 экв.). Выход продукта 63%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1.21 (т, J=8 Гц, 9H), 2.78 (с, 6H), 3.35-3.50 (м, 6H), 3.94 (с, 2H), 6.50-6.70 (м, 2H), 7.40-7.65 (м, 6H). HRMS (ESI): *m/z* [M]<sup>+</sup> вычислено для C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>N<sub>5</sub>O: 382.2601, найдено: 382.2608.

*2,2'-(E)-((Диазен-1,2-диилбис(4,1-фенилен))бис(азандиил))бис(N,N,N-триэтил-2-оксоэтанаммоний) хлорид* (7, *QAQ*) получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего азобензола 20 (1 экв.) и триэтиламина (1.5 экв.). Выход продукта 54%.

*(E)-2-((4-((4-(Диметиламино)нафт-1-ил)диазенил)фенил)амино)-N,N,N-триэтил-2-оксоэтанаммоний хлорид* (8, *DMA-Naph-AQ*) получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего азобензола 22 (1 экв.) и триэтиламина (1.5 экв.). Выход продукта 80%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1.31 (т, J=8 Гц, 9H), 2.97 (с, 6H), 3.40-3.60 (м, 6H), 4.58 (с, 2H), 7.15-7.20 (м, 1H), 7.60-7.70 (м, 2H), 7.80-7.90 (м, 1H), 7.99-8.02 (м, 4H), 8.15-8.20 (м 1 H), 12.7 (уш. с. 1H). HRMS (ESI): *m/z* [M]<sup>+</sup> вычислено для C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O: 432.2758, найдено: 432.2763.

*(E)-N,N,N-Триэтил-2-((4-((4-гидроксинафт-1-ил)диазенил)фенил)амино)-2-оксоэтанаммоний хлорид* (9, *OH-Naph-AQ*) получали согласно вышеприведенной методике из соответствующего азобензола 24 (1 экв.) и триэтиламина (1.5 экв.). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1.32 (т, J=8 Гц, 9H), 3.50-3.60 (м, 6H), 4.39 (с, 2H), 7.05-7.10 (м, 1H), 7.55-7.75 (м, 2H), 7.80-8.00 (м, 5H), 8.20-8.30 (м, 1H), 8.85-9.00 (м 1 H), 11.64 (с 1H). HRMS (ESI): *m/z* [MH]<sup>+</sup> вычислено для C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 405.2285, найдено: 405.2291.

### 3.3 Измерение наносекундных спектров разностного поглощения производных азобензола в различных растворителях

За отчетный период проведены измерения спектров поглощения и наносекундных спектров разностного поглощения производных азобензолов (1-3 (см. часть 2 результатов по проекту выше); EA-1, EA-2, EA-3, AAQ (структурные формулы представлены на рис. 3.13-3.16)) в различных растворителях. Определены времена жизни цис-изомеров и энергии активации изомеризации изучаемых соединений в различных растворителях.

Материал: Растворы производных азобензола (1, 2, 3, EA-1, EA-2, EA-3, AAQ) с оптической плотностью 0.3-0.5. Растворители: этанол, дихлорметан, уксус, вода, аммиак, NaOH, глицерин, ацетонитрил, изопропил, ДМФА, хлороформ, раствор Рингера.

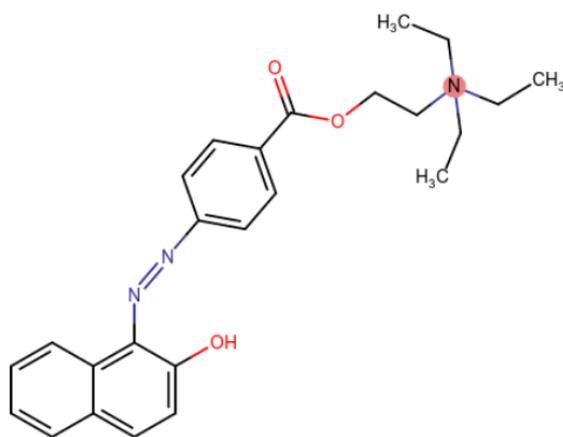


Рисунок 3.13 – Структурная формула соединения EA-1

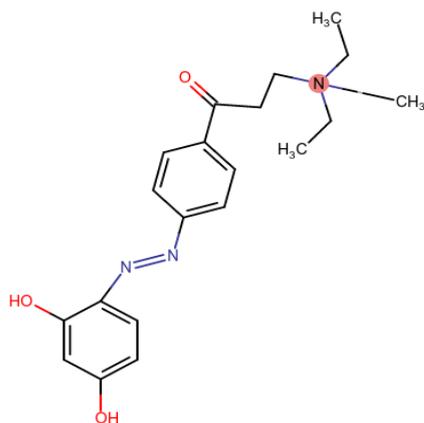


Рисунок 3.14 – Структурная формула соединения EA-2

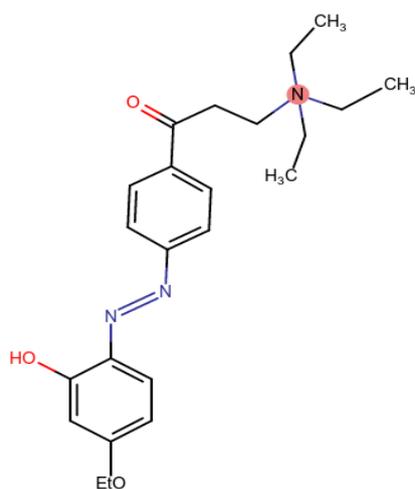


Рисунок 3.15 – Структурная формула соединения EA-3

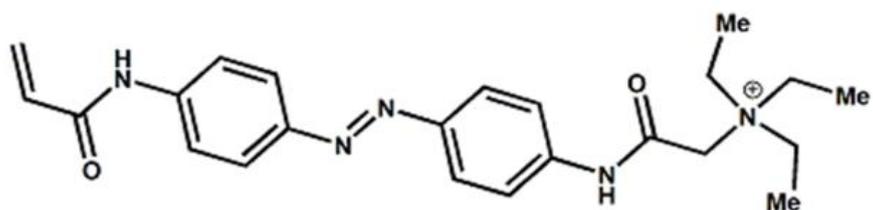


Рисунок 3.16 – Структурная формула соединения AAQ

На рисунках 3.17а, 3.19а и 3.21а представлены нормированные электронные спектры поглощения водных растворов азобензолов 1, 2 и 3, соответственно. Поскольку 1-3 имеют широкую полосу поглощения в видимой области с максимумом поглощения на длинах волн 450-470 нм, наносекундные спектры снимались с использованием лазерной накачки с длиной волны 532 нм. На рисунках 3.18, 3.20 и 3.22 показаны наносекундные спектры разностного поглощения азобензолов 1-3, полученные в воде, этаноле и дихлорметане. Во всех случаях после воздействия лазерного излучения с длиной волны 532 нм в пределах импульса образуются следующие сигналы: интенсивный отрицательный сигнал вынужденного излучения (с максимумом на длине волны 420-460 нм, в зависимости от структуры азобензола и типа растворителя) и один или два (в этаноле и дихлорметане) менее интенсивных положительных сигнала, соответствующих поглощению возбужденного состояния с максимумом на длинах волн 350-370 нм и 520-560 нм. Отрицательные и положительные полосы исчезают на одном и том же временном интервале, который меняется в зависимости от структуры азобензола и типа растворителя. На основании аппроксимации кинетических характеристик фотоиндуцированных процессов на длинах волн, соответствующих максимумам вышеупомянутых сигналов, можно сделать вывод, что эволюция этих сигналов является одноэкспоненциальной и времена жизни этих процессов указаны на рис. 3.18, 3.20 и 3.22.

На рисунках 3.17б, 3.19б и 3.21б представлены зависимости констант скорости цис-транс изомеризации от температуры для 1-3. Используя уравнение Аррениуса, мы рассчитали значения энергии активации изомеризации для соответствующих азобензолов.

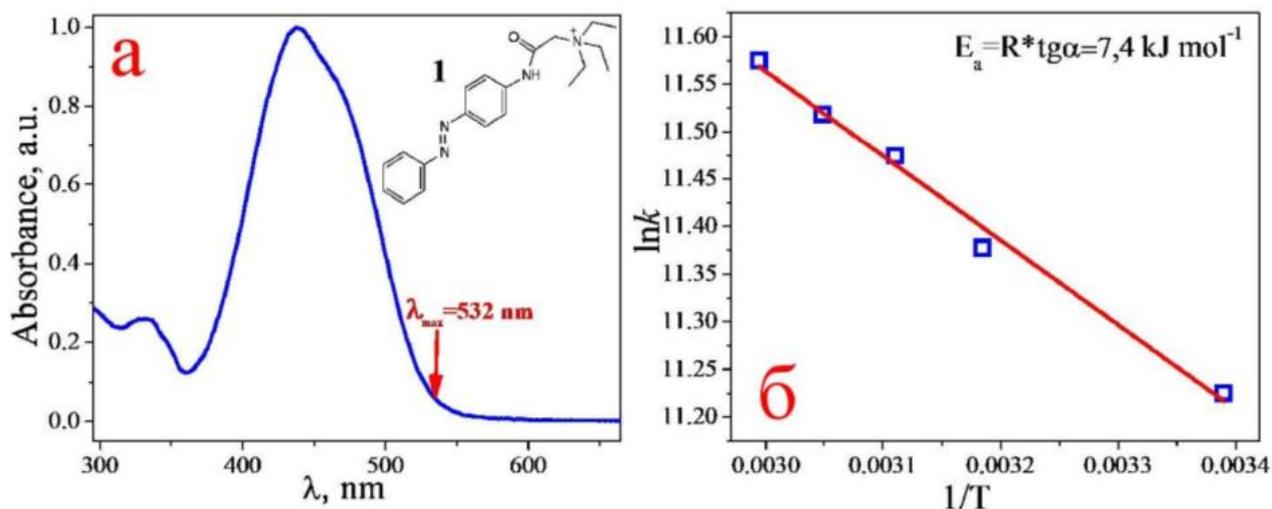


Рисунок 3.17 – (а) Нормированный электронный спектр поглощения водного раствора соединения 1. В правом верхнем углу показана структура 1. (б) Зависимость константы скорости цис-транс изомеризации для 1 от температуры. В правом верхнем углу показана энергия активации этого процесса,  $E_a = 7.4$  кДж/моль

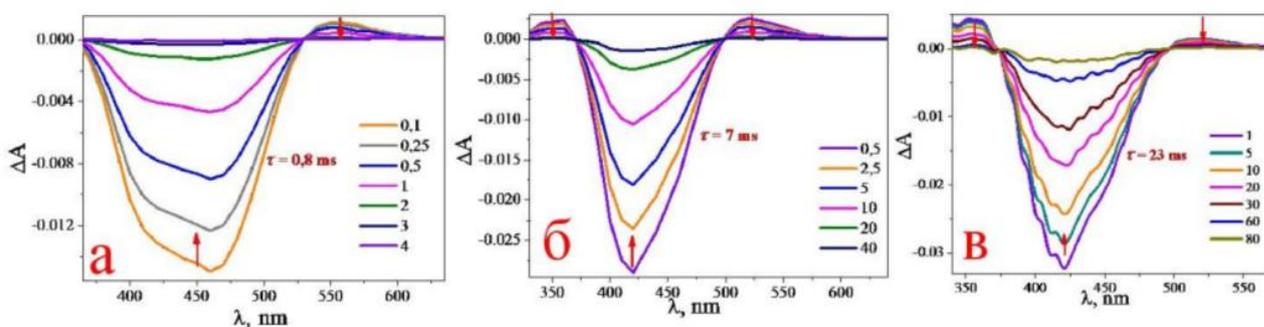


Рисунок 3.18 – Спектры разностного поглощения 1, измеренные в воде (а), этаноле (б) и дихлорметане (в). Все спектры были получены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм. Времена жизни цис-изомера: (а) 0,8 мс, (б) 7 мс, (в) 23 мс. В легендах времена указаны в миллисекундах

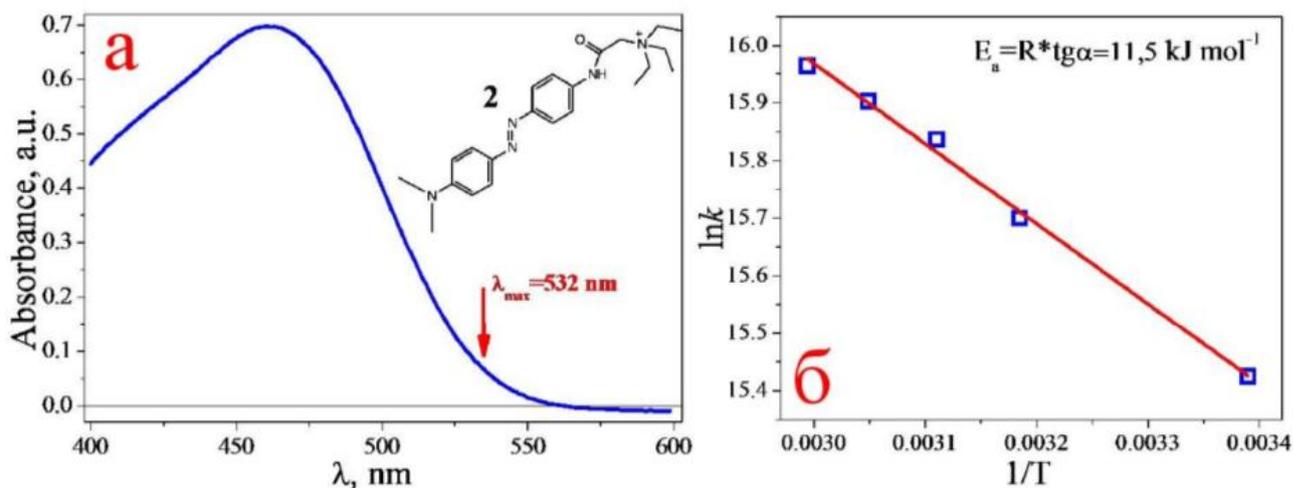


Рисунок 3.19 – (а) Нормированный электронный спектр поглощения водного раствора соединения 2. В правом верхнем углу показана структура 2. (б) Зависимость константы скорости цис-транс изомеризации для 2 от температуры. В правом верхнем углу показана энергия активации этого процесса,  $E_a = 11.5$  кДж/моль

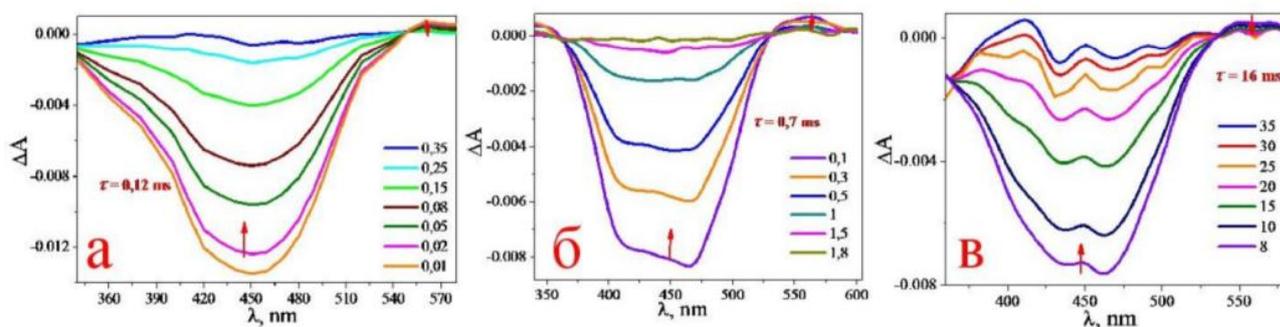


Рисунок 3.20 – Спектры разностного поглощения соединения 2, измеренные в воде (а), этаноле (б) и дихлорметане (в). Все спектры были получены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм. Времена жизни цис-изомера: (а) 0,12 мс, (б) 0,7 мс, (в) 16 мс. В легендах времена указаны в миллисекундах

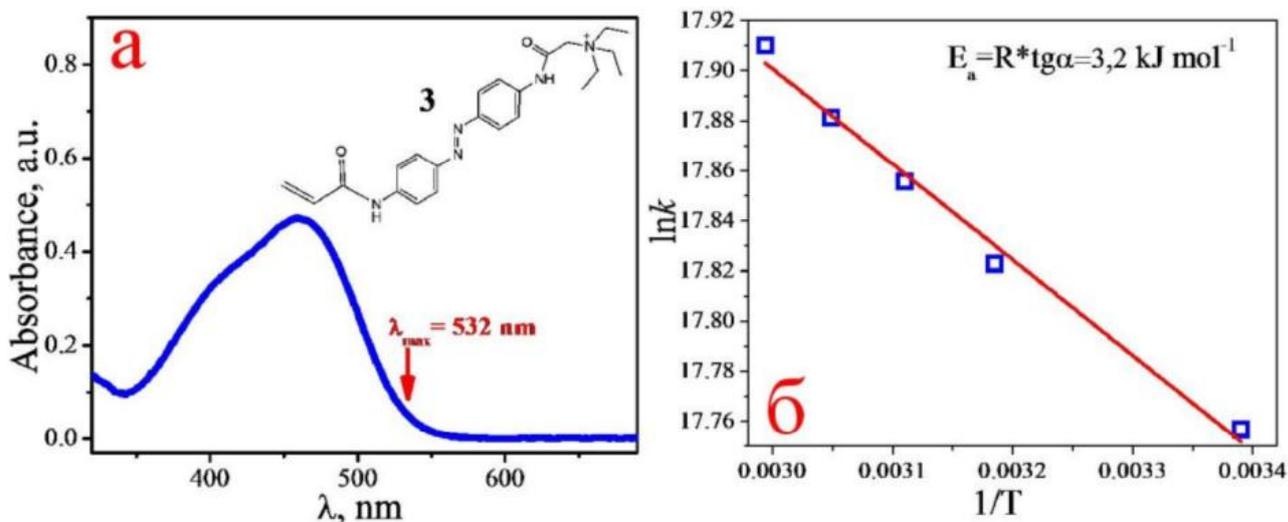


Рисунок 3.21 – (а) Нормированный электронный спектр поглощения водного раствора соединения 3. В правом верхнем углу показана структура 3. (б) Зависимость константы скорости цис-транс изомеризации для 3 от температуры. В правом верхнем углу показана энергия активации этого процесса,  $E_a = 3,2$  кДж/моль

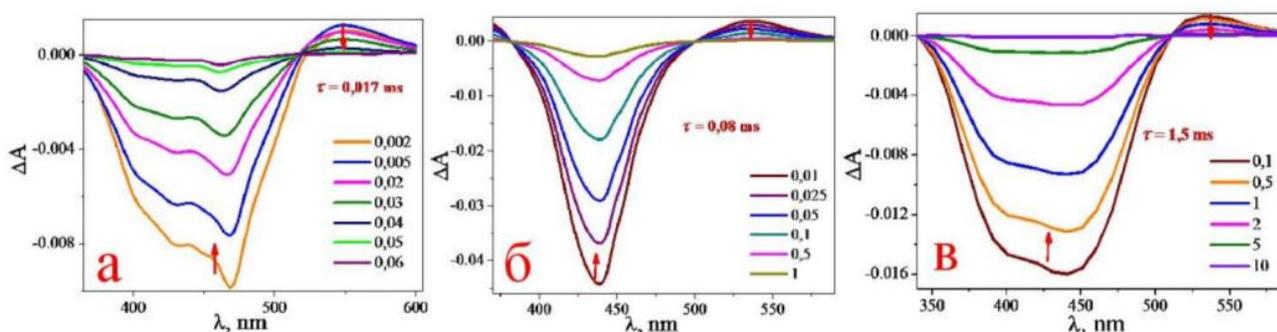


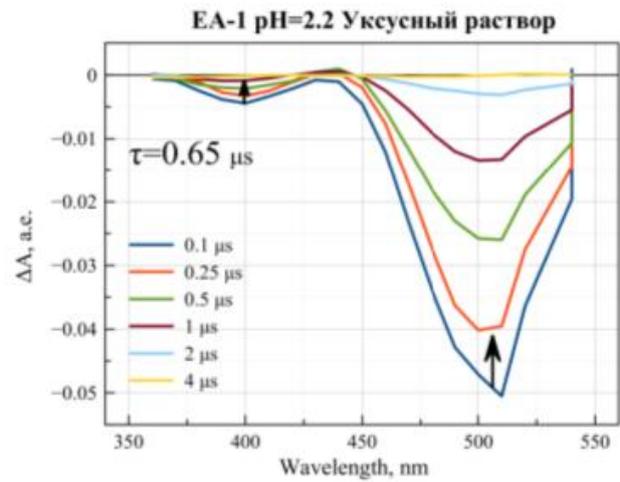
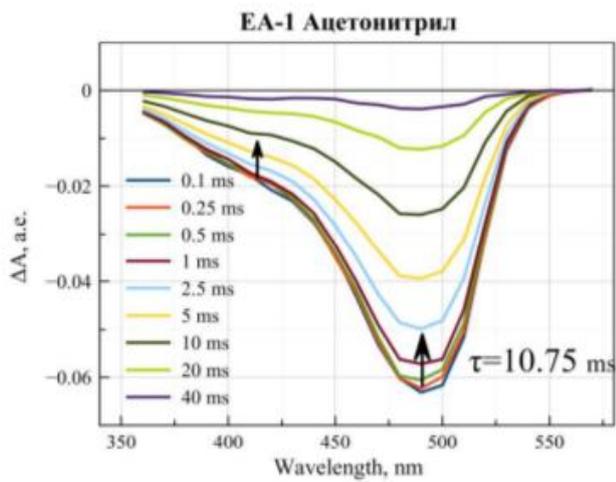
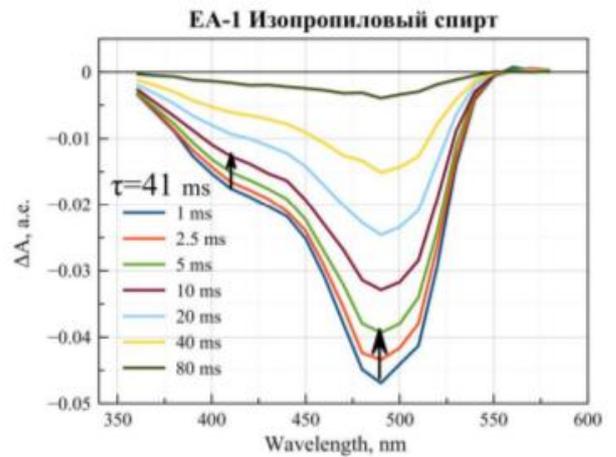
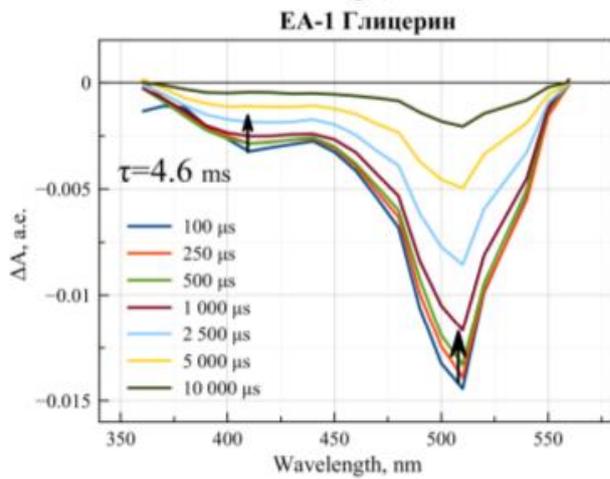
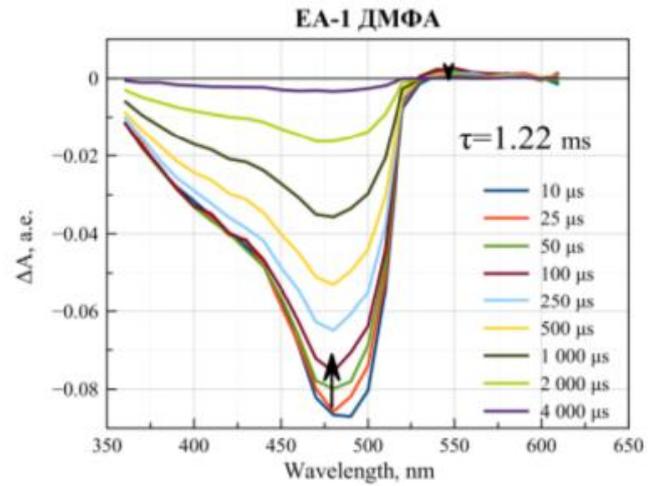
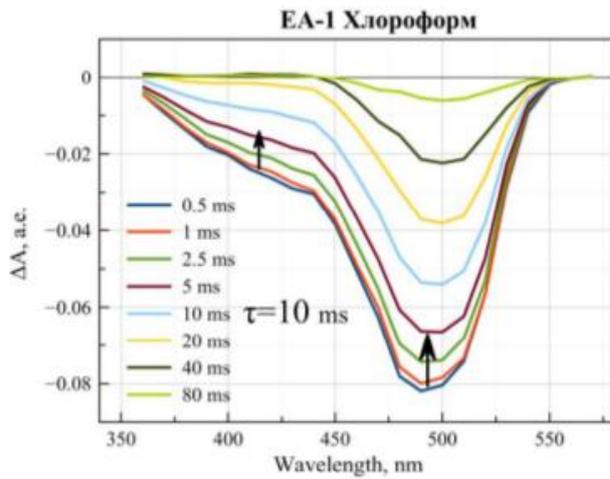
Рисунок 3.22 – Спектры разностного поглощения 3, измеренные в воде (а), этаноле (б) и дихлорметане (в). Все спектры были получены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм. Времена жизни цис-изомера: (а) 0,017 мс, (б) 0,08 мс, (в) 1,5 мс. В легендах времена указаны в миллисекундах

Результаты измерений констант скоростей изомеризации азобензолов EA-1, EA-2, EA-3, AAQ представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Константы скоростей изомеризации для соединений EA-1, EA-2, EA-3, AAQ

№	pH 2.2 Уксус.	Вода	pH 10.0 Аммиак	pH 11.7 NaOH	Глице- рин	Ацетонитр ил	Изопроп ил	ДМФА	Хлоро- форм	Раство р Ринге ра
EA-1	0.65 $\mu$ s	224 $\mu$ s	4.0 $\mu$ s	52 $\mu$ s	4600 $\mu$ s	10750 $\mu$ s	41 000 $\mu$ s	1220 $\mu$ s	10 060 $\mu$ s	
EA-2	не поглощает на 532 нм	5.64 ms и 38.58 ms	не поглощает на 532 нм							
EA-3	не поглощает на 532 нм	не поглощает на 532 нм	252 $\mu$ s	91 $\mu$ s	не поглощает на 532 нм	не поглощает на 532 нм	не поглощает на 532 нм	3.25 ms	не поглощает на 532 нм	
AAQ	3.7 $\mu$ s	10.6 $\mu$ s	59300 $\mu$ s	не поглощает на 532 нм	212 $\mu$ s	11 500 $\mu$ s	не поглощает на 532 нм	не поглощает на 532 нм	5 550 $\mu$ s	1500 $\mu$ s

На рисунках 3.23–3.26 показаны наносекундные спектры разностного поглощения азобензолов EA-1, EA-2, EA-3, AAQ, полученные в различных растворителях. Во всех случаях после воздействия лазерного излучения с длиной волны 532 нм, в пределах импульса образуются следующие сигналы: интенсивный отрицательный сигнал вынужденного излучения (с максимумом на длине волны 420-460 нм, в зависимости от структуры азобензола и типа растворителя) и один или два (в этаноле и дихлорметане) менее интенсивных положительных сигнала, соответствующих поглощению возбужденного состояния с максимумом на длинах волн 350-370 нм и 520-560 нм. Отрицательные и положительные полосы исчезают на одном и том же временном интервале, который меняется в зависимости от структуры азобензола и типа растворителя. На основании аппроксимации кинетических характеристик фотоиндуцированных процессов на длинах волн, соответствующих максимумам вышеупомянутых сигналов, можно сделать вывод, что эволюция этих сигналов является одноэкспоненциальной и времена жизни этих процессов указаны на рис. 3.23–3.26.



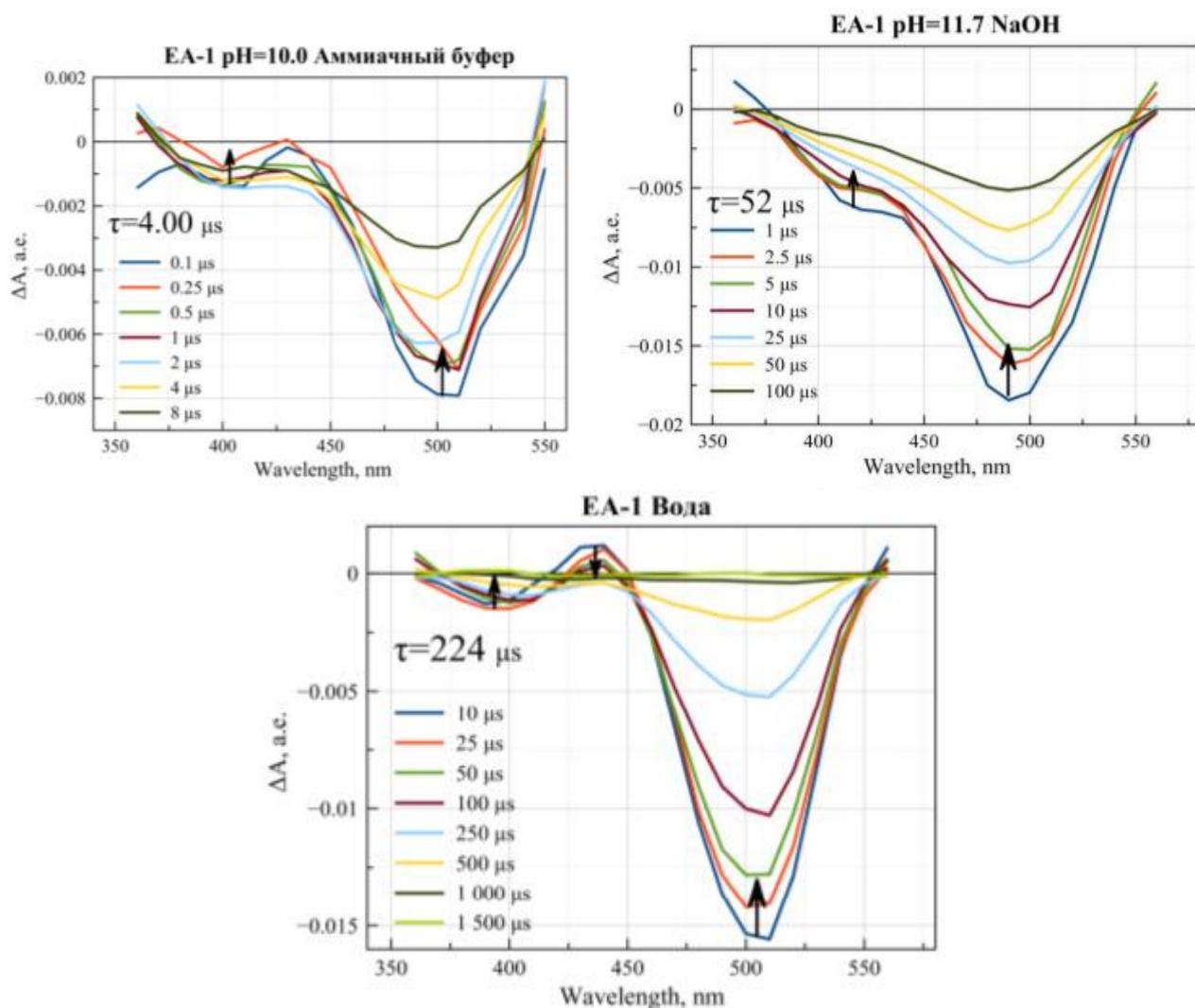


Рисунок 3.23 – Спектры разностного поглощения соединения EA-1 (структурная формула представлена на рис. 3.13), измеренные в различных растворителях. Спектры были получены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм. На рисунках отмечены времена жизни цис-изомера

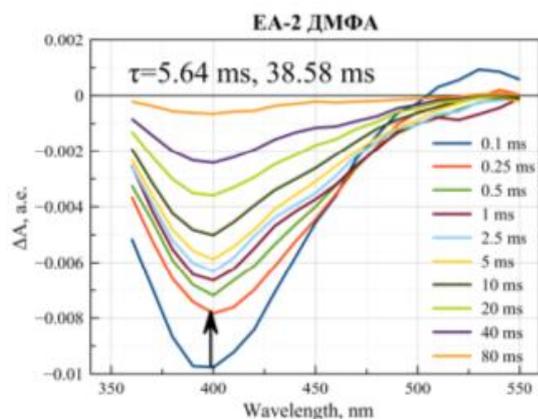


Рисунок 3.24 – Спектры разностного поглощения соединения EA-2 (структурная формула представлена на рис. 3.14), измеренные в ДМФА. Спектры были получены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм. На рисунках отмечены времена жизни цис-изомера

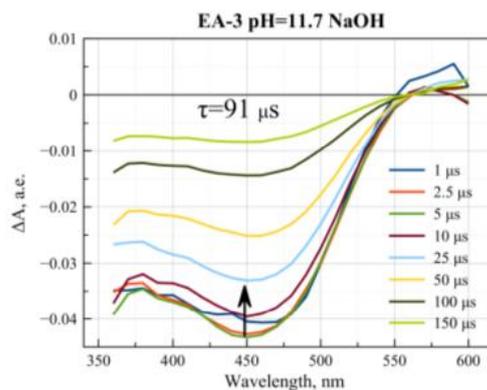
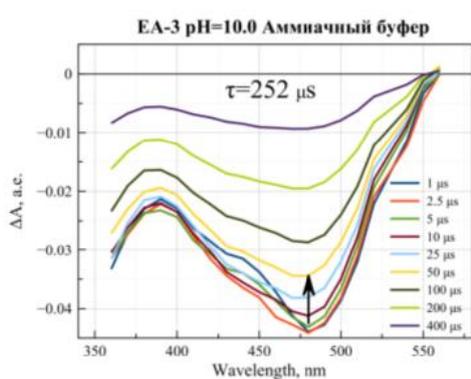
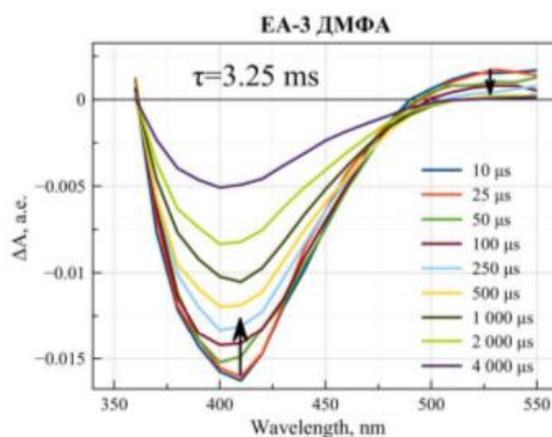


Рисунок 3.25 – Спектры разностного поглощения соединения EA-3 (структурная формула представлена на рис. 3.15), измеренные в различных растворителях. Спектры были получены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм. На рисунках отмечены времена жизни цис-изомера

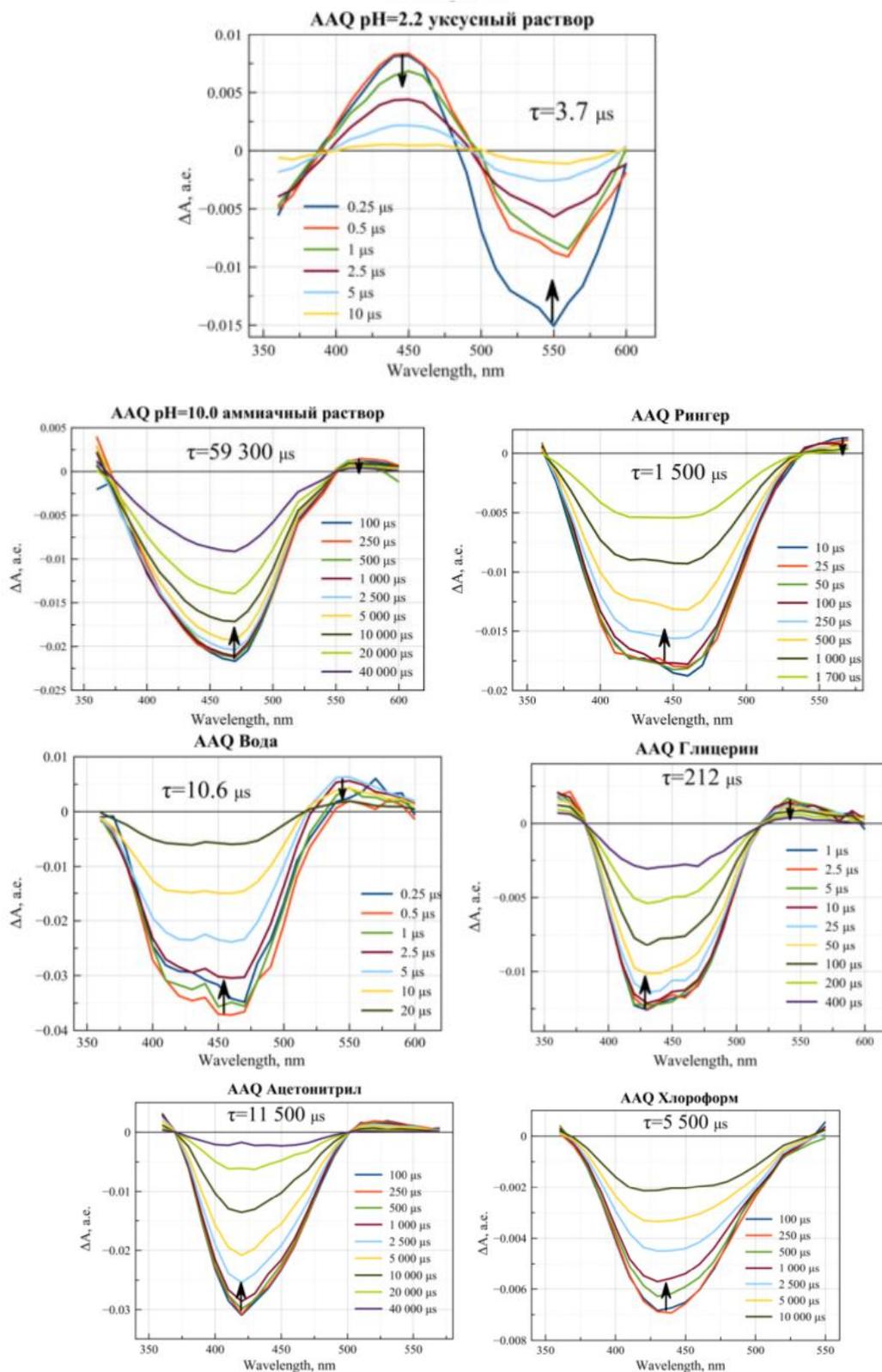


Рисунок 3.26 – Спектры разностного поглощения соединения AAQ (структурная формула представлена на рис. 3.16), измеренные в различных растворителях. Спектры были получены при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм. На рисунках отмечены времена жизни цис-изомера

На рисунке 3.27 представлены зависимости константы скорости цис-транс изомеризации от температуры для EA-1, EA-2, EA-3, AAQ. Используя уравнение Аррениуса, мы рассчитали значения энергии активации изомеризации для соответствующих азобензолов.

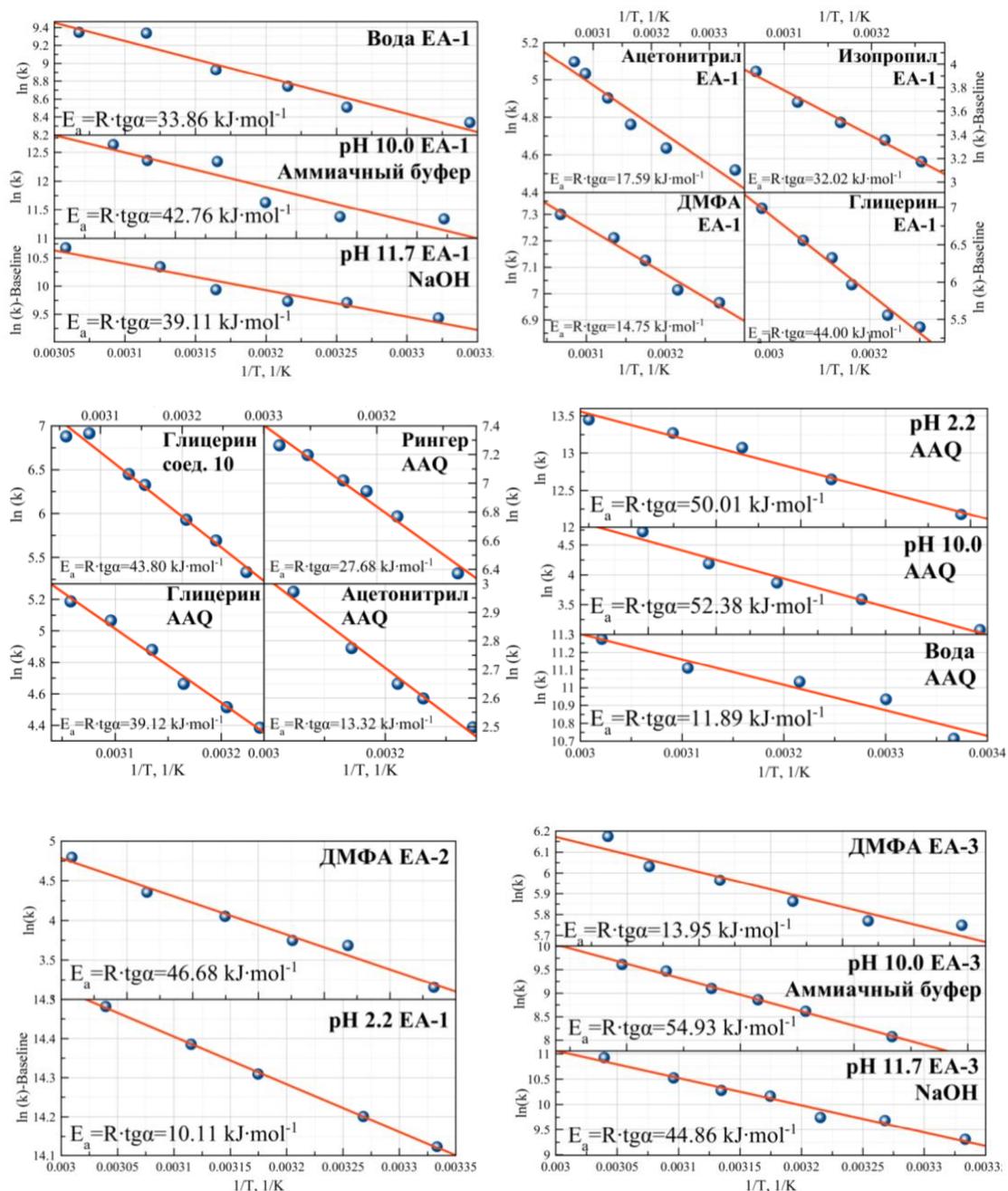


Рисунок 3.27 – Зависимость константы скорости цис-транс изомеризации для соединений EA-1, EA-2, EA-3, AAQ от температуры

*Выводы:*

Были изучены кинетические характеристики ряда производных азобензола и азонфталинов методами спектроскопии поглощения с высоким временным разрешением. На основании результатов экспериментов были рассчитаны времена жизни цис-формы изучаемых соединений, были построены зависимости скорости цис-транс изомеризации от температуры, были рассчитаны значения энергии активации изомеризации. Полученные данные были сравнены с результатами квантово-химических расчетов, на основании этих данных были сделаны выводы о предполагаемых механизмах реакции изомеризации в изучаемых соединениях.

### 3.4 Регистрация электроретинограммы (ЭРГ) от изолированной сетчатки амфибий

За отчетный период были проведены эксперименты, направленные на проверку изучаемых фотохромных блокаторов ионных каналов для восстановления зрительной функции дегенерированной сетчатки. В ходе работы была предложена животная модель фоторецепторной дегенерации сетчатки, более простая для получения, чем стандартно используемые нокаутные мыши, но при этом включающая основные эффекты, необходимые для тестирования физиологического действия молекулярных фотохромных соединений. Были изучены две новые животные модели на основе амфибий, было протестировано одно из наиболее исследованных в других физиологических моделях вещество – 2-[(4-{(E)-[4-акрилоиламинофенил]дiazенил}фенил)амино]-N,N,N-триэтил-2-оксоэтанаммоний хлорид (AAQ), был проверен ряд новых фотохромных блокаторов ионных каналов, структуры которых были предложены в рамках текущего исследования путем рационального молекулярного дизайна.

#### *Модель с механическим удалением фоторецепторов*

Регистрация ЭРГ показала, что препарат интактной сетчатки содержит все основные компоненты ретинограммы: а-волну, характеризующую гиперполяризацию фоторецепторов, и b-волну, которая проявляется как результат работы мюллеровских и биполярных клеток (рис. 3.28А). После механического удаления фоторецепторного слоя наблюдается либо отсутствие ответа на стимуляцию светом как видимого диапазона, так и УФ, либо наличие слабых остаточных ответов амплитудой в несколько мкВ (рис. 3.28). При этом у остаточного ответа сохраняется только b-волна, в то время как а-волна полностью исчезает (рис. 3.29А,В).

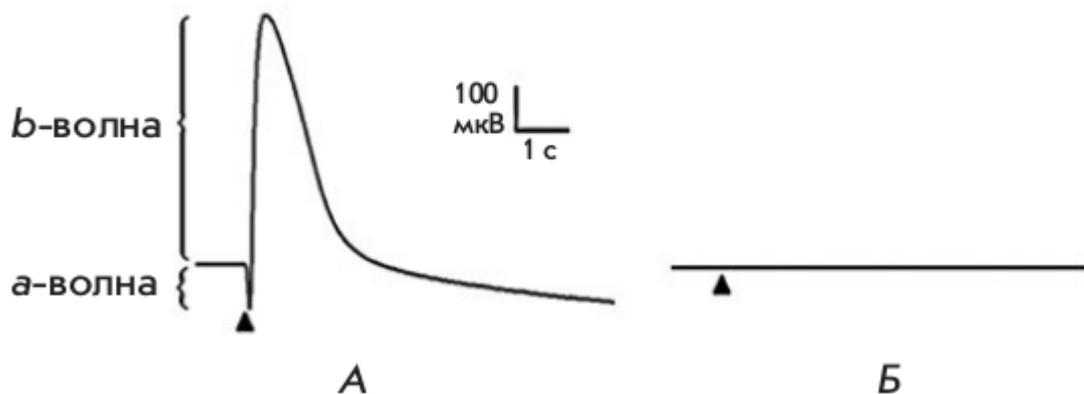


Рисунок 3.28 – ЭРГ препарата интактной сетчатки в ответ на световую стимуляцию (А) и ЭРГ препарата сетчатки после механического удаления фоторецепторов (Б). Стимуляция зеленым светом (520 нм), длительность вспышки 10 мс, интенсивность  $2.9 \times 10^6$  фотонов/мкм<sup>2</sup>/с. Момент вспышки обозначен треугольником

Эти результаты говорят о том, что использованный подход позволяет получить рабочую модель дегенерировавшей сетчатки, которую можно использовать в дальнейших исследованиях. Стимуляция сетчатки зеленым светом, проведенная после инкубации в растворе AAQ, как и ожидалось, не привела к возникновению ответа (рис. 3.29Б). Реакции на короткие вспышки УФ-света не возникали, в то время как длительная стимуляция УФ приводит к возникновению ответа, направленного в ту же сторону, что и а-волна нормальной ЭРГ амплитудой от 10 до 100 мкВ (рис. 3.29Г). Ответ заключается в изменении потенциала, которое прекращается сразу после выключения засветки, после чего потенциал сохраняет стабильное значение. Возврата потенциала к исходному уровню либо не происходит, либо он происходит слишком медленно. Амплитуда возникающего ответа зависит от интенсивности светового стимула: чем выше интенсивность УФ-стимула, тем больше изменение потенциала (рис. 3.30).

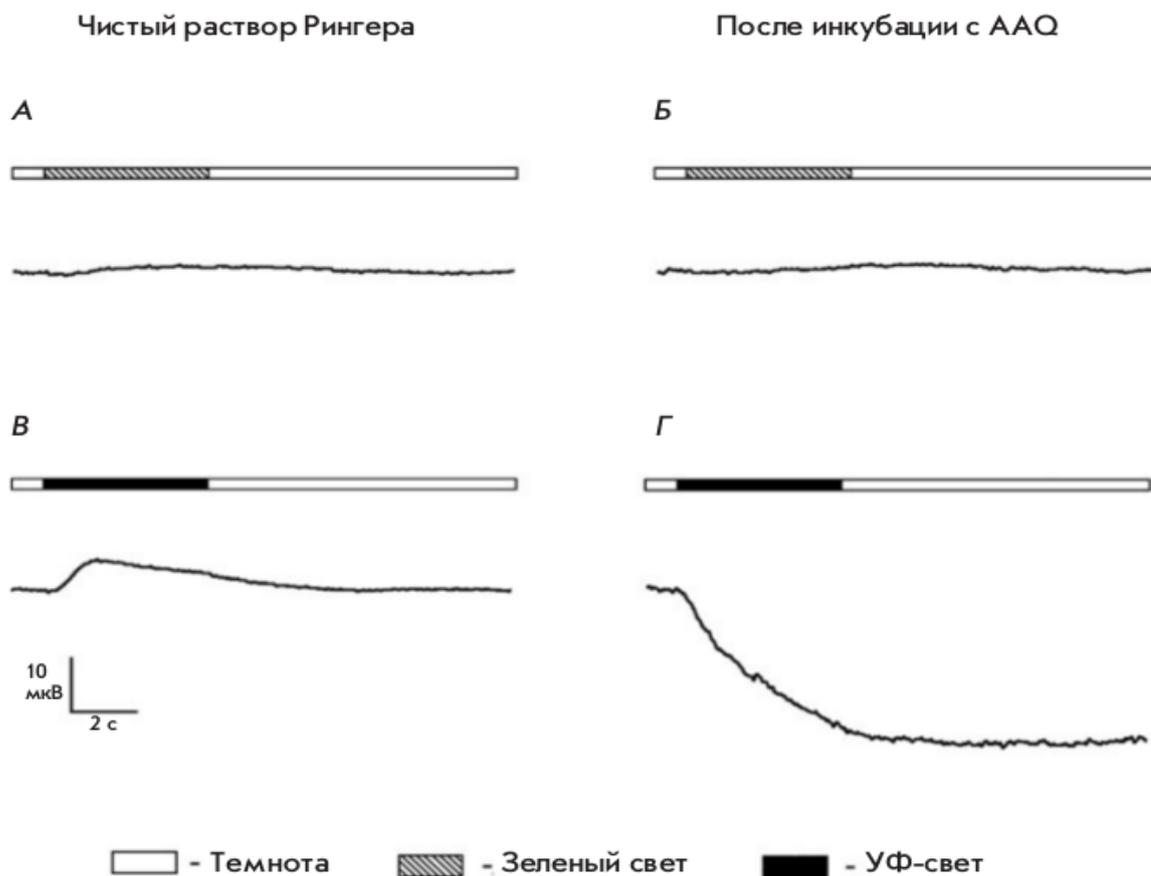


Рисунок 3.29 – Сравнение трансретинальной ЭРГ сетчатки с механически удаленными фоторецепторами, возникающей в ответ на зеленый и УФ-стимул в чистом растворе Рингера (А, В), и после 30 мин инкубации в 1 мМ ААQ (Б, Г). Для каждого графика приведена схема световой стимуляции. Длительность световой стимуляции 5 с. Интенсивность зеленого света (520 нм) –  $2.9 \times 10^8$  фотонов/мкм<sup>2</sup>/с. Интенсивность УФ (365 нм) –  $6.5 \times 10^8$  фотонов/мкм<sup>2</sup>/с

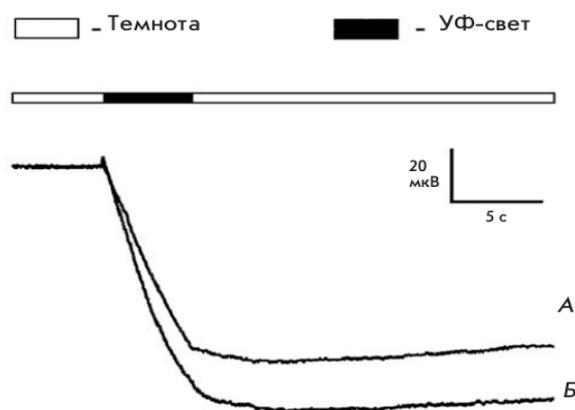


Рисунок 3.30 – Ответы сетчатки с механически удаленными фоторецепторами на длительную (5 с) УФ-засветку (365 нм) разной интенсивности после инкубации с ААQ. А – интенсивность  $2.7 \times 10^8$  фотонов/ $\mu\text{км}^2/\text{с}$ , Б –  $6.5 \times 10^8$  фотонов/ $\mu\text{км}^2/\text{с}$ . Сверху приведена схема световой стимуляции

#### *Модель туникамицин-индуцированной фоторецепторной дегенерации*

Инъекции туникамицина приводили к прогрессирующему уменьшению амплитуды ответа на короткие вспышки света (рис. 3.31). На левой панели видно, что амплитуда ЭРГ глаза, в который был введен туникамицин, на насыщающую вспышку света постепенно снижалась, и на 14–21 день ответ исчезал полностью, что говорит о дегенерации фоторецепторного слоя и утрате светочувствительности сетчатки в целом. Контрольный глаз, в который вводили чистый растворитель (DMSO) (правая панель на рис. 3.31), сохранял реакцию на световую стимуляцию на всех сроках после инъекции, что свидетельствует о том, что сама по себе инъекция не нарушает работу сетчатки. Микроскопия срезов глазных бокалов подтвердила селективную дегенерацию фоторецепторных клеток сетчатки под действием туникамицина. На рис. 3.32А, где показан поперечный срез глазного бокала, выделенного из контрольного глаза лягушки (инъекция DMSO), хорошо видны все слои сетчатки. В сетчатке глаза, подвергнутого действию туникамицина, слой фоторецепторных клеток отсутствует (рис. 3.32Б), но биполярные, амакриновые и ганглиозные клетки сохраняются.

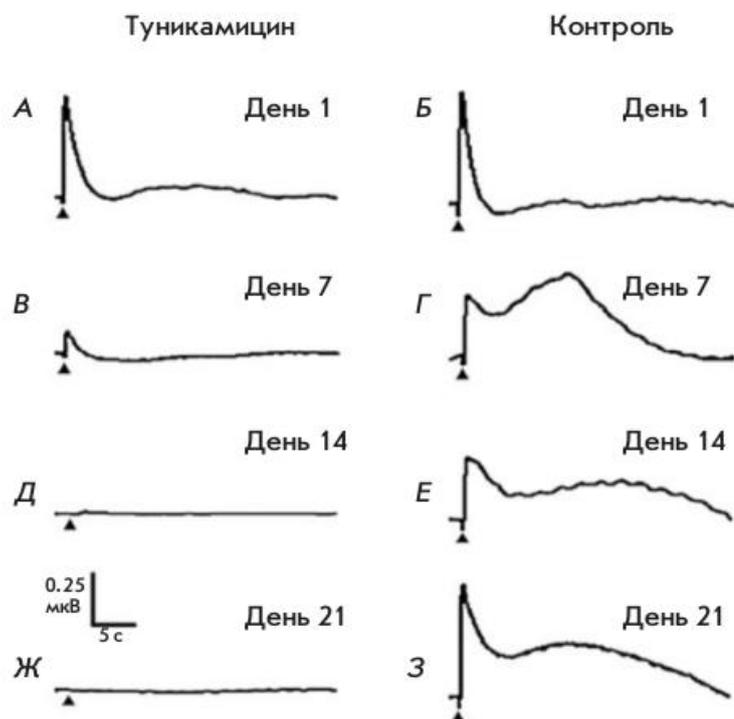


Рисунок 3.31 – ЭРГ, регистрируемая с роговицы анестезированной лягушки, на разных сроках после инъекций. А, В, Д, Ж – от глаза, в который вводили туникамицин. Б, Г, Е, З – от глаза, в который вводили только растворитель (DMSO). Стимуляция белым светом (диапазон 415–745 нм), длительность вспышки 10 мс, интенсивность примерно 9 Вт/мкм<sup>2</sup> площади зрачка. Момент вспышки обозначен треугольником

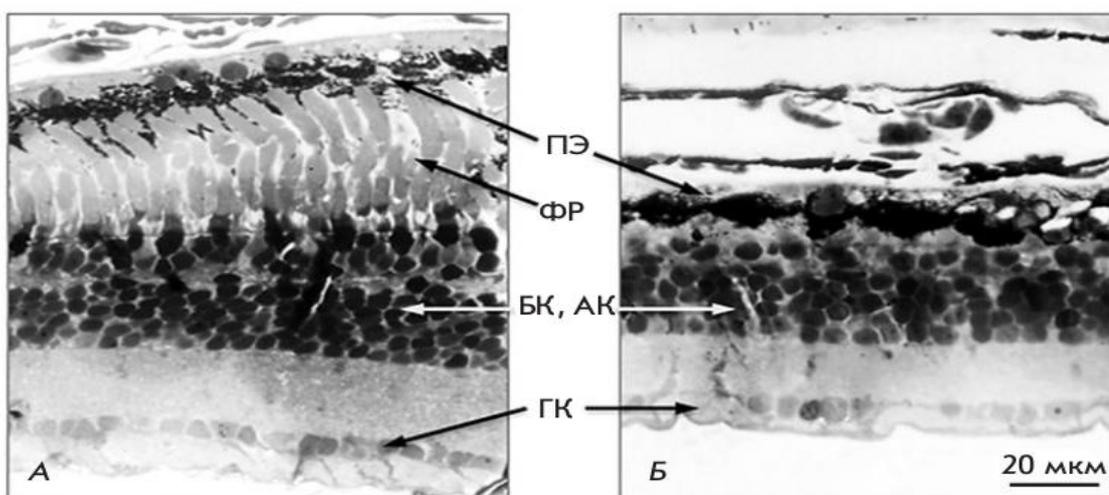


Рисунок 3.32 – Световая микроскопия препаратов сетчатки. А – сетчатка контрольного глаза, в который вводили DMSO. Б – сетчатка глаза, в который вводили туникамицин. ПЭ – пигментный эпителий, ГК – ганглиозные клетки, АК – амакриновые клетки, БК – биполярные клетки, ФР – фоторецепторы. В сетчатке, подвергшейся действию туникамицина, фоторецепторный слой отсутствует, однако сохранились другие типы клеток

Следовательно, такая модель дегенерации потенциально может использоваться для тестирования молекулярных фотохромных соединений. Сетчатка, которая была изолированная из глаза, подвергшегося действию туникамицина, не отвечала на стимуляцию ни зеленым светом, ни УФ (рис. 3.33А,В), что подтверждает результаты записи прижизненной ЭРГ и наглядно показывает, что проведенные манипуляции привели к желаемому результату – получению модели фоторецепторной дегенерации. Инкубация в растворе AAQ приводила к тому, что длительная засветка УФ, как и в модели сетчатки с механически удаленными фоторецепторами, вызывала возникновение ответа, направленного в ту же сторону, что и а-волна нормальной ЭРГ амплитудой 10–30 мкВ (рис. 3.33Б,Г). Регистрируемый сигнал после выключения засветки сохраняет стабильное значение, т.е. характер ответа совпадает с ответом модели с механически удаленными фоторецепторами. Стимуляция зеленым светом не приводит к возникновению ответа. Полученные результаты свидетельствуют о том, что

AAQ восстанавливает светочувствительность модельного препарата в области ближнего УФ, предположительно за счет светозависимой регуляции ионных каналов молекулами фотохромного соединения, причем оба подхода к получению модели дегенеративной сетчатки дают сходные результаты.

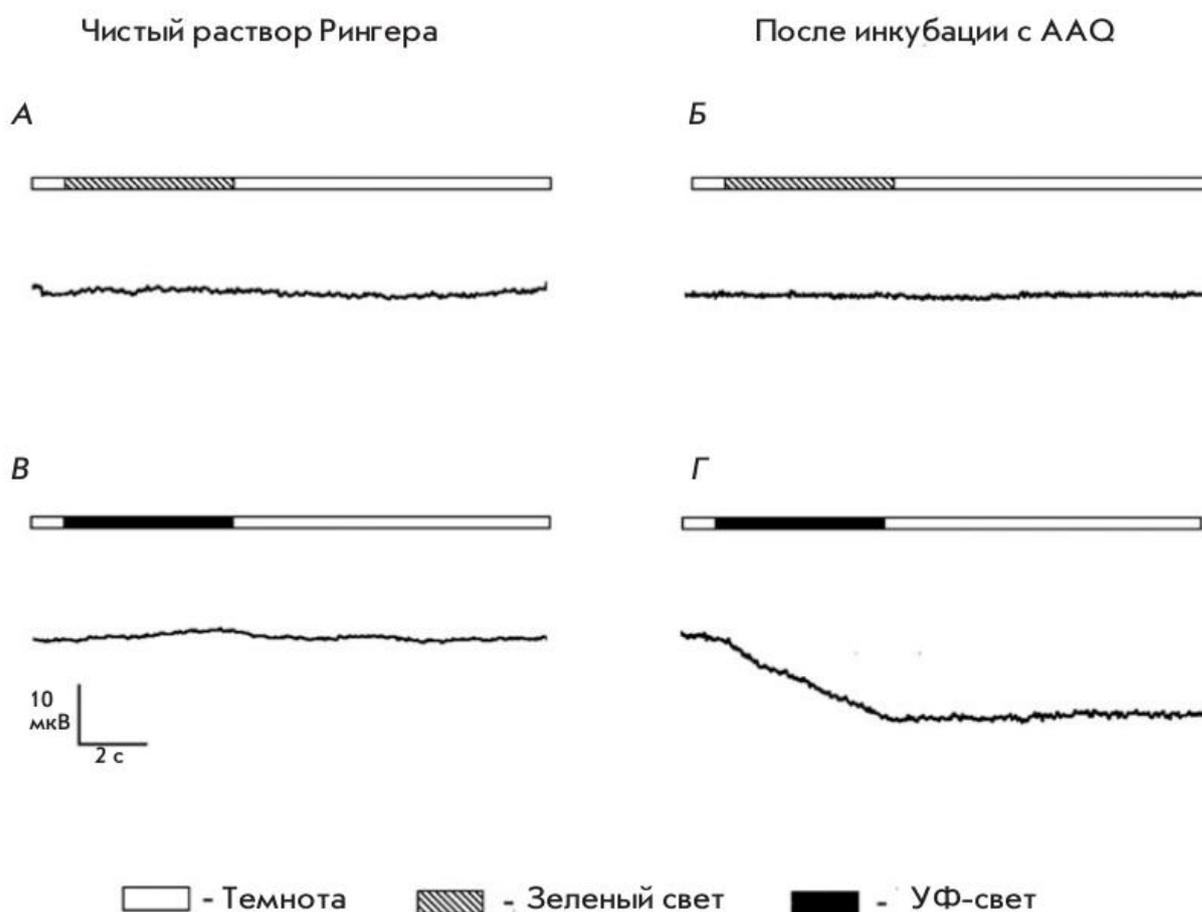


Рисунок 3.33 – Сравнение трансретинальной ЭРГ сетчатки, дегенерировавшей под действием туникамицина, возникающей в ответ на зеленую и УФ-засветки, в чистом растворе Рингера (А, В) и после 30 мин инкубации в 1 мМ AAQ (Б, Г). Для каждого графика приведена схема световой стимуляции. Длительность световой стимуляции 5 с. Интенсивность зеленого света (520 нм) –  $2.9 \times 10^8$  фотонов/ мкм<sup>2</sup>/с. Интенсивность УФ (365 нм) –  $6.5 \times 10^8$  фотонов/ мкм<sup>2</sup>/с

По аналогичной методологии был протестирован ряд новых вариантов молекулярных фотохромных блокаторов каналов, структуры которых были предложены на основании квантово-химических расчетов и рационального молекулярного дизайна (EA-1, EA-2, EA-3, DMA-AQ, DMA-QA, Ph-AQ,

NO<sub>2</sub>-AQ). К сожалению, введение данных соединений в сетчатку не привело к восстановлению сигнала. Мы предполагаем, что неактивность данных соединений связана с тем, что их молекулы слишком большие, и они не проникают в целевые клетки и не связываются с целевыми ионными каналами. Для подтверждения данной гипотезы нужны дополнительные исследования. Перспективным направлением развития данного проекта является разработка методов доставки предложенных соединений в целевые клетки сетчатки. На данный момент мы проводим исследования в этой области.

*Выводы:*

В ходе проведения исследований были получены две новые экспериментальные модели фоторецепторной дегенерации сетчатки, которые можно в дальнейшем использовать для первичного скрининга новых молекулярных фотохромных блокаторов калиевых каналов. Полученные нами данные о действии AAQ на ЭРГ согласуются с результатами других авторов, которые показали, что это соединение способно придавать дегенерированной сетчатке светочувствительность в УФ-области спектра. Продемонстрированный эффект молекулярных фотохромных соединений выразался в том, что под действием длительной стимуляции УФ частота генерации спайков ганглиозными клетками заметно возрастала (регистрация с помощью мультиэлектродной матрицы), а при выключении света или замены его на зеленый свет возвращалась к исходному уровню.

Был проверен ряд новых молекулярных переключателей, структуры которых были предложены в рамках текущего исследования на основании квантово-химических расчетов. К сожалению, введение новых соединений в дегенеративную сетчатку не привело к возникновению отклика на световое возбуждение. Мы предполагаем, что это связано не с неактивностью данных молекулярных переключателей, а с тем, что крупные молекулы предложенных соединений не проникают в целевые клетки и не связываются

с целевыми ионными каналами. В рамках развития проекта мы хотим проверить данное предположение, разработать и проверить новые методы доставки молекулярных переключателей в целевые клетки сетчатки.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований по направлению 1.1.4.5 «Квантово-каскадные лазеры терагерцового диапазона: дизайн, синтез и свойства» Программы Президиума РАН № 32 получены следующие основные результаты:

- Исследованы методы калибровки потоков материала из источников установки молекулярно-пучковой эпитаксии, учтены эффекты, влияющие на толщину слоёв активной области.
- Методом молекулярно-пучковой эпитаксии синтезированы тестовые структуры, необходимые для корректной реализации эпитаксиальной структуры квантово-каскадного лазера (скорости роста, химические составы, уровни легирования).
- Методом молекулярно-пучковой эпитаксии синтезированы эпитаксиальные структуры квантово-каскадных лазеров, имеющих усовершенствованный дизайн.
- Осуществлена характеристика эпитаксиальных структур методами атомно-силовой микроскопии, просвечивающей электронной микроскопии и рентгеновской дифрактометрии. Были измерены вольт-амперные характеристики структур.

Основные результаты, полученные в ходе проведенных исследований, опубликованы в 1 работе, входящей в списки цитирования системы Web of Science.

Результаты, полученные в ходе проведенных исследований, также были представлены в докладах на конференциях:

1) 5th International School and Conference on Optoelectronics, Photonics, Engineering and Nanostructures (SPb OPEN-2108) April 3 – 4, 2018, Saint Petersburg, Russia (R.R. Reznik, N.V. Kryzhanovskaya, A.E. Zhukov, A.I. Khrebtov, Yu.B. Samsonenko, S.V. Morozov, G.E. Cirilin, Structural properties of

multilayer heterostructure for quantum-cascade lasers grown by MBE growth, Book of abstracts, pp. 279-281).

2) F.I. Zubov, A.V. Ikonnikov, K.V. Maremyanin, S.V. Morozov, V.I. Gavrilenko, A.Yu. Pavlov, N.V. Shchavruk, R.A. Khabibulin, R.R. Reznik, G.E. Cirilin, A.E. Zhukov, A.A. Dubinov, Zh.I. Alferov, 3 THz quantum-cascade laser with metallic waveguide based on resonant-phonon depopulation scheme, Oral, 3rd International Conference Terahertz and Microwave Radiation: Generation, Detection and Applications, Nizhny Novgorod, Russia, October 22-25, 2018.

По направлению 3.2.1 «Разработка новых эффективных противоопухолевых препаратов на основе спирооксииндолов» Программы Президиума РАН № 32 получены следующие основные результаты:

- Разработаны эффективные методы синтеза различных функционально замещенных поликонденсированных гетероциклов, содержащих, спироциклопропапирролизинный, спироазабициклогексановый и инденохиназолиновый фрагменты, реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения различных циклопропенов к азиметинилидам, генерированным *in situ* из замещенных индоло[2,1-b]-хиназолинов (триптантринов) и  $\alpha$ -аминокислот.
- Проведена наработка функционально замещенных спиро[азабицикло-гексан]оксиндолов согласно ранее разработанной схеме синтеза (реакцией [3+2]-циклоприсоединения циклопропенов и азометинилидов, генерированных *in situ* из замещенных изатинов и  $\alpha$ -аминокислот);
- Проведена оценка жизнеспособности, пролиферативной активности и морфологических характеристик нормальных и опухолевых клеточных линий.

Основные результаты, полученные в ходе проведенных исследований, опубликованы в 1 работе, входящей в списки цитирования системы Web of Science.

По направлению 3.2.4 «Разработка новых лекарственных нанопрепаратов на основе фотохромных блокаторов ионных каналов для оптофармакологического протезирования сетчатки» Программы Президиума РАН № 32 получены следующие основные результаты:

- Проведено компьютерное моделирование структур и физико-химических свойств широкого ряда производных молекулярных переключателей на основе азобензола и азонфталинов. В частности, были подобраны методологии квантово-химических расчетов, наиболее оптимальные для расчета кинетики термической изомеризации и оптических свойств азобензолов и азонфталинов, и подходящие для качественного описания механизмов реакции изомеризации изучаемых соединений.
- Выбранными методиками был проведен ряд расчетов, были определены механизмы реакции изомеризации азобензолов и азонфталинов. На основании полученных данных были предложены новые варианты молекулярных переключателей с измененными оптическими свойствами и с измененной кинетикой термической изомеризации, которые потенциально являются более перспективными кандидатами для восстановления зрительных функций дегенерированной сетчатки.
- Разработаны и отработаны стратегии синтеза широкого ряда азобензолов, в том числе вариантов, отобранных по результатам вычислительного моделирования. Целевые соединения были синтезированы, их оптические свойства и кинетика термической изомеризации были изучены методами спектроскопии поглощения и спектроскопии поглощения с высоким временным разрешением.
- Проведено тестирование известных молекулярных переключателей на основе азобензола (AAQ), а также новых предложенных на основании рационального дизайна молекулярных переключателей.

Для ААQ восстановление зрительной функции было показано методами регистрации ЭРГ. Были проверено действие новых соединений, предложенных в рамках данного проекта.

Основные результаты, полученные в ходе проведенных исследований, опубликованы в 1 работе, входящей в списки цитирования системы Web of Science, а также одной главе в монографии:

Nikolaev, D.M., Panov M.S., Shtyrov A.A., Boitsov V.M., Vyazmin S. Yu., Chakchir O.B., Yakovlev I.P., Ryazantsev M.N. Perspective tools for optogenetics and photopharmacology: from design to implementation. In "Progress in Photon Science", Kaoru Yamanouchi, Sergey Tunik, and Vladimir Makarov Ed., Springer Series in Chemical Physics, 2018 (Принято в печать).

Результаты, полученные в ходе проведенных исследований, также были представлены в докладе на конференциях:

1) Dmitrii M. Nikolaev, Andrey A. Styrov, Maxim S. Panov, Mikhail N. Ryazantsev. Computational Models for Rhodopsins: from Primary Structures to Optical Properties. 18th International Conference on Retinal Proteins (ICRP 2018). Сентябрь 24-29, 2018, Hockley Valley Resort, Онтарио, Канада.

2) Рязанцев М. Н. Использование методов вычислительной химии и спектроскопии для оптогенетических и оптофармологических применений. Первая всероссийская конференция и школа с международным участием "Оптогенетика и оптофармакология", апрель 2018, Санкт-Петербург, Россия.

Таким образом в результате выполнения исследований в течение 2018 года все задачи, поставленные на данном этапе, выполнены полностью.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Р.Ф. Казаринов, Р.А. Сурис, О возможности усиления электромагнитных волн в полупроводниках со сверхрешеткой, ФТП 5(4), 797-800 (1971).
2. J. Faist, F. Capasso, D.L. Sivco, A.L. Hutchinson, A.Y. Cho, Quantum cascade laser, Science 264, 553–556 (1994).
3. M. Beck, D. Hofstetter, T. Aellen, J. Faist, U. Oesterle, M. Ilegems, M. Gini, H. Melchior, Continuous wave operation of a mid-infrared semiconductor laser at room temperature, Science 295, 301-305 (2002).
4. Y. Bai, S.R. Darvish, S.Slivken, W. Zhang, A. Evans, J. Nguyen, M. Razeghi, Room temperature continuous wave operation of quantum cascade lasers with watt-level optical power, Applied Physics Letters 92, 101105 (2008).
5. R. Koehler, A. Tredicucci, F. Beltram, H.E. Beere, E.H. Linfield, A.G. Davies, D.A. Ritchie, R.C. Iotti, F. Rossi, Terahertz semiconductor heterostructure laser, Nature 417, 156–159 (2002).
6. P.H. Siegel, Terahertz technology, IEEE Trans. Microw. Theory Tech. 50, 910–928 (2002).
7. W.L. Chan, J. Deibel, D.M. Mittleman, Imaging with terahertz radiation, Rep. Prog. Phys., 70, 1325–1379 (2007).
8. В.В. Мамутин, В.М. Устинов, J. Voethcher, H. Kuenzel, Выращивание молекулярно-пучковой эпитаксией и характеристика квантовых каскадных лазеров на длину волны 5мкм, ФТП 44(7), 995-1001 (2010).
9. И.И. Засавицкий, А.Н. Зубов, А.Ю. Андреев, Т.А. Багаев, П.В. Горлачук, М.А. Ладугин, А.А. Падалица, А.В. Лобинцов, С.М. Сапожников, А.А. Мармалюк, Квантовый каскадный лазер на основе гетеропары GaAs/Al<sub>0.45</sub>Ga<sub>0.55</sub>As, полученный методом МОС-гидридной эпитаксии, Квантовая электроника 46, 447–450 (2016).

10. А.В. Бабичев, А. Bousseksou, Н.А. Пихтин, И.С. Тарасов, Е.В. Никитина, А.Н. Софронов, Д.А. Фирсов, Л.Е. Воробьев, И.И. Новиков, Л.Я. Карачинский, А.Ю. Егоров, Генерация квантово-каскадных лазеров на длине волны излучения 5.8 мкм при комнатной температуре, ФТП 50, 1320 (2016).
11. S. Fatholouloumi, E. Dupont, C.W.I. Chan, Z.R. Wasilewski, S.R. Laframboise, D. Van, A. Matyas, C. Jirauschek, Q. Hu, H.C. Liu, Terahertz quantum cascade lasers operating up to ~200 K with optimized oscillator strength and improved injection tunneling, Opt. Exp., 20(4), 3866-3876 (2012).
12. B.S. Williams, Terahertz quantum-cascade lasers, Nat. Photon. 1, 517–525 (2007).
13. Р.А. Хабибуллин, Н.В. Щаврук, А.Н. Клочков, И.А. Глинский, Н.В. Зенченко, Д.С. Пономарев, П.П. Мальцев, А.А. Зайцев, Ф.И. Зубов, А.Е. Жуков, Г.Э. Цырлин, Ж.И. Алфёров, Энергетический спектр и тепловые свойства терагерцового квантово-каскадного лазера на основе резонансно-фононного дизайна, ФТП 51, 540-546 (2017).
14. Антонов А. В., Гавриленко В. И., Иконников А. В., Маремьянин К. В., Ластовкин А. А., Морозов С. В., Ушаков Д. В., Садофьев Ю. Г., Самал Н. Известия вузов. Радиофизика. 2009. Т. LII, №7. P. 550–556.
15. A.V. Ikonnikov, M.S. Zholudev, K.E. Spirin, A.A. Lastovkin, K.V. Maremyanin, V.Ya. Aleshkin, V.I. Gavrilenko, O. Drachenko, M. Helm, J. Wosnitza, M. Goiran, N.N. Mikhailov, S.A. Dvoretiskii, F. Terpe, N. Diakonova, C. Consejo, B. Chenaud, W. Knap, Cyclotron resonance and interband optical transitions in HgTe/CdTe (013) quantum well heterostructures, Semicond. Sci. Technol. 26, 125011 (2011).
16. S. Kumar, Q. Hu, J.L. Reno, 186 K operation of terahertz quantum-cascade lasers based on a diagonal design, Appl. Phys. Lett. 94, 131105 (2009).

17. Q. Hu, B.S. Williams, S. Kumar S, H. Callebaut, S. Kohen, J.L. Reno, Resonant-phonon-assisted THz quantum-cascade lasers with metal–metal waveguides, *Semicond. Sci. Technol.* 20, 228–236 (2005).
18. А.В. Иконников, А.В. Антонов, А.А. Ластовкин, В.И. Гавриленко, Ю.Г. Садофьев, N. Samal, Исследование спектров излучения импульсных квантовых каскадных лазеров терагерцового диапазона с высоким спектральным разрешением, *ФТП* 44, 1514–1518 (2010).
19. S.L. Lu, L. Schrottke, S.W. Teitworth, R. Hey, H.T. Grahn, Formation of electric-field domains in Ga As/ Al x Ga 1– x As quantum cascade laser structures, *Phys. Rev. B.* 73, 033311 (2006).
20. Weiland, James D., Alice K. Cho, and Mark S. Humayun. "Retinal prostheses: current clinical results and future needs." *Ophthalmology* 118.11 (2011): 2227-2237.
21. Lamba, Deepak A., Juliane Gust, and Thomas A. Reh. "Transplantation of human embryonic stem cell-derived photoreceptors restores some visual function in Crx-deficient mice." *Cell stem cell* 4.1 (2009): 73-79.
22. Schwartz, Steven D., et al. "Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report." *The Lancet* 379.9817 (2012): 713-720.
23. Caporale, Natalia, et al. "LiGluR restores visual responses in rodent models of inherited blindness." *Molecular Therapy* 19.7 (2011): 1212-1219.
24. Kinghorn A.D., De Blanco E.J.C., Lucas. D.M. et al. Discovery of Anticancer Agents of Diverse Natural Origin // *Anticancer Research* 2016, 36, 5623-5637.
25. Khazir J., Mir B.A., Pilcher L., Riley D.L. Role of plants in anticancer drug discovery // *Phytochem. Lett.* 2014, 7, 173-181.
26. Zhang L., Lei J.N., Shan Y.Y. et al. Recent Progress in the Development of Histone Deacetylase Inhibitors as Anti-Cancer Agents // *Mini-Reviews in Med. Chem.* 2013, 13, 1999-2013.

27. Pan L., Chai H.Y., Kinghorn A.D. The continuing search for antitumor agents from higher plants // *Phytochem. Lett.* 2010, 3, 1-8.
28. Jiang X., Cao Y., Wang Y., Liu L., Shen F. A unique approach to the concise synthesis of highly optically active spirooxazolines and the discovery of a more potent oxindole-type phytoalexin analogue // *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 15328-15333.
29. Chen X.H., Wei Q., Luo S.W., Xiao H., Gong L.Z. Organocatalytic synthesis of spiro[pyrrolidin-3,3'-oxindoles] with high enantiopurity and structural diversity // *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 13819-13825.
30. P. Wu, T.E. Nielsen. Scaffold Diversity from N-Acyliiminium Ions // *Chem. Rev.* 2017, 117, 7811-7856.
31. W.N. Speckamp, M.J. Moolenaar. New Developments in the Chemistry of N-Acyliiminium Ions and Related Intermediates // *Tetrahedron* 2000, 56, 3817-3856.
32. B.E. Maryanoff, H-Ch. Zhang, J.H. Cohen, I.J. Turchi, C.A. Maryanoff. Cyclizations of N-Acyliiminium Ions. // *Chem. Rev.* 2004, 104, 1431-1628.
33. U. Martinez-Estibalez, A. Gomez-SanJuan, O. Garcia-Calvo, E. Aranzamendi, E. Lete, N. Sotomayo. Strategies Based on Aryllithium and N-Acyliiminium Ion Cyclizations for the Stereocontrolled Synthesis of Alkaloids and Related Systems // *Eur. J. Org. Chem.* 2011, 20-21, 3610-3633.
34. Narayan R., Potowski M., Jia Z.-J., Antonchick A.P., Waldmann H. Catalytic Enantioselective 1,3-Dipolar Cycloadditions of Azomethine Ylides for Biology-Oriented Synthesis // *Acc. Chem. Res.* 2014, 47, 1296-1310.
35. Filatov A.S., Knyazev N.A., Molchanov A.P., Panikorovsky T.L., Kostikov R.R., Larina A.G., Boitsov V.M., Stepanov A.V. Synthesis of functionalized 3-spiro[cyclopropa[a]pyrrolizine] and 3-spiro[3-azabicyclo[3.1.0]hexane]-oxindoles from cyclopropenes and azomethine ylides via [3+2]-cycloaddition // *Journal of Organic Chemistry*, 2017, 82, 959-975.

36. Yeung, B. K. S.; Zou, B.; Rottmann, M.; Lakshminarayana, S. B.; Ang, S. H.; Leong, S. Y.; Tan, J.; Wong, J.; Keller-Maerki, S.; Fischli, C.; Goh, A.; Schmitt, E. K.; Krastel, P.; Francotte, E.; Kuhen, K.; Plouffe, D.; Henson, K.; Wagner, T.; Winzeler, E. A.; Petersen, F.; Reto, B.; Dartois, V.; Diagana, T. T.; Keller, T. H. // *J. Med. Chem.* 2010, 53, 5155.
37. Velikorodov, A. V.; Ionova, V. A.; Degtyarev, O. V.; Sukhenko, L. T. // *Pharm. Chem. J.* 2013, 46, 715.
38. Goppi, P. G. et al. Vinblastine, Bleomycin, and Methotrexate Chemotherapy plus Irradiation for Patients with Early-Stage, Favorable Hodgkin Lymphoma // *Cancer*, 2011, 98, 239-2401.
39. Hati S., Tripathy S., Dutta P., Agarwal R., Srinivasan R., Singh A., Singh S., Sen S. Spiro[pyrrolidine-3, 3'-oxindole] as potent anti-breast cancer compounds: Their design, synthesis, biological evaluation and cellular target identification // *Nature Scientific Reports*, 6, 32213.
40. Wang, S., Zhao, Y., Bernard, D., Aguilar, A. & Kumar, S. Targeting the MDM2 Protein-Protein Interaction for New Cancer Therapeutics // *Top. Med. Chem.*, 2012, 8, 57-80.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### Сведения о публикациях по теме в 2018 году

Основные результаты, полученные в ходе проведенных исследований, опубликованы в следующих журналах перечня Web of Science:

- 1) R.R. Reznik, N.V. Kryzhanovskaya, A.E. Zhukov, A.I. Khrebtov, Yu.B. Samsonenko, S.V. Morozov, G.E. Cirlin, Structural properties of multilayer heterostructure for quantum-cascade lasers grown by MBE growth, *Journal of Physics: Conference Series*, V. 1124, in print (2018).
- 2) Filatov A.S., Knyazev N.A., Shmakov S.V., Bogdanov A.A., Ryazantsev M.N., Shtyrov A.A, Starova G.L., Molchanov A.P., Larina A.G., Boitsov V.M., Stepanov A.V. Concise Synthesis of Tryptanthrin Spiro Analogues with In Vitro Antitumor Activity Based on One-Pot Three-Component 1,3-Dipolar Cycloaddition of Azomethine Ylides to Cyclopropenes. *Synthesis*, published online 10.10.2018, doi:10.1055/s-0037-1611059.
- 3) Rotov, A.Y., Astakhova, L.A., Sitnikova, V.S., Evdokimov, A.A., Boitsov, V.M., Dubina, M.V., Ryazantsev, M.N. and Firsov, M.L., 2018. New Experimental Models of Retinal Degeneration for Screening Molecular Photochromic Ion Channel Blockers. *Acta naturae*, 10(1), p.75 (IF 2.00).