

ТОМСКИЙ
ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ



На правах рукописи

Воткина Дарья Евгеньевна

**Фундаментальные аспекты гомолитического разрыва
слабых ковалентных связей в прекурсорах
радикалов под действием света**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

1.4.4 – Физическая химия

Томск – 2023

Работа выполнена на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель:

Петунин Павел Васильевич

к.х.н., доцент Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск

Официальные оппоненты:

Толстой Петр Михайлович

д.х.н., профессор кафедры, заведующий кафедрой физической органической химии Института химии Санкт-Петербургского государственного университета, г. Санкт-Петербург

Кетков Сергей Юлиевич

д.х.н., заведующий лабораторией, ведущий научный сотрудник лаборатории строения металлоорганических и координационных соединений Института металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, г. Нижний Новгород

Защита состоится 21 июня 2023 г. в 14:30 на заседании диссертационного совета ДС.ТПУ.30 Национального исследовательского Томского политехнического университета по адресу: 634050 Томск, Ленина 43а.



С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Томского политехнического университета и на сайте dis.tpu.ru при помощи QR-кода.

Автореферат разослан _____

Ученый секретарь
диссертационного совета ДС.ТПУ.30
к.т.н.

A stylized handwritten signature in blue ink, consisting of a large 'K' and a smaller 'H'.

Киргина М.В.

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. Контролируемое образование радикалов вследствие гомолитического разрыва ковалентных связей лежит в основе многих областей применения соответствующих молекул-прекурсоров: от создания новых функциональных полимерных материалов до терапии онкологических и инвазионных заболеваний. Структура таких молекул условно разделяется на два фрагмента: стабильный органический и высоко реакционноспособный углерод-центрированный радикалы, которые связаны между собой слабой ковалентной связью (100 – 130 кДж/моль). При этом, тонкие изменения структуры и электронных свойств каждого из фрагментов приводят к кардинальным изменениям в скоростях высвобождения радикалов. Однако для получения конкретной молекулы, обладающей потенциальной применимостью в той или иной области, важно на этапе планирования синтеза установить тип функциональных групп, а также порядок их сборки для активации или ингибирования гомолиза. Более того, на скорость образования радикалов оказывают влияние полярные, стабилизационные, стерические эффекты, наличие межмолекулярных связей и сольватационные взаимодействия.

На сегодняшний день всесторонне изучен термо- и фото-иницируемый гомолиз связи C-ON в алкоксиаминах ($R_1R_2NOR_3$) – производных нитроксильных радикалов, – что делает их востребованными инициаторами для контролируемой радикальной полимеризации и потенциальными тераностическими агентами. Однако реакционная способность других аналогичных соединений изучена лишь эпизодически. Данный пробел в знаниях побуждает к разработкам методов синтеза и глубокому фундаментальному изучению процессов и структурных особенностей новых прекурсоров радикалов, а также установлению взаимосвязи структура-скорость гомолиза.

Не менее важным аспектом реакции гомолиза является метод инициирования, определяющий механизм процесса. Целенаправленный поиск новых подходов открывает перспективы использования радикальных прекурсоров для различных областей с учетом требований концепции устойчивого развития, ресурсо- и энергосбережения. Для новых подходов к гомолизу прекурсоров радикальных молекул критическим вопросом является механизм процесса, связывающий воедино как свойства молекул, так и фундаментальные основы метода инициирования. Таким образом, дизайн новых соединений с лабильными связями, их синтез, исследование свойств и разработка новых методов гомолитического разрыва связей является открытой и многообещающей областью химической науки.

Цель работы заключается в проведении детальных кинетических исследований, направленных на установление механизмов гомолиза лабильных связей C-N и C-ON в 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинах-3(2H)-онах и алкоксиаминах под действием света для создания новых методов контролируемой генерации активных радикалов.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Разработать методы синтеза 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинах-3(2H)-онов (алкилвердазилов) и получить серию соединений для исследования кинетических закономерностей их гомолитического расщепления.
2. Провести всестороннее исследование кинетических закономерностей гомолиза связи C-N в 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинах-3(2H)-онах (алкилвердазилах) под действием облучения и нагревания и определить основные кинетические параметры данных превращений.

3. Провести исследование контролируемой генерации радикалов из 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онов при воздействии узкополосных источников видимого излучения для применения в фотодинамической терапии.
4. С использованием экспериментальных и теоретических методов изучить процессы активации плазмон-инициируемого гомолиза связи C-ON на примере алкоксиаминов и предложить механизм процесса.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 20-73-00236, мегагранта № 075-15-2021-585 и стипендии французского правительства им. М.В. Остроградского.

Научная новизна.

1. Анализ зависимостей скоростей реакций гомолиза 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онов выявил доминирующее влияние стабилизационных эффектов заместителей в структуре 6-оксовердазильных радикалов на активационный барьер реакции.
2. Впервые показана принципиальная возможность протекания реакции гомолитического разрыва связи C-N в 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онах при облучении широкополосными источниками видимого излучения и определена кинетическая схема реакции и константы скоростей.
3. Впервые показано, что реакция гомолиза 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онов приводит к высвобождению активных радикальных частиц, обладающих ярко выраженным цитотоксическим эффектом в отношении клеток рака молочной железы MCF-7.
4. С использованием теоретических и экспериментальных методов установлен механизм инициирования гомолитического расщепления алкоксиаминов под действием плазмона, возбуждаемого на поверхности сферических наночастиц золота, заключающийся во внутримолекулярном возбуждении алкоксиамина, гибридного с поверхностью золота.

Практическая значимость.

1. Разработан метод термически-индуцируемой вердазил-опосредованной полимеризации стирола с использованием 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онов.
2. Разработаны методологические основы фотодинамической терапии кислород-дефицитных опухолей за счет высвобождения радикальных частиц из 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онов под действием LED-излучения.
3. Разработаны методы генерирования активных радикальных частиц при комнатной температуре при использовании видимого излучения на поверхности плазмон-активных материалов.

Положения, выносимые на защиту.

1. Кинетические параметры термоинициируемой реакции гомолиза связи C-N в 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онах и их использование в вердазил-опосредованной полимеризации стирола.
2. Кинетические схемы и константы скоростей реакции гомолиза связи C-N в 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онах под действием видимого излучения, и применение данного метода в терапии злокачественных образований на примере клеток MCF-7.
3. Механизм плазмонного инициирования процессов гомолиза алкоксиаминов в присутствии сферических наночастиц золота.

Соответствие паспорту специальности 1.4.4 «Физическая химия»: Диссертационная работа соответствует пунктам 1. Экспериментально-теоретическое определение энергетических и структурно-динамических параметров строения молекул и молекулярных соединений, а также их спектральных характеристик. 5. Изучение физико-химических свойств изолированных молекул и молекулярных соединений при воздействии на них внешних электромагнитных полей, потока заряженных частиц, а также экстремально высоких/низких температурах и давлениях. 7. Макрокинетика, механизмы сложных химических процессов, физикохимическая гидродинамика, растворение и кристаллизация. 9. Связь реакционной способности реагентов с их строением и условиями протекания химической реакции. 11. Получение методами квантовой химии и компьютерного моделирования данных об электронной структуре, поверхностях потенциальной и свободной энергии, реакционной способности и динамике превращений химических соединений, находящихся в различном окружении, в том числе в кластерах, клатратах, твердых и жидкокристаллических матрицах, в полостях конденсированных среды и белковом окружении.

Личный вклад автора. Представленные в работе результаты получены автором при его непосредственном участии. Автором был проведен анализ литературных данных по тематике исследования, внесен вклад в формирование общего направления работы и постановку конкретных задач. Лично автором осуществлена большая часть химических экспериментов, обработка данных, формулирование основных выводов на основании совокупности полученных данных. Квантово-химические расчеты были проведены коллегами Junais Habeeb Mokkath (Quantum Nanophotonics Simulations Lab, Department of Physics, Kuwait College of Science and Technology, Kuwait City, Kuwait) и Joel Henzie (National Institute for Materials Science (NIMS), Tsukuba, Ibaraki, Japan).

Апробация работы. Отдельные части работы докладывались и обсуждались на Всероссийской научной конференции «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (Москва, 2020), на международной конференции молодых ученых «Менделеев-2021» (Санкт-Петербург, 2021), а также на VI Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (Екатеринбург, 2022), 6-ом Северо-Кавказском симпозиуме по органической химии (Ставрополь, 2022) и на Всероссийской конференции "Органические радикалы: фундаментальные и прикладные аспекты" (Москва, 2022).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 публикации в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и 5 тезисов докладов на российских и международных конференциях.

Объем и структура работы. Работа изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит 46 рисунков, 18 схем и 13 таблиц. Диссертационная работа состоит из трех глав: литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, а также выводов, списка сокращений, списка цитируемой литературы (176 наименований) и приложений.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю к.х.н. Петунину П.В. (ИШХБМТ ТПУ) за наставления, помощь, плодотворные дискуссии и всестороннюю поддержку, а также соруководителю д.х.н. Постникову П.С. (ИШХБМТ ТПУ) и д.х.н. Трусовой М.Е. (ИШХБМТ ТПУ) за плодотворное обсуждение результатов исследований и всестороннюю помощь в работе и, в частности, подготовке диссертации. Также автор благодарен профессору Sylvain Marque (Университет Экс-Марсель) за плодотворное сотрудничество и конструктивные дискуссии, посвященные аспектам физической химии. Автор благодарен Гусельниковой О.А. (ИШХБМТ ТПУ) за всестороннюю помощь и

поддержку в выполнении работ, посвященным плазмон-инициируемым реакциям и Плотникову Е.В. (ИШХБМТ ТПУ) за помощь в исследованиях цитотоксичности исследуемых соединений. Автор сердечно благодарит всех соавторов работ, вошедших в диссертацию; а также коллектив научной группы Постникова П.С. за поддержку и мотивацию.

Основное содержание работы

1. Гомолитический разрыв слабых ковалентных связей в реакциях образования алкильных и вердазильных радикалов. Генерация радикальных частиц из органических молекул применяется в различных областях химии, химической технологии, а также медицине. Запускать процесс гомолитического разрыва связи может воздействие нагрева, света, электрического тока или использование дополнительных реагентов. В фокусе нашего исследования находятся 2,4,5,6-замещенные-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-оны (алкилвердазилы, AlkVz), которые за счет нескольких заместителей в гетероцикле могут нести различные функциональные группы для достижения необходимых характеристик (схема 1).

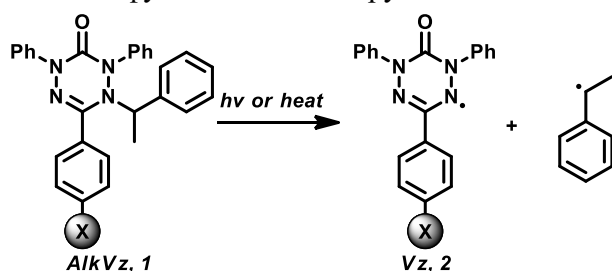


Схема 1. Гомолиз алкилвердазилов AlkVz

В представленном исследовании мы изучали ряд AlkVz, функционализированных различными по электронным эффектам заместителями в структуре вердазильной части. Полученные соединения позволили нам оценить влияние эффектов стабилизации и делокализации электронной плотности на прочность связи C-N.

Первой задачей являлась разработка метода получения целевых AlkVz **1**, содержащих в пара-положении C3-фенильного кольца -OCH₃ или -NO₂ – заместители (схема 2). Так, в качестве исходного соединения для получения AlkVz **1** были выбраны гидразоны **3**, которые вовлекались в реакцию с гексахлордиметилкарбонатом, с образованием соответствующих α-хлоркарбониллов **4**. Далее, соединение **4** вступало в реакцию циклизации с участием фенилгидразина, в результате чего были получены тетразинан-3-оны **5**. 6-оксOVERдазильные радикалы (Vz) **2** были синтезированы с помощью реакции окисления посредством K₃[Fe(CN)₆] в основной среде. Для получения AlkVz нами была апробирована каталитическая система, которая широко применяется для алкилирования стабильных радикалов, подразумевающая использование трифторметансульфоната меди (II) и 4,4'-дитрет-бутил-2,2'-дипиридила в качестве лиганда. Однако, в таких условиях целевые соединения образовывались лишь в следовых количествах. Далее, нами использовалась другая «классическая» система для реакции радикального присоединения с переносом атомов (Cu/ CuBr (I)/ N,N,N',N'',N''-пентаметилдиэтилен триамин (PMDTA)), которая позволила получить алкилированные вердазилы **1** с практически количественными выходами.

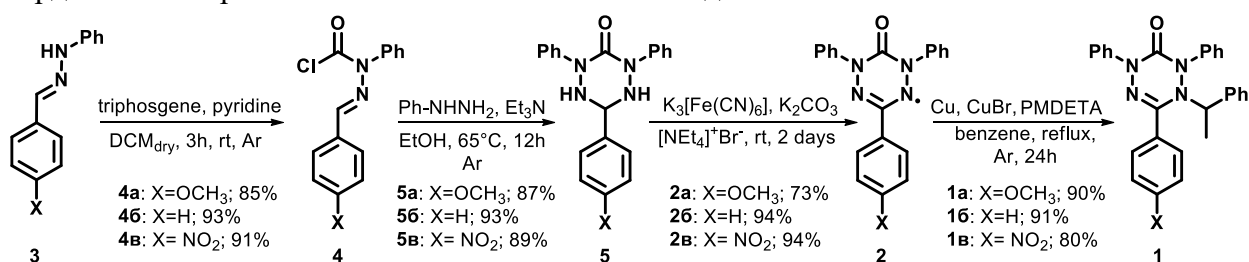


Схема 2. Синтез целевых AlkVz **1**

Далее полученные AlkVz исследовались в термо-инициируемом гомолизе при различных температурах (рисунок 1). Константы скоростей k_d определяли по уравнению 1, а частотный фактор реакций и энергии активации вычисляется с использованием уравнения Аррениуса, линейаризация которого позволяет графически определить необходимые параметры (уравнение 2).

$$\frac{c[Vz]_t}{c[Vz]_\infty} = k_d \cdot t \quad (1)$$

$$k_d = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (2)$$

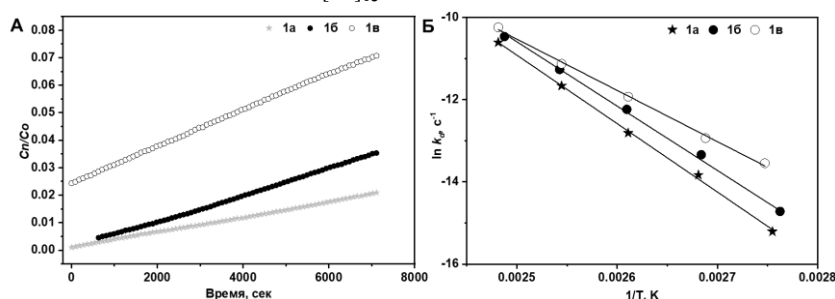


Рисунок 1. А – Кинетика гомолиза связи C-N в AlkVz **1a-v** при 110°C в трет-бутилбензоле. Б – Кривые Аррениуса для AlkVz **1a-v**.

Все вычисленные значения представлены в таблице 1. Важным наблюдением оказалось значительное снижение активационного барьера гомолиза в случае нитро-замещенного алкилвердазила **1v** относительно незамещенного **16**, что увеличивало скорости реакции. Напротив, при введении электронодонорной метокси-группы наблюдалось замедление реакции.

Как и в случае гомолиза алкоксиаминов, предполагается, что на скорость гомолиза связи C-N AlkVz оказывают влияние три основных эффекта: стабилизация образующихся радикалов, электронный эффект заместителя (наличие EDG или EWG) и стерическая напряженность в обоих фрагментах. Поскольку структуры **1a-v** отличаются только заместителем в *пара*-положении C3-фенильного кольца в вердазильном фрагменте и эти заместители дают идентичное стерическое напряжение, то в нашем случае рассматриваются только эффекты делокализации электронной плотности и стабилизации.

Таблица 1. Параметры активации и k_d гомолиза для соединений **1a-v** при 90-130°C.

AlkVz	T, °C ^a	k_d (10 ⁻⁷ с ⁻¹) ^б	A (с ⁻¹) ^в	E _a (кДж/моль) ^в
1a	90	2.5	$2.0 \cdot 10^{13} \pm 2.3 \cdot 10^3$	138.3 ± 2.6
	100	9.8		
	110	27.0		
	120	86.0		
	130	250.0		
16	90	4.2	$2.0 \cdot 10^{12} \pm 2.8 \cdot 10^3$	130.0 ± 3.2
	100	16.0		
	110	49.0		
	120	130.0		
	130	290.0		
1v	90	13.0	$9.0 \cdot 10^8 \pm 2.3 \cdot 10^3$	103.6 ± 2.6
	100	24.0		
	110	66.0		
	120	150.0		
	130	360.0		

^a Погрешность в определении температуры ± 1 °C. ^б Вычислены с помощью ур.1. ^в Вычислены с помощью ур.2.

Влияние электронных эффектов на прочность связи C-N описывается уравнением 3, предложенным L. Pauling:

$$\text{BDE}(\text{N} - \text{C}) = \frac{1}{2}(\text{BDE}_{\text{N-N}} + \text{BDE}_{\text{C-C}}) + \alpha(\chi_{\text{N}} - \chi_{\text{C}})^2 \quad (3)$$

где энергия разрыва (BDE) связи C-N представлена суммой членов, характеризующих энтальпийный и полярный эффекты. Последний выражается квадратом разности электроотрицательностей χ атомов азота и углерода. В нашем случае введение электроноакцепторного заместителя в вердазильный радикал приводит к увеличению электроотрицательности атома азота, что обеспечивает увеличение квадрата разности электроотрицательностей. Следовательно, значение BDE также возрастает. Поскольку считается, что значения BDE можно принять равными значениям энергии активации, то введение электроноакцепторных групп в **Vz** увеличит E_a , а значит уменьшит константу скорости k_d , что не согласуется с полученными нами данными. С другой стороны, влияние полярных эффектов можно описать с помощью констант Гаммета (таблица 2).

Таблица 2. Значения констант Гаммета

	$k_d^{rel.a}$	$\sigma_{L,p-XAryl}$	$\sigma_{L,X}$	$\sigma_{R,p-XAryl}$	$\sigma_{R,X}$	σ_p	$\sigma_{jj,X}^*$	ΔD_X
1a	1	0.11	0.29	-0.19	-0.58	-0.27	0.23	-0.04
1б	1.7	0.12	0	-0.11	0	0	0	0
1в	5.2	0.23	0.67	0.03	0.10	0.77	0.36	0.90

^a Относительные константы скорости гомолиза при 90 °C, рассчитанные по формуле $k_d^{rel.} = k_d[AlkVz] / k_d[AlkVz \text{ 1a}]$.

Далее, опираясь на тенденции изменения значений констант Гаммета и ΔD_X , (таблица 3) можно сделать вывод, что доминирующее влияние оказывает стабилизационный параметр ΔD_X , который нивелирует вклад остальных факторов на скорость реакции гомолиза. Так, вследствие наибольшей стабилизации вердазила **2в** происходит снижение и энергии переходного состояния на 35 кДж/моль относительно самого малоактивного AlkVz **1a**.

Таблица 3. Ожидаемые тенденции изменения k_d в зависимости от констант Гаммета

	Константы Гаммета	$k_d^{rel.}$ ожидаемая	$k_d^{rel.}$ наблюдаемая
$\sigma_{L,X}$	H < OMe < NO ₂	OMe $\approx$ H > NO ₂	
$\sigma_{L,p-XAryl}$	OMe $\approx$ H < NO ₂	OMe $\approx$ H > NO ₂	OMe $\leq$ H < NO ₂
$\sigma_{R,X}/\sigma_p/\sigma_{R,p-XAryl}$	OMe < H < NO ₂	OMe > H > NO ₂	
ΔD_X	OMe $\approx$ H < NO ₂	OMe $\approx$ H < NO ₂	

Стоит отметить, что частотный фактор падает в ряду **1a** – **1б** – **1в** до аномально-малого значения порядка 10^9 , что идет в разрез с литературными данными ($10^{13} - 10^{15} \text{ c}^{-1}$). Это может быть объяснено тем, что в нашем случае при переходе от исходных AlkVz к переходному состоянию (TS) требуется изменение гибридизации атомов углерода и азота в связи C—N с sp^3 на sp^2 . Вследствие sp^2 -гибридизации атомов, в TS наблюдаются сильные отталкивающие взаимодействия между атомами, обусловленные возникающим валентным углом в 90°. Следовательно, поскольку такие отталкивающие взаимодействия препятствуют уплощению, это подразумевает высокий энтропийный вклад, что уменьшает вероятность протекания реакции. Несмотря на отмеченные аномалии в кинетических параметрах исследованной реакции, термолиз алкилвердазилов **1a-в** протекает достаточно быстро, что говорит о том, что с их помощью можно осуществить контролируемую радикальную полимеризацию с участием вердазилов как медиаторов процесса (VMP).

Основываясь на обнаруженных нами закономерностях, можно сделать предположение, что наибольшей скорости реакции полимеризации также удастся добиться при использовании медиатора **1в**. Для проверки нашей гипотезы были проведены эксперименты по контролируемой вердазилами радикальной полимеризации стирола при температурах 100°C и 120°C (рисунок 2А).

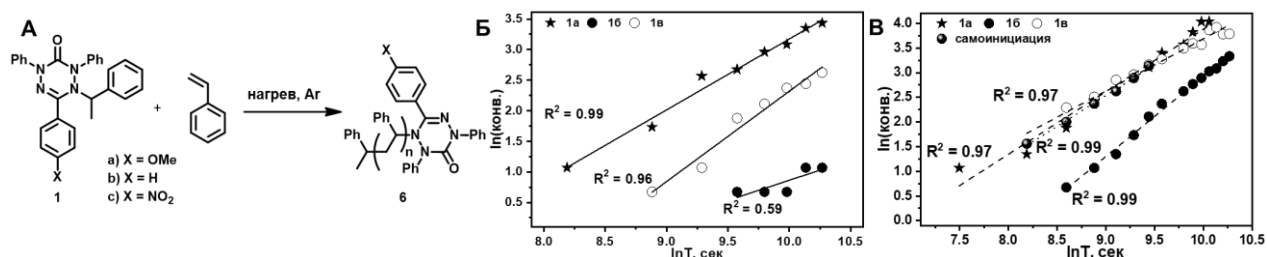


Рисунок 2. А – Схема VMP стирола. Кинетика VMP стирола: Б – при 100 °С, В – при 120 °С

Для обсуждения наибольший интерес представляют результаты экспериментов при 100 °С, так как конверсия стирола в отсутствие инициатора составила всего 1% (рисунок Б), а в присутствии инициаторов **1a-в** достигала 31%, 3% и 14%, соответственно. В то время как при 120 °С прирост конверсии фактически обусловлен процессами самополимеризации (рисунок 2В). Основываясь только на степени конверсии мономера, уже можно сделать вывод, что скорость реакции полимеризации не определяется закономерностями, найденными для реакции гомолиза.

Неожиданным оказался и результат проведенного анализа динамики роста среднечисловой молекулярной массы (M_n) полимера и характера его молекулярно-массового распределения (PDI) (рисунок 3). Так, для всех инициаторов удалось добиться больших молекулярных масс при температуре 100 °С в сравнении с экспериментами при 120 °С (рисунок 3А, Б).

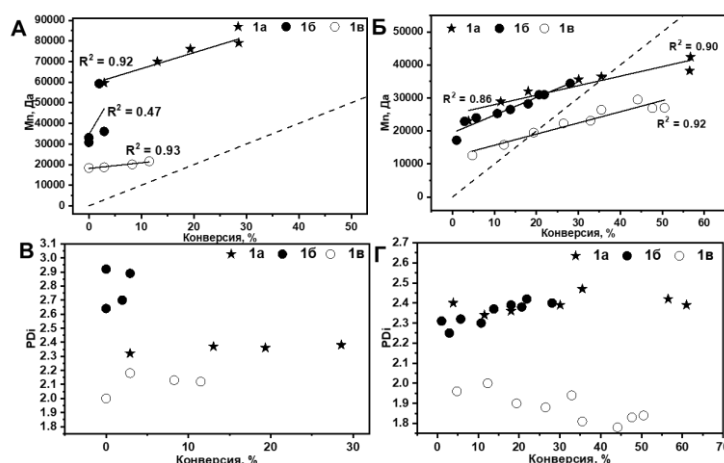


Рисунок 3. А – Зависимость среднечисловой молекулярной массы от конверсии при вердазил-опосредованной полимеризации стирола при 100 °С, (---) – целевое M_n . Б – Зависимость среднечисловой молекулярной массы от конверсии при вердазил-опосредованной полимеризации стирола при 120 °С, (---) – целевое M_n . В – изменение PDI в течение полимеризации стирола при 100 °С. Г – изменение PDI в течение полимеризации стирола при 120 °С.

Найденные тенденции протекания полимеризации подтолкнули нас к необходимости анализа влияющих факторов. С одной стороны, наличие EWG существенно ускоряет процесс разрыва связи C-N в инициаторах **1**, что должно промотировать полимеризацию. С другой стороны, как и наше исследование, так и имеющиеся литературные данные свидетельствуют о том, что, наоборот, наличие EDG обеспечивает наибольшие скорости полимеризации. Это означает, что для успешного протекания полимеризации предпочтительнее умеренные скорости отрыва медиатора от растущей цепи. Но это не объясняет, почему инициатор **16** показал наименьшие скорости реакции. Мы предположили, что в данном случае играет роль термическая стабильность самого вердазильного радикала. Действительно, измерение скоростей термического разложения соответствующих Vz **2a-в** в стироле при 120 °С показало, что скорость уменьшения концентрации вердазила **2б** оказалась самой высокой. Аналогичное поведение было зафиксировано и для Vz **2a**, в то время как соединение **2в** сохраняло 20% спинов относительно изначальной концентрации (рисунок 4). При этом для радикала **2в**

наблюдалось плато, указывающее на установление равновесия между реакциями присоединения стирола и гомолиза образующегося аддукта.

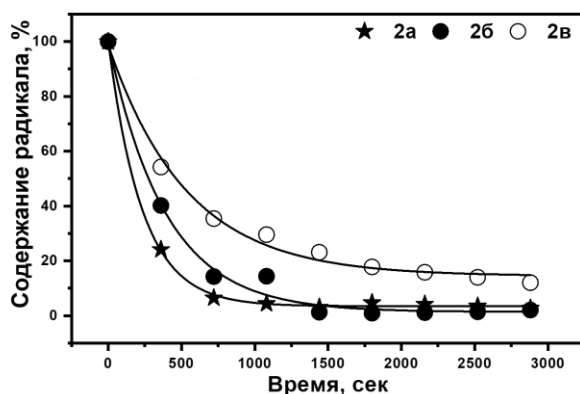


Рисунок 4. Кинетика взаимодействия Vz 2а-в со стиролом при 120°C

Таким образом, в результате полимеризации отщепляющийся от макромолекулярной цепочки вердазильный радикал **2** атакует стирол, тем самым переводя реакцию из контролируемой в свободнорадикальную полимеризацию.

Выдвинутая гипотеза хорошо согласуется с данными о молекулярно-массовом распределении (рисунок 3В и Г). Для AlkVz **1в** величина PDI была наименьшей, а, следовательно, степень контроля была наибольшей, что связано с

самыми малыми скоростями побочных реакций вердазильного радикала с молекулами стирола. Остается невыясненным вопрос, касающийся причин таких свойств радикалов. На наш взгляд, ответ может заключаться в характере делокализации электронной плотности с участием нитро-группы.

Несмотря на доступность и простоту применения нагрева как метода инициирования гомолиза, актуальной задачей является снижение энергоемкости процесса. Важным преимуществом AlkVz является интенсивное поглощение в ультрафиолетовой области с переходом в видимую часть спектра, поэтому крайне интересным представляется исследование их гомолиза под действием видимой области электромагнитного спектра.

Во время фото-гомолиза алкилированных вердазильных радикалов **1а** и **1б** наблюдается рост концентрации образующихся Vz, с достижением выхода радикала 35% к моменту окончания эксперимента (рисунок 5А). Интересным оказалось изменение концентрации неспаренных электронов с течением эксперимента в случае гомолиза AlkVz **1в**: до 4500 с наблюдалось накопление соответствующего Vz **2в**, а затем происходило снижение концентрации радикальных центров в ампуле. Данная аномалия объясняется деградацией вердазила при воздействии света (рисунок 5Б). Нами были оценены скорости деградации вердазильных радикалов **2а-в** при различных мощностях источника излучения (150 – 500 Вт), полученные зависимости были аппроксимированы линейной функцией (константы скорости сведены в общую таблицу 4). Оказалось, что скорость деградации практически не зависела от типа заместителя в заместителе С-3.

Далее, мы провели гомолиз AlkVz **1** в аналогичном диапазоне мощностей (150 – 500 Вт). Для количественной оценки влияния как мощности излучения, так и природы заместителя на фото-инициируемый гомолиз необходимо было рассчитать константу скорости процесса. В данном случае задача оказалась нетривиальной, поскольку в результате реакции образуется Vz, который далее подвержен деградации. Так как в данном случае происходит каскад последовательных реакций, то для вычисления константы скорости гомолиза AlkVz необходимо учитывать и константы скорости деградации радикала. Для определения константы скоростей мы рассмотрели несколько кинетических схем на примере гомолиза **1б** при 300 Вт, причем, важно отметить, что значения констант деградации Vz радикалов были зафиксированы.

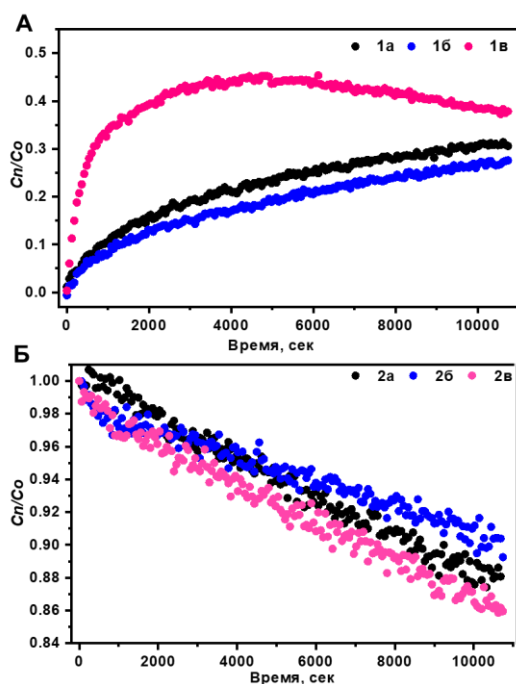
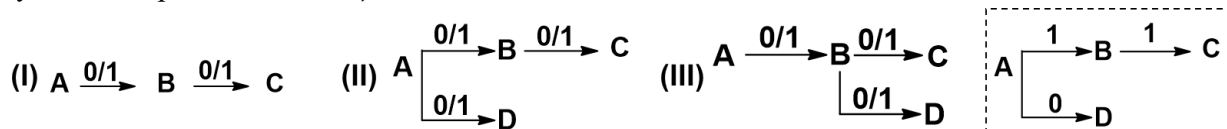


Рисунок 5. А – Кинетика гомолиза AlkVz 1 под воздействием широкополосного света. Б – Деградация Vz 2а-в при воздействии света гомолиз (первый порядок по AlkVz) с последующей деградацией образующегося вердазильного радикала (первого порядка по Vz) с учетом конкурирующей гомолизу реакции (нулевого порядка по AlkVz).



Отметим, что еще одним аргументом в пользу этой схемы является тот факт, что по аналогии с результатами термоллиза, целевая реакция гомолиза имеет первый порядок по алкилвердазилу. С использованием этого уравнения были определены константы скоростей (таблица 4).

Таблица 4. Константы скорости фото-инициируемого гомолиза связи C-N в AlkVz

	Мощность, Вт	$k_1, \text{с}^{-1}, \text{а}$	$k_2, \text{с}^{-1}, \text{б}$	$k_3, \text{моль/л} \cdot \text{с}^{-1}, \text{в}$	$R^2, \text{г}$
1а	150	$7.3 \cdot 10^{-5}$	$0.21 \cdot 10^{-5}$	$3.1 \cdot 10^{-11}$	0.9712
	300	$29 \cdot 10^{-5}$	$1.2 \cdot 10^{-5}$	$110 \cdot 10^{-11}$	0.9648
	400	$18 \cdot 10^{-5}$	$1.4 \cdot 10^{-5}$	$96 \cdot 10^{-11}$	0.9788
	500	$74 \cdot 10^{-5}$	$2.0 \cdot 10^{-5}$	$400 \cdot 10^{-11}$	0.9808
1б	150	$5.4 \cdot 10^{-5}$	$0.65 \cdot 10^{-5}$	$14 \cdot 10^{-11}$	0.9852
	300	$24 \cdot 10^{-5}$	$0.79 \cdot 10^{-5}$	$76 \cdot 10^{-11}$	0.9888
	400	$38 \cdot 10^{-5}$	$1.4 \cdot 10^{-5}$	$210 \cdot 10^{-11}$	0.9819
	500	$31 \cdot 10^{-5}$	$2.7 \cdot 10^{-5}$	$410 \cdot 10^{-11}$	0.9612
1в	150	$74 \cdot 10^{-5}$	$0.27 \cdot 10^{-5}$	$100 \cdot 10^{-11}$	0.9713
	300	$150 \cdot 10^{-5}$	$1.2 \cdot 10^{-5}$	$800 \cdot 10^{-11}$	0.9277
	400	$280 \cdot 10^{-5}$	$2.1 \cdot 10^{-5}$	$2900 \cdot 10^{-11}$	0.9200
	500	$510 \cdot 10^{-5}$	$2.6 \cdot 10^{-5}$	$5700 \cdot 10^{-11}$	0.6025

^а Константа скорости гомолиза AlkVz. ^б Константа скорости деградации Vz. ^в Константа скорости побочной реакции.

^г Коэффициент достоверности аппроксимации.

Для фото-индуцированного гомолиза не наблюдалось прямой корреляции между электронными эффектами заместителей и константами скоростей. Вероятным объяснением является то, что большие значения $\epsilon(\mathbf{1a}) = 4038$ ($\lambda = 329$ нм) в сравнении с $\epsilon(\mathbf{1б}) = 3340$ ($\lambda = 331$ нм)

Так, нами были рассмотрены различные кинетические схемы процесса, подразумевающие целевой гомолиз ($A \rightarrow B$), реакцию деградации Vz ($B \rightarrow C$), а также различные комбинации побочных процессов, происходящих как с исходным AlkVz ($A \rightarrow D$), так и при разложении Vz ($B \rightarrow D$). Дополнительную сложность анализа вносила неясность порядков реакций по веществу, который мог первым или нулевым. Более высокий порядок реакции не рассматривался как крайне маловероятный для такого рода превращений.

При аппроксимации кинетических кривых соответствующими кинетическим схемам функциями и анализом значений R^2 было обнаружено, что наиболее адекватно описывающим экспериментальные данные является уравнение, которое подразумевает

позволяют нивелировать разницу в энергетическом барьере за счет увеличенных шансов на переход в возбужденное состояние для AlkVz **1a**. При сравнении скоростей фотолиза алкилвердазила **1в** с двумя другими производными можно заметить десятикратное отличие в константах скоростей, что с одной стороны логично объясняется меньшим энергетическим барьером реакции, вычисленным при термоллизе, с другой стороны возникает синергетический эффект с высоким коэффициентом экстинкции и наличием дополнительной полосы поглощения в области 350-450 нм, перекрывающейся с полосами эмиссии ртутной лампы в представленной области спектра, что дополнительно увеличивает шансы на переход в возбужденное состояние.

Далее нами было сделано предположение, что при использовании монохроматического излучения удастся минимизировать вероятность протекания побочных реакций. Для проверки этой гипотезы мы использовали AlkVz **1в**, который зарекомендовал себя как наиболее реакционноспособный в ряду **1a-1б-1в**. Согласно электронному спектру соединения **1в** наиболее оптимальной длиной волны для инициации гомолиза является диапазон 390-410 нм (рисунок 6А). Поэтому нами был проведен гомолиз связи C-N в AlkVz **1в** при воздействии LED с максимумом эмиссии при 405 нм (10 мВт/см²). Оказалось, что воздействие монохроматического источника также позволяет добиться только 65 % выхода радикалов, что, вероятно, обусловлено протеканием побочных процессов, однако скорость процесса ($k_d = 1.04 \cdot 10^{-3} \text{ c}^{-1}$) оказалась достаточно высокой даже по сравнению с применением максимальной мощности ртутной лампы. Далее, мы решили изменить положение хромофора, так как для алкоксиаминов известно, что EWG в алкильной части способствуют гомолизу.

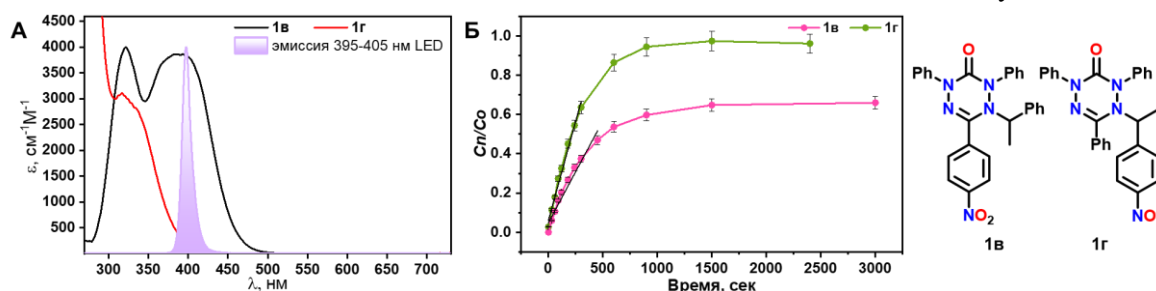


Рисунок 6. А – Спектры поглощения AlkVz **1в** и **1г** в хлористом метиле. Б – Кинетика гомолиза AlkVz **1в** и **1г** в трет-бутилбензоле при действии 405 нм светодиода.

Согласно полученным результатам, алкилвердазил **1г** гомолизуется при воздействии 405 нм LED с полной конверсией в два раза быстрее, чем AlkVz **1в**. За 30 минут облучения в присутствии кислорода **1г** полностью распадается на соответствующий вердазил и углерод-центрированный радикал, который является весьма реакционноспособным (рисунок 6Б). Все вышеперечисленные факты вдохновили нас исследовать AlkVz **1г** в качестве агента для фотодинамической терапии (ФДТ).

ФДТ стала новой парадигмой лечения раковых заболеваний. Однако, существенным ограничением этого метода является ее кислородозависимость, что делает ее малоэффективной из-за гипоксии, которая характерна для многих случаев новообразований. Однако недавно было предложено решение этой серьезной проблемы: использовать молекулы с лабильными связями, из которых спонтанно или под действием внешних факторов генерируются высокореакционноспособные радикалы и в отсутствии кислорода.

Нами была протестирована цитотоксичность AlkVz **1г** *in vitro* на клетках рака молочной железы MCF-7 в среде DMEM-F12 в 96-луночных планшетах. Так как соединение **1г** не растворимо в водных средах, то изначально исследуемое вещество растворяли в DMSO, а затем

раствор выливали в клеточную среду при интенсивном перемешивании, в результате чего получалась серия дисперсных систем из вещества в культуральной среде с различными концентрациями. Приготовленные среды сразу добавляли в культуру клеток и затем облучали светодиодной матрицей с длиной волны 395–410 нм.

Результаты цитотоксического теста AlkVz 1г представлены на рисунке 7, показывающем высокую активность по отношению к клеткам рака молочной железы MCF-7 при концентрации 105 μM в облученных лунках. Показательно, что без облучения (рисунок 7, светло-желтые столбцы) реакция гомолиза не протекает, и жизнеспособность клеток сохраняется, что указывает на селективный характер действия этого агента.

Мы также провели подбор времени облучения и обнаружили, что 20 минут (рисунок 7, красные столбцы) являются оптимальным значением по сравнению с 10 и 40 минутами. При 10-минутном облучении (рисунок 7, розовые столбцы) большая часть клеток оставалась живой, в то время как длительное воздействие (рисунок 7, синие столбцы) приводило лишь к незначительному увеличению гибели клеток по сравнению с 20 минутами.

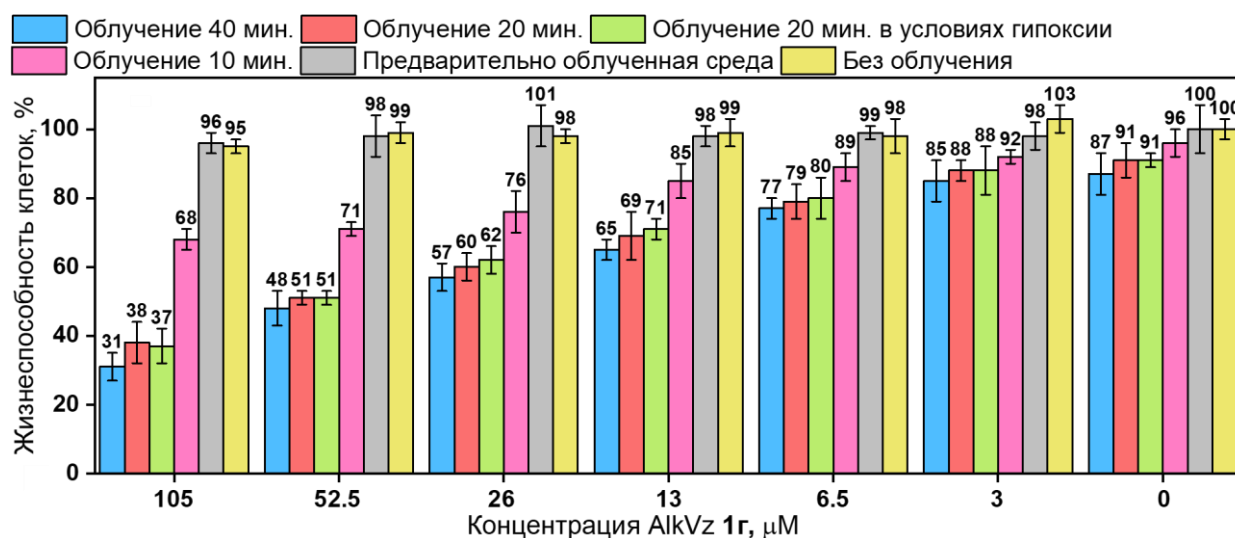


Рисунок 7. Зависимость жизнеспособности клеток MCF-7 от концентрации AlkVz 1г. Синие, красные и розовые столбцы – облучение светодиодной матрицей с длиной волны 395–410 нм в условиях нормоксии в течение 40, 20 и 10 минут соответственно; зеленые столбцы – облучение светодиодной матрицей с длиной волны 395 – 410 нм в условиях гипоксии в течение 20 минут; серые столбцы – при предварительном облучении (в течение 40 минут) сред, содержащих AlkVz 1г светодиодной матрицей 395 – 410 нм в условиях нормоксии; светло-желтые столбцы – оставлены без облучения.

Важно подчеркнуть, что наблюдаемые положительные эффекты терапии могут быть достигнуты вследствие нескольких причин: 1) образование цитотоксичных производных, формируемых из образующихся при гомолизе радикалов, в результате взаимодействия с окружающими молекулами; 2) воздействие активных форм кислорода, генерируемых в результате взаимодействия алкильных радикалов с растворенным в среде кислородом; и 3) непосредственное воздействие углерод-центрированных радикалов, обладающих способностью к нарушению функций клеток.

Для исследования цитотоксичности побочных продуктов, образующихся при гомолизе AlkVz 1г, мы провели контрольный эксперимент. Среду DMEM, содержащую AlkVz 1г в концентрации 105 μM , облучали в течение 40 минут, а затем добавляли в лунки. Подразумевается, что при предварительном облучении в среде образуются целевые углерод-центрированные радикалы, которые далее легко трансформируются в побочные продукты, что

должно привести к гибели клеток за счет цитотоксичности побочных продуктов. Однако, после культивирования клеток линии MCF-7 в присутствии предварительно облученного **1g** (серые столбцы, рисунок 7) клетки проявляли аналогичную жизнеспособность по сравнению с необлученным планшетом (светло-желтые столбцы, рисунок 7, что исключает объяснение положительных результатов действием побочных продуктов гомолиза.

Для оценки роли активных форм кислорода в данном процессе, мы сравнили активность AlkVz в условиях нормоксии (красные столбцы) и гипоксии (зеленые столбцы). Как мы и ожидали, активность **1g** в отношении раковых клеток не зависела от концентрации кислорода в среде. Таким образом, сходная цитотоксичность в условиях нормоксии и гипоксии позволила исключить влияние АФК на цитотоксичность и доказала ключевую роль алкильных радикалов в гибели клеток. Таким образом, мы продемонстрировали потенциал применения AlkVz в дальнейших разработках агентов для фотодинамической терапии.

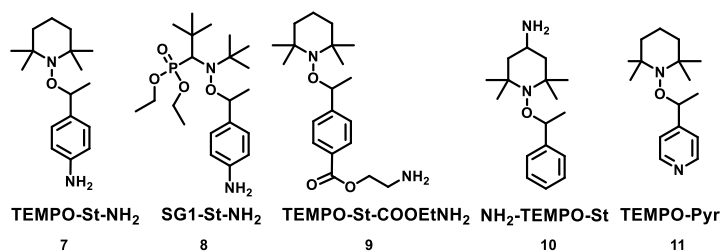
2. Плазмонный резонанс как новый эффективный метод инициирования гомолиза.

Одним из ключевых аспектов применения соединений с лабильными связями является метод инициации реакции. На сегодняшний день весьма актуальной задачей является создание более эффективного метода активации реакций с использованием низкоэнергетичных фотонов. Так, например, классический нагрев и использование ультрафиолетовой области излучения зачастую сопровождаются побочными реакциями и являются экономически затратными. Однако в последние годы появилось новое междисциплинарное направление исследований, связанное с активацией химических реакций на поверхности наночастиц металлов (золота, серебра, меди и алюминия) за счет возбуждения локализованного плазмонного резонанса или поверхностного плазмон-поляритона. Плазмонный резонанс в данных системах возбуждается при использовании видимого света, причем, зачастую, близкого к инфракрасному, что позволяет проводить ряд химических процессов при низких температурах, повышая селективность и скорость реакции. Таким образом, плазмон-иницируемый гомолиз является весьма интересным и перспективным подходом к контролируемому образованию органических радикалов.

Однако, для дальнейшего эффективного применения этого метода активации гомолиза необходимо исследовать не только принципиальную возможность образования радикалов, но и выяснить механизм действия плазмона на субстрат. В настоящее время существуют три основных гипотезы, касающиеся взаимодействия молекул с плазмоном и самого механизма реакции: (1) реакция ускоряется за счет классического нагрева за счет распада плазмона; (2) происходит перенос высокоэнергетичных электронов с металла на низшую свободную молекулярную орбиталь (НСМО) органических молекул с последующим образованием высокореакционных частиц и (3) реализация внутримолекулярного возбуждения электрона с высшей занятой молекулярной орбитали (ВЗМО) на низшую свободную молекулярную орбиталь (НСМО) посредством распада оптически возбужденного поверхностного плазмона.

В качестве субстратов, на которых в дальнейшем будет проводиться отработка метода гомолитического разрыва связей и установление механизма протекания данного процесса, нами были выбраны алкоксиамины (АА), что обусловлено их всесторонней изученностью в термо-и фото-иницируемом гомолизе, что в данном случае облегчит интерпретацию экспериментальных фактов.

Изначально, нами были синтезированы алкоксиамины (АА) **7 – 11** различной структуры, содержащие различные азот-содержащие функциональные группы, которые должны промотировать взаимодействие субстрата с плазмон-активным материалом.



Для дальнейшего анализа зависимости скорости плазмон-инициируемого гомолиза от химической структуры молекулы в качестве дескриптора молекулярного строения будут использоваться энергии ВЗМО, НСМО и энергетической щели, полученные экспериментально с помощью циклических вольтамперограмм и электронных спектров. Данный выбор обусловлен вовлеченностью молекулярных орбиталей в определенный механизм действия плазмона.

В представленном исследовании в качестве плазмон-активного субстрата использовали сферические наночастицы золота диаметром 14.3 ± 2 нм, модифицированные липофильным органическим слоем (AuNPs-C₆H₄-C₄H₉), необходимым для стабилизации наночастиц в толуоле, который используется для ЭПР-исследований. Отметим, что функционализация привела к образованию полифениленового слоя толщиной ~ 1.8 нм, однако из-за его древовидной структуры поверхность AuNP частично осталась доступной для дальнейшего взаимодействия с органическими молекулами, что подтверждается в контрольных экспериментах спектрами комбинационного рассеяния.

С целью получить наиболее надежные кинетические данные необходимо было на примере алкоксиамина **TEMPO-St-NH₂** (7) подобрать оптимальную систему, обеспечивающую максимально возможную конверсию. Варьируя соотношение концентраций AuNPs-C₆H₄-C₄H₉ и АА, было найдено, что таковым является соотношение $(C(\text{AuNPs-C}_6\text{H}_4\text{-C}_4\text{H}_9)/C(\text{AA})) = 41$. Далее, используя $C(\text{AuNPs-C}_6\text{H}_4\text{-C}_4\text{H}_9)/C(\text{AA}) = 41$, был проведен плазмон-инициируемый гомолиз алкоксиаминов **TEMPO-St-NH₂**, **SG1-St-NH₂**, **TEMPO-St-COOEtNH₂**, **NH₂-TEMPO-St** и **TEMPO-Pyr** в присутствии AuNPs-C₆H₄-C₄H₉ при комнатной температуре в течение двух часов, в результате чего были получены кинетические кривые, изображенные на рисунке 8.

Полученные кинетические кривые были успешно аппроксимированы экспоненциальной функцией (уравнение 4).

$$\frac{[\text{нитроксид}]_t}{[\text{нитроксид}]_\infty} = 1 - \exp(-k_d \times t) \quad (4)$$

В ходе плазмон-инициируемого гомолиза АА выявлено, что наиболее активными являются **TEMPO-St-NH₂** (7) и **SG1-St-NH₂** (8) (Таблица 5), в то время как гомолиз **TEMPO-St-COOEtNH₂** (9) и **NH₂-TEMPO-St** (10) протекает на порядок медленнее.

Отдельно стоит отметить результат эксперимента с использованием **TEMPO-Pyr** (11), который после 5000 секунд облучения не позволил обнаружить даже следовые количества соответствующего нитроксида, поэтому константу скорости его распада приняли равной при термолитизе при 25°C (рисунок 8 и таблица 5).

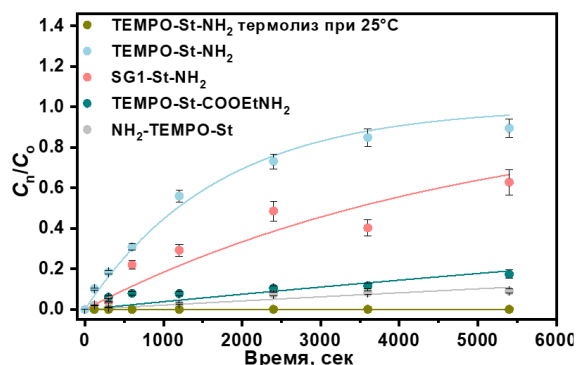


Рисунок 8. Кинетика плазмон-инициируемого гомолиза алкоксиаминов

Таблица 5. Константы скорости гомолиза алкоксиаминов

Соединение	Плазменная инициация		$k_{d,25^\circ\text{C}}^{\text{терм.}}, \text{c}^{-1} \text{ }^a$	$k_{d,100^\circ\text{C}}^{\text{терм.}}, \text{c}^{-1} \text{ }^a$	$E_a, \text{кДж/моль}$	$T_p^\circ\text{C}^b$
	$k_{d,25^\circ\text{C}}^{\text{плазмон}}, \text{c}^{-1}$	Станд. ошибка				
TEMPO-Pyr (11)	$3.5 \cdot 10^{-9e}$	-	$3.5 \cdot 10^{-9}$	$1.3 \cdot 10^{-4}$	130.3 ^z	-
NH₂-TEMPO-St (10)	$2.1 \cdot 10^{-5}$	$2.0 \cdot 10^{-6}$	$8.8 \cdot 10^{-10}$	$4.5 \cdot 10^{-5}$	133.7 ^r	94
TEMPO-COOEtNH₂ (9)	$3.9 \cdot 10^{-5}$	$3.1 \cdot 10^{-6}$	$3.2 \cdot 10^{-9}$	$1.3 \cdot 10^{-4}$	130.5 ^к	90
SG1-St-NH₂ (8)	$2.0 \cdot 10^{-4}$	$2.4 \cdot 10^{-5}$	$3.6 \cdot 10^{-8}$	$8.9 \cdot 10^{-4}$	124.5 ^z	87
TEMPO-St-NH₂ (7)	$5.2 \cdot 10^{-4}$	$2.6 \cdot 10^{-5}$	$1.2 \cdot 10^{-8}$	$3.5 \cdot 10^{-4}$	127.3 ^r	105

^a Значения k_d' и k_d'' были определены с помощью ур. 5. ^b T_p рассчитана с использованием ур.6. ^в Константа скорости при 25°C. ^г Литературные данные. ^д Энергия активации была рассчитана с помощью ур. 7

$$k_{d,25^\circ\text{C}}^{\text{терм.}} \text{ или } k_{d,100^\circ\text{C}}^{\text{терм.}} = 2.4 \times 10^{14} \exp\left(\frac{-E_a}{R \cdot T}\right) \quad (5)$$

$$T_p = \frac{E_a}{R \cdot \ln \frac{2.4 \cdot 10^{14}}{k_d(\text{плазмон})}} \quad (6)$$

$$E_a = 8.314 \cdot T \cdot \ln \frac{2 \cdot 10^{14}}{k_d} \quad (7)$$

Прежде чем рассматривать различные варианты механизма реакции с участием плазмона, необходимо подтвердить, что данная реакция носит именно «плазмонный» характер инициации. Так, был проведен контрольный эксперимент по изучению гомолиза алкоксиамина **TEMPO-St-NH₂ (7)** в присутствии AuNPs-C₆H₄-C₄H₉ без облучения, в результате чего было доказано, что наночастицы сами по себе не иницируют реакцию. Еще одним контрольным экспериментом стал фотолиз **TEMPO-St-NH₂ (7)** под воздействием LED 660 нм без присутствия наночастиц, который показал, что данная реакция не протекает со сколь-нибудь заметной скоростью.

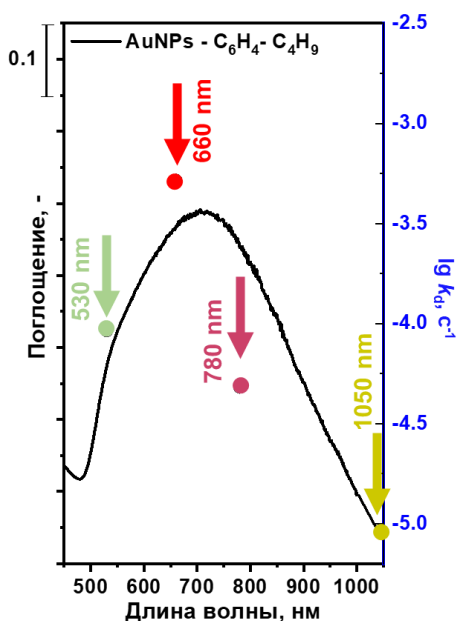


Рисунок 9. УФ-спектр раствора AuNPs-C₆H₄-C₄H₉ в толуоле и k_d (c^{-1}), соответствующие для плазмон-иницируемого гомолиза **TEMPO-St-NH₂ (7)** при облучении 530, 660, 780 и 1050 нм светодиодными источниками.

Наконец, нам удалось продемонстрировать прямую зависимость между эффективностью плазмонного резонанса, выражающейся в способности поглощать электромагнитное излучение определенной длины волны, и скоростью гомолиза алкоксиамина при облучении светодиодами с длиной волны 530, 780 и 1050 нм (рисунок 9). Так, при использовании 1050 нм LED гомолиз не наблюдался, так как взаимодействие наночастиц с данным участком электромагнитного спектра отсутствует, в то время как для длин волн 530 и 780 нм были получены k_d , значения которых меньше, чем при 660 нм, что обусловлено их перекрыванием с пиком плазмонного резонанса лишь на середине высоты. Самое высочайшее наблюдаемое значение k_d было получено при использовании света с длиной волны 660 нм, который соответствует максимуму плазмонного резонанса для полученных нами плазмон-активных материалов.

Важно отметить, что при смешивании плазмон-активного субстрата и органической молекулы происходит гибридизация/взаимодействие молекулярных орбиталей органической молекулы с поверхностью металла, что может способствовать уменьшению энергетической щели, поэтому мы изучили возможность гибридизации полученных нами наночастиц и алкоксиаминов. Спектры комбинационного рассеяния смеси AuNPs-C₆H₄-C₄H₉ + AA

продемонстрировали появление новых пиков в области, характерной для ароматических соединений, и в области «отпечатков пальца» наблюдался пик связи N–O. Почти все новые пики сдвинуты на 10 – 12 см⁻¹ по сравнению со спектрами индивидуальных алкоксиаминов, что указывает на взаимодействие АА с поверхностью AuNPs-C₆H₄-C₄H₉.

С целью дополнить данные, полученные с помощью спектров комбинационного рассеяния, были выполнены DFT-расчеты с использованием программного обеспечения QuantumWise Atomistix ToolKit, которые позволили доказать взаимодействие АА с поверхностью наночастиц и вычислить энергии молекулярных орбиталей АА после гибридизации с уровнем Ферми (таблица 6).

Таблица 6. Сравнение значений энергий молекулярных орбиталей АА, полученных экспериментально, и энергий гибридизованных молекулярных орбиталей АА и уровнем Ферми AuNPs.

Энергия молекулярных орбиталей, эВ	TEMPO-Pyr (11)	NH ₂ -TEMPO-St (10)	TEMPO-St-COOEtNH ₂ (9)	SG1-St-NH ₂ (8)	TEMPO-St-NH ₂ (7)
$E_{\text{ВЗМО}}^{\text{эксп. а}}$	-5.72	-5.25	-5.38	-5.18	-5.05
$E_{\text{НСМО}}^{\text{эксп. а}}$	-0.88	-1.01	-1.05	-0.98	-0.84
$E_g^{\text{эксп. а}}$	4.84	4.24	4.33	4.20	4.21
$E_{\text{ВЗМО}}^{\text{расч. б}} \text{ гибрид.}$	-1.1	-0.73	-0.63	-0.62	-0.46
$E_{\text{НСМО}}^{\text{расч. б}} \text{ гибрид.}$	1.49	3.10	1.80	3.23	3.09
$E_g^{\text{расч. б}} \text{ гибрид.}$	2.60	3.82	2.44	3.86	3.56

^а Экспериментальные данные. ^б Вычисленные значения

Еще одним аргументом в пользу плазмонного характера реакции служит сравнение величин энергетических щелей как индивидуальных АА, так и их конъюгатов с наночастицами. Так, в случае использования 660 нм LED энергия фотона составляет 1.87 эВ, что существенно меньше, чем величины $E_g^{\text{расч. б}} \text{ гибрид.}$, что делает невозможным переход алкоксиамина в возбужденное состояние и, как следствие, протекание реакции гомолиза. Кроме того, если бы реакция гомолиза алкоксиаминов в присутствии наночастиц имела бы характер фотохимической реакции, то должна наблюдаться корреляция между величинами $E_g^{\text{эксп.}} / E_g^{\text{расч. б}} \text{ гибрид.}$ и $k_{d25^\circ\text{C}}^{\text{плазмон}}$, но как видно из рисунка 10 взаимосвязи между этими величинами не наблюдается. Все эти аргументы позволяют сделать однозначный вывод, что рассматриваемая нами реакция гомолиза алкоксиаминов носит плазмон-инициируемый характер.

Механизм плазмон-инициируемого гомолиза связи C-ON в алкоксиаминах. Обладая константами скоростей плазмон-инициируемого гомолиза и величинами энергий молекулярных орбиталей до и после гибридизации АА с уровнем Ферми наночастиц, мы приступили к попытке объяснить механизм действия плазмона на органические молекулы. Для этого сначала рассмотрим «плазмонный нагрев» в качестве возможного механизма, который является одним из наиболее распространенных объяснений.

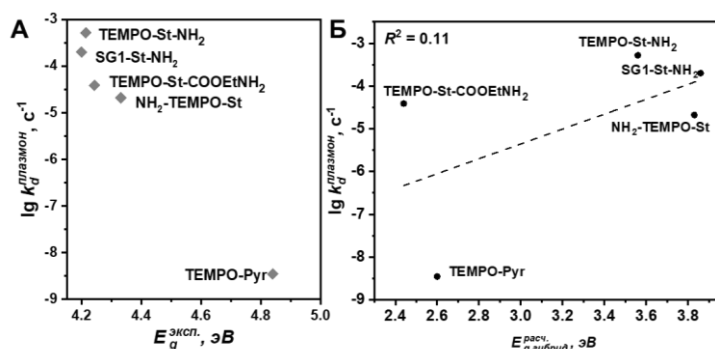


Рисунок 10. Корреляция между $k_{d25^{\circ}\text{C}}^{\text{плазмон}}$ и E_g
 А) $E_g^{\text{эксп.}}$, Б) $E_g^{\text{расч.}}$ гибрид.

между $k_{d25^{\circ}\text{C}}^{\text{плазмон}}$ и $k_{d100^{\circ}\text{C}}^{\text{терм.}}$ (рисунок 11А) демонстрирует отсутствие взаимосвязи между этими величинами, что может свидетельствует о том, что нагрев при плазмонном гомолизе алкоксиаминов не является доминирующим процессом.

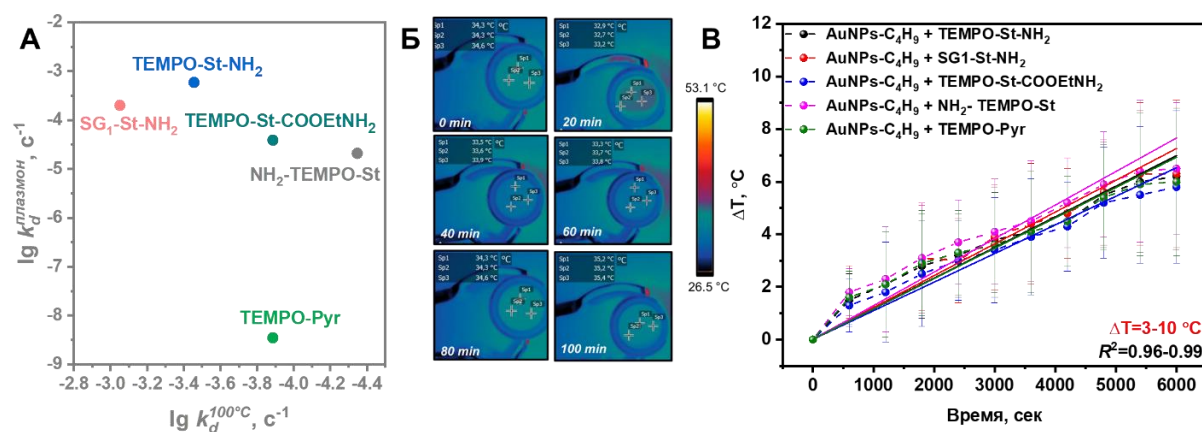


Рисунок 11. А – Корреляция между $\lg k_d$ (плазмон) и $\lg k_d''$ (при 100 °C). Б – Снимок реакционной массы при плазмон-инициируемом гомолизе алкоксиаминов в термокамере. В – Повышение температуры реакционной массы, измеренное термопарой

В качестве еще одного дескриптора, выступающим в роли наглядного примера термических эффектов, мы предлагаем ввести такой параметр, как кажущаяся температура (T_p), которая является мерой величины локального нагрева, обеспечиваемого плазмоном (ур. 6 и таблица 5). Значения T_p , варьирующиеся от 87 °C до 105 °C, для всех алкоксиаминов не коррелируют ни с величинами $k_{d25^{\circ}\text{C}}^{\text{плазмон}}$, ни с $k_{d100^{\circ}\text{C}}^{\text{терм.}}$.

При более детальном рассмотрении «плазмонного нагрева» можно отметить влияние локального нагрева на инициирование реакции. Для точной оценки этой величины наночастиц были проведены теоретические расчеты, показывающие, что локальное повышение температуры для отдельной частицы составило $\Delta T = 0.0004$ °C, а если рассмотреть кластеры, содержащие 1000 AuNPs, то увеличение температуры составит всего $\Delta T \approx 0.038$ °C, чего явно недостаточно для протекания реакции с наблюдаемыми скоростями.

Кроме теоретических расчетов, мы оценили нагрев реакционной системы экспериментально. Так, изменение температуры реакционной массы регистрировалось с помощью тепловизионной камеры (рисунок 11Б) и классическим погружением термопары в центр реакционной массы (рисунок 11В). Результаты обоих измерений демонстрируют повышение температуры в ходе реакции лишь на 6 °C, чего, очевидно, недостаточно для

Для начала мы сравнили значения констант скоростей $k_{d25^{\circ}\text{C}}^{\text{плазмон}}$ и $k_{d100^{\circ}\text{C}}^{\text{терм.}}$ для всех АА, полученные в результате плазмонного и термического гомолиза, соответственно (рисунок 11А). Мы предположили, что, если плазмонный нагрев играет главную роль, то тренд активности АА в плазмон- и термо-инициируемом гомолизе должен совпадать. Построенная корреляция

протекания гомолиза с константами скоростей, сопоставимых по величине с гомолизом при 100°C. Учитывая несоответствие трендов активности алкоксиаминов при термической и плазмонной активации гомолиза, теоретических расчетов и контрольных экспериментов, мы установили, что плазмонный нагрев не является подходящим механизмом для плазмон-индуцированного гомолиза АА.

Механизм трансфера высокоэнергетичных электронов подразумевает возбуждение электронов с определенной энергией, находящихся выше уровня Ферми металла, на энергию плазмона, далее они переходят на НСМО молекулы адсорбата, в результате чего образуются анион-радикальные частицы. Можно утверждать, что переход электрона от металла к молекуле маловероятен из-за полифениленового слоя на поверхности золотых наночастиц. Однако с помощью спектроскопической оценки мы показали, что поверхность Au по-прежнему доступна для органических молекул на примере тиолов, а также самих АА. Поэтому механизм переноса электронов изначально исключать нельзя.

С учетом того, что в реализации данного механизма непосредственное участие принимает НСМО, мы построили корреляции констант скорости плазмон-иницируемого гомолиза со значениями $E_{\text{НСМО}}^{\text{эксп.}}$ и $E_{\text{НСМО гибрид.}}^{\text{расч.}}$ (рисунок 12). В ряду алкоксиаминов 7 – 11

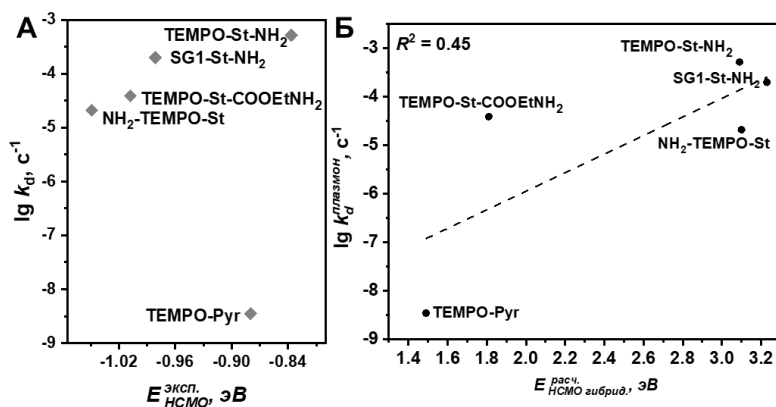


Рисунок 12. Зависимость $\lg k_d^{\text{плазмон}}$ от А) $E_{\text{НСМО}}^{\text{эксп.}}$.

Б) $E_{\text{НСМО гибрид.}}^{\text{расч.}}$

наблюдается рост величины k_d , что не коррелирует с тенденциями изменения $E_{\text{НСМО}}^{\text{эксп.}}$ индивидуальных АА (рисунок 12А) или их конъюгатов $E_{\text{НСМО гибрид.}}^{\text{расч.}}$ (рисунок 12Б). Таким образом, этот сценарий менее вероятен для плазмон-иницированного гомолиза АА, поскольку перенос происходит между уровнями Au и НСМО, а k_d не зависит от $E_{\text{НСМО}}^{\text{эксп.}}$. Кроме того,

при трансфере электрона ожидается образование анион-радикала алкоксиамина, который подвергается мезолизу. Мы наблюдали почти количественный выход (92% по данным ЭПР) ТЕМПО или SG1 в результате гомолиза связи C-ON, кроме того анализ реакционной смеси после плазмон-иницируемого гомолиза с помощью ГХ-МС не обнаружил образование побочных продуктов, свидетельствующих о протекании процессов, связанных с образованием анион-радикальных частиц. Полученные результаты являются еще одним аргументом против механизма, подразумевающего перенос электронов высокой энергии в плазмон-иницируемом гомолизе алкоксиаминов.

Последним возможным механизмом плазмон-иницируемого гомолиза АА является внутримолекулярное возбуждение. Так как в реализации данного механизма участвует высшая занятая молекулярная орбиталь, то между скоростями реакции и энергиями ВЗМО должна наблюдаться взаимосвязь.

Рисунок 13 показывает высокую линейную зависимость как для $E_{\text{ВЗМО}}^{\text{эксп.}}$ ($R^2 = 0.97$), так и для $E_{\text{ВЗМО гибрида}}^{\text{расч.}}$ ($R^2 = 0.97$), что указывает на то, что именно механизм внутримолекулярного возбуждения является наиболее подходящим для рассматриваемого нами процесса. Более того, данные DFT подтверждают, что гибридизация AuNP с молекулярными орбиталями АА приводит к снижению энергии, необходимой для перехода АА в возбужденное состояние, что дополнительно будет ускорять реакцию.

Рисунок 14 резюмирует все собранные нами теоретические и экспериментальные доказательства. Детальное кинетическое исследование в оптимальных экспериментальных условиях не выявило корреляций между константами скоростей плазмон-иницируемого гомолиза $k_{d_{25^\circ\text{C}}}^{\text{плазмон.}}$ и $k_{d_{100^\circ\text{C}}}^{\text{терм.}}$ разных алкоксиаминов, что исключает объяснение результатов с помощью «плазмонного нагрева» (рисунок 14А). Более того, теоретические расчеты локального нагрева и экспериментальное измерение температуры реакционной массы исключают механизм плазмонного нагрева как возможного способа инициации реакции гомолиза.

Механизм, подразумевающий перенос высокоэнергетичных электронов (рисунок 14Б), был исключен из-за отсутствия продуктов анион-радикального распада и корреляции константы скорости и энергии НСМО алкоксиамина или его конъюгата с наночастицей золота, на которую предполагается перенос электрона.

В то время как, линейная зависимость $k_{d_{25^\circ\text{C}}}^{\text{плазмон.}}$ от энергии ВЗМО до и после гибридизации подтверждает механизм внутримолекулярного возбуждения (рисунок 14В). Гибридизация молекулярных орбиталей алкоксиамина и AuNP была подтверждена комплексом физико-химических исследований: спектроскопией комбинационного рассеяния, а также DFT-расчетами. Рассчитанные плотности состояний после гибридизации демонстрируют сдвиг энергий ВЗМО и НСМО, приводящий к уменьшению энергетических щелей.

Кроме того, важно отметить, что помимо исследования механизма инициации реакций энергией плазмонного резонанса, была показана принципиальная возможность генерации стабильных нитроксидов и углерод-центрированных радикалов посредством гомолиза лабильной связи С-ОН, активированного энергией плазмонного резонанса. Представленный метод инициации позволяет проводить реакцию при комнатной температуре, но с высокими скоростями реакции, при этом в качестве источника энергии выступают низкоэнергетические фотоны красной области видимого излучения.

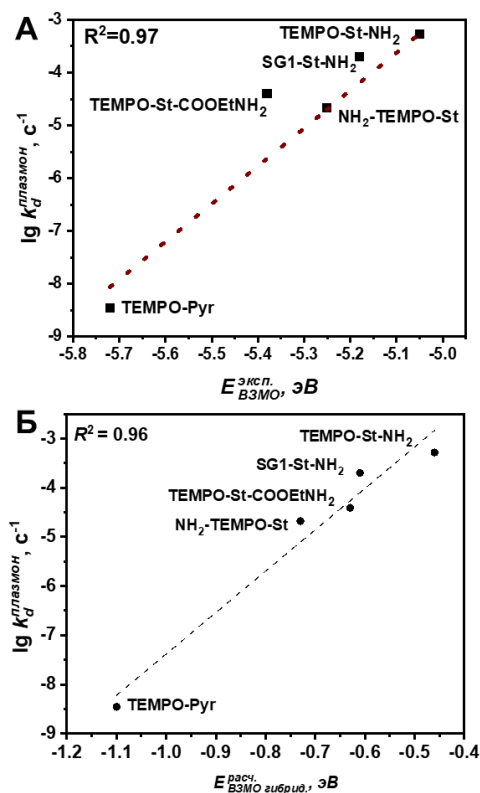


Рисунок 13. Зависимость $\lg k_{d_{25^\circ\text{C}}}^{\text{плазмон}}$ от А) $E_{\text{ВЗМО}}^{\text{эксп.}}$, Б) $E_{\text{ВЗМО гибрида}}^{\text{расч.}}$.

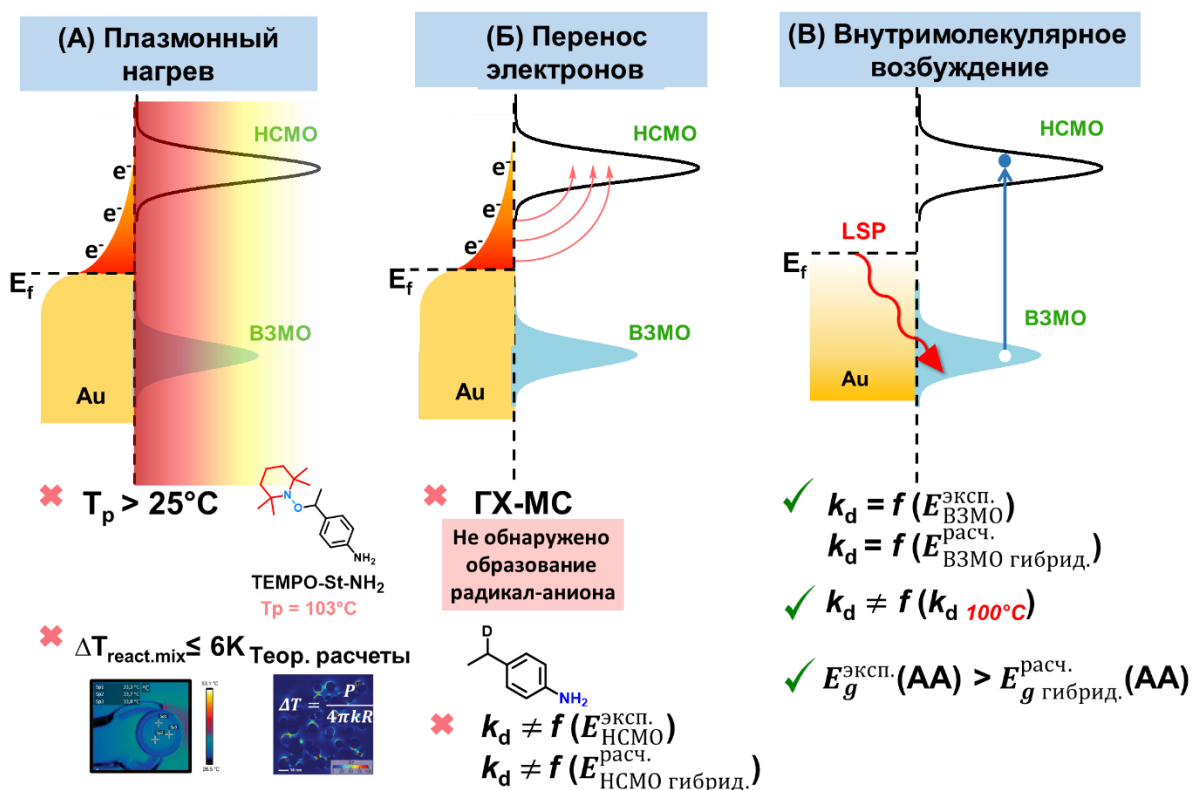


Рисунок 14. Обобщение аргументов, поддерживающих или опровергающих, конкретные механизмы плазмон-инициируемого гомолиза.

Выводы

1. Оценка констант скоростей, энергий активации и частотного фактора термо-инициируемого гомолиза связи C-N в 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онах позволила сделать вывод о ключевой роли стабилизационных эффектов в данном типе превращений. Введение электроноакцепторных заместителей в пара-положение C3-фенильного кольца 6-оксовердазильного радикала способствует его стабилизации, что вследствие способствует уменьшению активационного барьера в ходе гомолиза.
2. Полимеризация стирола в присутствии 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онов имеет контролируемый характер, и их применение позволяет получить прирост длины полимерной цепи за 6 часов реакции в ~80 кДа. Анализ кинетики полимеризации подтвердил стабилизацию 6-оксовердазильных радикалов посредством введения в их структуру нитро-группы.
3. Фото-инициируемый широкополосным светом гомолиз 2,4,5,6-замещенных-4,5-дигидро-1,2,4,5-тетразинан-3(2H)-онов представляет собой сложную реакцию, которая подразумевает побочную реакцию деградации AlkVz и стадию деградации образующегося в ходе гомолиза вердазила. Введение нитро-группы в структуру алкилвердазилов позволяет значительно ускорить реакцию вследствие ее хромофорных свойств.
4. Изучена цитотоксичность 1-(1-(4-нитрофенил)этил)-2,4,6-трифенил-1,4-дигидро-1,2,4,5-тетразин-3(2H)-она при облучении монохроматическим источником с максимумом эмиссии 405 нм на линии раковых клеток MCF-7. Показано, что ни терапевтический агент без облучения, ни образующейся вердазильный радикал, ни побочные продукты гомолиза не влияют на жизнеспособность клеток. Доказано, что терапия имеет дозозависимый и кислородонезависимый характер, что показывает высокий потенциал алкилированных вердазильных радикалов в качестве агентов фотодинамической терапии.

5. Показана принципиальная возможность плазмон-инициируемого гомолиза ряда алкоксиаминов в присутствии плазмон-активных субстратов. Доказано с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния возможность образования конъюгатов алкоксиамин-золотая наночастица. Фактором, определяющим скорость плазмон-инициируемого гомолиза, является величина энергии ВЗМО как индивидуального алкоксиамина, так и его конъюгата с уровнем Ферми золота. Найденная закономерность доказывает, что плазмон-инициируемый гомолиз алкоксиаминов протекает по механизму внутримолекулярного возбуждения

Основное содержание диссертации отражено в следующих публикациях:

1. **Votkina D. E.**, Petunin P. V., Trusova M. E., Postnikov P. S., Audran G., Marque S. R. Kinetic investigation of thermal and photoinduced homolysis of alkylated verdazyls // *Physical Chemistry Chemical Physics*. - 2020 - Vol. 22 - № 38. - p. 21881-21887. DOI: 10.1039/D0CP03151H.
2. **Votkina D. E.**, Rollet M., Trusova M. E., Audran G., Marque S. R., Petunin P. V., Postnikov P. S. 2,4,5,6-Substituted 4,5-dihydro-1,2,4,5-tetrazin-3(2H)-ones as non-classical initiators of controlled radical polymerization of styrene // *Russian Chemical Bulletin*. - 2022 - Vol. 71 - № 7. - p. 1549-1554. DOI: 10.1007/s11172-022-3563-6.
3. **Votkina D.E.**, Plotnikov E. V., Petunin P. V., Berdinskaya E. S., Tretiyakova M. S., Audran G., Marque S. R., Postnikov P. S. Alkylverdazyls as a Source of Alkyl Radicals for Light-Triggered Cancer Cell Death // *Molecular Pharmaceutics*. - 2022 - Vol. 19 - № 1. - p. 354-357. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.1c00780
4. **Darya Votkina**, Pavel Petunin, Elena Miliutina, Andrii Trelin, Oleksiy Lyutakov, Vaclav Svorcik, Gérard Audran, Jeffrey Havot, Rashid Valiev, Lenara I. Valiulina, Jean-Patrick Joly, Yusuke Yamauchi, Junais Habeeb Makkath, Joel Henzie, Olga Guselnikova, Sylvain R. A. Marque, and Pavel Postnikov Uncovering the Role of Chemical and Electronic Structures in Plasmonic Catalysis: The Case of Homolysis of Alkoxyamines // *ACS Catalysis*. – 2023. – Vol. 13. – pp. 2822-2833. DOI: 10.1021/acscatal.2c04685
5. **Воткина Д.Е.**, Петунин П. В., Гусельникова О. А., Sylvain Marque, Постников П.С., Гомолиз лабильных связей как метод генерации стабильных радикалов из соединений с закрытой оболочкой // II Всероссийская конференция "Органические радикалы: фундаментальные и прикладные аспекты": сборник тезисов докладов, Москва, 15-16 Декабря 2022. - Москва: ИОХ РАН, 2022-С. 41
6. **Воткина Д.Е.**, Петунин П. В., Гусельникова О. А., Постников П.С., Контролируемая генерация стабильных радикалов из соединений с закрытой оболочкой под воздействием внешних стимулов // «VI Международная конференция Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов»: сборник тезисов докладов, Екатеринбург, 7–11 ноября, 2022. -Екатеринбург: УрФУ, 2022 с. 120
7. **Воткина Д.Е.**, Петунин П. В., Гусельникова О. А., Sylvain Marque, Постников П.С., Unveiling the role of chemical structure in plasmon catalysis using alkoxyamines as a chemical probe // VI NORTH CAUCASUS ORGANIC CHEMISTRY SYMPOSIUM: сборник тезисов докладов, Ставрополь, апрель, 2022. - СТАВРОПОЛЬ: СКФУ, 2022. - С.138.
8. **Votkina D. E.**, Petunin P. V., Guselnikova O. A., Marque S. R., Joly J. P., Audran G., Postnikov P. S. Plasmon resonance as efficient initiation approach for controlled radical generation // *Mendeleev-2021: Book of Abstract of XII International Conference on Chemistry for Young Scientists*, St. Petersburg, September 6-10, 2021. - Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2021 - p. 504
9. **Воткина Д. Е.**, Петунин П. В., Постников П. С., Marque S. R., Трусова М. Е. Производные вердазильных радикалов как инициаторы контролируемой возобновляемой полимеризации // Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней (WSOC 2020): сборник тезисов Всероссийской научной конференции, Красновидово, 17-20 Января 2020. - Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2020 - С. 112