

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE

Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte

Organiskās ķīmijas tehnoloģijas institūts

RIGA TECHNICAL UNIVERSITY

Faculty of Materials Science and Applied Chemistry

Institute of Technology of Organic Chemistry

Sindija Lapčinska

Doktora studiju programmas “Ķīmija” doktorante

Doctoral Student of the Study Programm “Chemistry”

**CISTEĪNU UN SELĒNCISTĪNU SATUROŠO PEPTĪDU
MODIFICĒŠANA ELEKTROFĪLĀS CIKLIZĀCIJAS UN
REDZAMĀS GAISMAS INICIĒTĀS REAKCIJĀS**

Promocijas darbs

**MODIFICATION OF CYSTEINE AND SELENOCYSTINE-
CONTAINING PEPTIDES BY ELECTROPHILIC
CYCLIZATION AND VISIBLE LIGHT-INDUCED
REACTIONS**

Doctoral Thesis

Zinātniskais vadītājs / Scientific supervisor

Dr. chem.

PĀVELS ARSENJANS

RTU Izdevniecība / RTU Press

Rīga 2022 / Riga 2022

Lapčinska S. Cisteīnu un selēncistīnu saturošo peptīdu modificēšana elektrofīlās ciklizācijas un redzamās gaismas iniciētās reakcijās. Promocijas darbs. Rīga: RTU Izdevniecība, 2022. 155 lpp.

Lapčinska, S. Modification of Cysteine and Selenocystine-containing Peptides by Electrophilic Cyclization and Visible Light-induced Reactions. Doctoral thesis. – Riga: RTU Press, 2022. – 155 p.

Iespiests saskaņā ar promocijas padomes “RTU P-01” 2021. gada 2. decembra lēmumu, protokols Nr. 04030-9.1/28.

Published in accordance with the decision of the Promotion Council “RTU P-01” of 2 December 2021, Minutes No. 04030-9.1/28.

Vāka attēla autors – Pāvels Arsenjans.

Cover picture by Pāvels Arsenjans.

PROMOCIJAS DARBS IZVIRZĪTS ZINĀTNES DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ

Promocijas darbs zinātnes doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2022. gada 17. februārī plkst. 14 Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Rīgā, Paula Valdena ielā 3, 272. auditorijā.

OFICIĀLIE RECENZENTI

Profesors *Dr. chem.* Māris Turks,
Rīgas Tehniskā universitāte

Profesors *Dr. chem.* Aigars Jirgensons,
Latvijas Organiskās sintēzes institūts, Latvija

Profesors *Dr. chem.* Edgars Sūna,
Latvijas Universitāte, Latvija

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi šo promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē zinātnes doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai. Promocijas darbs zinātniskā grāda iegūšanai nav iesniegts nevienā citā universitātē.

Sindija Lapčinska (paraksts)

Datums:

Promocijas darbs ir tematiski vienota zinātnisko publikāciju kopa ar kopsavilkumu latviešu un angļu valodā. Tajā apkopoti seši zinātniskie oriģinālraksti. Publikācijas zinātniskajos žurnālos uzrakstītas angļu valodā, to kopējais apjoms, ieskaitot pielikumus, ir 820 lpp.

SATURS

SAĪSINĀJUMI.....	5
DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS.....	6
Tēmas aktualitāte.....	6
Pētījuma mērķis un uzdevumi	7
Zinātniskā novitāte un galvenie rezultāti.....	7
Darba struktūra un apjoms.....	7
Darba aprobācija un publikācijas	8
PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI.....	10
1. Sulfenilektrofila iegūšana un izmantošana 5- un 6- <i>endo-dig</i> ciklizācijas reakcijās	10
2. Selenilektrofila ģenerēšana un izmantošana 5- un 6- <i>endo-dig</i> ciklizācijas reakcijās	15
3. Redzamās gaismas iniciēta selēncistīnu saturošu peptīdu funkcionalizēšana: indolu selenilēšana un makrociklizēšana	24
4. Redzamās gaismas iniciēta Se–S saiti saturošu peptīdu sintēze.....	33
SECINĀJUMI.....	38
LITERATŪRAS SARAKSTS	39
PATEICĪBAS.....	42
PIELIKUMI	84

1. pielikums: Arsenyan, P.; Lapcinska, S.; Ivanova, A.; Vasiljeva, J. Peptide functionalization through the generation of selenocysteine electrophile. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 4951–4961.

2. pielikums: Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Selenocystine peptides performance in 5-*endo-dig* reactions. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 784–795.

3. pielikums: Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Straightforward functionalization of sulfur-containing peptides via 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions. *Synthesis* **2021**, 53, 1805–1820.

4. pielikums: Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Lapcinskis, L.; Arsenyan, P. Visible light-mediated functionalization of selenocystine-containing peptides. *Adv. Synth. Cat.* **2021**, 363, 3318–3328.

5. pielikums: Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Arsenyan, P. Visible light-mediated synthesis of Se–S bond-containing peptides. *Adv. Synth. Cat.* **2021**, 363, 3968–3972.

6. pielikums: Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Selenocysteinyl electrophiles efficiently promote the formation of coumarin and quinolinone cores by 6-*endo-dig* cyclization. *New. J. Chem.* **2021**, 45, 16625–16634.

SAĪSINĀJUMI

AEŠH	augstas efektivitātes šķidrumu hromatogrāfija
AIMS	augstas izšķirtspējas masspektrometrija
<i>Arg</i>	arginīns
<i>Boc</i>	<i>terc</i> -butoksikarbonil-
<i>Bn</i>	benzil-
<i>t-Bu</i>	<i>terc</i> -butil-
<i>Cbz</i>	benziloksikarbonil-
<i>m-CPBA</i>	<i>meta</i> -hlorperoksibenzoskābe
<i>Cys</i>	cisteīns
<i>DCM</i>	dihlormetāns
<i>DDQ</i>	2,3-dihlor-5,6-diciano-1,4-benzohinons
<i>Dha</i>	dehidroalanīns
<i>EDC·HCl</i>	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimīda hidrogēnhlorīds
<i>Gly</i>	glicīns
<i>GSH</i>	glutations
<i>His</i>	histidīns
<i>HOBt</i>	1-hidroksibenzotriazols
<i>it</i>	istabas temperatūra
<i>KMR</i>	kodolu magnētiskā rezonanse
<i>LED</i>	gaismu emitējošas diodes
<i>Lys</i>	lizīns
<i>Met</i>	metionīns
<i>NBS</i>	<i>N</i> -bromsukcīnimīds
<i>NCS</i>	<i>N</i> -hlorsukcīnimīds
<i>NIS</i>	<i>N</i> -jodsukcīnimīds
<i>NMM</i>	<i>N</i> -metilmorfolīns
<i>Ns</i>	nozil-
<i>PBS</i>	fosfāta buferšķīdums
<i>PLQY, Φ</i>	fotoluminescences kvantu iznākums
<i>RB</i>	Bengālijas rozā
<i>REN</i>	relatīvā elektronegativitāte
<i>Sec</i>	selēncisteīns
ŠH-MS	šķidrumu hromatogrāfija-masspektrometrija
<i>Trp</i>	triptofāns
<i>Ts</i>	tozil-
<i>Tyr</i>	tirozīns
<i>UV</i>	ultraviolets

DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS

Tēmas aktualitāte

Īsie peptīdi ir unikāla savienojumu klase ar daudzsoļošām īpašībām zāļvielu atklāšanā.¹ Kā daudzu fizioloģisko procesu endogēnas signālmolekulas peptīdi paver iespējas terapijām, kas līdzinās dabiskajiem metabolisma procesiem.² Peptīdu kā terapeitisko līdzekļu izmantošana ir ievērojami attīstījusies laika gaitā, turklāt ievērojams daudzums zāļvielu ir peptīdu saturoši līdzekļi.¹ Tomēr būtisks ierobežojums peptīdu izmantošanā ir to zemā perorālā biopieejamība un membrānu caurlaidība. Lai uzlabotu peptīdu biopieejamību, tiek veidoti peptīdu un mazu molekulu konjugāti. Konjugācija ir populārs mehānisms, kā uzlabot peptīdu īpašības. Apmēram trešdaļa no peptīdiem, kas iekļauti klīniskajos pētījumos pēdējo 10 gadu laikā, ir konjugāti, tādēļ jaunu peptīdu saturošu zāļvielu meklējumi turpinās.

Cisteīna (*Cys*), selēncisteīna (*Sec*), kā arī šo aminoskābju oksidēto formu iekļaušana peptīdu vai proteīnu molekulās paver iespēju tos selektīvi modificēt. Šos peptīdus var modificēt, ģenerējot halkogenielektrofilu, nukleofilu vai radikāli.

Lai gan sērs un selēns abi ir VI A grupas elementi, to ķīmiskajām un fizikālajām īpašībām ir ievērojamas atšķirības. Selenoļiem ir zemākas pKa vērtības nekā tioliem, piemēram, selēncisteīna pKa ir 5,2, savukārt cisteīna pKa – 8,3, kas nozīmē, ka fizioloģiskajos apstākļos (pH = 7,4) selēncisteīns ir deprotonēts. Selēns ir vairāk polarizēts, un tas atspoguļojas augstākā reaģētspējā.

Protams, literatūrā ir labi zināmas metodes sulfenil- un selenielektrofilu iegūšanai, tomēr šīs metodes ir lietojamas tikai vienkāršiem ariltioliem vai diarildisulfīdiem/diselenīdiem. Tipiski piemēri sulfenielektrofilu iegūšanai ir arilsulfenilhalīdi, ko iegūst no ariltioliem vai diarildisulfīdiem reakcijā ar halogēniem,^{3,4} SOCl₂,⁵ SO₂Cl₂,³ katalītisku vai ekvimolāru daudzumu Luisa skābes (piemēram, dzelzs(III) sāļi,^{6,7,8} CuBr₂⁹). Līdzīgā veidā, izmantojot halogēnus,⁴ KI/*m*-CPBA,¹⁰ oksidējošos aģentus (persulfātus,¹¹ oksonu¹²), Luisa skābes (CuI,¹³ FeCl₃⁶) un hipervalentus joda savienojumus,¹⁴ iespējams iegūt selenielektrofilu.

Peptīdu modificēšana ir ievērojami sarežģītāka sensitīvu funkcionālo grupu dēļ. Turklāt literatūrā zināmās metodes halkogenilpeptīdu modificēšanai parasti pamatojas uz tiola vai selenola nukleofilītāti, taču šo savienojumu elektrofilās īpašības ir ļoti maz pētītas. Pretēji cisteīnam, selēncisteīnu saturošie peptīdi daudz retāk tiek lietoti ķīmiskajā sintēzē.

Peptīdu funkcionalizēšana tiek veikta, lai uzlabotu šo savienojumu biopieejamību, membrānu caurlaidību un stabilitāti. Piemēram, peptīdu ciklizēšana uzlabo selektivitāti, metabolisko stabilitāti un saistīšanās afinitāti.¹⁵ Vairākas zināmās antibiotikas (vankomicīns, daptomicīns, valinomicīns, gramicidīns S), imūnsupresanti (ciklosporīns), hormonu regulētāji (somatostatīns), pretvēža preparāti (aplidīns, daktinomicīns) ir peptīdu makrocikli.^{16,17} Laika posmā no 2015. līdz 2019. gadam FDA (*Food and drug administration*) apstiprināja 208 zāļvielas, no kurām 15 saturēja peptīdus.¹⁸ Šie medikamenti tiek lietoti diabēta (*Tresiba*, *Lixisenatide*), osteoporozes (*Tymlos*), pazemināta asinsspiediena (*Giapreze*), neuroendokrīno audzēju (*Lutathera*) u. c. saslimšanu ārstēšanai. Savukārt 2021. gadā FDA apstiprināja

15 peptīdu zāļvielas (*Voxzogo, Korsuva, Besremi, Skytrofa, Nexviazyme, Jemperli, Evkeeza, Saphnelo, Rylaze, Aduhelm, Rybrevant, Empaveli, Zynlonta, Zegalogue, Lupkynis*).

Pētījuma mērķis un uzdevumi

Promocijas darba mērķis ir jaunu, efektīvu metožu izstrāde cisteīnu un selēncisteīnu saturošo peptīdu modificēšanai, balstoties uz sulfenil- vai selenielektrofila ģenerēšanu, pievēršot uzmanību augstam iznākumam, atomekonomiskam un videi draudzīgam procesam.

Darba mērķa sasniegšanai definēti šādi uzdevumi:

- 1) izstrādāt ērtu protokolu sulfenielektrofila ģenerēšanai *in situ* no cisteīnu saturošiem peptīdiem;
- 2) izstrādāt jaunas metodes selenielektrofila ģenerēšanai, kas būtu piemērotas selēncisteīnu saturošiem peptīdiem;
- 3) izstrādāt metodes sulfenil- un selenielektrofilu izmantošanai 5- un 6-*endo-dig* ciklizācijas reakcijās;
- 4) izstrādāt metodes selēncisteīnu saturošu peptīdu modificēšanai redzamās gaismas iniciētās reakcijās.

Zinātniskā novitāte un galvenie rezultāti

Veikto pētījumu rezultātā ir izstrādātas vienkāršas un efektīvas metodes cisteīnu un selēncisteīnu saturošu peptīdu funkcionalizēšanai. Cisteīna elektrofilis – cisteinilhlorīds – tika *in situ* iegūts, izmantojot *N*-hlorsukcīnimīdu, savukārt selēna elektrofila iegūšanai tika izmantota Luisa skābe (CuBr₂) vai neorganisks oksidējošais aģents (K₂S₂O₈). Elektrofilās daļiņas sekojoši tika izmantotas 5- un 6-*endo-dig* ciklizācijas reakcijās ar piemērotiem trīskāršo saiti saturošiem substrātiem, iegūstot cisteīnu un selēncisteīnu saturošus indolizīnija sāļus, indolus, benz[*b*]furānus, indēn[1,2-*c*]hromēnus, poliaromātiskus ogļūdeņražus, kumarīnus, izokumarīnus, hinolīn-2-onus un izohinolīn-2-onus. Lietotās metodes selenielektrofila ģenerēšanai uzrādīja augstu toleranci aminoskābēm ar “sensitīvām” grupām (piemēram, *Tyr, Glu, Lys*). Izstrādāta jauna, atomekonomiska metode aizsargātu un neaizsargātu selēncisteīnu saturošo peptīdu modificēšanai, izmantojot redzamās gaismas iniciētu reakciju. Ar šo metodi veikta selēncisteīnu saturošu *N*-heterociklu sintēze ar augstiem iznākumiem. Turklāt, izmantojot iekšmolekulāru indolu selenilēšanu, iegūti selēncisteīnu saturoši makrocikli. Izmantojot redzamās gaismas iniciētu reakciju, iegūti arī Se–S saiti saturoši peptīdi. Metode balstās uz glutaciona S-radikāļa ģenerēšanu organiskās krāsvielas klātienē.

Darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs ir tematiski vienota zinātnisko publikāciju kopa, kas veltīta jaunu metožu izstrādei cisteīnu un selēncisteīnu saturošu peptīdu modificēšanai elektrofilās ciklizācijas un redzamās gaismas iniciētās reakcijās. Promocijas darbs ietver sešas oriģinālpublikācijas, kas indeksētas *Scopus* un *Web of Science* datubāzēs.

Darba aprobācija un publikācijas

Promocijas darba rezultāti publicēti sešos zinātniskajos oriģinālrakstos, pētījuma rezultāti prezentēti sešās zinātniskajās konferencēs.

Zinātniskās publikācijas

1. Arsenyan, P.; Lapcinska, S.; Ivanova, A.; Vasiljeva, J. Peptide functionalization through the generation of selenocysteine electrophile. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 4951–4961.
[Lapcinska, S.; Ivanova, A.; Vasiljeva, J., Arsenyan, P. Synthesis of selenocysteine-based peptides. *Synfacts* **2019**, 15(10), 1206.]
2. Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Selenocystine peptides performance in 5-*endo-dig* reactions. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 784–795.
[Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Site-selective modification of selenocystine peptides. *Synfacts* **2020**, 16(05), 0606.]
3. Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Straightforward functionalization of sulfur-containing peptides via 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions. *Synthesis* **2021**, 53, 1805–1820.
4. Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Lapcinskis, L.; Arsenyan, P. Visible light-mediated functionalization of selenocystine-containing peptides. *Adv. Synth. Cat.* **2021**, 363, 3318–3328.
5. Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Arsenyan, P. Visible light-mediated synthesis of Se–S bond-containing peptides. *Adv. Synth. Cat.* **2021**, 363, 3968–3972.
[Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Arsenyan, P. Visible light-mediated selenium–sulfur bond formation to afford selenium–sulfur bond-containing peptides. *Synfacts* **2021**, 17(11), 1289.]
6. Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Selenocysteinyl electrophiles efficiently promote the formation of coumarin and quinolinone cores by 6-*endo-dig* cyclization. *New. J. Chem.* **2021**, 45, 16625–16634.

Zinātniskās konferences

1. S. Lapcinska. Cysteinyl- and selenocysteinyl indoles and benzo[*b*]furanes. *University of Latvia 77th International Scientific Conference, Organic Chemistry section*, February 18, 2019, Riga (Latvia).
2. Peptide functionalization through the generation of selenocysteine electrophile. A. Ivanova, S. Lapcinska, P. Arsenyan. *14th International Conference on the Chemistry of Selenium and Tellurium (ICCST-14)*, June 3–7, 2019, Santa Margherita di Pula (Italy).
3. Formation of indole and benzofuran moieties attached to selenocysteine containing peptides. S. Lapcinska, P. Arsenyan. *14th International Conference on the Chemistry of Selenium and Tellurium (ICCST-14)*, June 3–7, 2019, Santa Margherita di Pula (Italy).

4. Performance of chalcogen-containing peptides in 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions. S. Lapcinska. *Paul Walden 11th Symposium on Organic Chemistry*, September 19–20, 2019, Riga (Latvia).
5. Visible light-mediated functionalization of selenocystine-containing peptides. S. Lapcinska, P. Arsenyan. *International Conference on Photochemistry – 30th edition (ICP2021)*, July 19-23, 2021, Geneva (Switzerland), online conference.
6. Photocatalytic macrocyclization of selenocystine-containing peptides. S. Lapcinska, P. Arsenyan. *International Symposium on Synthesis and Catalysis (IsySyCat2021)*, August 31–September 3, 2021, Evora (Portugal), online conference.
7. Light-driven modifications of Cys and Sec containing peptides. S. Lapcinska. *Paul Walden 12th Symposium on Organic Chemistry*, October 28–29, 2021, Riga (Latvia), online conference.

PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI

1. Sulfenilelektrofila iegūšana un izmantošana 5- un 6-*endo-dig* ciklizācijas reakcijās

Cisteīns (*Cys*) ir samērā reti sastopams proteīnos (1–2 %), tāpēc tas ir populārs mērķis proteīnu reģioselektīvai modificēšanai. Iespējams, vissvarīgākais *Cys* saturošais peptīds ar mazu molekulāro masu, kas sastopams cilvēku organismā, ir glutations (*GSH*). *GSH* ir svarīga nozīme daudzos šūnā notiekošos procesos, tajā skaitā šūnu diferenciacijā, proliferācijā un apoptozē. *GSH* pasargā šūnas no bojājumiem, ko izraisa lipīdu peroksīdi, reaktīvās skābekļa un slāpekļa daļiņas un ksenobiotiķi. Samazināta *GSH* un *GSH*/glutaciona disulfīda (*GSSG*) attiecība izraisa palielinātu uzņēmību pret oksidatīvo stresu, kas saistīts ar vēža attīstību, taču paaugstināts *GSH* daudzums izraisa rezistenci pret oksidatīvo stresu. Turklāt pēdējo gadu laikā tiolu saturoši peptīdi ir izmantoti lipofilo zāļu vielu piegādes sistēmās.

Zināmās metodes konjugātu sintēzei parasti balstās uz *Cys* nukleofilitāti. Plaši lietotas metodes cisteīna funkcionalizēšanai ir alkilēšana ar alkilhalogenīdiem, arilēšana un Maikla pievienošanās reakcija. Vērtīga metode ir cisteīna sašūšana (*stapling*) ar dažādiem arilinkeriem. Cisteīnu var viegli oksidēt par tā dimēru – cistīnu. S–S saites izveide proteīnos ir atkarīga no cisteīnu novietojuma, un tās ievietošana proteīnos atbild par to stabilitāti un izkārtojumu.

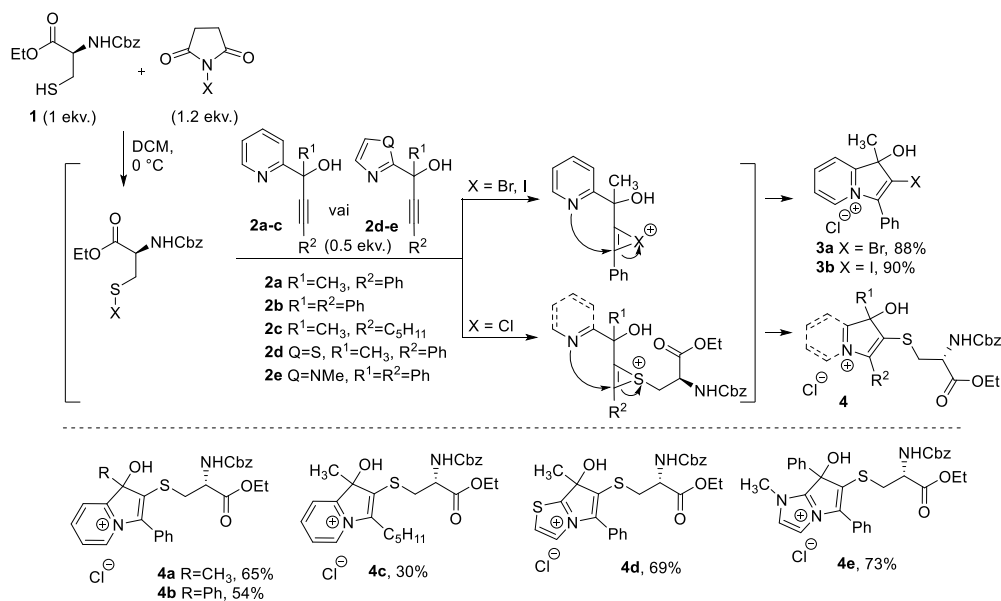
S–H saites homolītiskās disociācijas enerģija ir neliela (86 kcal/mol), kas ļauj viegli ģenerēt attiecīgo cisteīna radikāli.¹⁹ Pēdējo gadu laikā izstrādātas metodes cisteīna konjugācijai fotokatalizatoru klātienē, izmantojot redzamo vai UV gaismu.²⁰ Iespējams, ka plašāk lietotās radikāļu reakcijas cisteīna modificēšanai ir tiola-ēna/īna reakcijas. Savukārt *Cys* desulfenilēšanas rezultātā veidojas *Dha* atvasinājumi. Parasti reakciju veic fosfīnu klātienē.

Elektrofilais centrs uz sēra atoma atrodas savienojumos ar S–O, S–N vai S–Cl saiti. Sulfēnskābes ir nestabilas, taču sulfēnamīdi parasti tiek sintezēti no sulfenilhalogenīdiem, tāpēc sulfenilhalogenīdi tiek plašāk lietoti kā sulfenilelektrofili. Šos elektrofilus var iegūt no tioliem vai disulfīdiem, izmantojot halogēnus, SOCl₂, SO₂Cl₂ vai *N*-halosukcīnimīdus. Cisteīnu iespējams modificēt, lietojot tā spēju saistīties ar Luisa skābēm. Tādas Luisa skābes kā FeCl₃, CuBr₂ un AlCl₃ izmanto, lai ģenerētu elektrofilu no tioliem vai disulfīdiem. Elektrofilu var iegūt, izmantojot (diacetoksijod)benzolu KI klātienē. Iepriekš pagatavoti *N*-tioalkil- vai arilftalimīdi un *N*-tiosukcīnimīdi arī spēj kalpot kā efektīvi elektrofilī.

Promocijas darba pamatā esošajos pētījumos tika izlemts ģenerēt sulfenilelektrofilu ar *N*-halosukcīnimīdu palīdzību. *N*-Cbz-*Cys*-OEt (**1**) un 4-fenil-2-(piridīn-2-il)but-3-īn-2-ols (**2a**) tika izmantoti par modeļvielām optimālo reakcijas apstākļu meklējumos. Analizējot reakcijas maisījumus, noskaidrots, ka *N*-bromsukcīnimīda (NBS) un *N*-jodsukcīnimīda (NIS) gadījumā ar augstiem iznākumiem īsā reakcijas laikā (1 h) veidojās attiecīgi halo-indolizīnija sāļi **3a** un **3b**. Savukārt *N*-hlorsukcīnimīds (NCS) izrādījās piemērots, lai iegūtu *Cys* saturošo indolizīnija sāli **4a**, kas tika izolēts kā diastereomēru maisījums (1 : 1) ar 65 % iznākumu (1. shēma). NCS nespēja veicināt 5-*endo-dig* ciklizēšanu ar **2a**, bet reakcijā ar NBS un NIS trīs dienu laikā

neselektīvi veidojās **3a** un **3b**. Tas apstiprināja hipotēzi par attiecīgo cisteinilhalogēnīdu izveidi cisteīna reakcijā ar *N*-halosukcīnimīdiem. Iegūtie rezultāti liecina par to, ka elektrofilais centrs cisteinilhlorīdā ir sēra atoms, savukārt cisteinilbromīda un cisteiniljodīda gadījumā elektrofilais centrs ir halogēna atoms, jo šajos gadījumos ir mazāka relatīvās elektronegativitātes (REN) atšķirība starp konkrētajiem atomiem (REN S = 2,58, Cl = 3,16, Br = 2,96, I = 2,66).

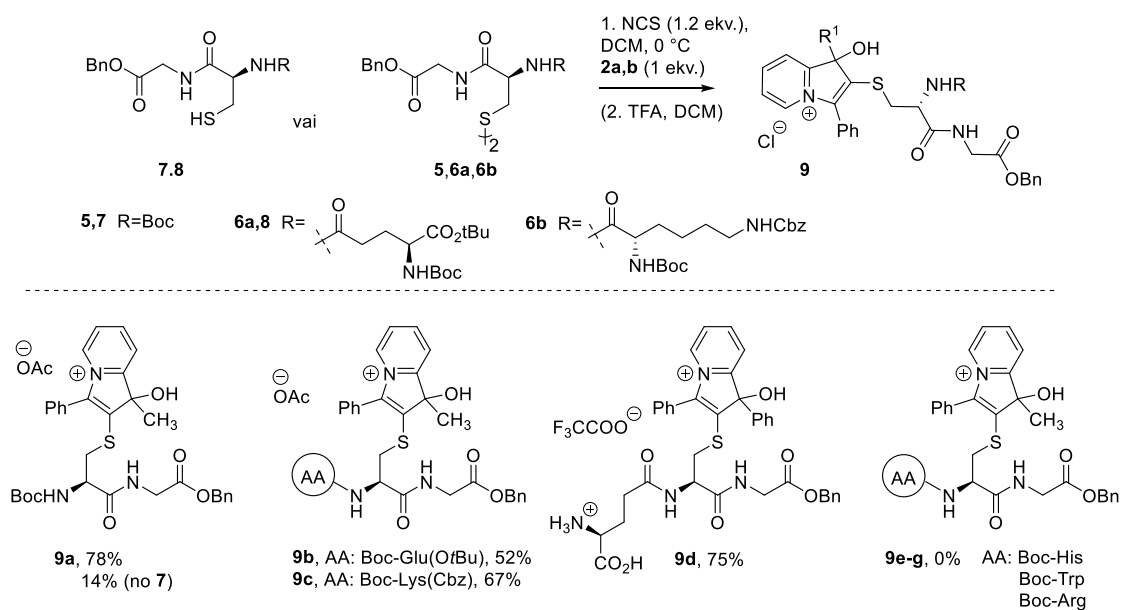
Substrātu klāsta pārbaude parādīja, ka ne tikai propargilpiridīni **2a-c**, bet arī propargiltiazols **2d** un propargil-*N*-metilimidazols **2e** ir piemēroti substrāti ciklizācijas reakcijai un veido indolizīnija tipa sistēmas **4d,e** ar labiem iznākumiem (69–73 %).



1. shēma. Cys saturošu indolizīnija tipa sāļu sintēze.

Visi produkti tika attīrīti ar apgrieztās fāzes hromatogrāfijas palīdzību (MeCN/H₂O, pH = 4, sālsskābe).

Izstrādātie reakcijas apstākļi nebija piemēroti savienojuma **9a** iegūšanai (2. shēma). Lai gan produkta veidošanās tika novērota, veidojās arī dažādi piemaisījumi. Reakciju veicot acetonitrilā, izdevās izolēt **9a** ar 14 % iznākumu. Taču izrādījās, ka ir iespējams izmantot S–S saiti saturošus substrātus, lai ģenerētu sulfenilelektrofilu un izmantotu to 5-*endo-dig* ciklizācijā. Sekojoši (*Boc-Cys-Gly-OBn*)₂ **5** un (*Boc-Glu(OtBu)-Cys-Gly-OBn*)₂ **6a** izmantošana ļāva iegūt attiecīgos indolizīnija sāļus **9a-c** ar vidējiem līdz labiem iznākumiem. Peptīdi, kas saturēja aminoskābes ar “jutīgām” funkcionālajām grupām (*His*, *Trp*, *Arg*), nebija piemēroti reakcijas apstākļiem.



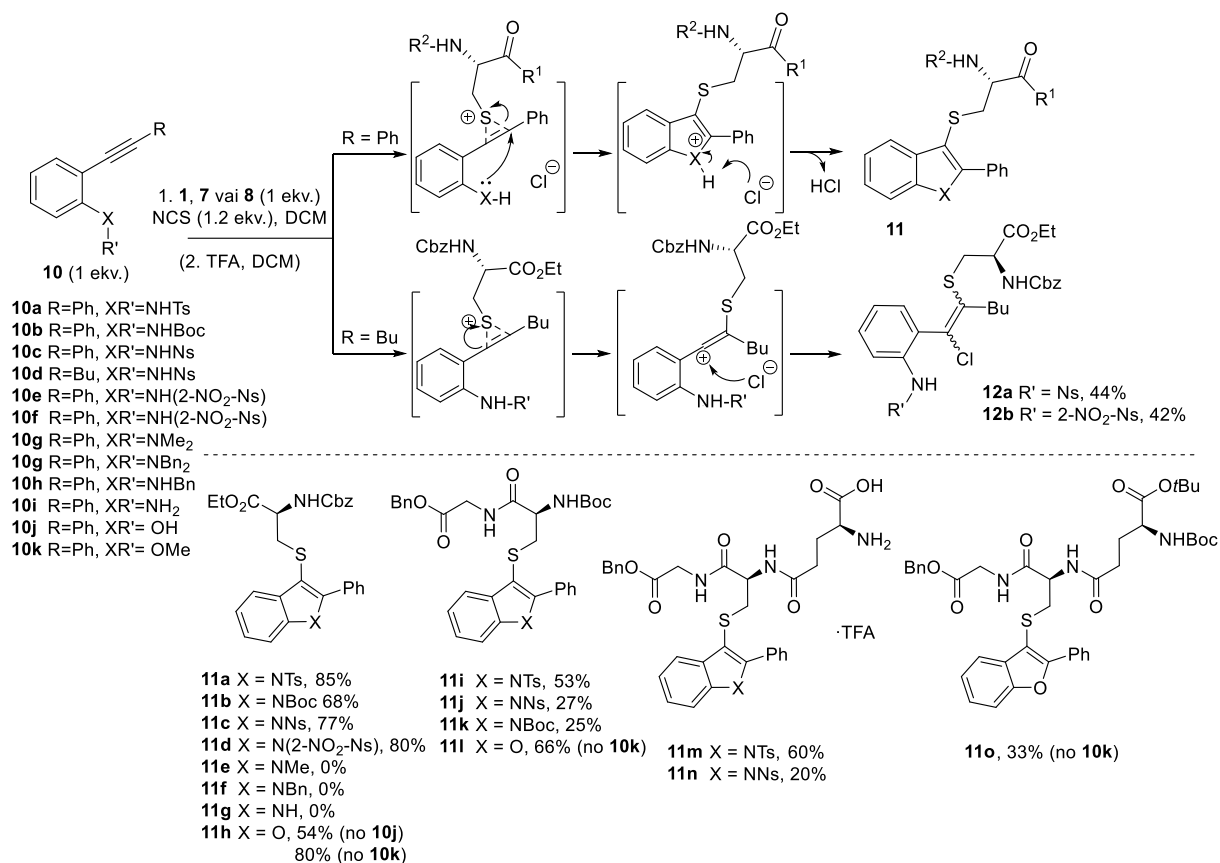
2. shēma. Cys peptīdus saturošu indolizīnija sāļu sintēze.

Produkti tika attīrīti ar apgrieztās fāzes hromatogrāfijas palīdzību

(**9a-c**: MeCN/H₂O, pH = 4, etiķskābe; **9d**: MeCN/H₂O, pH = 4, trifluoretiķskābe).

Daudzas dabasvielas, kā arī ievērojams skaits zāļvielu, satur indola un benz[*b*]furāna motīvus.^{21, 22} Turklāt šos heterociklus uzskata par “priviliģētām struktūrām”.²³ Tāpēc tika izlemts lietot izstrādātos reakcijas apstākļus citai 5-*endo-dig* ciklizācijai, kas rezultātā ļautu iegūt indolus un benz[*b*]furānus.

Reakcijā starp **1** un 2-(feniletinil)anilīnu NCS klātienē veidojās 3-Cys-indoli **11a-d** ar augstiem iznākumiem (3. shēma). Taču ne dimetilamino-, ne dibenzilamino-, kā arī neaizsargāti (feniletinil)anilīni nebija piemēroti substrāti ciklizācijas reakcijai.

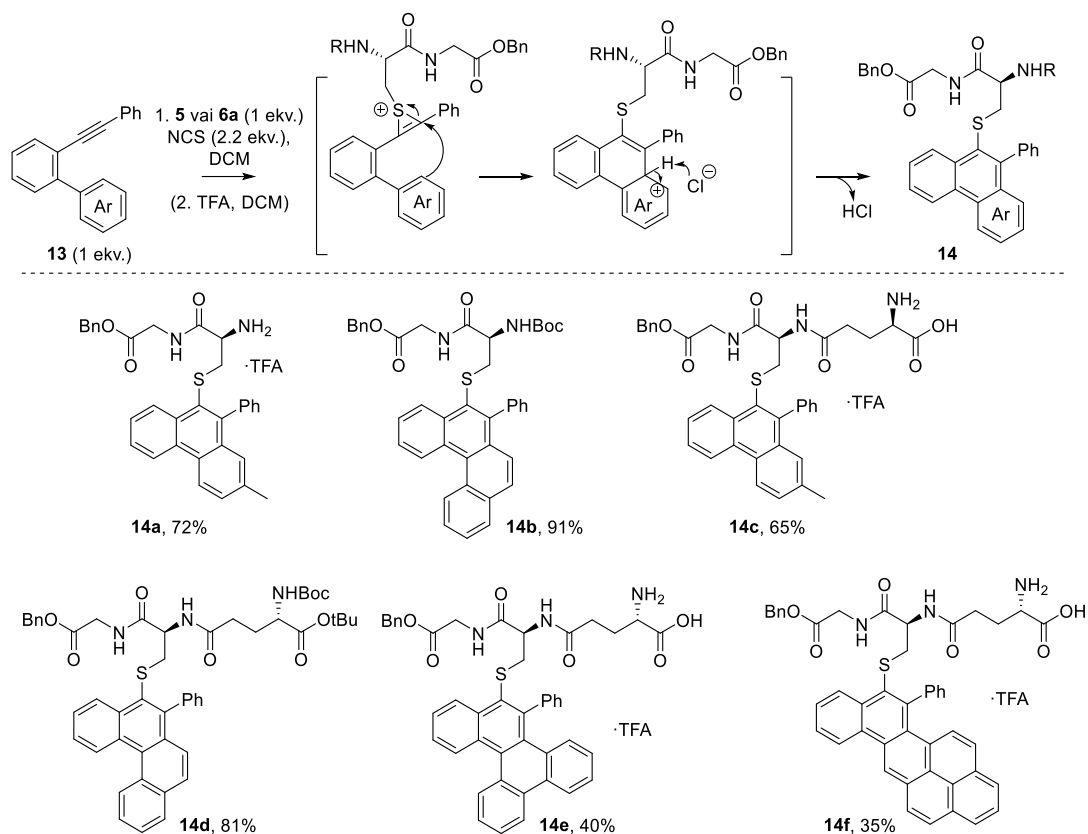


3. shēma. Cys peptīdu saturošu indolu un benz[*b*]furānu sintēze.

Līdzīgā veidā tika iegūts 3-Cys-benz[*b*]furāns **11h**. Svarīgi, ka reakcijas iznākumu izdevās ievērojami uzlabot, 2-(feniletinil)fenola **10j** vietā izmantojot 2-(feniletinil)anizolu **10k**. Peptīdu *Boc-Cys-Gly-OBn* (**7**) un *Boc-Glu(OtBu)-Cys-Gly-OBn* (**8**) lietošana ļāva izolēt attiecīgos indolus un benz[*b*]furānus, tomēr reakcijas iznākumi bija dažādi (20–66 %). S–S saiti saturošie peptīdi nebija piemēroti savienojumu **11** sintēzei. Jāpiemin, ka, izmantojot 2-heksānilanilīnus, reakcijā veidojās tikai trīskāršās saites pievienošanās produkti **12a-b**, iespējams, tādēļ, ka izveidojās arilgrupas stabilizēts vinilkatjons, kas novērsa 5-*endo-dig* ciklizāciju.

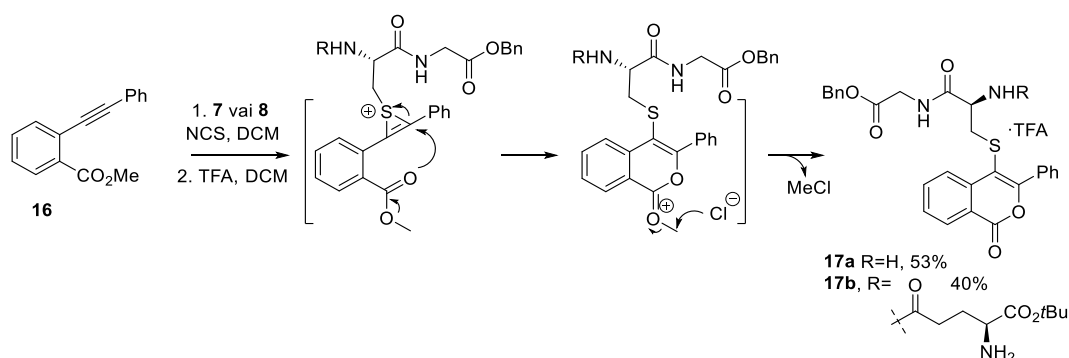
Tālāk tika nolemts izpētīt iespēju generēt sulfenilelektrofilu, lai izmantotu to 6-*endo-dig* ciklizācijā ar 2-(feniletinil)biarilsistēmu saturošiem savienojumiem. Policikliski aromātiskie ogļūdeņraži ir lietderīgi savienojumi, kas tiek izmantoti ne tikai kā izejvielas organiskajā sintēzē, bet arī kā fluorescenti marķieri.

Reakcija starp (*Boc-Cys-Gly-OBn*)₂ (**5**) un alkīnu **13a** NCS klātienē ļāva iegūt 6-*endo-dig* ciklizācijas produktu **14a** ar 72 % iznākumu (4. shēma). Trīskāršā saite koordinējas ar elektrofilo sēra aromu, veidojot tiirēnija ciklu, kam uzbrūk tuvākais aromātiskais gredzens, veidojot 6 locekļu ciklu. Pēc deprotonēšanas ar hlorīda anjonu veidojas galaprodukts. Tā viegli tika konstruētas benz[*c*]fenantrēna, benz[*g*]krizēna un benz[*pqr*]picēna sistēmas. Lai arī izejvielu konversija bija augsta, produktu iznākumi ir atkarīgi no izdalīšanas un attīrīšanas procesiem.



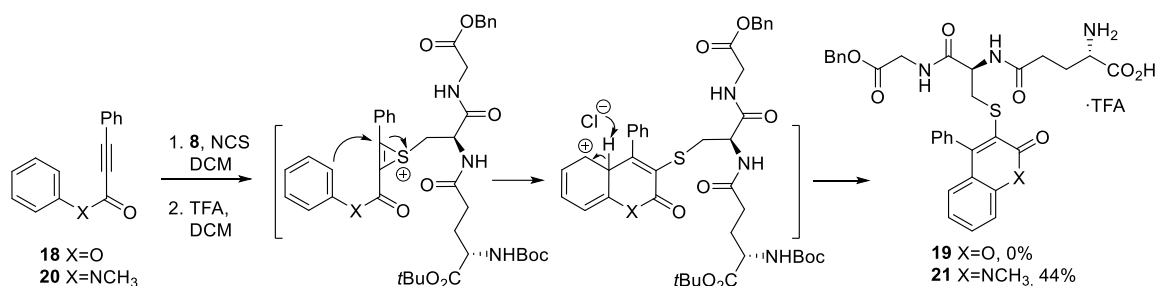
4. shēma. Cys peptīdu saturošu poliaromātisku ogļūdeņražu sintēze.

Novērtētas arī iespējas NCS metodi lietot glutationu saturošu izokumarīnu **17a** un **17b** sintēzei. Izokumarīnu motīvs bieži sastopams bioloģiski aktīvu dabasvielu struktūrās.²⁴ Šiem savienojumiem ir zināma antimikrobiāla, pretsēnīšu, citotoksiska un pretiekaisumu aktivitāte. Cerētos produktus izdevās izolēt ar viduvējiem iznākumiem, izmantojot S–H saiti saturošos peptīdus **7** un **8** (5. shēma).



5. shēma. Cys peptīdu saturošu izokumarīnu sintēze.

Veiksmīgi izdevās veikt citu 6-*endo-dig* ciklizāciju ar arilpropiolamīdu **20**, iegūstot 1-metil-3-sulfanilhinolīn-2-onu **21** (6. shēma). Zināms, ka hinolīn-2-oni ietilpst dažādu zāļvielu sastāvā, tajā skaitā plaši lietotu antibiotiku sastāvā (ciprofloksacīns, levofloksacīns).²⁵



6. shēma. Cys peptīdu saturoša hinolīn-2-ona sintēze.

Oriģinālpublikācija par šajā apakšnodaļā aprakstītajiem pētījumiem – 3. pielikumā.

2. Selenielektrofila ģenerēšana un izmantošana 5- un 6-endo-dig ciklizācijas reakcijās

Pretēji tioliem, selenoli viegli oksidējas gaisā, tāpēc standartapstākļos tie pastāv kā diselenīdi. Selenoli ir nukleofilāki par tioliem, un tos parasti iegūst *in situ* reducējošo aģentu klātienē (piemēram, NaBH₄). Diselenīdi ir ļoti svarīgi daudzpusīgi savienojumi, un tos var izmantot ne tikai kā selēna nukleofila avotu, bet arī lai ģenerētu selenielektrofilu vai radikāli. Tipiski selenielektrofili ir selenilhalogenīdi RSeX (X=Br, Cl, I), ko viegli iespējams iegūt, apstrādājot diselenīdus ar halogēniem vai SO₂Cl₂. Nesen literatūrā tika aprakstīta fenilselenilfluorīda *in situ* iegūšana, izmantojot *Selectfluor*.²⁶ Jāpiebilst, ka fenilselenilhlorīds un fenilselenilbromīds ir komerciāli pieejami.

Protams, ka halogenīda nukleofilitāte spēj izraisīt nevēlamas blakus reakcijas, tādēļ dažkārt priekšroka jādod sintēzes protokoliem, kuros netiek izmantots halogenīds. Selenilhalogenīdi reaģē ar dažādiem sudraba sāļiem, apmaiņas reakcijā veidojot seleniltriflātu, tozilātu, acetātu, heksafluorfosfātu. No iepriekš minētajiem savienojumiem visplašāk lietotais ir seleniltriflāts.

Alternatīva metode selenielektrofila ģenerēšanai ir diselenīdu oksidēšana. Piemēram, persulfātu sāļu klātienē var iegūt selenilsulfātu.²⁷ Pēdējos pāris gados oksons tiek lietots selenielektrofila ģenerēšanai un sekojošai reakcijai ar trīskāršo saiti saturošiem substrātiem, ciklizācijas reakcijā iegūstot selenilētus heterociklus (indolus, pirazolus). Difenildiselenīda reakcijā ar oksonu veidojas fenilselenīnskābe un fenilselenilsulfāts.²⁸ Selenielektrofila iegūšanai lietoti arī citi reaģenti: hipervalenti joda savienojumi, *m*-CPBA, Ce(NH₄)₂(NO₃)₆, KNO₃, DDQ. Difenildiselenīds reaģē ar 1,4-dicianonaftalīnu pēc SET mehānisma, veidojot selēna elektrofilu. Turklāt selenielektrofilu var ģenerēt diselenīda reakcijā ar Luisa skābēm, piemēram, bieži tiek lietoti dzelzs(III), vara(I) un vara(II) sāļi.

Selenolu un diselenīdu oksidēšanā iespējams iegūt Se–O saiti saturošus savienojumus: selenēnskābi (RSeOH), selenīnskābi (RSeO₂H) vai selenoskābi (RSeO₃H). Selenēnskābes ir ļoti reaģētspējīgi savienojumi, tikai arilselenēnskābes ir detektētas. Turklāt selenēnskābe ar stēriski apjomīgām arilgrupām ir izolēta un raksturota. Selenīnskābes un selenoskābes ir stabilākas, un tās var izmantot dažādu organisko savienojumu oksidēšanai. Selenīnskābes var izmantot Se–S saiti saturošu savienojumu sintēzei,²⁹ turklāt fenilselenīnskābe³⁰ ir izmantota indolu un anilīnu selenilēšanai.

Literatūrā ir aprakstītas tikai dažas metodes selēncistīnu saturošo peptīdu modificēšanai. Ir zināma metode *Sec* peptīdu konjugēšanai ar mazām molekulām, kas balstās uz (5-nitropiridīniltio)-*Sec* peptīdu elektrofilo raksturu.³¹ Šie substrāti reaģē arī ar nukleofilām arilborskābēm, veidojot arilētus *Sec* peptīdus.³² Plašāk lietotās metodes selēncistīnu saturošo peptīdu modificēšanai balstās uz deselenilēšanu, veidojot alanīna peptīdus reducējošo aģentu³³ klātienē vai oksidējošā aģenta ierosinātu³⁴ dehidroalanīna izveidi.

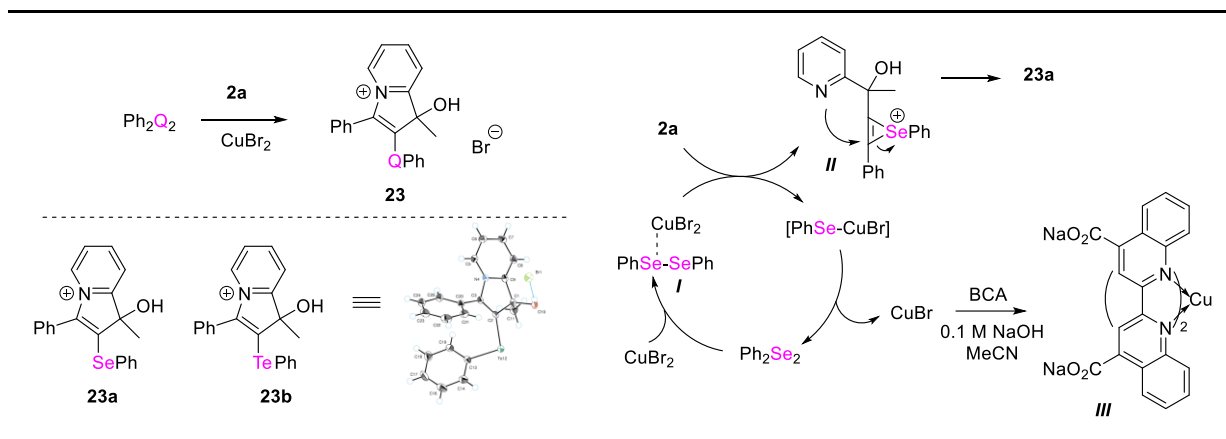
Lai atrastu piemērotu substrātu selenielektrofila ģenerēšanai, tika pētīta reakcija starp Ph_2Se_2 (**22a**), **2a** un dažādām Luisa skābēm (FeCl_3 , FeBr_2 , FeBr_3 , CoCl_2 , NiCl_2 , CuCl_2 , CuBr_2 , $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, RuCl_3 , $\text{In}(\text{OTf})_3$, $\text{Bi}(\text{OTf})_3$).

Vara(II) bromīds uzrādīja vislabākos rezultātus (1. tabula). Turklāt visi pārbaudītie šķīdinātāji ļāva iegūt produktu **23a** ar pieņemamu iznākumu, savukārt produkta veidošanās ar izcilu iznākumu noritēja *DCM*, *MeCN* un *EtOH*. Maksimāla iznākuma nodrošināšanai bija jāizmanto ekvimolārs CuBr_2 daudzums. Reakciju veicot bez difenildiselenīda, galvenais produkts bija 2-bromindolizīnija bromīds. Metodi varēja lietot arī telenielektrofila ģenerēšanai, taču ne sulfenielektrofila ģenerēšanai – reakcijā veidojās tikai 2-bromindolizīnija bromīds.

Lai noskaidrotu reakcijas mehānismu, tika uzņemts ekvimolāra daudzuma CuBr_2 un Ph_2Se_2 maisījuma ⁷⁷Se KMR spektrs (1. A att.). $\text{Ph}_2\text{Se}_2 \cdot \text{CuBr}_2$ maisījuma spektrā tika novērots viens plats signāls pie 450 ppm, kas ir līdzīgs Ph_2Se_2 signālam (462 ppm). Tas liecina par $\text{Ph}_2\text{Se}_2 \cdot \text{CuBr}_2$ izveidi, turklāt Se–Br un Se–Cu saites saturošie starpprodukti netika detektēti. Šo apgalvojumu apstiprina arī fakts, ka Se–Cu saiti saturoša savienojuma ($\text{Cu}(\text{SePh})_2 \cdot 2$ -fenantrolīns) ķīmiskā nobīde KMR spektrā ir 274 ppm; savukārt PhSeBr signāls atrodas pie 867 ppm. Protams, teorētiski selēna spektrā vajadzētu parādīties diviem signāliem, taču starpprodukta dinamiskās dabas dēļ šie signāli ir saplūduši, turklāt signāls ir plats vara paramagnētisko īpašību dēļ.

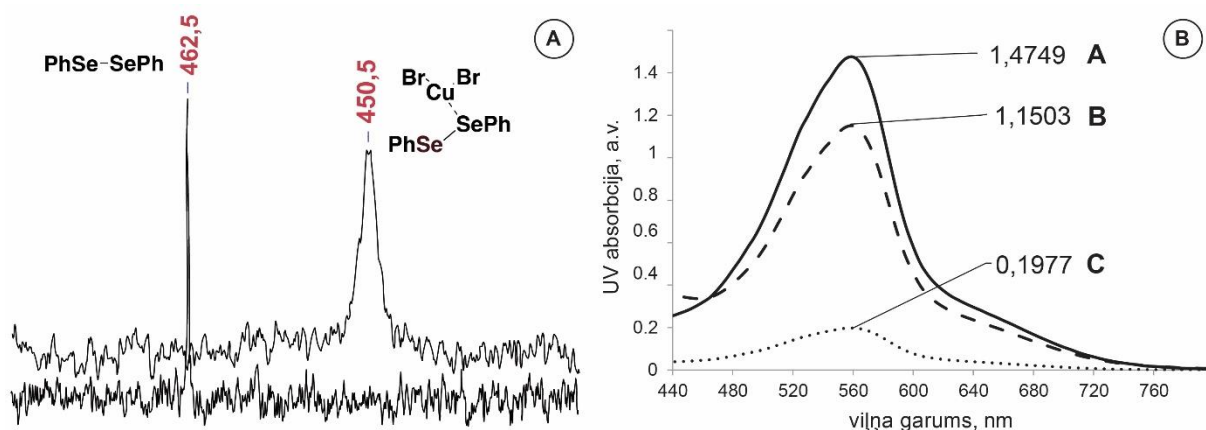
Balstoties uz eksperimentālajiem datiem, ir piedāvāts iespējamais reakcijas mehānisms. Vispirms veidojas $\text{Ph}_2\text{Se}_2 \cdot \text{CuBr}_2$ pievienošanās produkts **I**. Tad **I** ģenerē selēna elektrofilu, kas koordinējas ar substrāta **2a** trīskāršo saiti, veidojot selēnirēnija katjonu **II**. Slāpekļa nedalītais elektronu pāris uzbrūk divkāršajai saitei, veidojot 5 locekļu ciklu ar pozitīvi lādēto slāpekļa atomu. Reakcijas blakusprodukts PhSeCuBr sadalās, veidojot Ph_2Se_2 un CuBr .

CuBr veidošanās tika pierādīta eksperimentā ar bicinhonīnskābi (BCA), kas selektīvi veido helātu ar $\text{Cu}(\text{I})$ joniem, veidojot violeti krāsotu kompleksu **III** (absorbcijas maksimums pie 562 nm). Tika veikti absorbcijas mērījumi (1. B att.) trīs paraugiem: reakcijas maisījumam ar BCA, CuI un BCA, CuBr_2 un BCA. Absorbcijas vērtība reakcijas maisījumam ar BCA un CuI ar BCA bija līdzīgas vērtības (absorbcija attiecīgi 1,1503 pie 560 nm un 1,4749 pie 560 nm). Tādējādi tika apstiprināta nepieciešamība izmantot ekvimolāru daudzumu CuBr_2 – tas tiek izlietots, veidojot CuBr , kas nespēj iniciēt selēna elektrofila veidošanos. Tas tika arī apstiprināts testa reakcijā, CuBr_2 vietā izmantojot CuBr vai CuI .

Reakcijas apstākļu optimizēšana savienojumu **23a** un **23b** iegūšanai

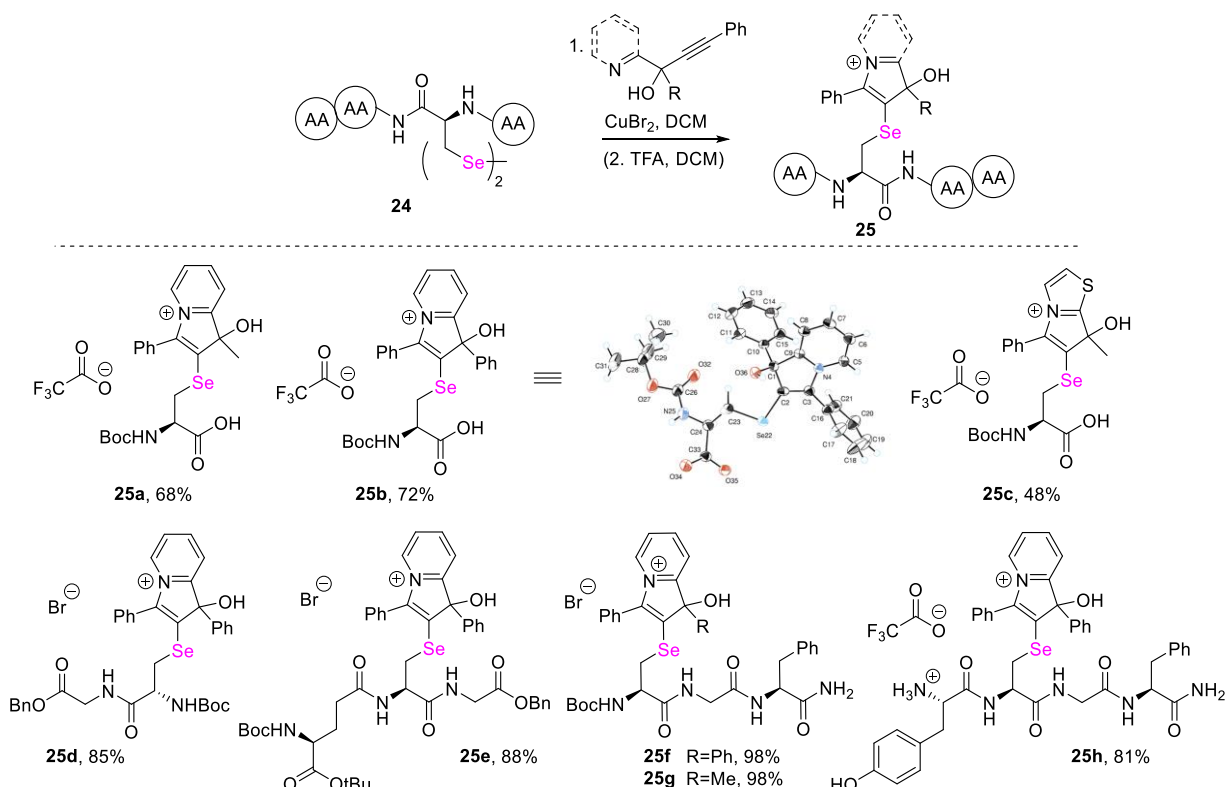
Nr. p. k.	22	Šķīdinātājs	Reaģentu attiecība 22 : CuBr_2 : 2a	Laiks, h	Iznākums, %
1.	Ph_2Se_2 ^[a]	DCM	2 : 2 : 1	4	_[c]
2.	Ph_2Se_2 ^[b]	DCM	2 : 2 : 1	4	_[c]
3.	Ph_2Se_2	DCM	2 : 2 : 1	4	86
4.	Ph_2Se_2	DCM	2 : 0.5 : 1	4	47
5.	Ph_2Se_2	DCM	1,2 : 1,2 : 1	4	94
6.	Ph_2Se_2	DCM	0,6 : 1,2 : 1	4	62
7.	Ph_2Se_2	DMSO	1,2 : 1,2 : 1	24	70 ^[e]
8.	Ph_2Se_2	EtOAc	1,2 : 1,2 : 1	24	62 ^[e]
9.	Ph_2Se_2	MeCN	1,2 : 1,2 : 1	0,5	90
10.	Ph_2Se_2	EtOH	1,2 : 1,2 : 1	12	96
11.	-	DCM	0 : 2 : 1	72	86 ^[d]
12.	Ph_2Se_2	MeCN	1,2 : 1,2 : 1	1	32 + 58 ^[f]
13.	Ph_2S_2	DCM	1,2 : 1,2 : 1	24	78 ^[d]
14.	Ph_2S_2	MeCN	1,2 : 1,2 : 1	24	87 ^[d]
15.	Ph_2Te_2	DCM	1,2 : 1,2 : 1	0,25	94
16.	Ph_2Te_2	MeCN	1,2 : 1,2 : 1	4	76

[a] $\text{MX}_n - \text{FeCl}_3$; [b] $\text{MX}_n - \text{FeBr}_3$; [c] produktu maisījums; [d] veidojās 2-bromindolizīnija bromīds; [e] nepilna izejvielu konversija; [f] vispirms pie **2a** pievieno CuBr_2 un pēc 20 min pievieno Ph_2Se_2 . Veidojas 2-bromindolizīnija bromīds (32 %) un **23a** (58 %).



1. att. A: $\text{Ph}_2\text{Se}_2 \cdot \text{CuBr}_2$ un Ph_2Se_2 ^{77}Se KMR spektri. B: UV absorbcijas spektri: A: $\text{CuI} + \text{BCA}$; B: reakcijas maisījums + BCA ; C: $\text{CuBr}_2 + \text{BCA}$.

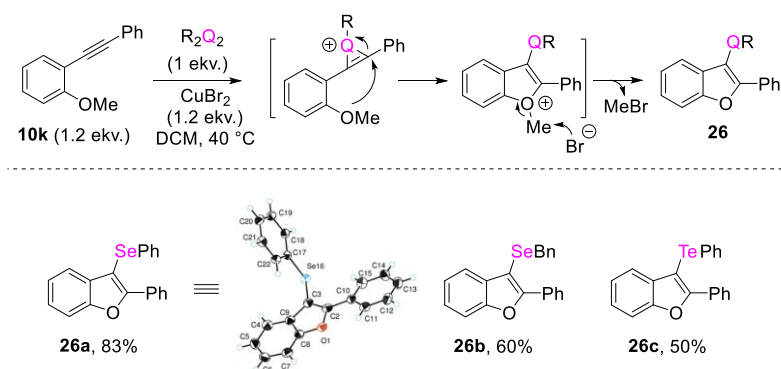
Noskaidrots ka arī *Boc*-aizsargāts selēncistīns **24a** ir savietojams ar reakcijas apstākļiem. Reakcijā starp $(\text{Boc-Sec})_2$ un **2a,b,d** vara(II) bromīda klātienē veidojās atbilstošie indolizīnija **25a,b** un pirolotiazolija **25c** sāļi ar labiem iznākumiem kā diastereomēru maisījumi, kas tika sadalīti ar AEŠH palīdzību (7. shēma). Turklāt iegūts (*IR,S*)-**25b** kristāls kā cviterjona sāls, apstiprinot tā struktūru. Reakcijā arī lietoti dažādi selēncistīnu saturoši peptīdi un izolēti indolizīnija sāļi **25d-h** ar augstiem iznākumiem.



7. shēma. *Sec*-indolizīnija sāļu sintēze. **24a** $(\text{Boc-Sec})_2$; **24b** $(\text{Boc-Sec-Gly-OBn})_2$; **24c** $(\text{Boc-Glu(OtBu)-Sec-Gly-OBn})_2$; **24d** $(\text{Boc-Sec-Gly-Phe-NH}_2)_2$; **24e** $(\text{Boc-Tyr-Sec-Gly-Phe-NH}_2)_2$.

Produkti tika attīrīti ar apgrieztās fāzes hromatogrāfijas palīdzību (**25a-c**: $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$, $\text{pH} = 4$, trifluoretiķskābe).

Cita veiksmīga *5-endo-dig* ciklizācija tika veikta, izmantojot Ph_2Se_2 un 2-(feniletinil)anizolu (**10k**). Iepriekš izstrādātie reakcijas apstākļi bija piemēroti šai ciklizācijai, taču, lai sasniegtu pilnu izejvielu konversiju 16 h laikā, bija jāpaaugstina temperatūra (40 °C). 3-Selenilbenz[*b*]furāns **26a** tika iegūts ar 83 % iznākumu, un tā struktūra tika viennozīmīgi apstiprināta ar retgenstruktūras analīzes datiem (8. shēma). Līdzīgā veidā tika izolēti 3-halkogenilbenz[*b*]furāni **26b** and **26c**. Turklāt reakcijas iznākumi bija līdzīgi vai augstāki nekā literatūrā aprakstītajai FeCl_3 iniciētajai 2-feniletinilanizola ciklizācijai (**26b** 64 %, **26c** 36 %).⁶



8. shēma. 3-halkogenilbenz[*b*]furānu veidošanās.

Attiecīgi, izmantojot peptīdus **24b,c** un anizolu CuBr_2 klātienē veidojās *Sec* saturošie benz[*b*]furāni **27a** un **27d** (9. shēma). Jāpiebilst, ka dzelzs(III) hlorīds nebija spējīgs iniciēt produktu **27** veidošanos. Līdzīgā veidā tos pašus savienojumus varēja iegūt no 2-(feniletinil)fenola (**10j**). Tomēr CuBr_2 iniciēta selenielektrofila ģenerēšana nebija piemērota, lai veiktu 2-alkil-3-selenilbenz[*b*]furānu sintēzi. Reakcijā veidojās vairāku produktu maisījums, iespējams, ka veidojās arilgrupas stabilizēts vinilkatjons, kas novērš *5-endo-dig* ciklizāciju. Tāpēc bija jāatrod cita metode, lai iegūtu selenielektrofilu un veiktu ciklizācijas reakciju.

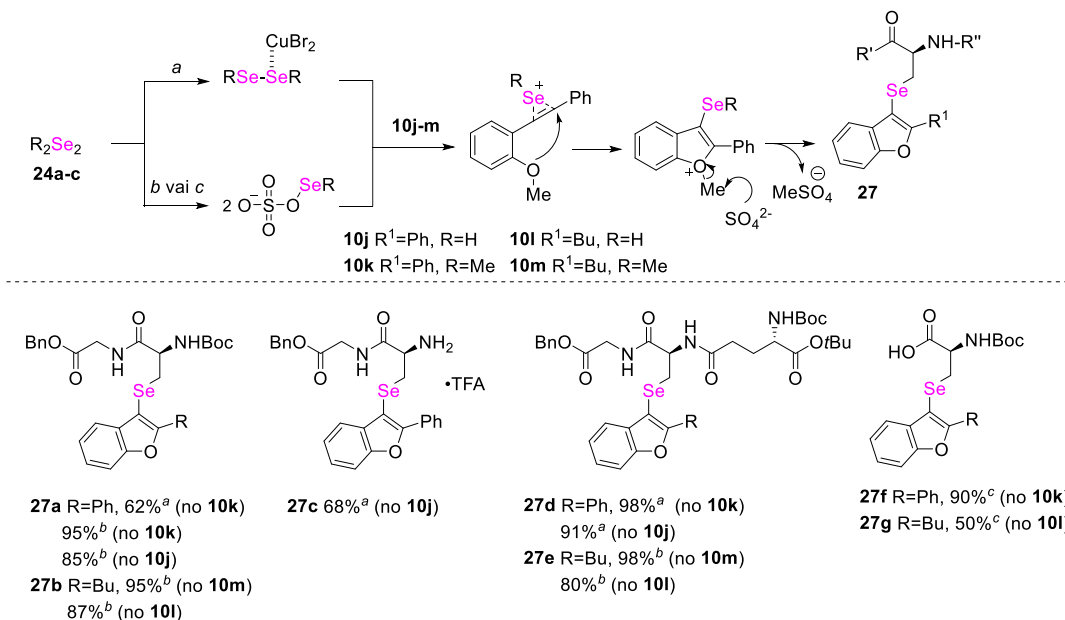
Piemērotu reaģentu izdevās atrast, pārbaudot dažādus oksidējošos aģentus. Zināms, ka reakcijā starp diselenīdiem un persulfātu sāļiem veidojas selenilsulfāts, kas ir stiprs elektrofilis. Lai gan reakcija starp **24b** un $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (5 ekv.) klātienē bija lēna (pilnīga izejvielu konversija tika sasniegta 3 dienu laikā), svarīgi, ka reakcija bija selektīva un benz[*b*]furāns veidojās ar augstu iznākumu. Citi pārbaudītie oksidējošie aģenti bija mazāk efektīvi (amonija persulfāts, kālija jodāts) vai arī notika neselektīva reakcija (oksons, *meta*-hlorperoksibenzoskābe, nātrijs perjodāts, cērijs amonija nitrāts, (diacetoksijod)benzols), jo ātra oksidēšana izraisīja deselenilēšanas reakcijas.

Savienojuma **27c** iznākumu varēja uzlabot, lietojot 2-(heks-1-īn-1-il)anizolu (**10m**). Jāpiebilst, ka $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ iniciēta selenielektrofila ģenerēšana un sekojoša ciklizēšana ļāva iegūt arī **27a** ar augstāku iznākumu nekā CuBr_2 gadījumā.

Reakcijā starp $(\text{Boc-Sec})_2$ un **10k** gan CuBr_2 , gan $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (5 equiv.) klātienē veidojās tikai zīmes no cerētā benz[*b*]furāna. Taču, palielinot $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ daudzumu līdz 50 ekv., izdevās panākt pilnīgu izejvielu konversiju 16 h laikā un izolēt savienojumu **27f** ar augstu iznākumu. Ņemot vērā to, ka $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ šķīdība acetonitrilā ir ārkārtīgi zema, faktiskais oksidējošā aģenta daudzums reakcijas maisījumā ir zems. Tādējādi ir pilnīgi pieņemami izmantot lielāku daudzumu $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$,

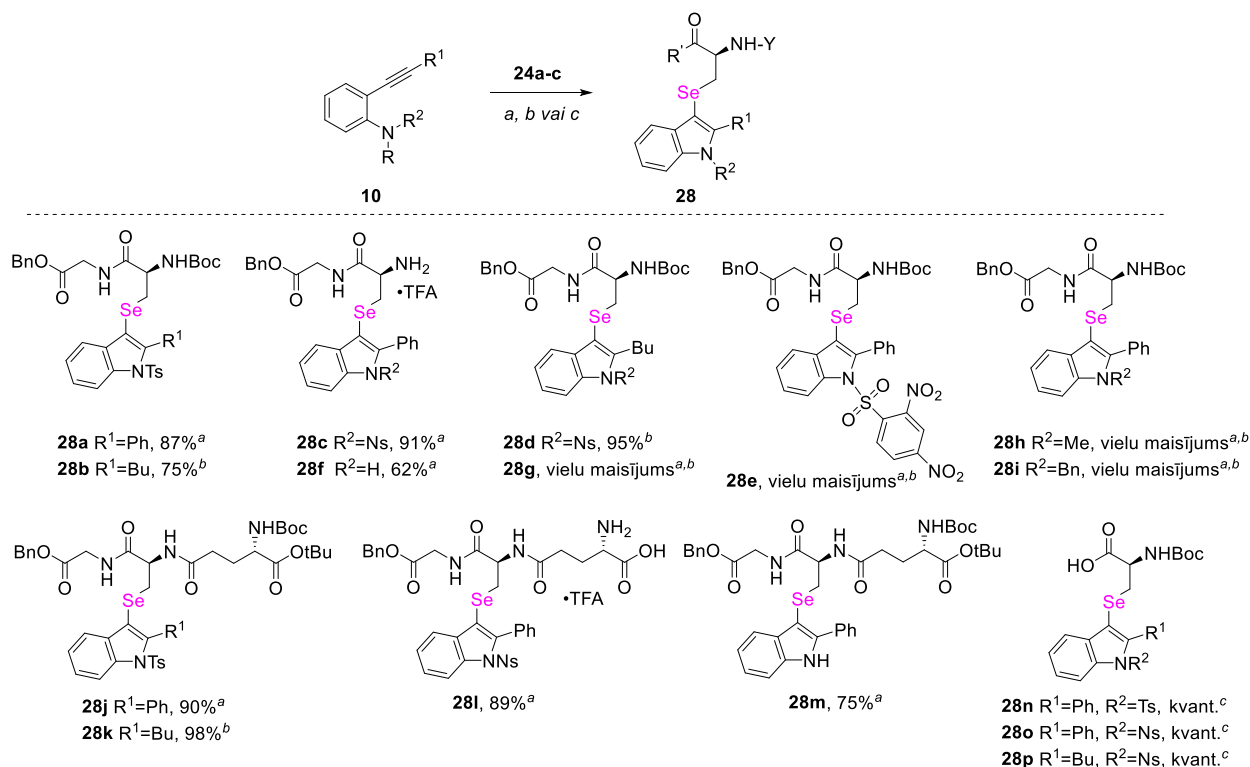
jo tas nebojā izejvielas, pēc reakcijas beigām to var vienkārši nofiltrēt, un jāuzsver, ka tas ir lēts, neorganisks reaģents.

Diemžēl neviena no iepriekš minētajām metodēm nebija piemērota sulfenilelektrofīla ģenerēšanai no **8** un sekojošai ciklizēšanai, veidojot glutationu saturošu benz[*b*]furānu.



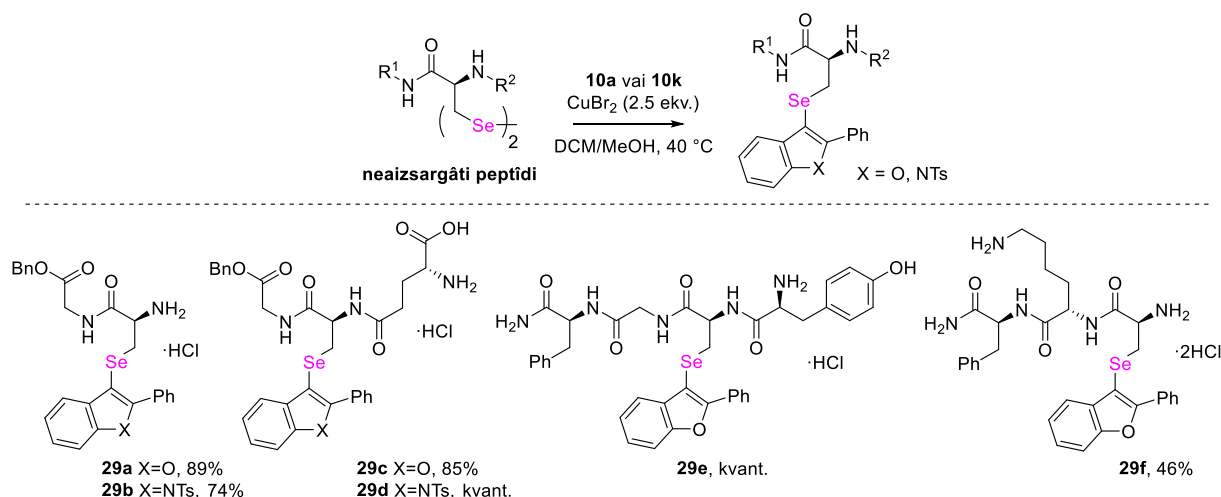
9. shēma. 3-selenilbenz[*b*]furānu sintēze. Reakcijas apstākļi: a) 1. CuBr₂ (1,5 ekv.), DCM, 40 °C; (2. TFA, DCM); b) K₂S₂O₈ (5 ekv.), MeCN, it; c) K₂S₂O₈ (50 ekv.), MeCN, it.

Analogā veidā CuBr₂ iniciēta selenilelektrofīla ģenerēšana un sekojoša 5-*endo-dig* ciklizācija tika lietota 2-aryl-3-selenilindolu sintēzei, savukārt K₂S₂O₈ iniciēta selenilelektrofīla ģenerēšana bija piemērota 2-alkil-3-selenilindolu, kā arī *Boc-Sec* saturošu indolu sintēzei (10. shēma). Substrātu klāsta pārbaude parādīja, ka *Ts*, *Ns* un *Boc* aizsarggrupas ir tolerantas pret reakcijas apstākļiem, savukārt 2,4-dinitrofenilsulfonil, *N,N*-dimetil-, *N,N*-dibenzil, *N*-benzil-2-(feniletinil)anilīni, kā arī neaizsargāti 2-(feniletinil)anilīni nav piemēroti substrāti.



10. shēma. 3-selenilindolu sintēze. Reakcijas apstākļi: a) 1. CuBr₂ (1,5 ekv.), DCM, 40 °C; (2. TFA, DCM); b) K₂S₂O₈ (5 ekv.), MeCN, it; c) K₂S₂O₈ (50 ekv.), MeCN, it.

Svarīgi, ka CuBr₂ iniciētu selenielektrofila ģenerēšanu var lietot arī neaizsargātiem peptīdiem. Šis fakts ir nozīmīgs un ievērojami atvieglo sarežģītāku peptīdu lietošanu. Reakcija noritēja viegli, jo protonētās aminogrupas nespēj veidot kompleksu ar CuBr₂. Visi pārbaudītie selēncistīnu saturošie peptīdi uzrādīja izcilu reaģētspēju, un produkti veidojās ar augstiem iznākumiem (11. shēma).

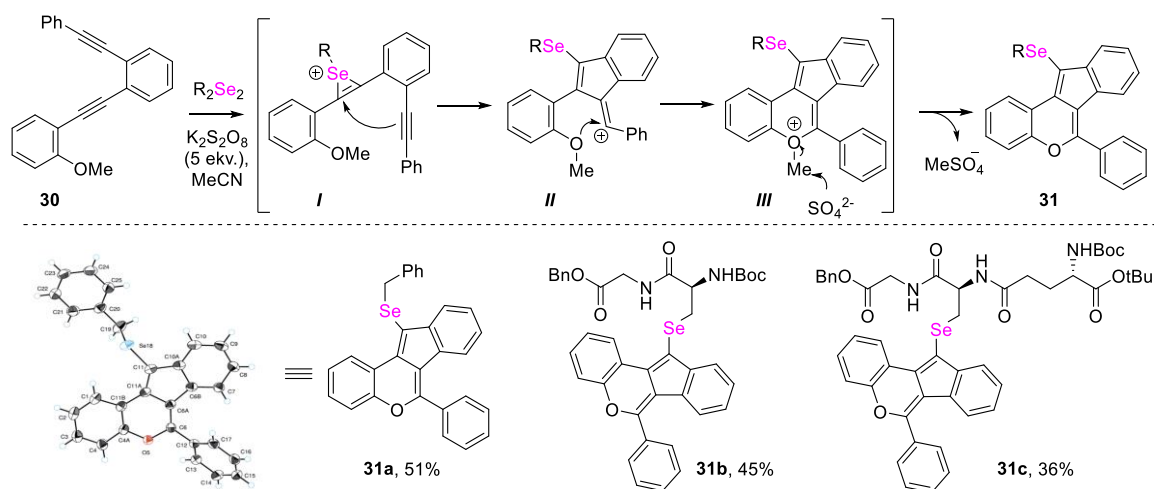


11. shēma. Benz[*b*]furānu un indolu sintēze, izmantojot neaizsargātus peptīdus.

Produkti tika attīrīti ar apgrieztās fāzes hromatogrāfijas palīdzību (MeCN/H₂O, pH = 4, sālsskābe).

Nākamais izaicinājums bija noskaidrot, vai ir iespējams ģenerēt selēna elektrofilu un izmantot to kaskādes tipa reakcijā. Tika nolemts izmantot anizolu saturošu arildiīnu **30**, kas veismīgas reakcijas gadījumā (sekojoša 5- un 6-*endo-dig* ciklizācija) veidotu indēn[1,2-*c*]hromēnu. Hromēna cikls sastopams bioloģiski aktīvos dabas produktos, turklāt savienojumi, kas satur indēn[1,2-*c*]hromēna fragmentu, ir uzrādījuši augstu potenciālu lietojumam krāsvielu fotoelektriskajās šūnās. Turklāt šāda tipa savienojumu sintēzei ir zināmas tikai dažas metodes. Zināms, ka iespējams izmantot TfOH iniciētu kaskādes reakciju, lai no anizola **30** iegūtu 6-fenilindēn[1,2-*c*]hromēnu,³⁵ vai arī ciklizēšanu iespējams veikt halogēnu klātienē, iegūstot halogēna atomu saturošus 6-fenilindēn[1,2-*c*]hromēnus.³⁶

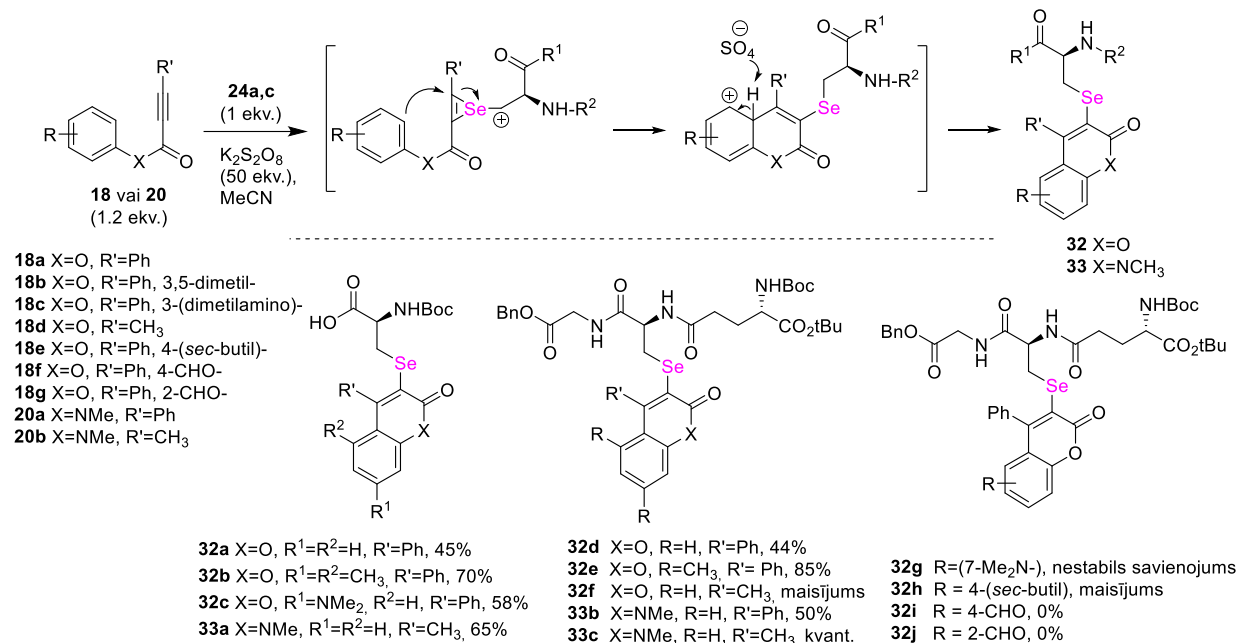
Vispirms tika pārbaudīts Ph₂Se₂ ar **30** CuBr₂ klātienē, taču tika novērota tikai 11-brom-6-fenilindēn[1,2-*c*]hromēna veidošanās. Cerētais produkts netika iegūts arī, izmantojot K₂S₂O₈. Savukārt K₂S₂O₈ bija spējīgs iniciēt selenielektrofila veidošanos no Bn₂Se₂ un selēncistīnu saturošiem peptīdiem, kas tālāk reaģēja ar elektroniem bagātāko trīskāršo saiti, veidojot selēnirēnija jonu **I**. Sekojošs otras trīskāršās saites uzbrukums selēnirēnija katjonam veidoja indēna ciklu (starpprodukts **II**). Metoksigrupas uzbrukums karbkatjonam veidoja ciklizēšanās starpproduktu **III**, kas pēc demetilēšanas veidoja 11-(benzilselenil)-6-fenilindēn[1,2-*c*]hromēnu **31a** (12. shēma). Savienojuma **31a** struktūra tika viennozīmīgi apstiprināta ar rentgenstruktūras analīzes datiem. Līdzīgā veidā tika iegūti *Sec*-peptīdu saturošie 6-fenilindēn[1,2-*c*]hromēni, produktu iznākumi gan bija tikai viduvēji sarežģītās produktu attīrīšanas dēļ.



12. shēma. Piedāvātais kaskādes 5-*endo-dig*/6-*endo-dig* ciklizācijas mehānisms.

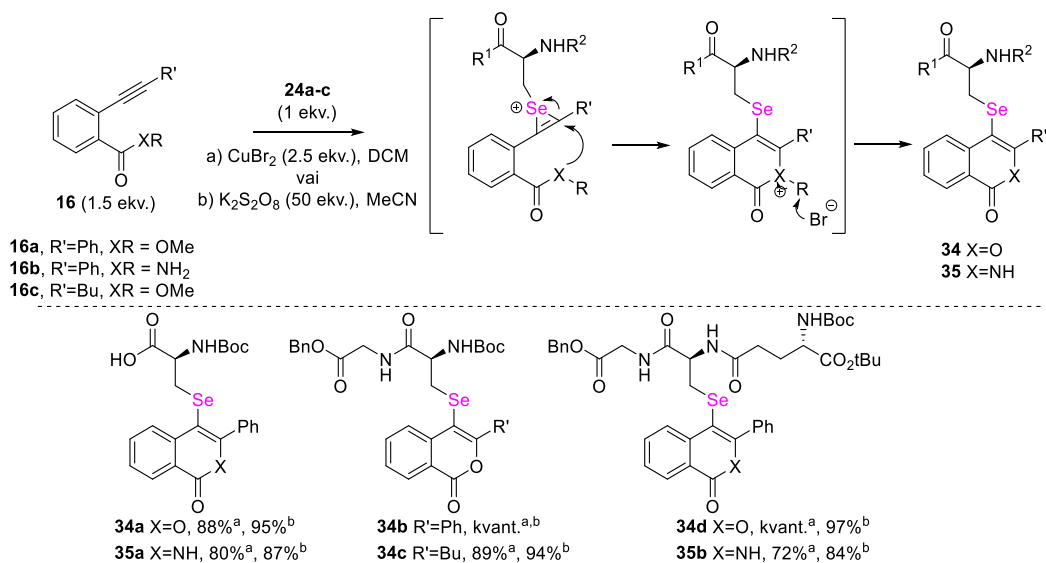
Tālāk tika nolemts pārbaudīt, vai iespējams lietot CuBr₂ vai K₂S₂O₈ metodi selenielektrofila ģenerēšanai un sekojošai 6-*endo-dig* ciklizācijai. Vispirms nolemts šādā veidā iegūt kumarīnus. Izrādījās, ka reakcija starp (Boc-*Sec*)₂ un fenil-3-fenilpropiolātu K₂S₂O₈ ļauj iegūt atbilstošo Boc-*Sec* saturošo kumarīnu **32a** (13. shēma). Substrātu klāsta pārbaude ļāva secināt, ka EDG aromātiskā gredzena 3. vai 3. un 5. pozīcijā veicināja ciklizāciju, savukārt EAG ievadīšana aromātiskajā gredzenā samazināja substrāta reaģētspēju. Aizsargāts selēnglutations arī bija piemērots substrāts ciklizācijas reakcijai, taču diemžēl neizdevās izolēt selēnglutationu saturošo 7-aminokumarīnu tā nestabilitātes dēļ. Tādos pašos apstākļos ar labiem

iznākumiem bija iespējams iegūt analogos slāpekli saturošos heterociklus – hinolīn-2-onus **33a-c**.



13. shēma. 3-*Sec*-kumarīnu un hinolīn-2-onu sintēze.

Svarīgi, ka citu 6-*endo-dig* ciklizāciju, kas ļāva iegūt *Sec* saturošus izokumarīnus un izohinolīn-2-onus (14. shēma), varēja viegli veikt, izmantojot gan $K_2S_2O_8$, gan $CuBr_2$ iniciētu selenielektrofila ģenerēšanu. Abos gadījumos produkti veidojās ar izciliem iznākumiem, vienīgā atšķirība bija reakcijas laiks – $CuBr_2$ klātienē pilnīga izejvielu konversija tika sasniegta 2 h, $K_2S_2O_8$ klātienē – 24 h.



14. shēma. 4-*Sec*-izokumarīnu un izohinolīn-2-onu sintēze.

Pirmais solis gan izokumarīnu izveidei, gan kumarīnu izveidei ir selenielektrofīla ģenerēšana, kas pēc tam reaģē ar trīskāršo saiti, veidojot selēnirēnija jonu. Pretēji kumarīna cikla izveidei, kas balstās uz elektrofīlo aromātisko aizvietošanos, izokumarīna cikls veidojas nukleofīlā heteroatoma uzbrukuma selēnirēnija jonam rezultātā, tāpēc šī reakcija notiek daudz vieglāk.

Oriģinālpublikācijas par šajā apakšnodaļā aprakstītajiem pētījumiem – 1., 2. un 6. pielikumā.

3. Redzamās gaismas iniciēta selēncistīnu saturošo peptīdu funkcionalizēšana: indolu selenilēšana un makrociklizēšana

Fotokatalizētas reakcijas ir ērta pieeja sarežģītu savienojumu sintēzei maigos apstākļos. Šis reakciju tips tiek uzskatīts par videi draudzīgu, efektīvu un selektīvu, turklāt reakcijas var veikt arī biosavietojamos apstākļos. Parasti reakcijas efektīvai norisei nepieciešams fotokatalizators. Populārākie homogēnu katalizatoru piemēri ir pārejas metālu kompleksi un organiskās krāsvielas. Protams, ka pārejas metālu (Ru, Ir) kompleksi ir dārgi un tos nevar uzskatīt par videi draudzīgu izvēli. Tāpēc pievilcīga alternatīva ir organiskās krāsvielas. Iespējams izmantot arī heterogēnus katalizatorus (neorganiskus pusvadītājus (metālu oksīdus vai sulfīdus), grafīta tipa oglekļa nitrīdu polimērus, fotoaktīvus MOFus). Heterogēns katalizators sniedz iespēju katalizatora atkārtotai izmantošanai un atvieglo produkta attīrīšanu.

Kā populārākās organisko krāsvielu klases jāmin akridīni un akridīnija sāļi, fluoresceīns un tā atvasinājumi, benzofenoni, pirilija sāļi, rodamīni un fentiazīni. Bengālijas rozā (RB) ir fluoresceīna struktūranalogs, un tas ir zināms kā efektīvs fotokatalizators ar plašu lietojumu.³⁷

Absorbējot gaismu, RB tiek aktivēts un nonāk ierosinātā singleta stāvoklī (RB*) ($t^{1/2} = 10^{-6}$ līdz 10^{-9} s). Ierosinātais singleta stāvoklis var atgriezties pamata stāvoklī vai arī tas var pārvērsties par ilgāk dzīvojošo tripleta ierosināto stāvokli ($t^{1/2} = 10^{-3}$ s) caur starpsistēmu šķēršošānu (*intersystem crossing*).³⁸ Visbiežāk reakcijas ar RB notiek pēc viena elektrona pārnese (SET) mehānisma, bet iespējams arī enerģijas pārnese (EnT) mehānisms, it sevišķi singleta skābekļa veidošanās procesā. Šajā gadījumā veidojas ierosinātais RB*, kas pārnes enerģiju uz substrātu, veidojot reaģētspējīgu vielu.^{37, 39}

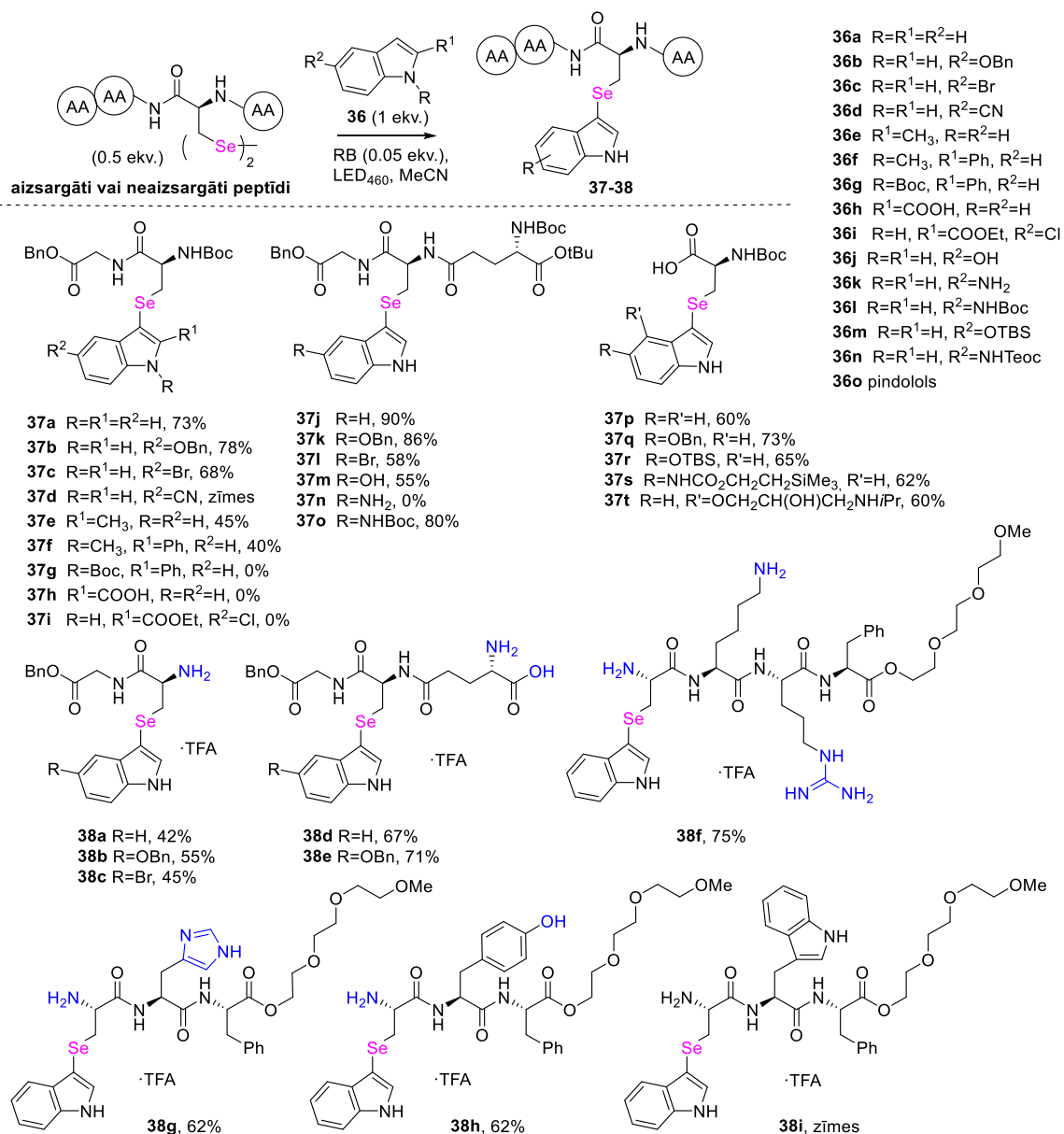
Ierosinātais RB* var būt gan oksidētājs, gan reducētājs. Reducējošās dzēšanas ciklā organiskā viela tiek oksidēta. Šajā gadījumā RB* pārvēršas par RB^{•-} pēc SET mehānisma, vienlaikus notiek substrāta pārveide par radikāļa katjonu. Tad, oksidējot RB^{•-} ar skābekli, veidojas pamata stāvokļa RB. Līdzīgi oksidējošās dzēšanas ciklā substrāts tiek reducēts, savukārt katalizators oksidējas.³⁹

Lai gan ir veikti pētījumi par vienkāršu diarildiselenīdu izmantošanu redzamās gaismas iniciētās reakcijās,^{40, 41} to pašu nevar apgalvot par Se–Se saiti saturošiem peptīdiem. Zināms, ka, apstarojot selēncistīnu saturošus peptīdus ar UV gaismu, iespējams iegūt selēnlantionīnus,⁴² savukārt diselenīdu metatēzi starp vienkāršiem diorganildiselenīdiem⁴³ vai Se–Se saiti saturošiem peptīdiem⁴⁴ var veikt, izmantojot redzamo gaismu.

Tika nolemts sākt ar reakciju starp (*Boc-Sec-Gly-OBn*)₂ **24b** un 1*H*-indolu (**36a**), apstarojot šķīdumu ar zilo *LED* gaismu (maks. 460 nm, koši zila, $x = 0,1440$, $y = 0,0395$, $> 50\ 000\ lx$) (15. shēma). Lai atrastu piemērotāko fotokatalizatoru, reakcija tika veikta acetonitrilā, izmantojot 0,5 ekv. **24b**, 1 ekv. **36a**, 2 mol% pārejas metālu kompleksu vai 5 mol% organisko krāsvielu. Pārsteidzoši, bet tikai divi no pārbaudītajiem fotokatalizatoriem bija spējīgi nodrošināt selektīvu 3-selenilindola **37a** sintēzi: Bengālijas rozā (RB) un tā analogs eritrozīns B. RB bija nedaudz efektīvāks, tādēļ tas izmantots turpmākajiem pētījumiem. Citi pārbaudītie fotokatalizatori (5-TAMRA, niķeļa tetrafenilporfirīns, 4-CzIPN, krezolsarkanais, hlorfenola sarkanais, bromkrezolzaļais, metiloranžs, Kongo sarkanais, tiešais sarkanais 81, tiešais dzeltenais 27, metilēnzilais, bāziskais fuksīns, indigokarmīns, alciānzilais, 2,4,6-trifenilpirilija tetrafluorborāts, 9-mezitil-10-metilakridīnija tetrafluorborāts, akridīns un *N*-metilakridīnija jodīds) bija ievērojami mazāk efektīvi vai arī ierosināja neselektīvu reakciju. Acetonitrils izrādījās piemērotākais šķīdinātājs, jo citos pārbaudītajos protonos šķīdinātajos (MeOH, EtOH, EtOH/H₂O un *i*PrOH) notika neselektīva reakcija savienojuma **24b** ātras oksidēšanas un deselenilēšanas dēļ. Kontroles reakcijās bez RB, dienasgaismā vai tumsā neveidojās **37a**, tādējādi apstiprinot, ka reakcijas norisei ir nepieciešams gan RB, gan LED₄₆₀. Reakciju veicot degazētos apstākļos, izejvielas konversija bija ievērojami zemāka. Produkta veidošanās netika novērota, reakciju veicot 4-amino-*TEMPO* klātienē, kas liecināja par radikāļu mehānismu. Secinājām, ka optimālie reakcijas apstākļi 3-*Sec*-indolu sintēzei ir 5 mol% RB, MeCN, zilā *LED* gaisma, 90 min. Jāuzsver, ka šī ir atomekonomiska metode, jo tiek izmantotas abas diselenīda daļas.

Substrātu klāsta pārbaude atklāja, ka EDG indola C5 pozīcijā uzlabo reakcijas iznākumu, halogēna atomi īpaši neietekmēja reakciju, savukārt EAG samazināja indola reaģētspēju. EDG C2 pozīcijā samazināja produkta iznākumu, savukārt elektroniem nabadzīgi indoli (EAG N1 vai C2 pozīcijās) bija pilnīgi reaģētspējīgi. Svarīgi, ka reakcija ar 5-hidroksiindolu noritēja veiksmīgi, savukārt 5-aminoindols nebija reaģētspējīgs, taču *tert*-butil-(1*H*-indol-5-il)karbamāta **2l** izmantošana ļāva sintezēt vēlamo produktu **3o**. Turklāt arī (*Boc-Sec*)₂ bija piemērots substrāts indolu selenilēšanai, tādējādi tika iegūti produkti **37p-t**, kas ir vērtīgi starpprodukti sarežģītāku vielu sintēzei.

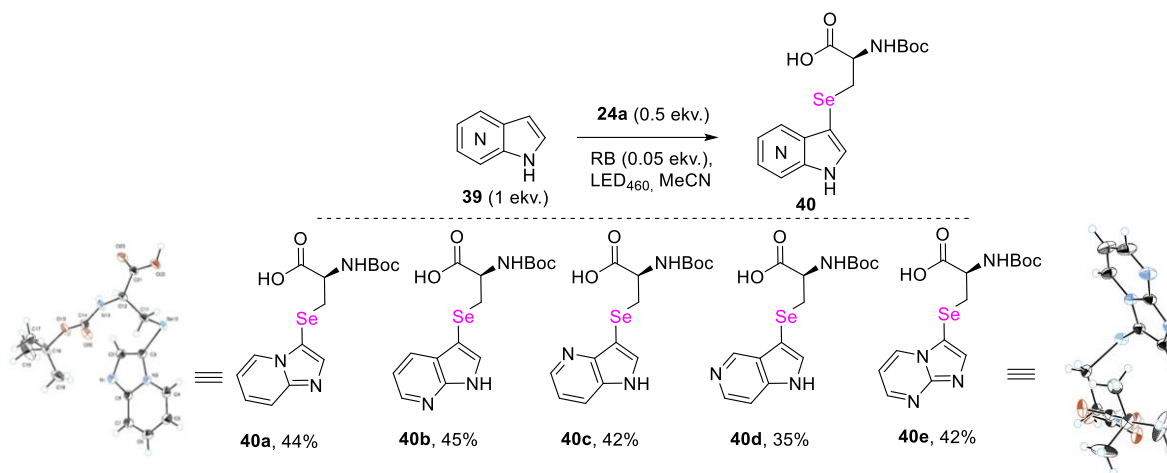
Svarīgi, ka neaizsargāti selēncistīnu saturošie peptīdi uzrādīja augstu toleranci reakcijas apstākļos, kas, protams, ievērojami paplašina metodes lietojumu. Pat sarežģītāki selēncistīnu saturošie peptīdi ar "sensitīvām" aminoskābēm (*Lys*, *Arg*, *His*, *Tyr*) veidoja attiecīgos *Sec*-indolus ar labiem iznākumiem. Vienīgais izņēmums bija *Trp* saturošais peptīds – šajā gadījumā notika neselektīva reakcija, visticamāk, tāpēc, ka *Trp* spēj veidot radikāli redzamās gaismas ietekmē.



15. shēma. Sec-indolu sintēze.

38a-i: produktu iegūšanai izmantoti neaizsargāti peptīdi TFA sāls formā.

Lai paplašinātu substrātu klāstu, tika iegūti arī *Boc-Sec*-azaindoli **40** (16. shēma). Taču tika atklāts, ka tikai protonēti azaindoli spēj reaģēt ar *(Boc-Sec)*₂, turklāt izejvielas **24a** daļējas sadalīšanās dēļ reakcijas iznākumi bija tikai viduvēji. Produktu **40a** un **40e** struktūras tika apstiprinātas ar rentgenstaru spektroskopijas analīzes datiem.

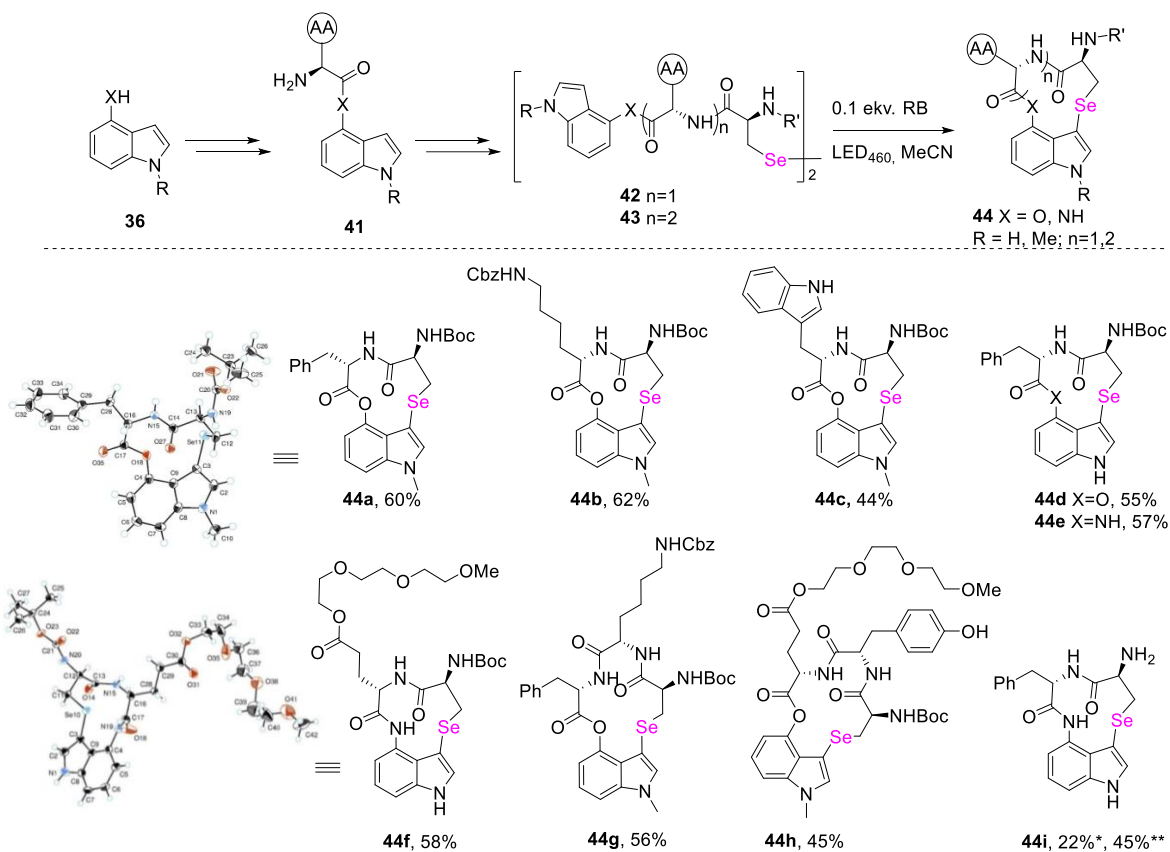


16. shēma. *Boc-Sec*-azaindolu sintēze.

Tika nolemts izmantot izstrādāto protokolu, lai pārbaudītu iespējas veikt iekšmolekulāru indolu selenilēšanu (A stratēģija). Šādā veidā veiksmīgas reakcijas rezultātā veidotos *Sec* saturoši indola makrocikli. Turklāt izstrādātas arī alternatīvas pieejas makrociklu sintēzei: redzamās gaismas iniciēta indola (kas jau satur aminoskābi vai īsu peptīdu C4 vai C5 pozīcijās) selenilēšana un sekojoša iekšmolekulāra amīda saites izveide (B stratēģija); redzamās gaismas iniciēta reakcija starp $(Boc-Sec)_2$ un aizsargātu 5-hidroksi- vai 5-aminoindolu, sekojoša reakcija ar nelielu peptīdu, aizsarggrupu nošķelšana un iekšmolekulāra amīda saites izveide (C stratēģija).

Redzamās gaismas iniciēta reakcija izrādījās piemērota iekšmolekulārai indolu selenilēšanai, kā rezultātā makrocikli **44a-h** tika izolēti ar labiem iznākumiem (17. shēma). Lai gan reakcija noritēja lēnāk nekā starpmolekulāra selenilēšana, svarīgi, ka tā bija selektīva. Turklāt makrociklu **44a** un **44f** struktūras tika viennozīmīgi apstiprinātas ar rentgenstruktūras analīzes datiem. Tika izdalīts arī neaizsargāts makrociklu **44i**. Produkts tika iegūts makrociklizācijas reakcijā, izmantojot *Fmoc* aizsargātu substrātu un pēc tam nošķelot aizsarggrupu. Alternatīva metode savienojuma **44i** sintēzei ir vispirms nošķelt *Fmoc* aizsarggrupu un pēc tam veikt ciklizēšanas reakciju, taču šajā gadījumā reakcijas iznākums bija zemāks.

Diemžēl tika secināts, ka A stratēģija nav piemērota, lai ciklizētu indolus, kas peptīdu satur C5 pozīcijā, iespējams, konformācijas ierobežojumu dēļ, tādēļ nolemts lietot citu pieeju šo savienojumu sintēzei.

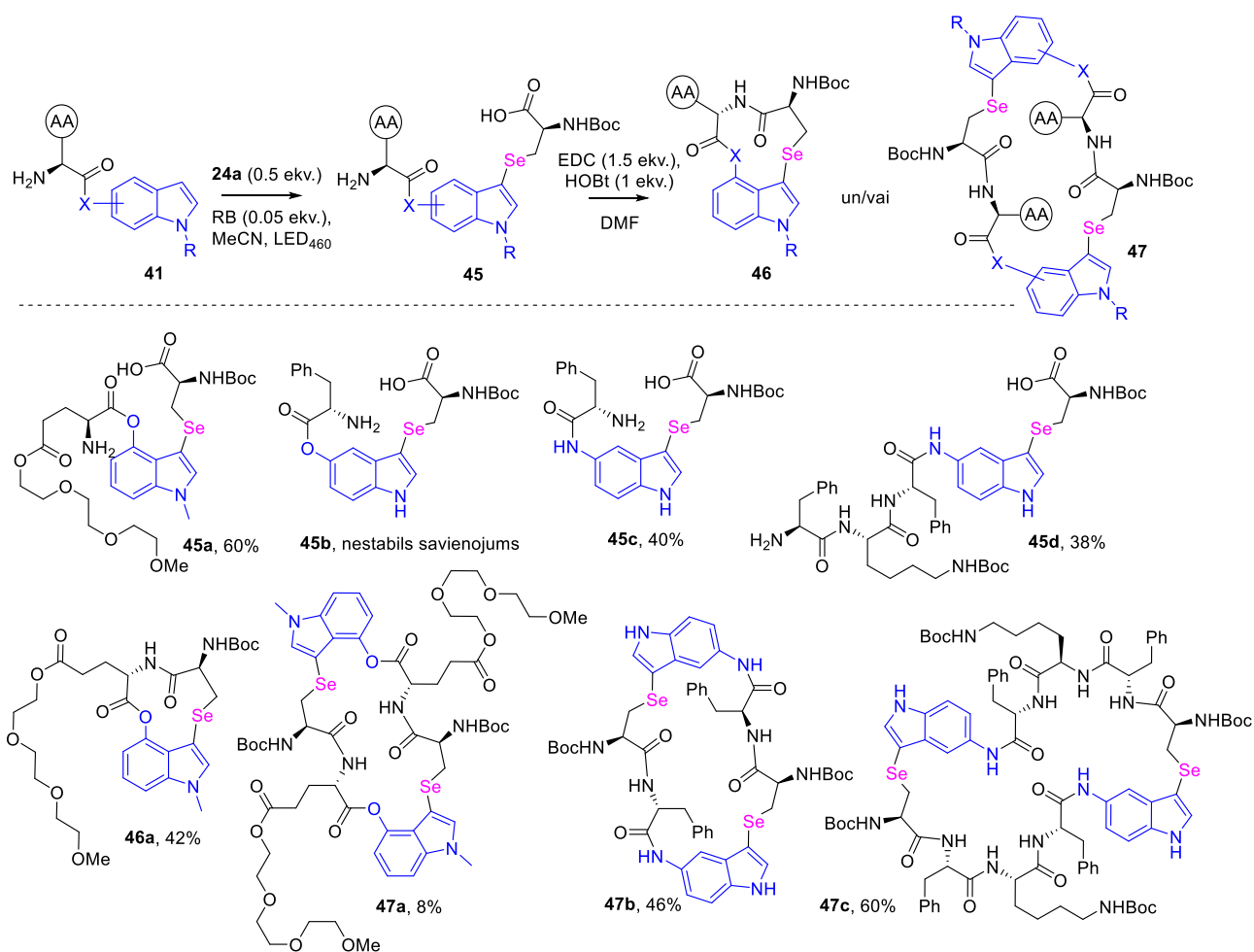


17. shēma. Makrociklu sintēze: A stratēģija.

**Fmoc* nošķelšana, ciklizēšana, **ciklizēšana, *Fmoc* nošķelšana.

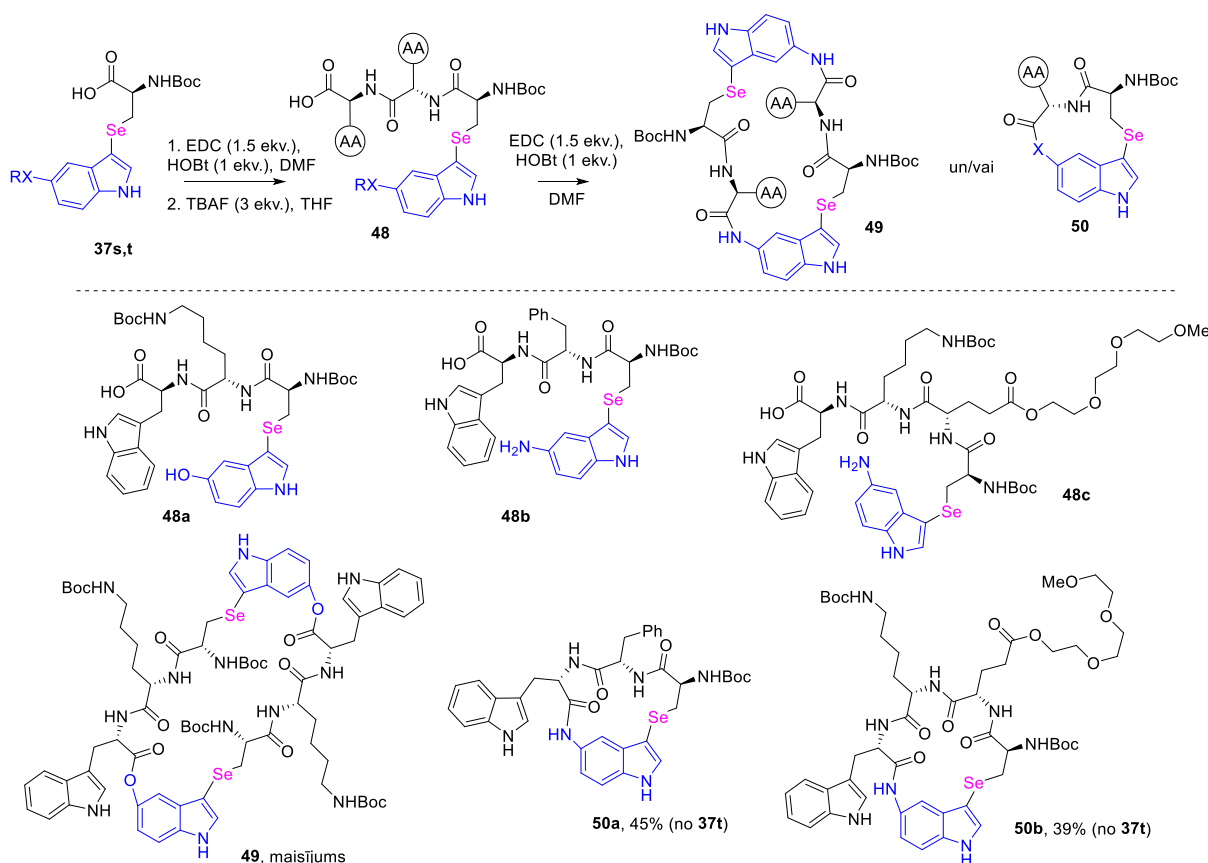
B stratēģija balstījās uz redzamās gaismas iniciētu indolu **41** selenilēšanu, kas jau saturēja aminoskābi vai īsu peptīdu C4 vai C5 pozīcijā. Sekojoša iekšmolekulāra amīda saites izveide ļāva iegūt makrociklus (18. shēma).

Redzamās gaismas iniciēta reakcija ļāva iegūt *Boc-Sec* saturošus indolus **45** ar viduvējiem līdz labiem iznākumiem. Iekšmolekulārai amīda saites izveidei tika izmantota EDC/HOBt metode. Rezultātā makrocikls **46a** tika izolēts, izmantojot 4-aizvietotu indolu **45a** kā izejvielu. Izdevās izolēt arī reakcijas minoro produktu – bis-makrociklizēšanas produktu **47a**. Savukārt indolu **45c** un **45d**, kas saturēja aizvietotāju C5 pozīcijā, izmantošana rezultējās ar bis-makrociklizēšanas produktu **47b** un **47c** izolēšanu.



18. shēma. Makrociklu sintēze: B stratēģija.

C stratēģija balstījās uz produktu **37s** un **37t** izmantošanu, kas tika iegūti redzamās gaismas iniciētā reakcijā, selenilējot aizsargātus 5-hidroksi- un 5-aminoindolus (19. shēma). Nākamā stadija bija starpmolekulāra amīda saites izveidei, tad pēc aizsarggrupu nošķelšanas tika veikta iekšmolekulāra amīda saites izveide. Bis-makrocikla **49** sintēze nenoritēja selektīvi, savukārt makrocikli **50a** and **50b** tika izolēti ar labiem iznākumiem, izmantojot savienojumus **48b** un **48c**.



19. shēma. Makrociklu sintēze: C stratēģija.

Nākamais uzdevums bija izpētīt redzamās gaismas iniciētu indolu selenilēšanas mehānismu. Pirmkārt, tika novērots, ka, apstarojot šķīdumu, kas satur **24b** un RB, veidojas nestabila selenīnskābe **51** un *Boc-Dha-Gly-OBn* **53** (20. shēma). Savienojuma **51** izolēšana nebija iespējama, taču tas tika detektēts ar ŠH-MS, AIMS ($[M + Na] = 471,0633$) un ^{77}Se KMR spektroskopiju (RSeO_2H 1217,5 ppm) (2. A att.). Reakcijas maisījums KMR stobriņā pēc 24 h uzrādīja, ka savienojums **51** ir sadalījies, veidojot citu vielu – selēnpaskābi (H_2SeO_3 **52**) (1302,7 ppm).

Kontroles testi apstiprināja, ka ūdens un skābeklis šķīdinātājā ir nepieciešami reakcijas norisei. Produkts **53** netika iegūts, reakciju veicot *TEMPO* klātienē, kas apstiprināja, ka reakcija notiek pēc radikāļu mehānisma.

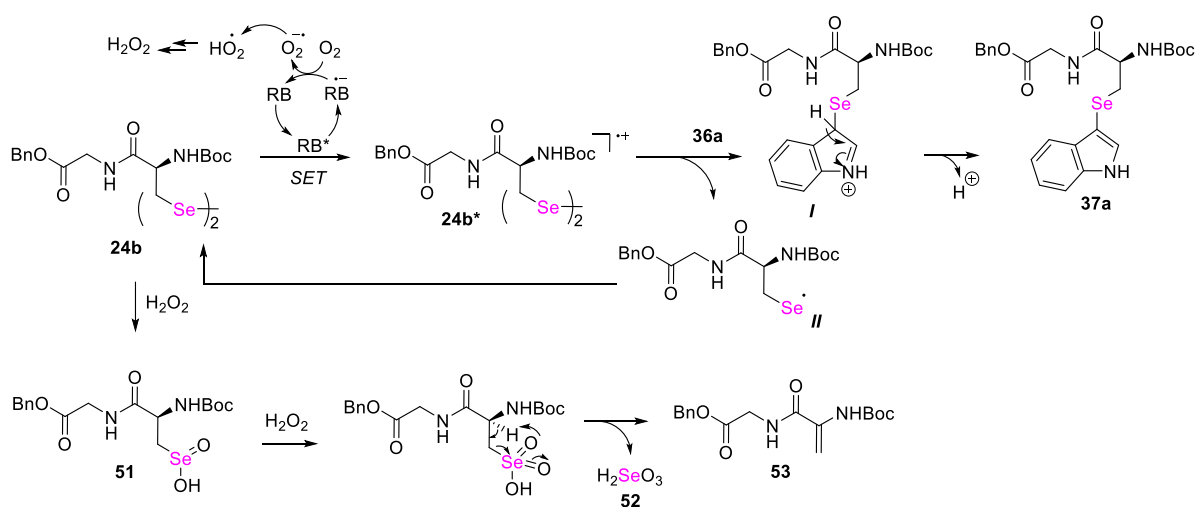
Redzamās gaismas ietekmē RB klātienē skābeklis veido superoksīda anjonradikāli ($\text{O}^{\bullet-}$), savukārt $\text{RB}^{\bullet-}$ atgriežas pamata stāvoklī (20. shēma). Reakcijā starp $\text{O}^{\bullet-}$ un ūdeni veidojas hidroperoksiradikāļi, kas veido ūdeņraža peroksīdu. Ūdeņraža peroksīds reaģē ar **24b**, notiek oksidēšanas reakcija un sekojoša deselenilēšana, veidojot dubultsaiti saturošo savienojumu.

Savienojumiem **24b**, **36a**, RB, etileozīnam, eritrozīnam B, FlrPic , $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ un 4-CzIPN tika uzņemti UV spektri sausā acetonitrila šķīdumā (2. B un 2. C att.). Fotokīmiskā reakcija starp **36a** un diselenīdu **24b** ir neefektīva bez katalizatora, jo indola absorbija ir 200 nm līdz 305 nm, savukārt **24b** piemīt absorbija līdz 430 nm, taču ar zemu intensitāti. Svarīgi, ka absorbcijas plecs pie 275–430 nm savienojuma **24b** UV spektrā ir raksturīgs Se–Se saitei, kas atvieglo selēna radikāļa izveidi fotokatalizatora klātienē.

Fotoluminescences dzēšanas eksperimenti RB, Ru(bpy)₃Cl₂·6H₂O un FlrPic tika veikti, izmantojot **24b** vai **36a** degazētā acetonitrilā. Dzēšanas ātruma konstante RB eksperimentā ar **24b** bija $10,42 \times 10^{-3}$ l/mol (2. D att.). Savukārt **36a** nedzēs RB fluorescenci ievērojamā daudzumā.

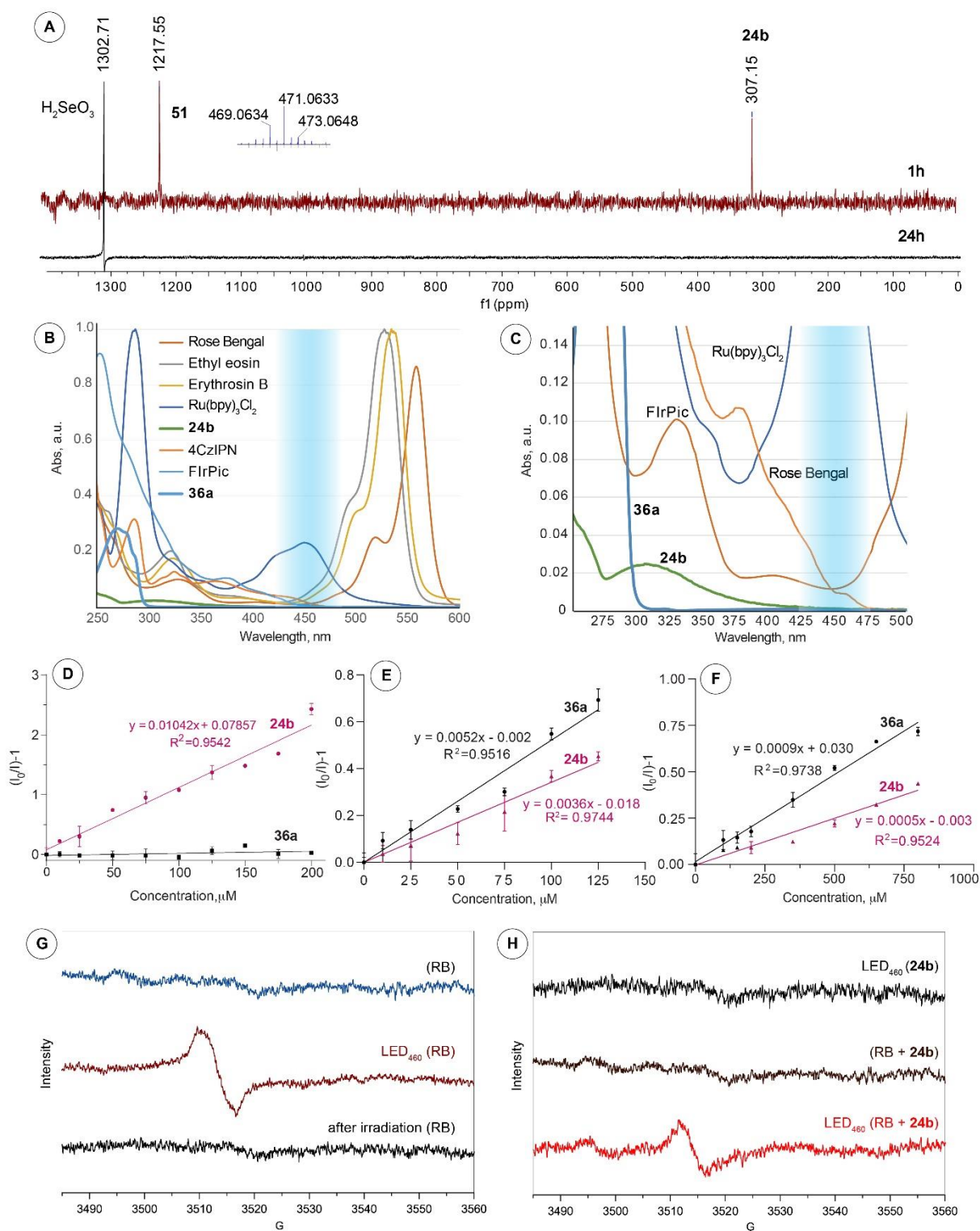
EPR eksperimenti apstiprināja radikāļu veidošanos RB šķīdumā, apstarojot to ar LED₄₆₀ gaismu. Turklāt diselenīda **24b** klātiešana samazināja RB* signāla intensitāti, ļaujot apstiprināt dinamiska līdzsvara izveidi LED₄₆₀ apstākļos: RB* + **24b** ↔ (RB + **24b***).

Tādējādi, balstoties uz iegūtajiem rezultātiem, secināts, ka, ierosinot RB veidojas diselenīda katjonradikālis **24b***, kas reaģē ar indolu **36a**, veidojot starpproduktu **I** un selēna radikāli **II**. Radikālis **II** var dimerizēties par diselenīdu **24b**, savukārt starpprodukts **I** pēc deprotonēšanas izveido produktu **37a** (20. shēma).



20. shēma. Piedāvātais mehānisms redzamās gaismas iniciētai indolu selenilēšanai.

Originālpublikācija par šajā apakšnodaļā aprakstītajiem pētījumiem – 4. pielikumā.



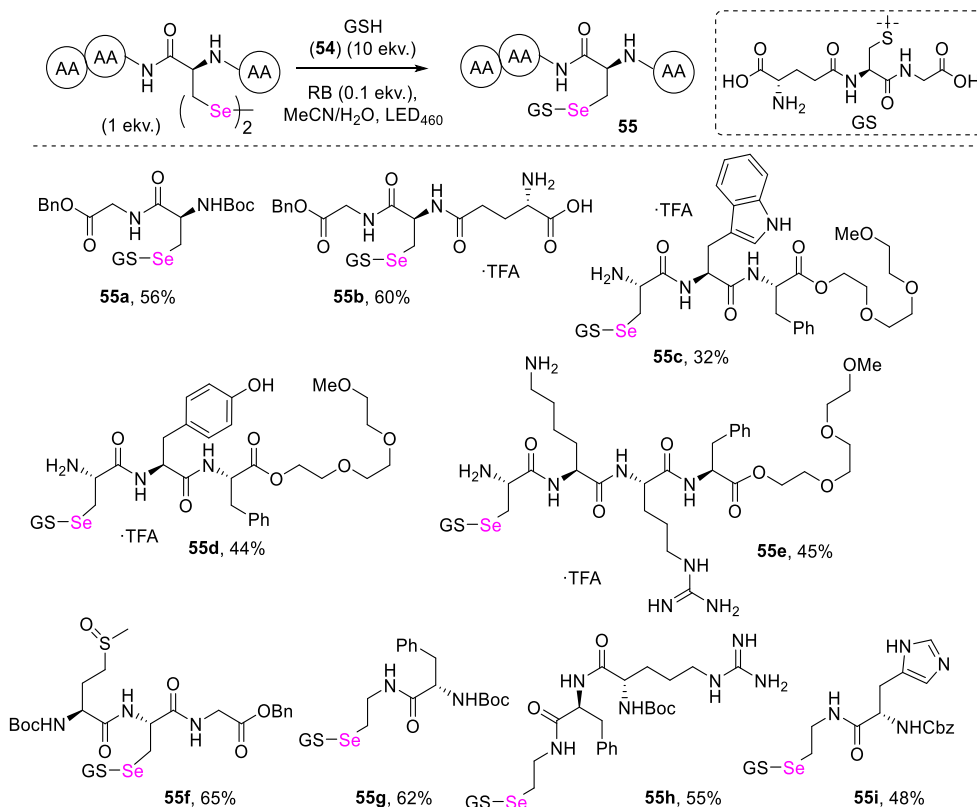
2. att. (A) ^{77}Se KMR spektri **24b** sadalīšanās produktiem pēc 1 h ilgas apstarošanas un pēc 24 h uzglabāšanas KMR stobriņā; (B) **24b**, **36a** un fotokatalizatoru UV spektri; (C) pietuvināts UV spektru 250-500 nm reģions; (D) RB fotoluminescences dzēšana ar **24b** un **36a**; (E) $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ fotoluminescences dzēšana ar **24b** un **36a**; (F) FirPic fotoluminescences dzēšana ar **24b** un **36a**; (G) EPR spektri: RB un RB + **24b** ar un bez LED_{460} apstarošanas.

4. Redzamās gaismas iniciēta Se–S saiti saturošu peptīdu sintēze

Se–S saite ir sastopama tioredoksīna reduktāzes aktīvajā centrā, kas ir viena no svarīgākajām antioksidantu sistēmas sastāvdaļām cilvēka šūnās.^{45,46} Se–S saiti saturošs starpprodukts veidojas glutaciona peroksidāzes katalītiskajā ciklā – selēnenzīms, kas ir atbildīgs par H₂O₂ un citu peroksīdu reducēšanu ar glutationu.⁴⁷ Mazas molekulārās masas savienojumi ar Se–S saiti ir izmantoti kā fluorescenti marķieri reaģētspējīgu sēra daļiņu detektēšanai^{48,49} un arī kā priekšzāles proteīna tirozīna fosfatāzes inhibēšanai.⁵⁰

Savienojumi, kas satur Se–S saiti, tiek uzskatīti par nestabiliem, tāpēc to sintēze ir sarežģīta.⁵¹ Teorētiski ir iespējama apmaiņas reakcija starp diselenīdu un tiolu, tomēr tā nav efektīva, jo selenolāta blakusprodukts ir stiprāks nukleofils nekā tiols.⁵² Tomēr piemērotos apstākļos reakciju ir iespējams veikt.⁵¹ Difenildiselenīds reaģē ar AgSCF₃, veidojot attiecīgo Se–S saiti saturošo produktu, jo selenolāta blakusprodukts ir stabilizēts ar sudraba jonu.⁵³ Parasti Se–S saites izveidei izmanto reakciju starp tiolu un elektrofilu selēna savienojumiem – selenihalogenīdiem^{54,55} vai organilselenīnskābēm.^{56,29} Taču arī fenilselenols var reaģēt ar aril- vai alkiltioliem *t*BuOK klātienē, savukārt fenilselenola reakcija ar elektrofilo *N*-fenil-trifluorometānsulfēnamīdu notiek skābā vidē.³⁸ Dažādi ogļhidrātu-selenilsulfīda atvasinājumi tika iegūti reakcijā starp diorganildiselenīdiem un glutationu fosfāta buferšķīdumā. Šī metode tika lietota arī proteīna (subtilizīns) modificēšanai.⁵⁷ Svarīgi, ka apmaiņas reakcijai starp diarildisulfīdu un dialkildiselenīdu ir izmantota UV gaisma. Turklāt attiecīgās publikācijas autori apgalvoja, ka Se–S saites izveide notiek UV gaismā, bet pie garākiem viļņiem (>410 nm, redzamā gaisma) notiek apgriezeniskā reakcija.⁵⁸

Promocijas darba ietvaros tika izstrādāta jauna metode Se–S saiti saturošu peptīdu sintēzei, izmantojot redzamās gaismas iniciētu reakciju. Optimālie reakcijas apstākļi tika atrasti, pētot reakciju starp dipeptīda dimēru (*Boc-Sec-Gly-OBn*)₂ **24b** un glutationu (*GSH*) (**54**) MeCN/H₂O maisījumā, apstarojot to ar *LED*₄₆₀ gaismu. Arī šajā gadījumā Bengālijas rozā (RB) izrādījās vispiemērotākais katalizators savienojuma **55a** sintēzei (21. shēma). Neviens no citiem pārbaudītajiem katalizatoriem (FIRPic, Ru(bpy)₃Cl₂, 4-CzIPN, 9-mezitil-10-metilakridīnija tetrafluorborāts, etileozīns, fluoresceīns, 5-TAMRA) neuzrādīja augstāku selektivitāti un spēju nodrošināt pilnu izejvielu konversiju 1 h laikā. Novērots, ka notiek arī konkurējošā reakcija – *GSH* oksidēšanās, veidojot GS–SG, tādēļ šo substrātu nepieciešams ņemt pārākumā – 10 ekv. Taču, ņemot vērā to, ka reakcijā tiek izmantotas abas diselenīda daļas, *GSH* attiecība pret vienu selēnu ir 5 : 1. Kontroltesti pierādīja, ka reakcijas norisei ir nepieciešami gan *LED*₄₆₀, gan RB. Radikāļu ķērāja *TEMPO* klātie ne novērsa produkta **55a** veidošanos, jo, visticamāk, ka radikāļa reakcija ar *TEMPO* ir daudz lēnāka nekā glutaciona (GS[•]) radikāļa ģenerēšana un sekojošā Se–S saites izveides reakcija vai glutaciona dimerizēšanās reakcija.

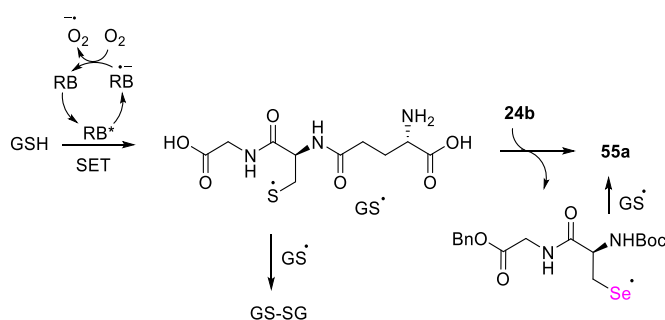


21. shēma. Se–S saiti saturošo peptīdu sintēze.

55b-e: produktu iegūšanai izmantoti neaizsargāti peptīdi TFA sāls formā.

Svarīgi, ka substrātu klāsta pārbaude uzrādīja, ka dažādi selēncistīna un selēncistamīna peptīdi ar “sensitīvām” aminoskābēm (*Arg*, *Glu*, *Lys*, *His*, *Tyr*) uzrādīja lielisku toleranci un veidoja gaidītos Se–S saiti saturošos produktus. Lai gan ir zināms, ka *Trp* ir ļoti jutīgs pret oksidēšanos ar radikāļiem un singleta skābekli, tomēr izdevās izolēt arī *Trp* saturošo produktu **55c**, taču iznākums bija zemāks blakusproduktu veidošanās dēļ. Savukārt *Met* saturošā peptīda gadījumā tika izolēts *Met* sulfoksīdu saturošais produkts **55f**.

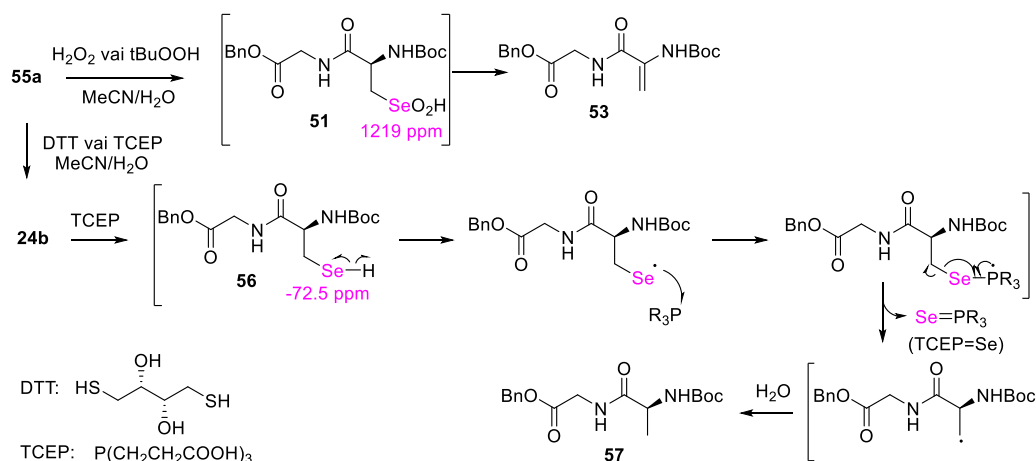
Sterna–Volmera eksperiments uzrādīja, ka RB fluorescences dzēšanas ātrums ar GSH ir ievērojami augstāks ($8,8 \times 10^{-3}$ l/mol) nekā ar **24b** ($0,12 \times 10^{-3}$ l/mol). Tāpēc var uzskatīt, ka S-centrēts radikālis ātri izveidojas redzamās gaismas ietekmē fotokatalizatora klātienē. Tad GS[•] radikālis reaģē ar diselenīdu, veidojot Se–S saiti saturošo peptīdu **55a**, vai arī tas veido oksidētu glutationu (GS-SG) (22. shēma).



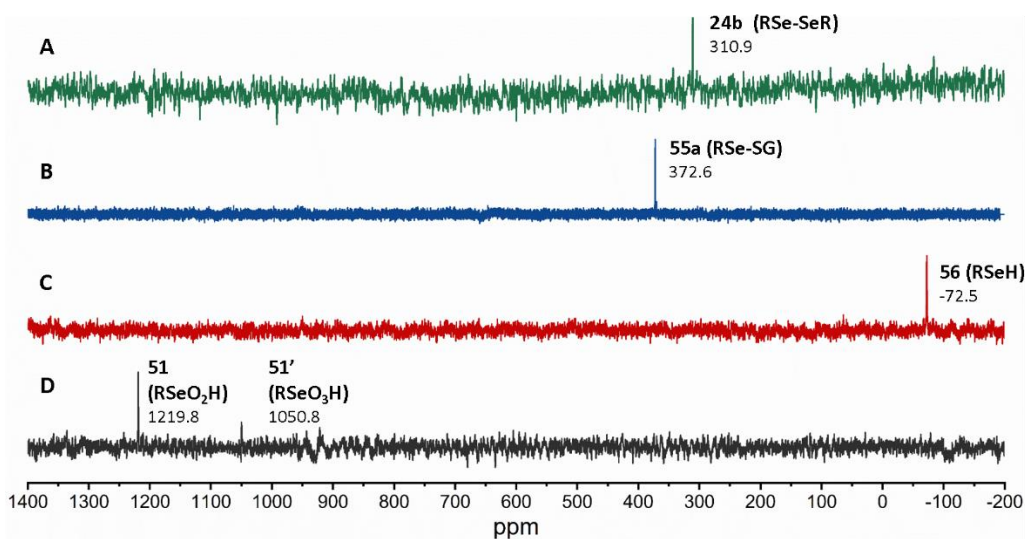
22. shēma. Piedāvātais mehānisms Se–S saiti saturošo peptīdu sintēzei.

Tika nolemts izpētīt Se–S saiti saturošā peptīda **55a** stabilitāti dažādos apstākļos: apstarojot to ar LED_{460} , oksidētāju un reducētāju klātienē (23. shēma). Ilgākas apstarošanas ($LED_{460} > 3$ h) rezultātā RB klātienē MeCN/H₂O maisījumā veidojās attiecīgā selenīnskābe **51** un *Boc-Dha-Gly-OBn* **53**, jo, visticamāk, notika savienojuma **55a** reakcija ar H₂O₂, kas veidojas reakcijas apstākļos. Oksidējot **55a** ar H₂O₂ ar *t*BuOOH, veidojās attiecīgā selenīnskābe **51**, kas tika detektēta ar AIMS ([M + Na] = 471,0633) un ⁷⁷Se KMR spektroskopiju (δ 1219,8 ppm). Turklāt neliels selenoskābes **51'** signāls (δ 1050,8 ppm) arī tika detektēts ⁷⁷Se KMR spektrā (3. att.).

Reducējot **55a** ar 3 ekv. 1,4-ditiotreitola (DTT) vai tris(2-karboksietil)fosfīna hidrogēnhlorīdu (TCEP), veidojās **24b** un GSH īsā reakcijas laikā (30 min). Turklāt, palielinot TCEP daudzumu (10 ekv.), tika novērots, ka notiek deselenilēšanās un veidojas *Boc-Ala-Gly-OBn* **57** un TCEP=Se ([M-H] = 328,9704) (23. shēma). Reducēšanas reakcijas starpprodukts – selenols **56** – tika detektēts ar ŠH-MS ([M + Na] = 439,03) un ⁷⁷Se KMR spektroskopiju (δ –72,5 ppm). Deselenilēšanas mehānisms ir literatūrā zināms.³³



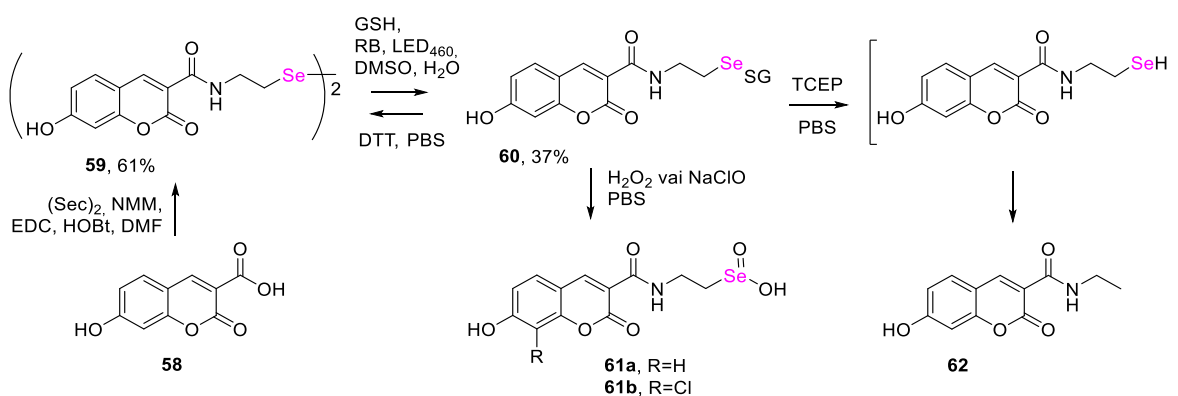
23. shēma. **55a** stabilitāte reducētāju un oksidētāju klātienē.



3. att. ⁷⁷Se KMR spektri: **24b** (A), **55a** (B), **56** (C), **51** (D).

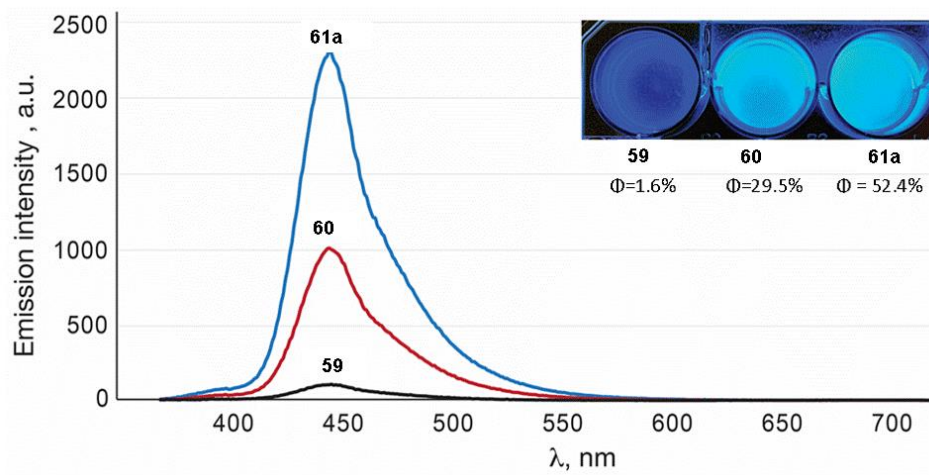
Lai novērtētu alkilselenilsulfīda izmantošanu kā viegli nošķelamu linkeru fluorescēta marķiera pievienošanai pie tiola grupu saturoša peptīda, tika sintezēts diselenīds **59** no 7-hidroksi-2-okso-2*H*-hromēn-3-karbonskābes **58** (24. shēma). Redzamās gaismas iniciētā reakcijā starp GSH un diselenīdu **59** veidojās Se–S saiti saturošais produkts **60** ar 37 % iznākumu.

Tālāk tika pārbaudīta savienojuma **60** stabilitāte. H₂O₂ klātienē notika ātra oksidēšanās un veidojās attiecīgā selenīnskābe **61a**. NaClO klātienē veidojās hlorēta selenīnskābe **61b** ([M–H] = 377,9290). DTT (10 ekv.) izmantošanas rezultātā tika iegūts diselenīds **59**. Nesen literatūrā tika aprakstīts, ka reducējošos apstākļos (TCEP/DDT) ciklisks selenilsulfīds spontāni eliminē etilselenilgrupu, veidojot etilēnu, turklāt šī reakcija notika ļoti lēni (sešas dienas).⁵⁹ Līdzīga pārvērtība netika novērota savienojuma **60** gadījumā – reakcijā ar TCEP (10 ekv.) veidojās etilamīds **62** jau 30 min laikā.



24. shēma. Savienojuma **60** sintēze un stabilitāte.

Papildus tika noteikta savienojuma **60** stabilitāte fosfāta buferšķīdumā (*PBS*) pie dažādām pH vērtībām, atklājot, ka savienojumam ir stabils pH robežās 3,0–8,0 vismaz 24 h. Tika iegūti absorbcijas un emisijas spektri savienojumu **59**, **60** un **61a** *PBS* šķīdumiem (pH = 7,4, *c* = 10 μM), kā arī tika noteikti šo vielu fotoluminescences kvantu iznākumi (*PLQY*) (4. att.). Se–S saturošā savienojuma *PLQY* ir ievērojami augstāks ($\Phi = 29,5\%$) nekā attiecīgajam diselenīdam **59** ($\Phi = 1,6\%$). Taču visaugstākais kvantu iznākums tika novērots selenīnskābes **61a** ($\Phi = 52,4\%$) gadījumā.



4. att. Savienojumu **59**, **60**, **61a** emisijas spektri (ierosinot pie 350 nm (*PBS*, pH = 7,4)).

Originālpublikācija par šajā apakšnodaļā aprakstītajiem pētījumiem – 5. pielikumā.

SECINĀJUMI

1. Cisteīnu saturošus peptīdus var funkcionalizēt maigos apstākļos, izmantojot *N*-hlorsukcīnimīdu *in situ* cisteinilhlorīda iegūšanai.
2. CuBr_2 ir piemērota Luisa skābe halkogēnilelektrofīla ģenerēšanai no diaril/dibenzil dihalogēnīdiem, kā arī no aizsargātiem un neaizsargātiem selēncistīnu saturošiem peptīdiem.
3. $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ir piemērots reaģents selenilelektrofīla ģenerēšanai no $(\text{Boc-Sec})_2$ un selēncistīnu saturošiem peptīdiem.
4. Sulfenil- un selenilelektrofīlus var izmantot 5- un 6-*endo-dig* ciklizācijas reakcijās ar piemērotiem trīskāršo saitī saturošiem savienojumiem, veidojot cisteīnu un selēncisteīnu saturošas (hetero)cikliskas sistēmas (indolizīnija sāļus, indolus, benz[*b*]furānus, kumarīnus, izokumarīnus, hinolīn-2-onus, izohinolīn-2-onus, poliaromātiskus ogļūdeņražus, indēn[1,2-*c*]hromēnus).
5. Bengālijas rozā ir efektīvs fotokatalizators selenilelektrofīla ģenerēšanai no aizsargātiem un neaizsargātiem selēncistīnu saturošiem peptīdiem. Iegūtais elektrofilis reaģē ar elektroniem bagātiem *N*-heterocikliem. Izstrādātā atomekonomiskā metode uzrādīja izcilu toleranci arī neaizsargātiem selēncistīnu saturošiem peptīdiem ar “sensitīvām” aminoskābēm (*Lys*, *Arg*, *His*, *Glu*, *Tyr*). Reakcijas apstākļos iespējams veikt arī iekšmolekulāru indolu selenilēšanu, iegūstot selēncisteīnu saturošus makrociklus.
6. Bengālijas rozā ir piemērots fotokatalizators Se–S saiti saturošu peptīdu sintēzei.

LITERATŪRAS SARAKSTS

- (1) Valeur, E.; Guéret, S. M.; Adihou, H.; Gopalakrishnan, R.; Lemurell, M.; Waldmann, H.; Grossmann, T. N.; Plowright, A. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 10294.
- (2) Lau, J. L.; Dunn, M. K. *Bioorganic Med. Chem.* **2018**, *26*, 2700.
- (3) Rentier, C.; Fukumoto, K.; Taguchi, A.; Hayashi, Y. *J. Pept. Sci.* **2017**, *23*, 496.
- (4) Xu, M.; Zhang, X. H.; Zhong, P. M. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 6800.
- (5) Wismach, C.; Jones, P. G.; Du Mont, W. W.; Mugesh, G.; Papke, U.; Linden, H. B.; Arca, M.; Lippolis, V. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, *8*, 1399.
- (6) Gay, R. M.; Manarin, F.; Schneider, C. C.; Barancelli, D. A.; Costa, M. D.; Zeni, G. F. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5701.
- (7) Fang, X. L.; Tang, R. Y.; Zhang, X. G.; Li, J. H. *Synthesis* **2011**, *7*, 1099.
- (8) Du, H. A.; Tang, R. Y.; Deng, C. L.; Liu, Y.; Li, J. H.; Zhang, X. G. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2739.
- (9) Ni, Y.; Zuo, H.; Li, Y.; Wu, Y.; Zhong, F. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 4350.
- (10) Li, H.; Wang, X.; Yan, J. *Appl. Organomet. Chem.* **2017**, *31*, 1.
- (11) Prasad, C. D.; Kumar, S.; Sattar, M.; Adhikary, A.; Kumar, S. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 8036.
- (12) Goulart, H. A.; Neto, J. S. S.; Barcellos, A. M.; Barcellos, T.; Silva, M. S.; Alves, D.; Jacob, R. G.; Lenardão, E. J.; Perin, G. *Adv. Synth. Catal.* **2019**, *361*, 3403.
- (13) Li, Z.; Hong, L.; Liu, R.; Shen, J.; Zhou, X. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1343.
- (14) Song, Z.; Ding, C.; Wang, S.; Dai, Q.; Sheng, Y.; Zheng, Z.; Liang, G. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 1847.
- (15) Vinogradov, A. A.; Yin, Y.; Suga, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 4167.
- (16) Yu, X.; Sun, D. *Molecules* **2013**, *18*, 6230.
- (17) Martí-Centelles, V.; Pandey, M. D.; Burguete, M. I.; Luis, S. V. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8736.
- (18) De la Torre, B. G.; Albericio, F. *Molecules* **2020**, *25*, 2019.
- (19) McLean, J. T.; Benny, A.; Nolan, M. D.; Swinand, G.; Scanlan, E. M. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50*, 10857.
- (20) Bottecchia, C.; Noël, T. *Chem. A Eur. J.* **2019**, *25*, 26.
- (21) Khanam, H.; Shamsuzzaman. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 483.
- (22) Kaushik, N. K.; Kaushik, N.; Attri, P.; Kumar, N.; Kim, C. H.; Verma, A. K.; Choi, E. H. *Molecules* **2013**, *18*, 6620.
- (23) Welsch, M. E.; Snyder, S. A.; Stockwell, B. R. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 347.
- (24) Saikia, P.; Gogoi, S. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 2063.
- (25) Pranger, A. D.; van der Werf, T. S.; Kosterink, J. G. W.; Alffenaar, J. W. C. *Drugs* **2019**, *79*, 161.
- (26) Diem Ferreira Xavier, M. C.; Andia Sandagorda, E. M.; Santos Neto, J. S.; Schumacher, R. F.; Silva, M. S. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 13975.
- (27) Tiecco, M.; Testaferri, L.; Tingoli, M.; Bartoli, D. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4523.
- (28) Perin, G.; Nobre, P. C.; Mailahn, D. H.; Silva, M. S.; Barcellos, T.; Jacob, R. G.;

- Lenardão, E. J.; Santi, C.; Roehrs, J. A. *Synthesis* **2019**, *51*, 2293.
- (29) Abdo, M.; Knapp, S. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3433.
- (30) Abenante, L.; Padilha, N. B.; Anghinoni, J. M.; Penteado, F.; Rosati, O.; Santi, C.; Silva, M. S.; Lenardão, E. J. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 5210.
- (31) Cohen, D. T.; Zhang, C.; Fadzen, C. M.; Mijalis, A. J.; Hie, L.; Johnson, K. D.; Shriver, Z.; Plante, O.; Miller, S. J.; Buchwald, S. L.; Pentelute, B. L. *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 78.
- (32) Cohen, D. T.; Zhang, C.; Pentelute, B. L.; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 9784.
- (33) Dery, S.; Reddy, P. S.; Dery, L.; Mousa, R.; Dardashti, R. N.; Metanis, N. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 6207.
- (34) Whedon, S. D.; Markandeya, N.; Rana, A. S. J. B.; Senger, N. A.; Weller, C. E.; Tureček, F.; Strieter, E. R.; Chatterjee, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 13774.
- (35) Jiang, H.; Ferrara, G.; Zhang, X.; Oniwa, K.; Islam, A.; Han, L.; Sun, Y. J.; Bao, M.; Asao, N.; Yamamoto, Y.; Jin, T. T. *Chem. A Eur. J.* **2014**, *21*, 4065.
- (36) Chen, C. C.; Wu, M. Y.; Chen, H. Y.; Wu, M. J. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 6071.
- (37) Srivastava, A.; Singh, P. K.; Ali, A.; Singh, P. P.; Srivastava, V. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 39495.
- (38) Jereb, M.; Dolenc, D. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 58292.
- (39) Sharma, S.; Sharma, A. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 4384.
- (40) Rathore, V.; Kumar, S. *Green Chem.* **2019**, *21*, 2670.
- (41) Chen, J.; Chen, R.; Mei, L.; Yan, S.; Wu, Y.; Li, Q.; Yuan, B. *Asian J. Org. Chem.* **2020**, *9*, 181.
- (42) Waliczek, M.; Pehlivan, Ö.; Stefanowicz, P. A. *New J. Chem.* **2020**, *44*, 11433.
- (43) Ji, S.; Cao, W.; Yu, Y.; Xu, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 6781.
- (44) Waliczek, M.; Pehlivan, Ö.; Stefanowicz, P. *ChemistryOpen* **2019**, *8*, 1199.
- (45) Holmgren, A.; Johansson, C.; Berndt, C.; Lönn, M. E.; Hudemann, C.; Lillig, C. H. *Biochem. Soc. Trans.* **2005**, *33*, 1375.
- (46) Canal-Martín, A.; Pérez-Fernández, R. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 1.
- (47) Metanis, N.; Beld, J.; Hilvert, D. *The Chemistry of Selenocysteine*; 2011.
- (48) Suarez, S. I.; Ambrose, R.; Kalk, M. A.; Lukesh, J. C. *Chem. A Eur. J.* **2019**, *25*, 15736.
- (49) Wang, Y.; Yang, C. T.; Xu, S.; Chen, W.; Xian, M. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 7573.
- (50) Tjin, C. C.; Otley, K. D.; Baguley, T. D.; Kurup, P.; Xu, J.; Nairn, A. C.; Lombroso, P. J.; Ellman, J. A. *ACS Cent. Sci.* **2017**, *3*, 1322.
- (51) Hamsath, A.; Xian, M. *Antioxid. Redox Signal.* **2020**, *33*, 1143.
- (52) Hondal, R. J.; Marino, S. M.; Gladyshev, V. N. *Antioxid. Redox Signal.* **2013**, *18*, 1675.
- (53) Saravanan, P.; Anbarasan, P. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 4639.
- (54) Hamsath, A.; Wang, Y.; Yang, C. T.; Xu, S.; Cañedo, D.; Chen, W.; Xian, M. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 5685.
- (55) Gamblin, D. P.; Garnier, P.; Van Kasteren, S.; Oldham, N. J.; Fairbanks, A. J.; Davis, B. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 828.
- (56) Abdo, M.; Sun, Z.; Knapp, S. *Molecules* **2013**, *18*, 1963.

- (57) Boutureira, O.; Bernardes, G. J. L.; Fernández-González, M.; Anthony, D. C.; Davis, B. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 1432.
- (58) Fan, F.; Ji, S.; Sun, C.; Liu, C.; Yu, Y.; Fu, Y.; Xu, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 16426.
- (59) Diemer, V.; Ollivier, N.; Leclercq, B.; Drobecq, H.; Vicogne, J.; Agouridas, V.; Melnyk, O. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 1.

PATEICĪBAS

Vislielākā pateicība manam darba vadītājam *Dr. chem.* Pāvelam Arsenjanam par vērtīgajām diskusijām, ieteikumiem un atbalstu promocijas darba tapšanā. Liels paldies par sniegtajām zināšanām un prasmēm!

Paldies kolēģim Pāvelam Dimitrijevam par savienojumu fotofizikālajiem pētījumiem, noderīgajiem padomiem un ieguldījumu kopīgo publikāciju tapšanā. Atsevišķu paldies vēlos izteikt *Dr. phys.* Sergejam Beļakovam par savienojumu rentgenstruktūras analīžu veikšanu, *Dr. chem.* Larisai Baumanai par EPR spektru uzņemšanu un Kasparam Leduskrastam par fotofizikālajiem pētījumiem!

Liels paldies manam vīram Linardam Lapčinskim par nenovērtējamo atbalstu un sniegtajiem padomiem, kā arī par ieguldījumu kopīgajā publikācijā.

Paldies Latvijas Organiskās sintēzes institūtam par finansiālo atbalstu promocijas darba tapšanā (studentu iekšējie granti: IG-2018-06, IG-2020-07, IG-2021-01)!

Sindija Lapčinska

DOCTORAL THESIS PROPOSED TO RIGA TECHNICAL UNIVERSITY FOR THE PROMOTION TO THE SCIENTIFIC DEGREE OF DOCTOR OF SCIENCE

To be granted the scientific degree of Doctor of Science (Ph. D.), the present Doctoral Thesis has been submitted for the defence at the open meeting of RTU Promotion Council on February 17, 2022 at 14:00 at the Faculty of Materials Science and Applied Chemistry of Riga Technical University, 3 Paula Valdena Street, Room 272.

OFFICIAL REVIEWERS

Professor Dr. chem. Māris Turks
Riga Technical University

Professor Dr. chem. Aigars Jirgensons
Latvian Institute of Organic Synthesis, Latvia

Professor Dr. chem. Edgars Sūna
University of Latvia, Latvia

DECLARATION OF ACADEMIC INTEGRITY

I hereby declare that the Doctoral Thesis submitted for the review to Riga Technical University for the promotion to the scientific degree of Doctor of Science (Ph. D.) is my own. I confirm that this Doctoral Thesis had not been submitted to any other university for the promotion to a scientific degree.

Sindija Lapčinska (signature)

Date:

The Doctoral Thesis has been prepared as a collection of thematically related scientific publications complemented by summaries in both Latvian and English. The Doctoral Thesis includes six scientific publications. The scientific publications have been written in English, with the total volume of 820 pages, including supplementary data.

CONTENTS

ABBREVIATIONS.....	45
GENERAL OVERVIEW OF THE THESIS	46
Introduction	46
Aims and objectives.....	47
Scientific novelty and main results.....	47
Structure and volume of the Thesis	48
Publications and approbation of the Thesis	48
MAIN RESULTS OF THE THESIS	50
1. Sulfenyl electrophile generation and subsequent use in 5- and 6- <i>endo-dig</i> cyclization reactions.....	50
2. Selenyl electrophile generation and subsequent use in 5- and 6- <i>endo-dig</i> cyclization reactions.....	55
3. Visible light-mediated functionalization of selenocystine-containing peptides: selenylation of indoles and macrocyclization.....	65
4. Visible light-mediated synthesis of Se–S bond-containing peptides.....	74
CONCLUSIONS	79
REFERENCES.....	80
ACKNOWLEDGEMENT	83
APPENDICES.....	84

Appendix I: Arsenyan, P.; Lapcinska, S.; Ivanova, A.; Vasiljeva, J. Peptide functionalization through the generation of selenocysteine electrophile. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 4951–4961.

Appendix II: Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Selenocystine peptides performance in 5-*endo-dig* reactions. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 784–795.

Appendix III: Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Straightforward functionalization of sulfur-containing peptides via 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions. *Synthesis* **2021**, 53, 1805–1820.

Appendix IV: Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Lapcinskis, L.; Arsenyan, P. Visible light-mediated functionalization of selenocystine-containing peptides. *Adv. Synth. Cat.* **2021**, 363, 3318–3328.

Appendix V: Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Arsenyan, P. Visible light-mediated synthesis of Se–S bond-containing peptides. *Adv. Synth. Cat.* **2021**, 363, 3968–3972.

Appendix VI: Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Selenocysteinyl electrophiles efficiently promote the formation of coumarin and quinolinone cores by 6-*endo-dig* cyclization. *New. J. Chem.* **2021**, 45, 16625–16634.

ABBREVIATIONS

Arg	arginine
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl-
Bn	benzyl-
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyl-
Cbz	benzyloxycarbonyl-
<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -chloroperoxybenzoic acid
Cys	cysteine
DCM	dichloromethane
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
Dha	dehydroalanine
EDC·HCl	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride
Gly	glycine
GSH	glutathione
His	histidine
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometry
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry
LED	light-emitting diodes
Lys	lysine
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NCS	<i>N</i> -chlorosuccinimide
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
NMM	<i>N</i> -methylmorpholine
NMR	nuclear magnetic resonance
Ns	nosyl
PAHs	polyaromatic hydrocarbons
PBS	phosphate-buffered saline
PLQY, Φ	photoluminescence quantum yield
RB	Rose Bengal
REN	relative electronegativity
rt	room temperature
Sec	selenocysteine
Trp	tryptophan
Ts	tosyl
Tyr	tyrosine
UV	ultraviolet

GENERAL OVERVIEW OF THE THESIS

Introduction

Short peptides are a unique class of molecules that have promising properties for drug discovery.¹ As intrinsic signaling molecules for many physiological functions, peptides present an opportunity for therapeutic intervention that closely mimics natural pathways.² The use of peptides as therapeutics has evolved over time, consequently, a significant number of marketed drugs already are peptide-based compounds.¹ With purpose to overcome some issues associated with peptides, e.g. oral bioavailability and membrane permeability, peptide and small molecule conjugates have been designed. Conjugation is an attractive mechanism for enhancing the properties of peptides. Notably, 30 % of peptides that have entered clinical development in the last decade are conjugates, and the search for novel peptide-based pharmaceuticals continues.

The introduction of cysteine (Cys), selenocysteine (Sec) or the oxidized forms of these amino acids into peptide or protein provides a handle for selective modification. Peptides with cysteine or selenocysteine residues can be modified through the generation of chalcogenyl electrophile, nucleophile or radical.

Although sulfur and selenium are close analogues, significant differences in chemical and physical properties exist. Selenols have lower pKa values than thiols, for example, pKa of selenocysteine is 5.2 while pKa of cysteine is 8.3, meaning that under physiological conditions (pH = 7.4) selenocysteine is deprotonated. Selenium is more polarizable that results in higher reactivity.

In general, methods for generation of sulfenyl and selenyl electrophiles exist, however, these protocols are usually limited with simple aryl thiols or diaryl disulfides/diselenides. Typical examples of sulfenyl electrophiles are aryl sulfenyl halides prepared from aryl thiols or diaryl disulfides using halogens,^{3,4} SOCl₂,⁵ SO₂Cl₂,³ catalytic or equimolar amount of Lewis acids (e.g. iron(III) salts,^{6,7,8} CuBr₂⁹). Similarly, selenyl electrophile can be generated using halogens,⁴ KI/*m*-CPBA,¹⁰ oxidants (persulfates,¹¹ oxone¹²), metal salts (CuI,¹³ FeCl₃⁶) and hypervalent iodine compounds¹⁴.

The modification of peptides obviously is more complicated due to the presence of 'sensitive' functional groups. Notably, the known methods usually rely on the high nucleophilicity of the thiol/selenol group while only few methods exist for generation of cysteine/selenocysteine electrophiles. Contrary to cysteine, selenocysteine-containing peptides are rarely used for chemical synthesis.

Peptide functionalization is performed with the purpose to improve the bioavailability, cell permeability and stability. It is known that cyclization of peptides can improve their selectivity, metabolic stability and binding affinity.¹⁵ Some of the most widely used antibiotics (vancomycin, daptomycin, valinomycin, gramicidin S), immunosuppressants (cyclosporine), anti-cancer drugs (aplidine, dactinomycin) are macrocyclic peptides.^{16,17} From 2015 to 2019, FDA (*Food and Drug Administration*) approved 208 drugs, and 15 of them were peptide-based compounds that were used for treating diabetes (*Tresiba*, *Lixisenatide*), osteoporosis (*Tymlos*), hypotension (*Giapreze*), neuroendocrine tumors (*Lutathera*) and other diseases.¹⁸ Additionally,

in 2021, FDA approved 15 peptide-based drugs (*Voxzogo, Korsuva, Besremi, Skytrofa, Nexvazyme, Jemperli, Evkeeza, Saphnelo, Rylaze, Aduhelm, Rybrevant, Empaveli, Zynlonta, Zegalogue, Lupkynis*).

Aims and objectives

The main goal of the Thesis is the development of new effective synthetic approaches for modification of cysteine and selenocysteine-containing peptides through the generation of sulfenyl or selenyl electrophile, focusing on high yield, atom-economic and sustainable processes.

The following tasks were set:

- 1) to develop convenient protocols for the *in situ* generation of sulfenyl electrophile from cysteine containing peptides;
- 2) to establish novel methods for selenyl electrophile generation suitable for selenocysteine-containing peptides;
- 3) to elaborate methods for utilization of sulfenyl and selenyl electrophiles in 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions;
- 4) to develop methods for modification of selenocysteine-containing peptides by visible light induced reactions.

Scientific novelty and main results

As the result of the Thesis, simple and efficient methods for functionalization of cysteine and selenocysteine-containing peptides were established. The electrophilic cysteinyl species – cysteinyl chloride – was *in situ* obtained employing *N*-chlorosuccinimide, while Lewis acid or oxidant induced selenyl electrophile generation was employed for the selenocysteine-containing peptides. The electrophilic species were subsequently trapped with triple bond-containing substrates followed by 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions yielding indolizinium salts, indoles, benzo[*b*]furans, indeno[1,2-*c*]chromenes, polyaromatic hydrocarbons, isocoumarins, coumarins, isoquinolin-2-ones and quinolin-2-ones attached to cysteine or selenocysteine peptides. Methods employed for selenyl electrophile generation showed high tolerance for amino acids with sensitive groups (e.g. Tyr, Glu, Lys). A novel atom-economic method was established for modification of selenocysteine-containing peptides under visible light irradiation. This method enabled the synthesis of selenocysteine-containing *N*-heterocycles in high yields. Furthermore, intramolecular selenylation was performed resulting in preparation of selenocysteine-containing macrocycles. Additionally, visible light-initiated reaction was developed for synthesis of Se–S bond-containing peptides, and it was based on the generation of thiyl radical of glutathione in the presence of organic dye.

Structure and volume of the Thesis

The Thesis is a collection of thematically related scientific publications devoted to the development of new methods for modification of cysteine and selenocysteine-containing peptides by electrophilic cyclization and visible light-initiated reactions. The Thesis compiles results from 6 original scientific papers indexed in Scopus and Web of Science.

Publications and approbation of the Thesis

The results of the Thesis have been published in 6 scientific papers. Additionally, the results have also been disseminated in 6 scientific conferences.

Scientific publications

1. Arsenyan, P.; Lapcinska, S.; Ivanova, A.; Vasiljeva, J. Peptide functionalization through the generation of selenocysteine electrophile. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 4951–4961.
[Lapcinska, S.; Ivanova, A.; Vasiljeva, J., Arsenyan, P. Synthesis of selenocysteine-based peptides. *Synfacts* **2019**, 15(10), 1206.]
2. Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Selenocysteine peptides performance in 5-*endo-dig* reactions. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 784–795.
[Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Site-selective modification of selenocysteine peptides. *Synfacts* **2020**, 16(05), 0606.]
3. Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Straightforward functionalization of sulfur-containing peptides via 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions. *Synthesis* **2021**, 53, 1805–1820.
4. Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Lapcinskis, L.; Arsenyan, P. Visible light-mediated functionalization of selenocysteine-containing peptides. *Adv. Synth. Cat.* **2021**, 363, 3318–3328.
5. Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Arsenyan, P. Visible light-mediated synthesis of Se–S bond- containing peptides. *Adv. Synth. Cat.* **2021**, 363, 3968–3972.
[Lapcinska, S.; Dimitrijevs, P.; Arsenyan, P. Visible light-mediated selenium–sulfur bond formation to afford selenium–sulfur bond-containing peptides. *Synfacts* **2021**, 17(11), 1289.]
6. Lapcinska, S.; Arsenyan, P. Selenocysteinyll electrophiles efficiently promote the formation of coumarin and quinolinone cores by 6-*endo-dig* cyclization. *New. J. Chem.* **2021**, 45, 16625–16634.

Scientific conferences

1. S. Lapcinska. Cysteinyl- and selenocysteinyll indoles and benzo[*b*]furanes. *University of Latvia 77th International Scientific Conference, Organic Chemistry section*, February 18, 2019, Riga (Latvia).
2. Peptide functionalization through the generation of selenocysteine electrophile. A. Ivanova, S. Lapcinska, P. Arsenyan. *14th International Conference on the Chemistry*

of Selenium and Tellurium (ICCST-14), June 3–7, 2019, Santa Margherita di Pula (Italy).

3. Formation of indole and benzofuran moieties attached to selenocysteine containing peptides. S. Lapcinska, P. Arsenyan. *14th International Conference on the Chemistry of Selenium and Tellurium (ICCST-14)*, June 3–7, 2019, Santa Margherita di Pula (Italy).
4. Performance of chalcogen-containing peptides in 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions. S. Lapcinska. *Paul Walden 11th Symposium on Organic Chemistry*, September 19–20, 2019, Riga (Latvia).
5. Visible light-mediated functionalization of selenocystine-containing peptides. S. Lapcinska, P. Arsenyan. *International Conference on Photochemistry – 30th edition (ICP2021)*, July 19–23, 2021, Geneva (Switzerland), online conference.
6. Photocatalytic macrocyclization of selenocystine-containing peptides. S. Lapcinska, P. Arsenyan. *International Symposium on Synthesis and Catalysis (IsySyCat2021)*, August 31 – September 3, 2021, Evora (Portugal), online conference.
7. Light-driven modifications of Cys and Sec containing peptides. S. Lapcinska. *Paul Walden 12th Symposium on Organic Chemistry*, October 28–29, 2021, Riga (Latvia), online conference.

MAIN RESULTS OF THE THESIS

1. Sulfenyl electrophile generation and subsequent use in 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions

Cysteine (Cys) is a very popular target for regioselective modification of proteins due to its low natural abundance (1–2 % in proteins). Probably, the most important Cys containing intracellular low-molecular weight peptide present in mammals is glutathione (GSH). GSH plays a critical role in many processes in the cells, including differentiation, proliferation and apoptosis. GSH protects the cells from damage caused by lipid peroxides, reactive oxygen and nitrogen species, and xenobiotics. Diminished levels of GSH and the GSH/glutathione disulfide (GSSG) ratio leads to an increased susceptibility to oxidative stress implicated in the progression of cancer, while elevated GSH levels leads to the resistance to oxidative stress. Notably, in the last few years thiol-containing peptides have been utilized in drug delivery of lipophilic drugs.

The current bioconjugation methods usually rely on the high nucleophilicity of Cys. Widely employed reactions of cysteine are: alkylation with haloalkyl reagents, arylation, and Michael addition reaction. A valuable modification of cysteine is stapling with different aryl linkers. Additionally, cysteine can be easily oxidized to its dimer – cystine. The disulfide bond in proteins is a prevalent approach for stabilization and protein folding. Obviously, the S–S bond formation in proteins depends on appropriate position of Cys residues.

The homolytic bond dissociation energy of the S–H bond in cysteine is low (86 kcal/mol), therefore the corresponding cysteinyl radical can be easily generated.¹⁹ During the last few years, methods for cysteine conjugation under irradiation conditions have been developed using photocatalysts.²⁰ Probably, the most well-known radical-mediated reaction of Cys is the thiol-ene/yne reaction.

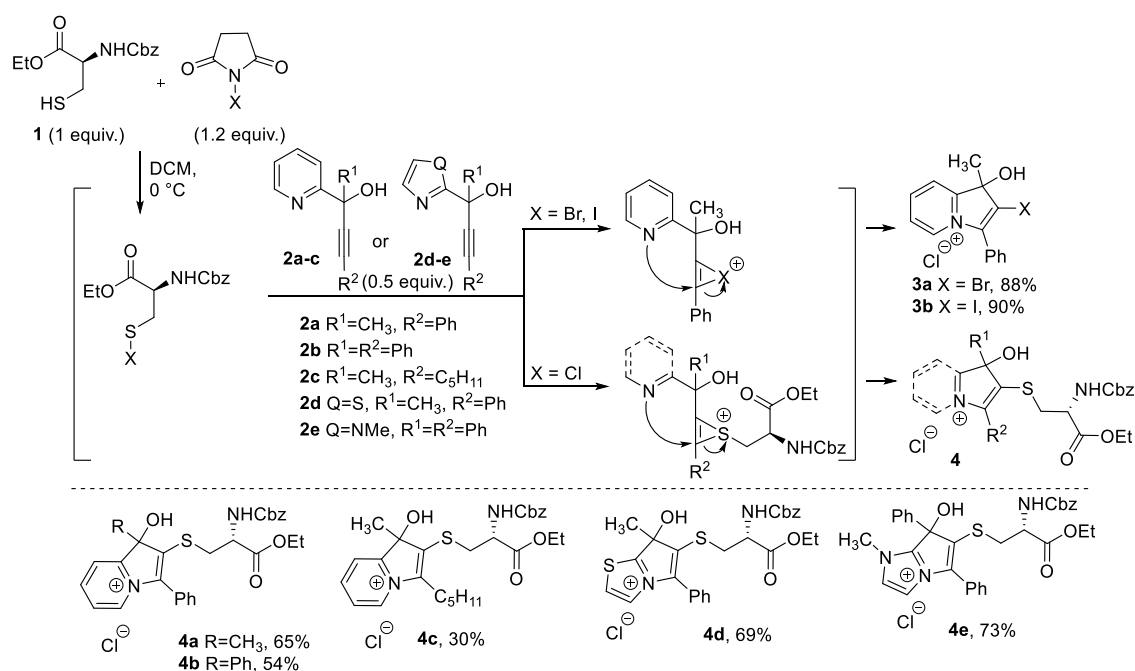
Another method for modification of cysteine is based on the formation of Dha peptide via desulfurization. Typically, the reaction is performed in the presence of phosphines.

Electrophilic center is located on the sulfur atom in compounds containing S–O, S–N or S–Cl bonds. Sulfenic acids are unstable but sulfenamides are usually synthesized from sulfenyl halides, thus the most common sulfenyl electrophiles are sulfenyl halides. These electrophilic species can be prepared from thiols or disulfides using halogens, SOCl₂, SO₂Cl₂ or *N*-halosuccinimides. The ability of Cys to bind with Lewis acids can result in efficient modifications. For example, Lewis acids such as FeCl₃, CuBr₂ and AlCl₃ have been used to induce electrophile formation from thiols or disulfides. Furthermore, phenyl iododiacetate induces the formation of electrophilic sulfur species in the presence of KI. Notably, pre-made *N*-thioalkyl or aryl phthalimides or *N*-thiosuccinimides can serve as efficient electrophiles as well.

The current use of reaction of Cys-derivatives and *N*-halosuccinimides is limited to the preparation of disulfides. Nevertheless, we envisioned to prepare the electrophilic sulfenyl species *in situ* using *N*-halosuccinimides. The optimal reaction conditions were found

investigating reaction of *N*-Cbz-Cys-OEt (**1**) and 4-phenyl-2-(pyridin-2-yl)but-3-yn-2-ol (**2a**). The examination of the reaction mixtures revealed that the employment of *N*-bromosuccinimide (NBS) and *N*-iodosuccinimide (NIS) led to the formation of the corresponding halo-indolizinium salts **3a** and **3b** in high yields (88 and 90 %, respectively) in short reaction time (1 h). However, *N*-chlorosuccinimide (NCS) proved to be the reagent of choice – utilization of NCS resulted in the synthesis of the desired Cys-containing indolizinium salt **4a** (65 % yield) as a mixture of diastereomers (1:1) (Scheme 1). NCS was not able to induce *5-endo-dig* cyclization of **2a**, while the reactions with NBS and NIS led to unselective formation of **3a** and **3b** in 3 days. The results suggested that the electrophilic centre in cysteinyl chloride is the sulfur atom, whereas the electrophilic centres in cysteinyl bromide and iodide are halogen atoms due to smaller difference in relative electronegativity (REN S = 2.58, Cl = 3.16, Br = 2.96, I = 2.66).

The substrate scope showed that not only propargyl pyridines **2a-c** were suitable substrates for the cyclization reaction, but also propargyl thiazole **2d** and *N*-methylimidazole **2e** effectively trapped the *in situ* prepared cysteinyl chloride and provided indolizinium type systems **4d, e** in even better yields (69–73 %).

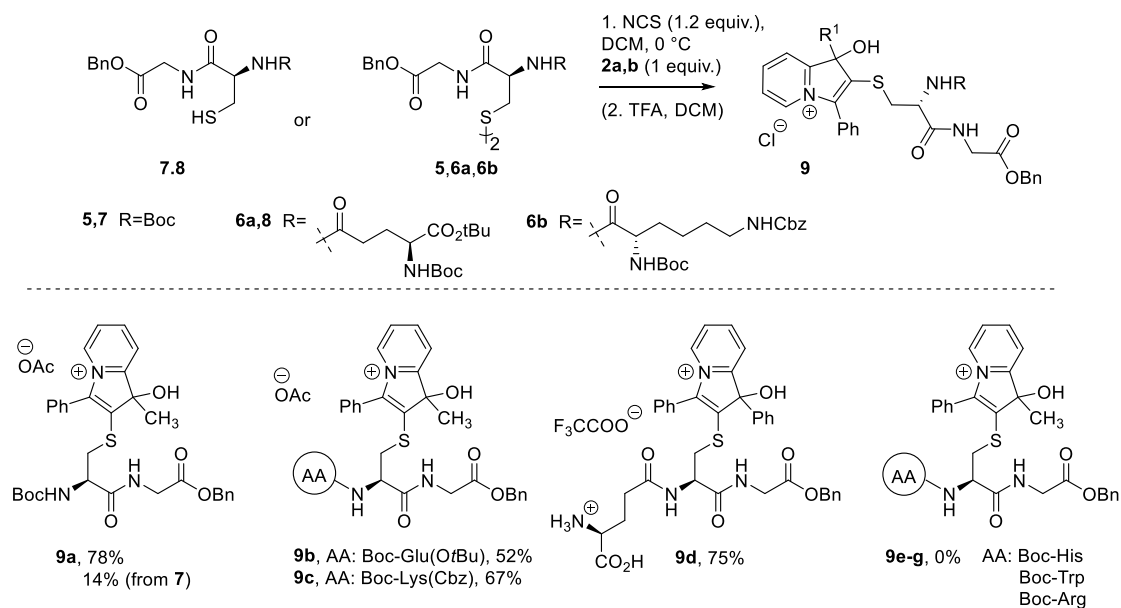


Scheme 1. Synthesis of indolizinium type salts.

All products were purified by reverse phase chromatography (MeCN/H₂O, pH = 4, hydrochloric acid).

Previously used conditions were not appropriate for the synthesis of **9a** (Scheme 2). Although the product was detected, various impurities were formed as well. Solvent change to acetonitrile yielded the desired product in 14 % yield. Nevertheless, we found out that S–S bond containing substrated can also be used for the generation of sulfenyl electrophile and subsequent *5-endo-dig* cyclization. Employment of (Boc-Cys-Gly-OBn)₂ (**5**) and (Boc-Glu(OtBu)-Cys-Gly-OBn)₂ (**6a**) provided the corresponding indolizinium salts **9a-c** in moderate to good yields.

The substrate scope showed that peptides with ‘sensitive’ amino acids (His, Trp, Arg) were not suitable for the reaction.



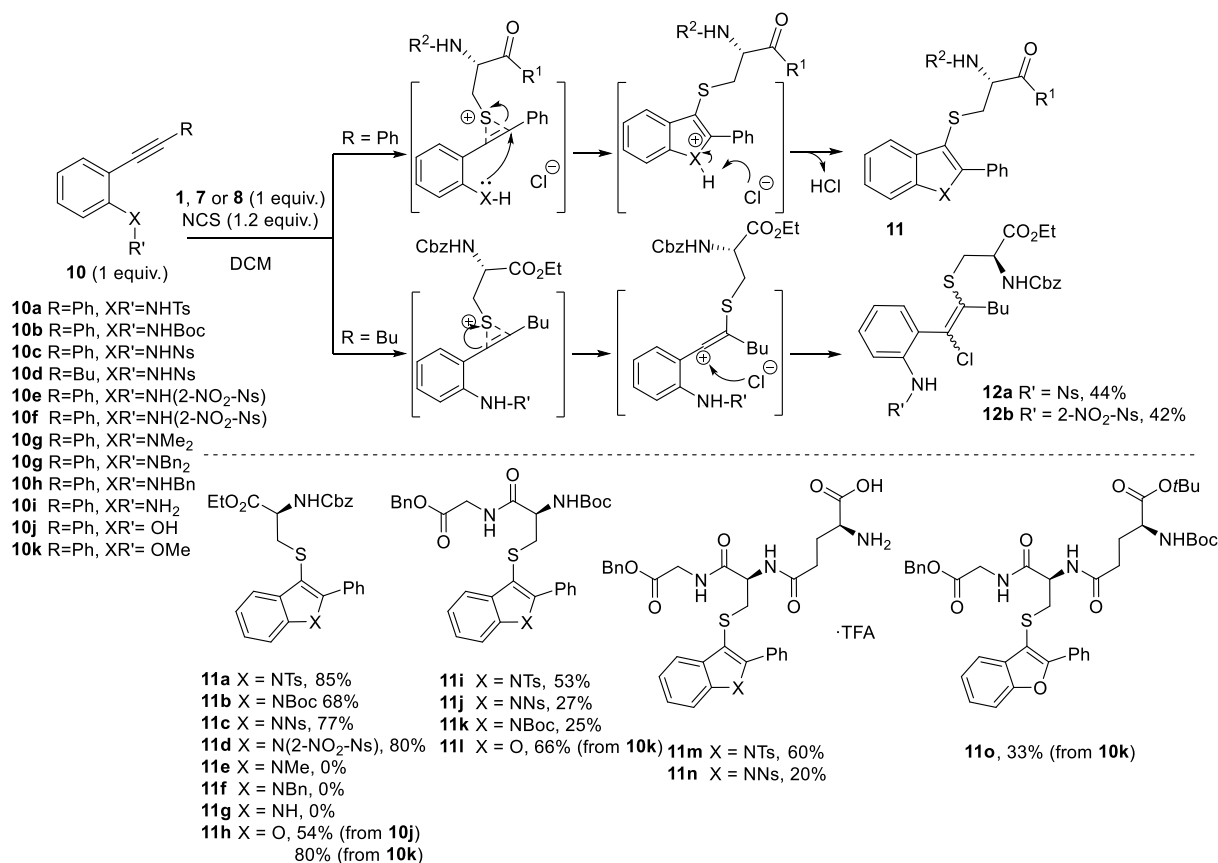
Scheme 2. Synthesis of Cys-peptide containing indolizinium salts.

All products were purified by reverse phase chromatography

(**9a-c**: MeCN/H₂O, pH = 4, acetic acid; **9d**: MeCN/H₂O, pH = 4, trifluoroacetic acid).

Many natural products and a significant number of marketed drugs contain indole and benzo[*b*]furan moieties.^{21,22} Furthermore, both of these heterocycles are considered as ‘privileged structures’.²³ Thus, we decided to apply the same reaction conditions for 5-*endo-dig* cyclization that would result in the formation of indole and benzo[*b*]furan rings.

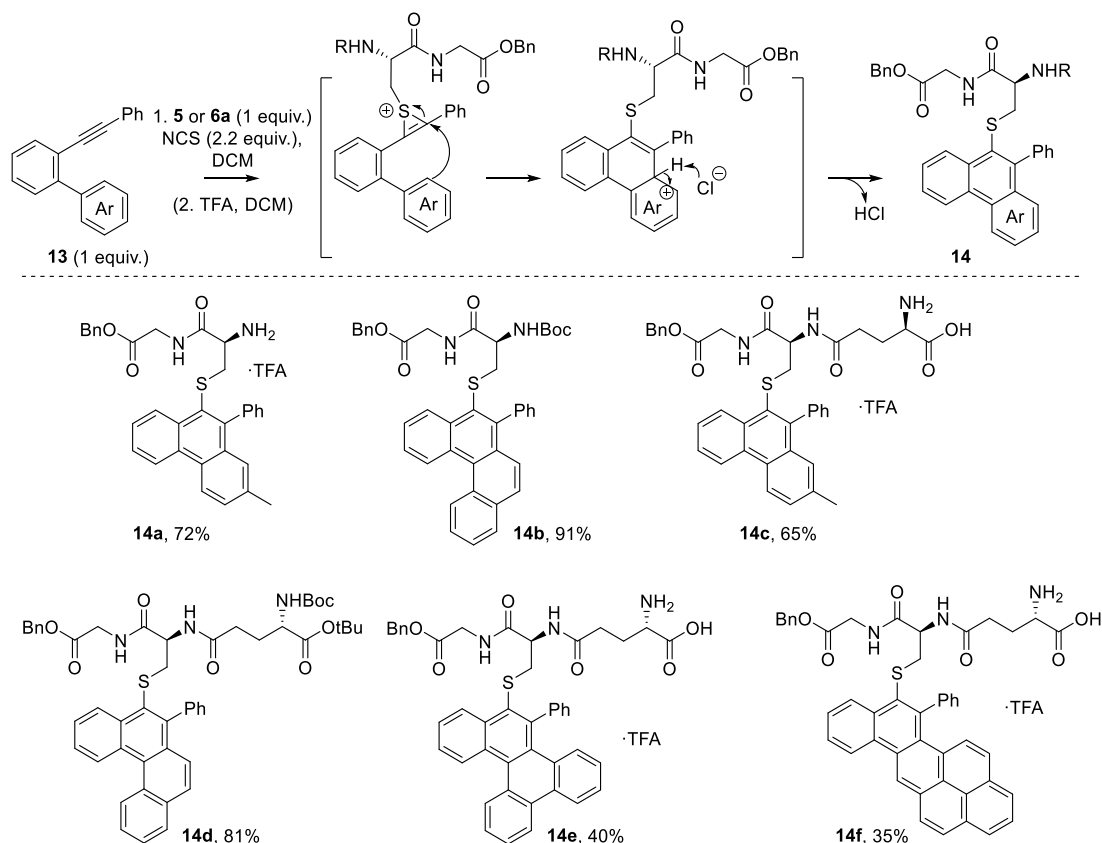
Reaction of **1** with 2-(phenylethynyl)anilines in the presence of NCS provided 3-Cys-indoles **11a-d** in high yields (Scheme 3). Neither dimethyl and dibenzylamino, nor unprotected (phenylethynyl)aniline were found as suitable substrates. Similarly, 3-Cys benzo[*b*]furan **11h** was easily prepared using 2-(phenylethynyl)phenol **10j**. Notably, reaction yield was significantly improved employing 2-(phenylethynyl)anisole **10k**. The use of peptides Boc-Cys-Gly-OBn (**7**) and Boc-Glu(OtBu)-Cys-Gly-OBn (**8**) yielded the desired indoles as well; however, the reaction yield was inconsequential (20–66 %). S–S bond containing peptides were not suitable for the preparation of **11**. Unfortunately, 2-hexynylanilines under the same reaction conditions provided only triple bond addition products **12a-b** due to formation of aryl group stabilized vinyl cation that prevents 5-*endo-dig* cyclization.



Scheme 3. Synthesis of Cys-indoles and benzo[*b*]furans.

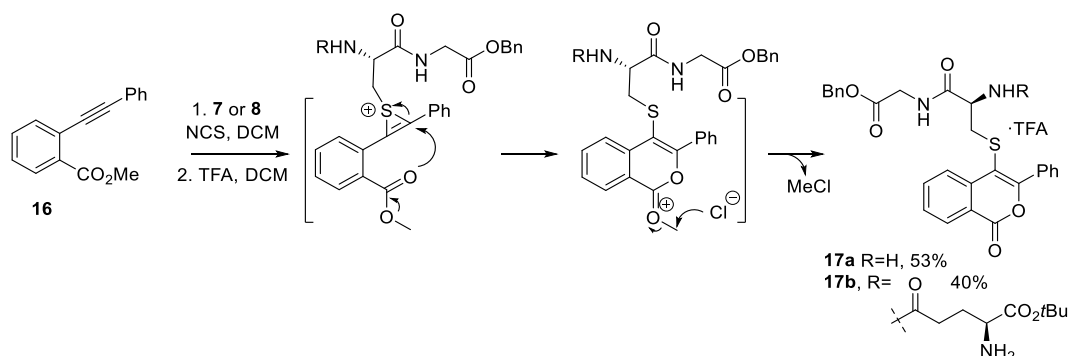
Next, we checked the possibility to generate sulfenyl electrophile and perform 6-*endo-dig* cyclization with 2-(phenylethynyl)biaryls. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are perspective compounds employed not only as starting materials in organic synthesis but also as fluorescent markers in bioimaging.

The reaction between **5** and alkyne **13a** in the presence of NCS provided 6-*endo-dig* cyclization product **14a** in 72 % yield (Scheme 4). We preferred to use the S–S (not S–H) bond containing substrate due to improved yields and diminished formation of side products. Triple bond coordinates with electrophilic sulfur atom forming thiarenium cycle, which is attacked by the closest aromatic ring producing 6-member cycle. Aromaticity is restored after deprotonation with chloride anion, providing the final product. Furthermore, benzo[*c*]phenantrene, benzo[*g*]chrysene and benzo[*pqr*]picene systems were easily constructed applying our methodology. The isolated yields were variable due to difficulties in purification process.



Scheme 4. Synthesis of Cys-peptide containing PAHs.

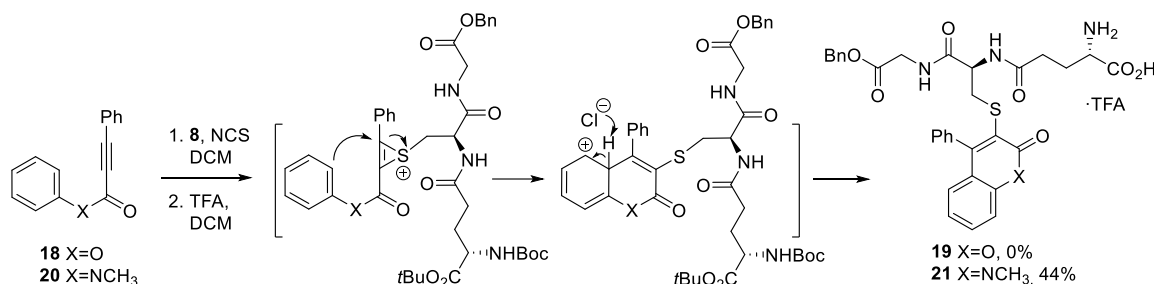
Next, evaluation of the use of NCS method was applied for synthesis of isocoumarins with glutathione moiety. Isocoumarin scaffold is present in many biologically active natural products.²⁴ Notably, compounds containing isocoumarin moiety exhibit antimicrobial, antifungal, cytotoxic, anti-inflammatory activities. The products were obtained in moderate yields employing peptides **7** and **8** (Scheme 5), whereas peptides with S–S bond (**5** and **6**) were not able to provide the products.



Scheme 5. Synthesis of Cys containing isocoumarins.

Then we moved on to another 6-*endo-dig* cyclization with the aim to prepare coumarins and quinolinones. Unfortunately, attempts to prepare coumarins failed. However, the reaction of glutathione **8** with NCS and aryl propiolamide **20** resulted in preparation of 1-methyl-3-

sulfenylquinolinone **21** (Scheme 6). Noteworthy, quinolinones are the core structure of many drugs, including some of the most widely used antibiotics (ciprofloxacin, levofloxacin).²⁵



Scheme 6. Synthesis of Cys containing quinolinone.

The article about the studies described in this chapter can be found in Appendix III.

2. Selenyl electrophile generation and subsequent use in 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions

Contrary to thiols, the selenols are more prone to oxidation by air, thus they usually exist as diselenides under ambient conditions. The selenols are even more nucleophilic than thiols and can be prepared *in situ* by reducing agents (for example, NaBH₄). The diselenides are very important versatile compounds and can be used not only as a source of selenium nucleophile, but selenyl electrophile and radical species as well. Typical selenyl electrophiles are selenyl halides RSeX (X = Br, Cl, I) that can be easily obtained by the reaction of diselenides with halogens or SO₂Cl₂. Recently, the *in situ* preparation of phenylselenenyl fluoride was reported using Selectfluor.²⁶ Furthermore, phenylselenenyl chloride and phenylselenenyl bromide are commercially available.

Obviously, the nucleophilicity of the halide can lead to undesired side reactions, thus synthetic protocols employing halide-free selenyl electrophiles are preferred. Selenyl halides react with various silver salts providing selenyl triflate, tosylate, acetate, hexafluorophosphate via exchange reaction. From the above-mentioned substrates, the selenyl triflate is the most commonly employed.

Alternatively, the selenyl electrophile can be obtained by the oxidation of the diselenide. For example, persulfate salts are known to induce the formation of strongly electrophilic selenyl sulfate.²⁷ In the last few years oxone has been frequently used for generation of selenyl electrophile, which further is trapped by triple bond-containing substrates, and the resulting cyclization yields selenylated heterocycles (indoles, pyrazoles). The reaction of oxone with diphenyl diselenide provides a mixture of phenyl selenenic acid and phenyl selenenyl sulfate.²⁸ Other reagents, e.g. hypervalent iodine compounds, *m*-CPBA, Ce(NH₄)₂(NO₃)₆, KNO₃, DDQ, are known to produce selenyl electrophile as well. Furthermore, the reaction of diphenyl diselenide with 1,4-dicyanonaphthalene leads to the formation of electrophilic species through single electron transfer mechanism. Additionally, the formation of selenyl electrophile can be

induced by reaction of diselenide with Lewis acids, for example, iron(III), copper(I) and copper(II) salts have been frequently employed.

The oxidation of selenols or diselenides can also lead to formation of Se–O bond-containing intermediates: selenenic acid (RSeOH), seleninic acid (RSeO₂H) or selenonic acid (RSeO₃H). Selenenic acids are very reactive intermediates, only aryl selenenic acids have been detected. Notably, selenenic acid with bulky aryl groups have been isolated and characterized. Seleninic and selenonic acids are more stable and are useful for oxidation of organic compounds. Seleninic acids have been used for preparation of Se–S bond-containing compounds,²⁹ benzeneseleninic acid³⁰ has been used for selenylation of indoles and anilines.

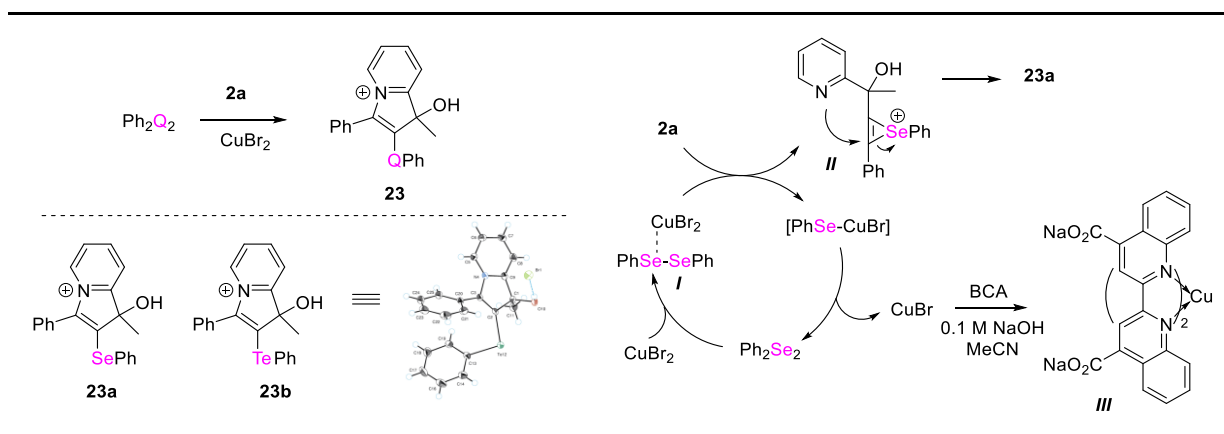
Only few methods exist for modification of selenocystine-containing peptides in the literature. An efficient method has been reported for conjugation of Sec-peptides and small molecules based on the electrophilic character of (5-nitropyridylthio)-Sec peptides.³¹ These substrates were also shown to react with nucleophilic aryl boronic acids providing arylated Sec peptides.³² Other more common modifications of selenocystine-containing peptides with loss of selenium have also been demonstrated: deselenylation to alanine peptides by reducing agents³³ or oxidant-induced³⁴ formation of dehydroalanine derivatives.

In order to find a suitable promoter for selenyl electrophile generation, the reaction between Ph₂Se₂ (**21**) and **2a** was examined in the presence of several Lewis acids (FeCl₃, FeBr₂, FeBr₃, CoCl₂, NiCl₂, CuCl₂, CuBr₂, Cu(OAc)₂, RuCl₃, In(OTf)₃, Bi(OTf)₃) (Scheme 6).

Copper(II) bromide showed the best results (Table 1, entries 1–3). Importantly, all tested solvents provided acceptable yield, but DCM, MeCN and EtOH enabled excellent yield (Table 1, entries 5, 7–10). Significantly, an equimolar amount of CuBr₂ was required for maximizing the yield of the reaction. The reaction performed in an absence of diphenyl diselenide, yielded 2-bromoindolizinium bromide (Table 1, entry 11). The method was also suitable for tellanyl electrophile generation (Table 1, entries 15–16) but not for sulfenyl electrophile generation due to relatively low copper-philicity of sulfur; the main product of the reaction was 2-bromoindolizinium bromide (Table 1, entries 13–14).

To understand the product of interaction between CuBr₂ and Ph₂Se₂, ⁷⁷Se NMR spectra of a mixture of an equimolar amount of Ph₂Se₂ and CuBr₂ was acquired and compared to a spectrum of Ph₂Se₂. Overlay of these spectra is shown in Fig. 1A. A single signal at 450 ppm was observed in the Ph₂Se₂·CuBr₂ spectrum, meaning that the reaction was complete and the chemical shift was similar to that of Ph₂Se₂ (462 ppm). Thus, we concluded that neither Se–Br, nor Se–Cu species were formed but the reaction of Ph₂Se₂ with CuBr₂ produces coordinated adduct. This statement is also based on the fact that Se–Cu bond-containing compound Cu(SePh)₂·2-Phenanthroline has upfield-shifted signal (274 ppm); while PhSeBr signal is strongly downfield (867 ppm). Theoretically two signals in selenium spectra should be seen, however, due to dynamic nature of the intermediate, these signals were merged, and the signal is broad due to paramagnetic properties of copper.

Table 1

Optimization of reaction conditions for the preparation of **23a** and **23b**

Entry	22	Solvent	Stoichiometry, 22 : CuBr ₂ : 2a	Time, h	Yield, %
1	Ph ₂ Se ₂ ^[a]	DCM	2 : 2 : 1	4	– ^[c]
2	Ph ₂ Se ₂ ^[b]	DCM	2 : 2 : 1	4	– ^[c]
3	Ph ₂ Se ₂	DCM	2 : 2 : 1	4	86
4	Ph ₂ Se ₂	DCM	2 : 0.5 : 1	4	47
5	Ph ₂ Se ₂	DCM	1.2 : 1.2 : 1	4	94
6	Ph ₂ Se ₂	DCM	0.6 : 1.2 : 1	4	62
7	Ph ₂ Se ₂	DMSO	1.2 : 1.2 : 1	24	70 ^[e]
8	Ph ₂ Se ₂	EtOAc	1.2 : 1.2 : 1	24	62 ^[e]
9	Ph ₂ Se ₂	MeCN	1.2 : 1.2 : 1	0.5	90
10	Ph ₂ Se ₂	EtOH	1.2 : 1.2 : 1	12	96
11	–	DCM	0 : 2 : 1	72	86 ^[d]
12	Ph ₂ Se ₂	MeCN	1.2 : 1.2 : 1	1	32+58 ^[f]
13	Ph ₂ S ₂	DCM	1.2 : 1.2 : 1	24	78 ^[d]
14	Ph ₂ S ₂	MeCN	1.2 : 1.2 : 1	24	87 ^[d]
15	Ph ₂ Te ₂	DCM	1.2 : 1.2 : 1	0.25	94
16	Ph ₂ Te ₂	MeCN	1.2 : 1.2 : 1	4	76

[a] MX_n – FeCl₃; [b] MX_n – FeBr₃; [c] Mixture of products; [d] 2-bromoindolizinium bromide was formed; [e] Reaction was not completed; [f] CuBr₂ was added to **2a** first, and after 20 min Ph₂Se₂ was added. The formation of 2-bromoindolizinium bromide (32 %) and **23a** (58 %) was observed.

Based on the experimental results above, a plausible reaction mechanism is proposed. Firstly, the reaction of diphenyl diselenide with copper(II) bromide leads to the formation of coordinated Ph₂Se₂·CuBr₂ adduct **I**. Then, adduct **I** generates selenium electrophile which coordinates to the triple bond of substrate **2a** forming selenirenium cation **II**. Then, nitrogen's lone pair attacks the double bond, forming the five-membered cycle with positively charged nitrogen. As a co-product of this reaction PhSeCuBr intermediate that decomposes regenerating diphenyl diselenide and producing copper(I) bromide.

The formation of CuBr in the reaction mixture was confirmed in the experiment with bicinchoninic acid (BCA), which chelates with Cu(I) ion but not with Cu(II) ion, giving deep purple-colored complex **III** (absorbance maximum at 562 nm). The absorbance measurements (Fig. 1 B) of three samples were taken: the reaction mixture plus BCA, CuI plus BCA, and CuBr₂ plus BCA. The absorption values for the reaction mixture plus BCA and CuI plus BCA were similar (absorption 1.1503 at 560 nm and 1.4749 at 560 nm, respectively) due to formation of complex **III**. Therefore, the use of equimolar amount of CuBr₂ is justified – it is consumed and forms copper(I) bromide that cannot induce the formation of selenyl electrophile. The last statement was also confirmed by the control tests using CuBr or CuI instead of CuBr₂.

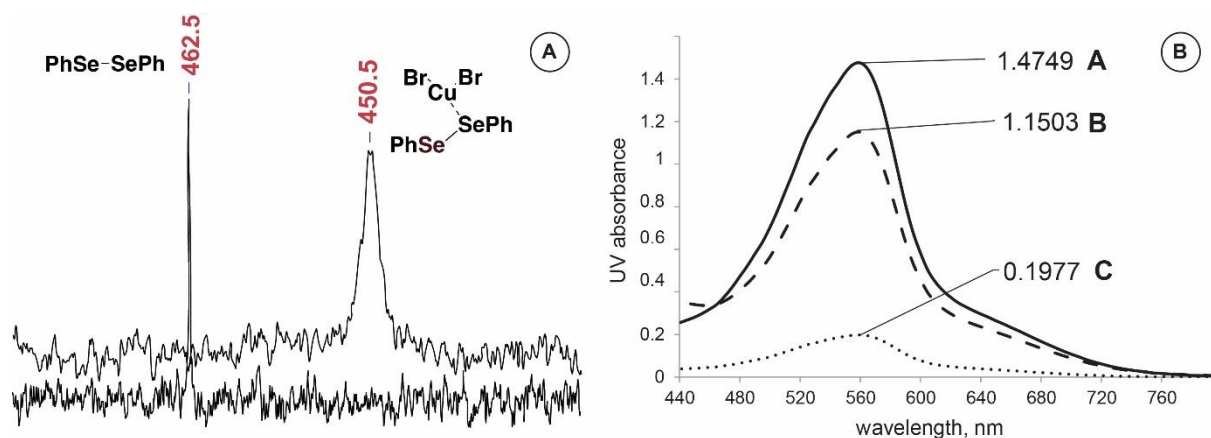
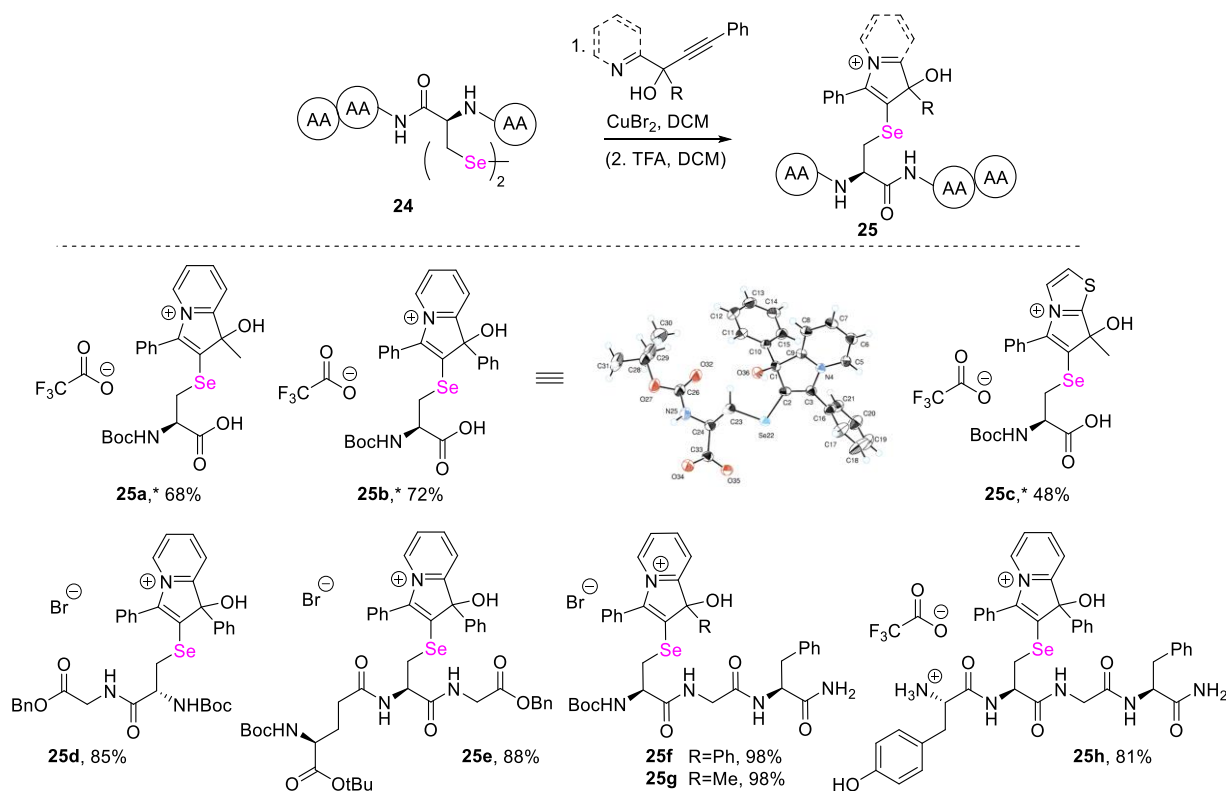


Fig. 1. A – overlay of ⁷⁷Se NMR spectra of Ph₂Se₂·CuBr₂ and Ph₂Se₂. B – UV absorbance spectrum: A – CuI + BCA; B – the reaction mixture + BCA; C – CuBr₂ + BCA.

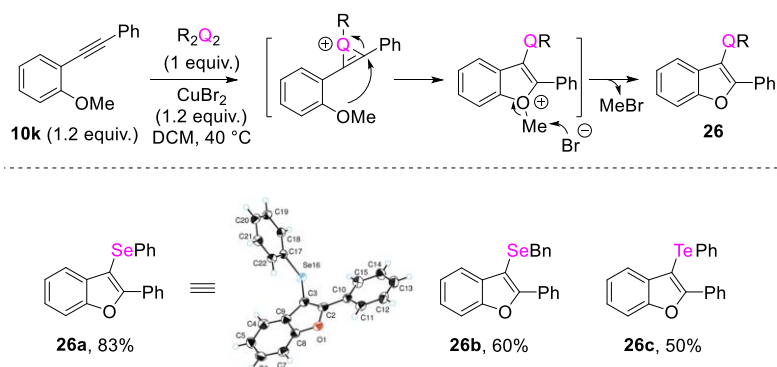
Next, we tested whether Boc-protected selenocystine **24a** is compatible with the developed conditions. The reaction between Boc-Sec and **2a, b, d** in the presence of copper(II) bromide provided corresponding indolizinium **25a, b** and pyrrolothiazolium **25c** salts in good yields as a mixture of diastereomers that were separated by HPLC (Scheme 7). We obtained single crystals of (*1R,S*)-**25b** as zwitterionic salt, unambiguously confirming the structure. Next, we extended *5-endo-dig* reaction to selenocystine-containing peptides. Gratifyingly, all tested selenocystine-containing peptides readily reacted with **2b** in the presence of copper(II) bromide forming indolizinium salts **25d–h** in high yields.



Scheme 7. Synthesis of Sec-indolizinium salts.

24a (Boc-Sec)₂; **24b** (Boc-Sec-Gly-OBn)₂; **24c** (Boc-Glu(OtBu)-Sec-Gly-OBn)₂; **24d** (Boc-Sec-Gly-Phe-NH₂)₂; **24e** (Boc-Tyr-Sec-Gly-Phe-NH₂)₂. All products were purified by reverse phase chromatography (**25a–c** MeCN/H₂O, pH = 4, trifluoroacetic acid).

Another successful *5-endo-dig* cyclization was performed utilizing Ph₂Se₂ and 2-(phenylethynyl)anisole (**10k**). The elaborated reaction conditions were suitable for this cyclization reaction, except elevated temperature (40 °C) was required for full consumption of starting materials in 16 h. Thus the 3-selanylbenzo[*b*]furan **26a** was obtained in 83 % yield and the structure was unambiguously confirmed by X-ray analysis (Scheme 8). Analogously, 3-chalcogenyl benzo[*b*]furans **26b** and **26c** were synthesized with similar or better yield than described in literature by FeCl₃ promoted cyclization of 2-phenylethynyl anisole (**26b** 64 %, **26c** 36 %).⁶



Scheme 8. 3-Selanyl and 3-tellanyl benzo[*b*]furans formation.

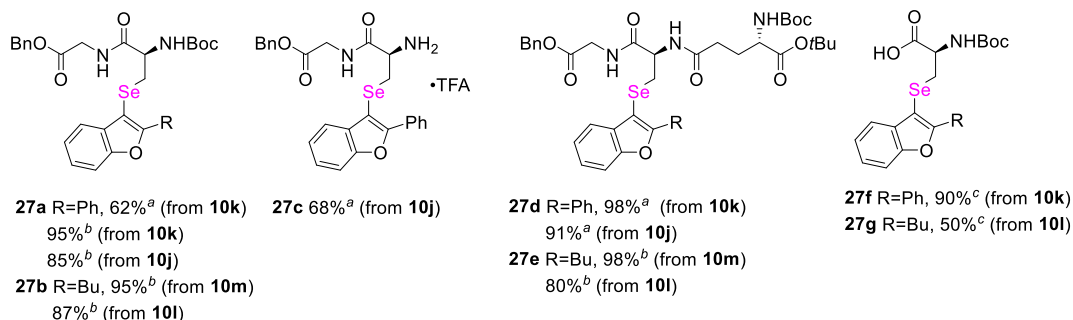
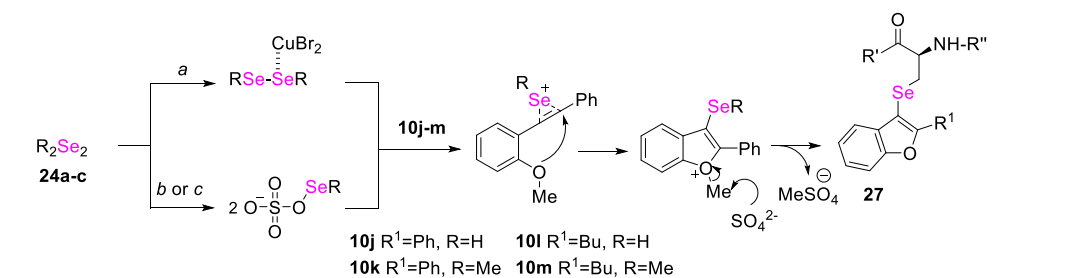
The reaction between peptides **24b**, **c** and anisole in the presence of CuBr₂ resulted in preparation of Sec-containing benzo[*b*]furans **27a** and **27d** (Scheme 9). Notably, another Lewis base – FeCl₃ – failed to initiate the formation of products **27**. Similarly, 2-(phenylethynyl)phenol (**10j**) provided the same products. Unfortunately, CuBr₂-induced selenyl electrophile generation was not suitable for preparation of 2-alkyl-3-selanylbenzo[*b*]furans. A complex mixture was formed utilizing **10l** probably due to the formation of aryl group stabilized vinyl cation that prevents 5-*endo-dig* cyclization. Accordingly, a different method was required for selenyl electrophile generation and subsequent 5-*endo-dig* cyclization.

A suitable promoter was found among oxidants. The formation of strongly electrophilic organoselenyl sulfate is known as a resulting interaction between diselenides and persulfates. Although the reaction between **24b** and **10l** in the presence of 5 equiv. of K₂S₂O₈ was slow (3 days were required for full conversion of the starting materials), more importantly, it was selective and provided the desired benzo[*b*]furan in high yield. Other tested oxidants were less efficient (ammonium persulfate, potassium iodate) or provided unselective reaction (oxone, *meta*-chloroperoxybenzoic acid, sodium periodate, cerium ammonium nitrate, (diacetoxyiodo)benzene) due to fast oxidation and deselenylation.

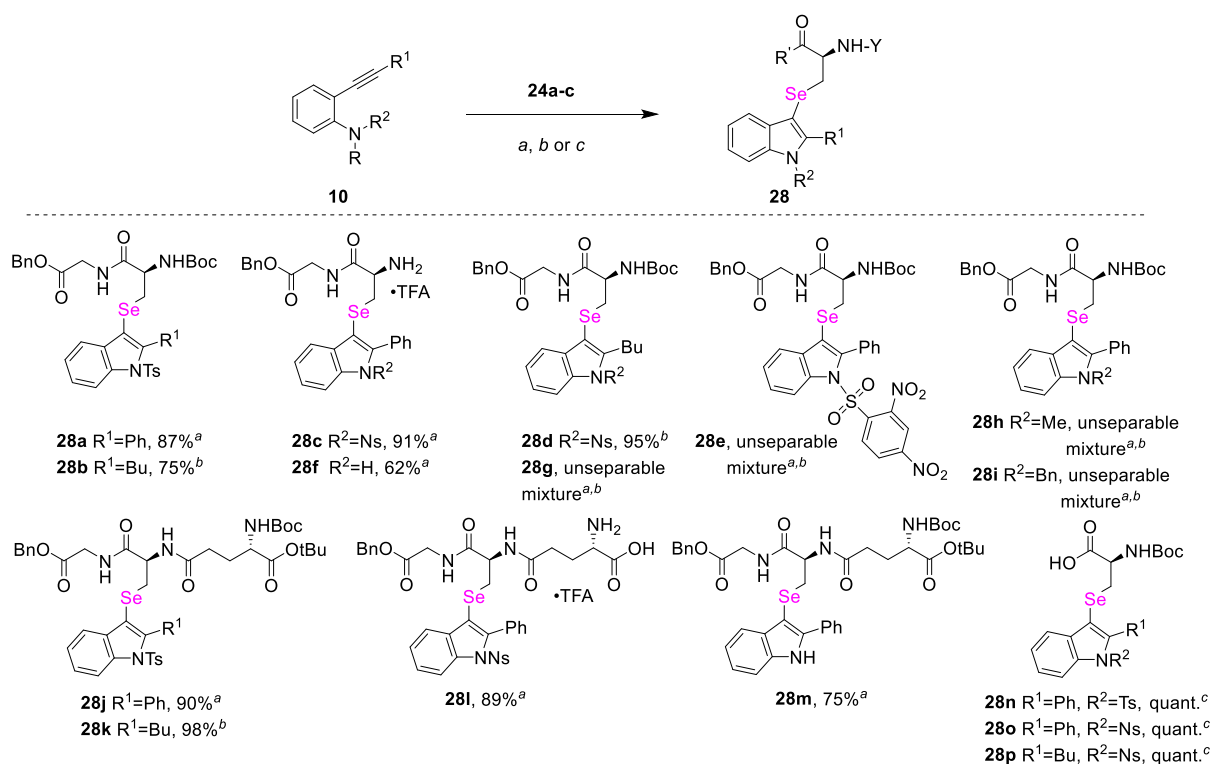
Notably, the yield of **27c** was improved employing 2-(hex-1-yn-1-yl)anisole (**10m**). It should be noted that K₂S₂O₈-induced selenium electrophile generation and subsequent cyclization provided **27a** in high yield as well. Furthermore, the yield was higher than in the case of CuBr₂-promoted cyclization.

The reaction between (Boc-Sec)₂ and **10k** in the presence of CuBr₂ or K₂S₂O₈ (5 equiv.) provided only traces of the respective benzo[*b*]furan. However, utilization of 50 equiv. of K₂S₂O₈ resulted in high yielding preparation of **27f** in 16 h without damaging starting materials. Due to the low solubility of K₂S₂O₈ in acetonitrile, only a small amount of oxidant is actually present in the reaction mixture. Therefore, it is completely acceptable to utilize a considerable excess of this cheap inorganic reagent.

Analogously, CuBr₂-induced selenyl electrophile generation and following 5-*endo-dig* cyclization was applied for the synthesis of 2-aryl-3-selanylindoles, while K₂S₂O₈-promoted selenyl electrophile generation was employed for synthesis of 2-alkyl-3-selanylindoles as well as for the preparation of Boc-Sec-indoles (Scheme 10). Substrate scope showed that Ts, Ns and Boc protecting groups were well tolerated, but 2,4-dinitrobenzenesulfonyl protection, *N,N*-dimethyl-, *N,N*-dibenzyl, *N*-benzyl- 2-(phenylethynyl)anilines and unprotected 2-(phenylethynyl)aniline were not suitable substrates.



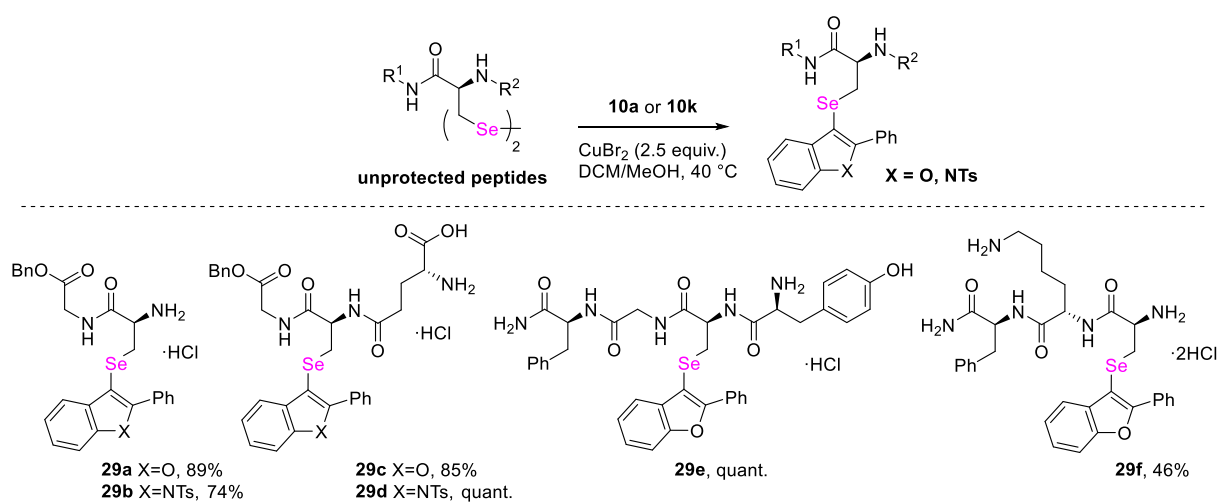
Scheme 9. 3-selanyl benzo[*b*]furan formation: scope and limitation studies. *Reaction conditions:* *a* – 1. CuBr₂ (1.5 equiv.), DCM, 40 °C; (2. TFA, DCM, 0 °C); *b* – K₂S₂O₈ (5 equiv.), MeCN, rt; *c* – K₂S₂O₈ (50 equiv.), MeCN, rt.



Scheme 10. Synthesis of 3-selanylindoles: scope and limitation studies. *Reaction conditions:* *a* – 1. CuBr₂ (1.5 equiv.), DCM, 40 °C; (2. TFA, DCM, 0 °C); *b* – K₂S₂O₈ (5 equiv.), MeCN, rt; *c* – K₂S₂O₈ (50 equiv.), MeCN, rt. **10n** R¹Bu, R²=Ts, R=H; **10o** R¹=Bu, R²=Boc, R=H

Unfortunately, both above-mentioned methods failed to promote the generation of selenenyl electrophile from **8** with consequent formation of glutathione containing benzo[*b*]furans and indoles.

Significantly, CuBr₂-induced Sec electrophile generation was applicable to unprotected peptides as well, employing tosyl-aniline **10a** and anisole **10k** as the traps for the electrophile. This finding greatly improves the application scope for the method and allows the use of more sophisticated peptides. The reaction proceeded smoothly due to inability of protonated amino groups to form a complex with CuBr₂. Notably, the tested selenocystine-containing peptides showed excellent reactivity and the products were prepared with excellent yields (Scheme 11).



Scheme 11. Preparation of benzo[*b*]furans and indoles employing unprotected peptides.

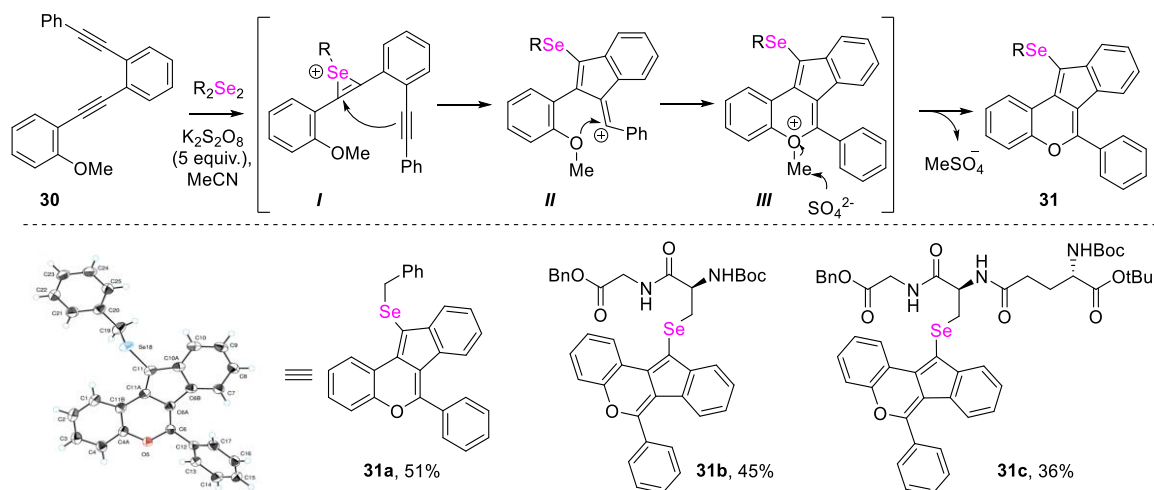
Products were purified by reverse phase chromatography (MeCN/H₂O, pH=4, hydrochloric acid).

The next challenge was to determine whether selenenyl electrophile can be employed in the cascade reaction. We decided to use anisole-containing aryldiyne **30** that would provide indeno[1,2-*c*]chromene skeleton as a consequence of successful and sequential 5- and 6-*endo-dig* cyclization reactions. Chromene moiety is often found in biologically active natural products, furthermore, compounds containing indeno[1,2-*c*]chromene core show high potential for use in dye-sensitized photovoltaic cells. Notably, only few methods exist for the construction of indeno[1,2-*c*]chromene moiety. Previously, TfOH mediated cascade reaction of anisole **30** has been performed for the synthesis of 6-phenylindeno[1,2-*c*]chromene,³⁵ while halogen-mediated cascade reaction has been reported by Chen *et al.* for the synthesis of halogenated 6-phenylindeno[1,2-*c*]chromenes.³⁶

Initially, we tested the reaction of Ph₂Se₂ with **30** in the presence of CuBr₂. However, only 11-bromo-6-phenylindeno[1,2-*c*]chromene was detected in the reaction mixture. Potassium persulfate induced electrophile generation did not lead to the desired product as well.

Next, we decided to test Bn₂Se₂. While the use of CuBr₂ resulted in formation of 11-bromo-6-phenylindeno[1,2-*c*]chromene, K₂S₂O₈ was capable to generate selenenyl electrophile from Bn₂Se₂ that further was trapped with the more electron rich triple bond forming selenirenium cation **I**. Next, the attack of the other triple bond to the selenirenium cation resulted in the

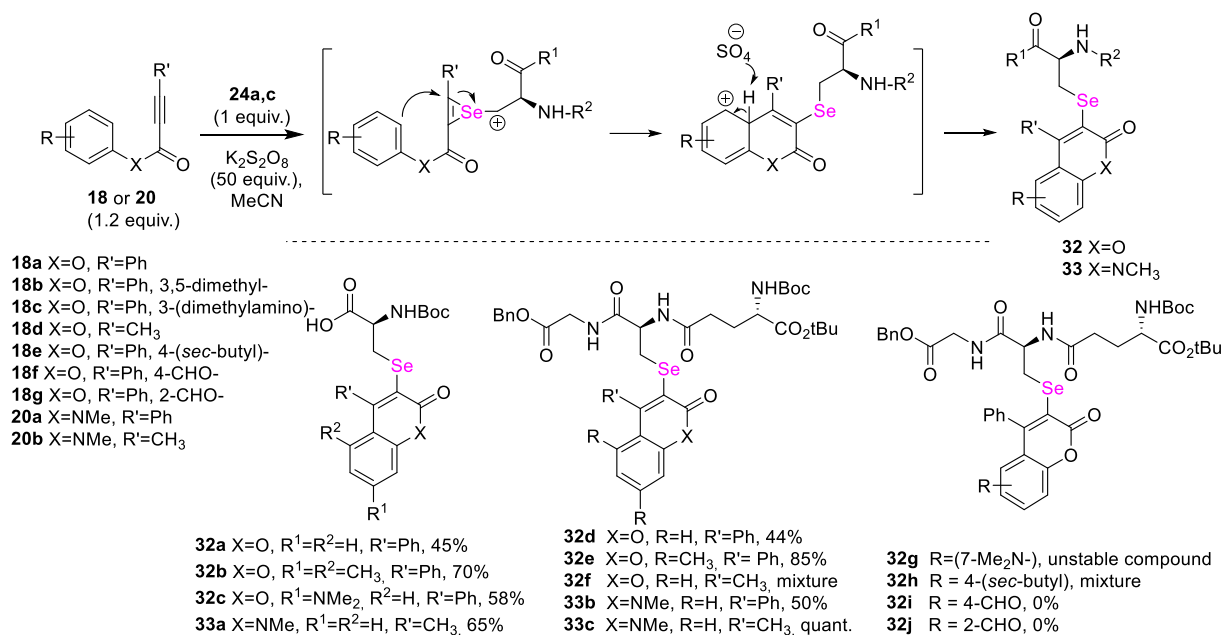
closure of indene cycle (intermediate **II**). Following attack from the methoxy group to the carbocation provided cyclization intermediate **III** that after demethylation gave the product 11-(benzylselenanyl)-6-phenylindeno[1,2-*c*]chromene **31a** (Scheme 12). The structure of **31a** was unambiguously confirmed by X-ray analysis. Then, 6-phenylindeno[1,2-*c*]chromenes attached to Sec-peptides were also prepared, unfortunately, the yields were only moderate due to complicated purification process.



Scheme 12. Plausible mechanism for cascade 5-endo/6-endo-dig cyclization.

Next, we moved on to see whether we can apply CuBr_2 or $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ method for selenyl electrophile generation and subsequent 6-endo-dig cyclization. Reaction between (Boc-Sec)₂ and phenyl 3-phenylpropionate in the presence of $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ provided respective Boc-Sec-containing coumarin **32a** (Scheme 13). The examination of substrate scope revealed that the presence of EDG in the 3rd or 3rd and 5th positions of aryl ring promoted the reaction, whereas introduction of EWG diminished the reactivity. Protected selenogluthatione was also a suitable substrate for cyclization reaction. However, we were not able to isolate the selenogluthatione-containing 7-aminocoumarin due to instability of the product.

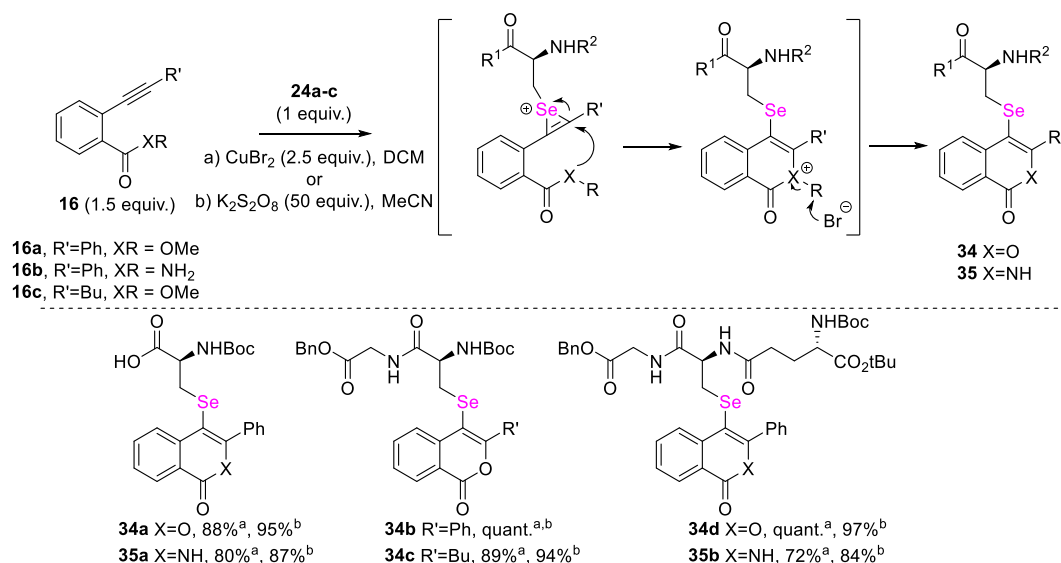
Under the same conditions the analogous nitrogen heterocycles – quinolin-2-ones **33a-c** were prepared in good yields.



Scheme 13. Synthesis of 3-Sec-coumarins and quinolin-2-ones.

Notably, another 6-*endo-dig* cyclization that provided Sec-containing isocoumarins and isoquinolin-2-ones (Scheme 14) was easily performed utilizing either $K_2S_2O_8$ or $CuBr_2$ -induced selenyl electrophile generation. The product formation occurred in excellent yields under both conditions, although it should be pointed out that the reaction time for full conversion of starting materials was 2 h for $CuBr_2$ -induced selenyl electrophile generation and 24 h for $K_2S_2O_8$.

The first step for isocoumarin and coumarin formation is the generation of selenyl electrophile, which is then trapped by the triple bond providing selenirenium ion. Unlike the coumarin ring formation that relies on electrophilic aromatic substitution, the isocoumarin ring is closed by the attack of the nucleophilic heteroatom to the selenirenium atom. Therefore, the reaction occurs more easily.



Scheme 14. Synthesis of 4-Sec-isocoumarins and isoquinolin-2-ones.

The articles about the studies described in this chapter can be found in Appendices I, II, VI.

3. Visible light-mediated functionalization of selenocystine-containing peptides: selenylation of indoles and macrocyclization

Photocatalyzed reactions are a convenient way for synthesis of complex structures under mild conditions. This reaction type is considered as sustainable, ensuring efficient and selective synthesis that can be performed under biocompatible conditions as well. Usually the presence of photosensitizers is required for efficient transformation. Typical examples of homogenous catalysts are transition metal complexes and organic dyes. The use of transition metal (Ru, Ir) complexes is expensive, and they are not considered as an environmentally-friendly option. On the contrary, the use of organic dyes is an attractive alternative. Obviously, heterogenous catalysts can also be employed (inorganic semiconductors (metal oxides or sulfides), graphitic carbon nitride polymers, photoactive MOFs). A heterogenous catalyst offers the possibility to use the catalyst repeatedly and facilitates the purification of products.

Some of the most popular classes of organic dyes are: acridines and acridinium salts, fluorescein and its derivatives, benzophenones, pyrylium salts, rhodamines, and phenothiazines. Rose Bengal is a structural analogue of fluorescein, and it has emerged as an efficient photocatalyst with a wide application.³⁷

Upon absorption of light, RB is activated to its excited singlet state (RB*) with $t^{1/2}$ ranging from 10^{-6} to 10^{-9} s. The singlet excited state can return to ground state or it is converted to a longer lived triplet excited state ($t^{1/2} = 10^{-3}$ s) via intersystem crossing.³⁸ Mostly reactions with RB proceed through single electron transfer (SET), but it can also work through energy transfer (EnT) pathway, particularly as a singlet oxygen sensitizer. In this process, excited state RB* is formed and then RB* transfers its energy to the substrate to generate a reactive substrate.^{37,39}

Excited RB* can work as an oxidant or as a reductant. In the reductive quenching cycle, the organic reactant gets oxidised. For example, in reductive activation the excited state of RB* is converted to RB^{•-} radical anion via (SET), with the simultaneous conversion of a substrate to the radical cation intermediate. Then oxidation of RB^{•-} by oxygen leads to the formation of the ground state RB. Similarly, in the oxidative quenching cycle, the organic reactant initially gets reduced with the oxidation of the photoexcited species.³⁹

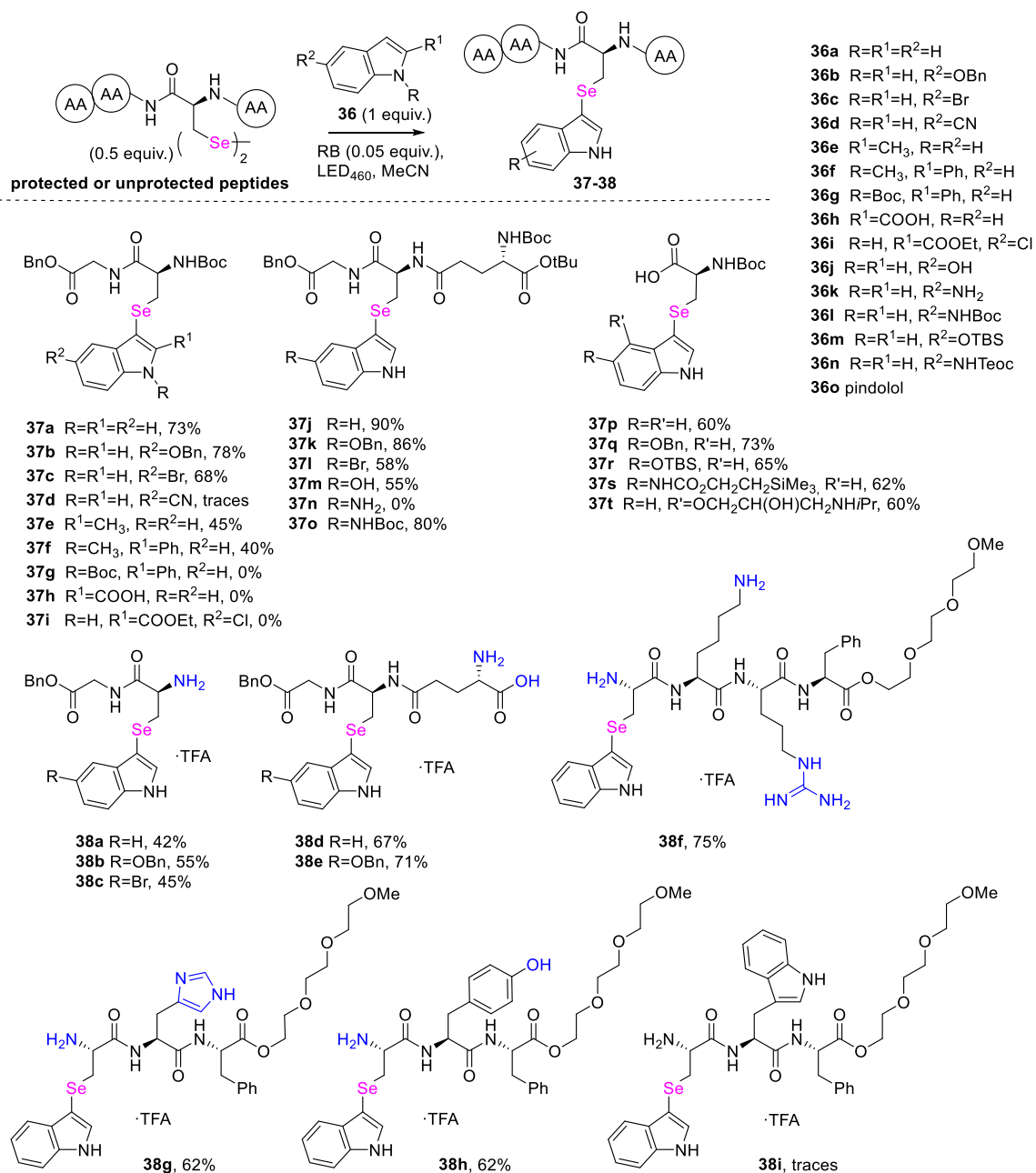
Although the use of simple diaryl diselenides in the visible light-mediated reactions has been investigated,⁴⁰⁻⁴¹ the same cannot be said about Se–Se bond-containing peptides. Notably, selenocystine-containing peptides can be converted to selenolanthionines by UV irradiation,⁴² while diselenide metathesis between simple diorganyl diselenides⁴³ or Se–Se bond-containing peptides⁴⁴ has been established under visible light irradiation.

Therefore, we set a goal to investigate the possibilities to functionalize selenocystine-containing peptides under visible light irradiation. We decided to examine the reaction between (Boc-Sec-Gly-OBn)₂ **24b** and 1*H*-indole (**36a**) under blue LED light (max 460 nm, bright blue, $x = 0.1440$, $y = 0.0395$, >50 000 lx) conditions (Scheme 15). The preliminary screening of photocatalysts (transition metal complexes, organic dyes >25) was performed in acetonitrile

using 0.5 equiv. **24b**, 1 equiv. **36a**, 2 mol% transition metal catalyst or 5 mol% organic dye. Surprisingly, only two photocatalysts were able to ensure selective synthesis of the desired 3-selanylindole **37a**: Rose Bengal (RB) and its analogue erythrosin B. RB was slightly more efficient, thus it was the catalyst of choice for further studies. Other tested photocatalysts (5-carboxytetramethylrhodamine (5-TAMRA), nickel tetraphenyl porphyrin, 4-CzIPN, cresol red, chlorophenol red, bromocresol green, methyl orange, congo red, direct red 81, direct yellow 27, methylene blue, basic fuchsine, indigo carmine, alcian blue, 2,4,6-triphenylpyrylium tetrafluoroborate, 9-mesityl-10-methylacridinium tetrafluoroborate, acridine and *N*-methylacridinium iodide) were either significantly less efficient or provided unselective reaction. Acetonitrile appeared to be the most suitable solvent because other tested greener protic solvents such as MeOH, EtOH, EtOH/H₂O, and *i*PrOH resulted in a nonselective reaction due to the fast oxidation and deselenylation of **24b**. Control reactions performed without RB, in the daylight or dark did not provide the formation of **37a**, therefore confirming the need of both – RB and LED₄₆₀. The reaction performed under Ar atmosphere resulted in lower conversion of the starting materials. The reaction performed in the presence of 4-amino-TEMPO did not yield **37a** as well, suggesting the radical mechanism. We concluded that the optimal conditions for the synthesis of 3-Sec-indoles are 5 mol% RB, MeCN and blue LED light for 90 min. Notably, both diselenide parts are utilized in the reaction, thus an atom economic method is demonstrated.

The examination of substrate scope revealed that the presence of an EDG at the C5 position of indole improved the reaction yield; halogen atoms did not significantly affect the process, but the presence of an EWG diminished the reactivity and provided only trace amounts of the products. An EDG at the C2 position provided the product in lower yield, but electron-deficient indoles (EWG at the N1 or C2 position) were completely unreactive. Importantly, a hydroxy group at the C5 position of indole was also tolerated under the reaction conditions, whereas the reaction with 5-aminoindole failed. However, the use of *tert*-butyl (1*H*-indol-5-yl)carbamate **36l** resulted in the formation of desired product **37o** in high yield. Furthermore, not only protected selenocystine-containing peptides, but also (Boc-Sec)₂ was a suitable substrate for selanylation of indoles leading to formation of useful building blocks **37p-t**.

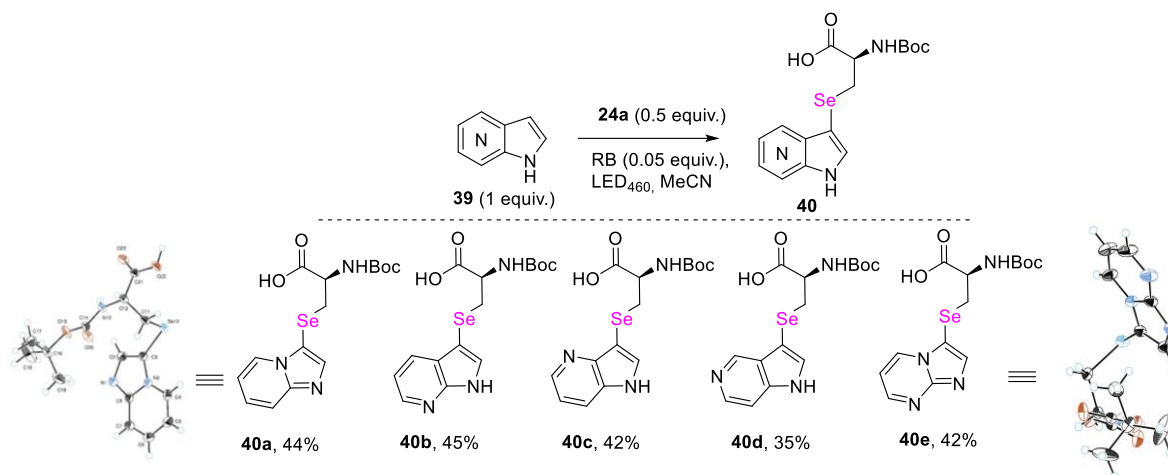
Importantly, unprotected selenocystine-containing peptides were also well tolerated under the reaction conditions facilitating the developed protocol. Even more sophisticated selenocystine-containing peptides with ‘sensitive’ amino acid residues (Lys, Arg, His, Tyr) provided the expected Sec-indoles in good yields. The only exception was the Trp-containing peptide – nonselective reaction occurred, most likely due to ability of Trp to form radical under irradiation conditions.



Scheme 15. Sec-indole formation: scope and limitation studies.

38a-i: the products were obtained employing unprotected peptides as TFA salts.

Additionally, Boc-Sec-azaindoles were prepared employing visible light-initiated reaction (Scheme 16). However, we found out that only protonated azaindoles were able to react with (Boc-Sec)₂. The yields were moderate due to partial degradation of (Boc-Sec)₂. Notably, the structures of products **40d** and **40e** were confirmed by X-ray analysis.

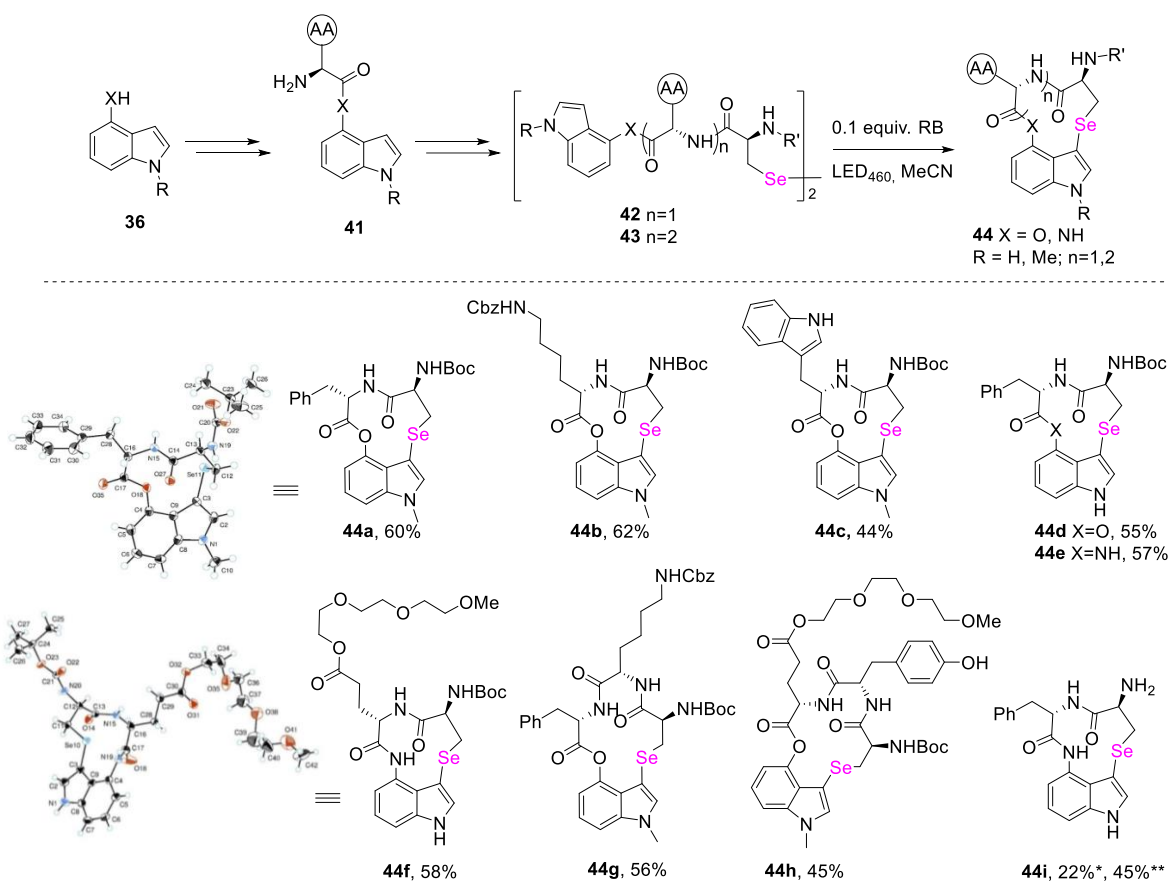


Scheme 16. Synthesis of Boc-Sec-azaindoles.

Next, we decided to establish whether the intramolecular indole selenylation (Approach A) can be performed under the same conditions. A successful reaction would afford Sec-containing indole-embedded macrocycles. Additionally, we envisioned alternative approaches towards synthesis of macrocycles: selenylation of an indole attached to a peptide and subsequent intramolecular amide bond formation (Approach B); and a visible light-initiated reaction between Boc-Sec and protected 5-hydroxy- or aminoindole, then coupling reaction with a small peptide, deprotection and intramolecular amide bond formation (Approach C).

Gratifyingly, visible light-mediated intramolecular selenylation proceeded smoothly providing macrocycles **44a-h** in good yields (Scheme 17). Although the reaction was slower than the intermolecular reaction, it was selective. Furthermore, the structures of macrocycles **44a** and **44f** were unambiguously confirmed by X-ray analysis. We also succeeded in isolation of unprotected macrocycle **44i**. The product was obtained by visible light-mediated macrocyclization of Fmoc protected substrate and subsequent deprotection. Alternatively, **44i** was prepared by utilizing deprotected **42g** in the macrocyclization reaction. However, the yield was lower utilizing unprotected substrate.

Unfortunately, we concluded that Approach A is not suitable for macrocycle formation starting from indoles with peptides attached to its C5 position, probably due to conformational restrictions. Therefore, we proposed alternative approaches for synthesis of these compounds.

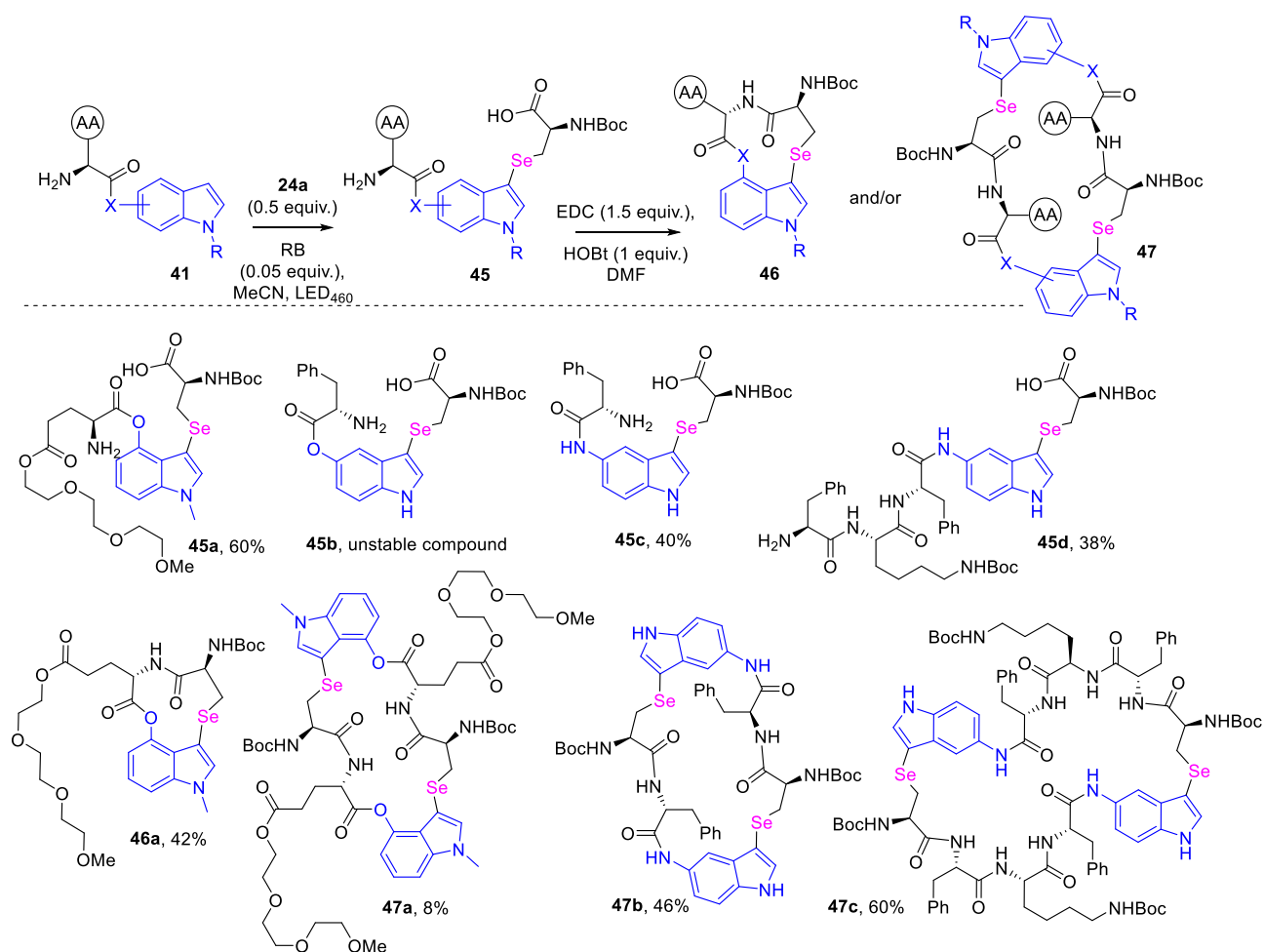


Scheme 17. Synthesis of macrocycles: Approach A.

*Fmoc cleavage, cyclization, **cyclization, Fmoc cleavage.

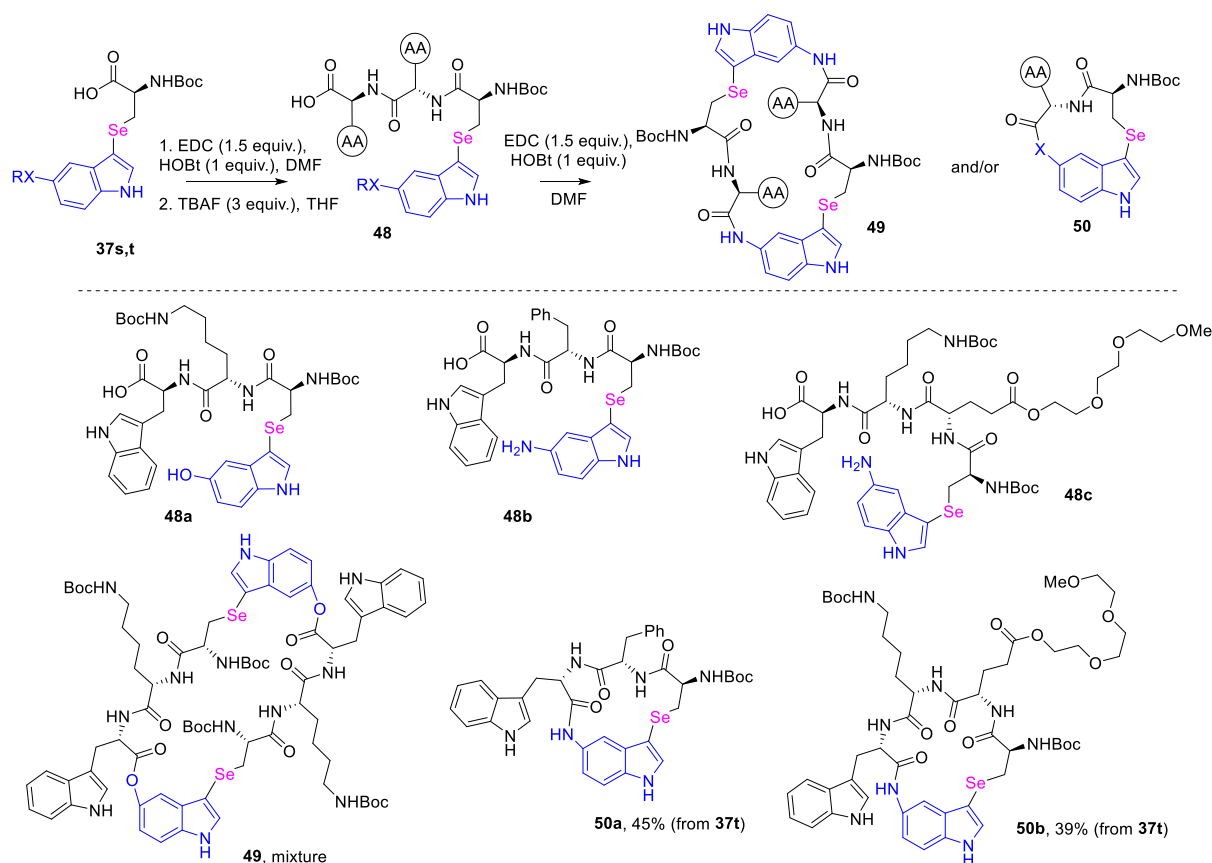
Approach B relied on visible light-mediated selenylation of indoles **41** that contained the amino acid or short peptide at the C4 or C5 position of the indole ring and subsequent intramolecular peptide bond formation reaction (Scheme 18).

Visible light-mediated reaction yielded Boc-Sec-indoles **45** in moderate to good yields. Then EDC/HOBt coupling was performed for intramolecular amide bond formation. As a result, macrocycle **46a** was isolated utilizing 4-substituted indole as the starting material. Notably, we also isolated the bis-macrocyclization product **47a** as the minor product. Surprisingly, indoles **45c,d** with substituent at the C5 position provided only bis-macrocyclization products **47b,c**.



Scheme 18. Synthesis of macrocycles: Approach B.

The third approach (Approach C) required the utilization of products **37s** and **37t** that were obtained by visible light-mediated selenylation of protected 5-hydroxy- and 5-aminoindoles (Scheme 19). The next step was intermolecular amide bond formation reaction, then after deprotection, an intramolecular amide bond formation reaction was performed. The formation of bis-macrocycle **49** was not selective, while stable macrocycles **50a** and **50b** were isolated.



Scheme 19. Synthesis of macrocycles: Approach C.

The next task was to explore the mechanism of visible light-mediated selenylation. First, we discovered that irradiation of the solution of **24b** and RB affords unstable seleninic acid **51** and Boc-Dha-Gly-OBn **53** (Scheme 20). We were not able to isolate **51** but it was detected by LC-MS, HRMS ($[M+Na] = 471.0633$) and ^{77}Se NMR spectroscopy (RSeO₂H 1217.5 ppm) (Fig. 2 A). Storage of the reaction mixture in an NMR tube for 24 h led to the disappearance of the signal in the ^{77}Se NMR spectra attributed to **51**, however, a new signal was formed – seleninic acid (H₂SeO₃ **52**) (1302.7 ppm).

The control tests proved that the presence of water and oxygen in the solvent is necessary for the reaction to occur. The reaction performed in the presence of TEMPO did not lead to the formation of **53**, thus confirming radical pathway.

Under irradiation conditions, oxygen is converted to superoxide radical anion (O^{•-}), while RB^{•+} returns to the ground state. Reaction between O^{•-} and water generates hydroperoxyl radical that produces hydrogen peroxide, which is trapped by **24b**, resulting in oxidation and deselenylation with the formation of a double bond.

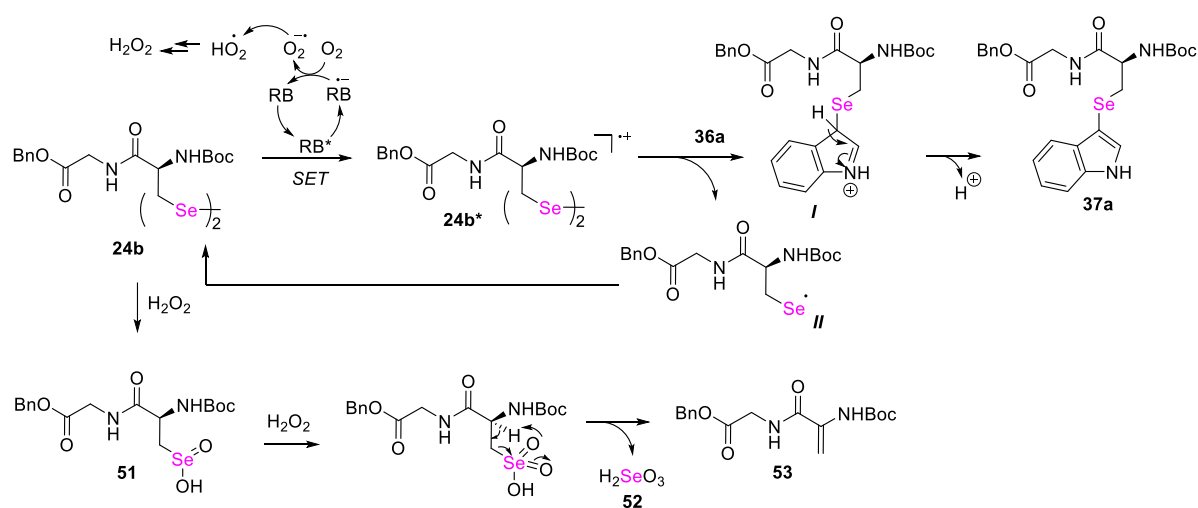
UV spectra were recorded for **24b**, **36a**, RB, ethyl eosin, erythrosin B, FirPic, Ru(bpy)₃Cl₂·6H₂O, and 4-CzIPN in dry acetonitrile solutions (Fig. 2 B and 2 C). The photochemical reaction between **36a** and diselenide **24b** was not effective in the absence of a catalyst under LED₄₆₀ light because indole has an absorption band from 200 to 305 nm and **24b** exhibits absorption until 430 nm, albeit with low intensity.

Notably, the absorption shoulder at 275–430 nm in the **24b** UV spectrum is characteristic of Se–Se bond, which facilitates the formation of selenyl radicals in the presence of a photocatalyst.

The photoluminescence quenching of RB, Ru(bpy)₃Cl₂·6H₂O and FlrPic was performed using **24b** or **36a** in degassed acetonitrile. The quenching rate constant of RB in the experiment with **24b** was determined to be 10.42×10^{-3} l/mol (Fig. 2D). In contrast, **36a** does not quench the fluorescence of RB to any significant extent.

EPR studies confirmed radical formation of RB in solution under irradiation conditions. Furthermore, the presence of diselenide **24b** during irradiation, reduced the intensity of RB* signal twice, allowing to confirm the establishment of dynamic equilibrium under LED₄₆₀ light: $\text{RB}^* + \mathbf{24b} \leftrightarrow (\text{RB} + \mathbf{24b}^*)$.

Thus, based on the obtained results, it can be concluded that upon excitation of RB, radical cation **24b*** is produced, which reacts with indole **36a**, forming intermediate **I** and selenyl radical **II**. The radical **II** can provide diselenide **24b** via dimerization while intermediate **I** delivers the product **37a** after deprotonation (Scheme 20).



Scheme 20. Proposed mechanism of visible light mediated reaction.

The article about the studies described in this chapter can be found in Appendix IV.

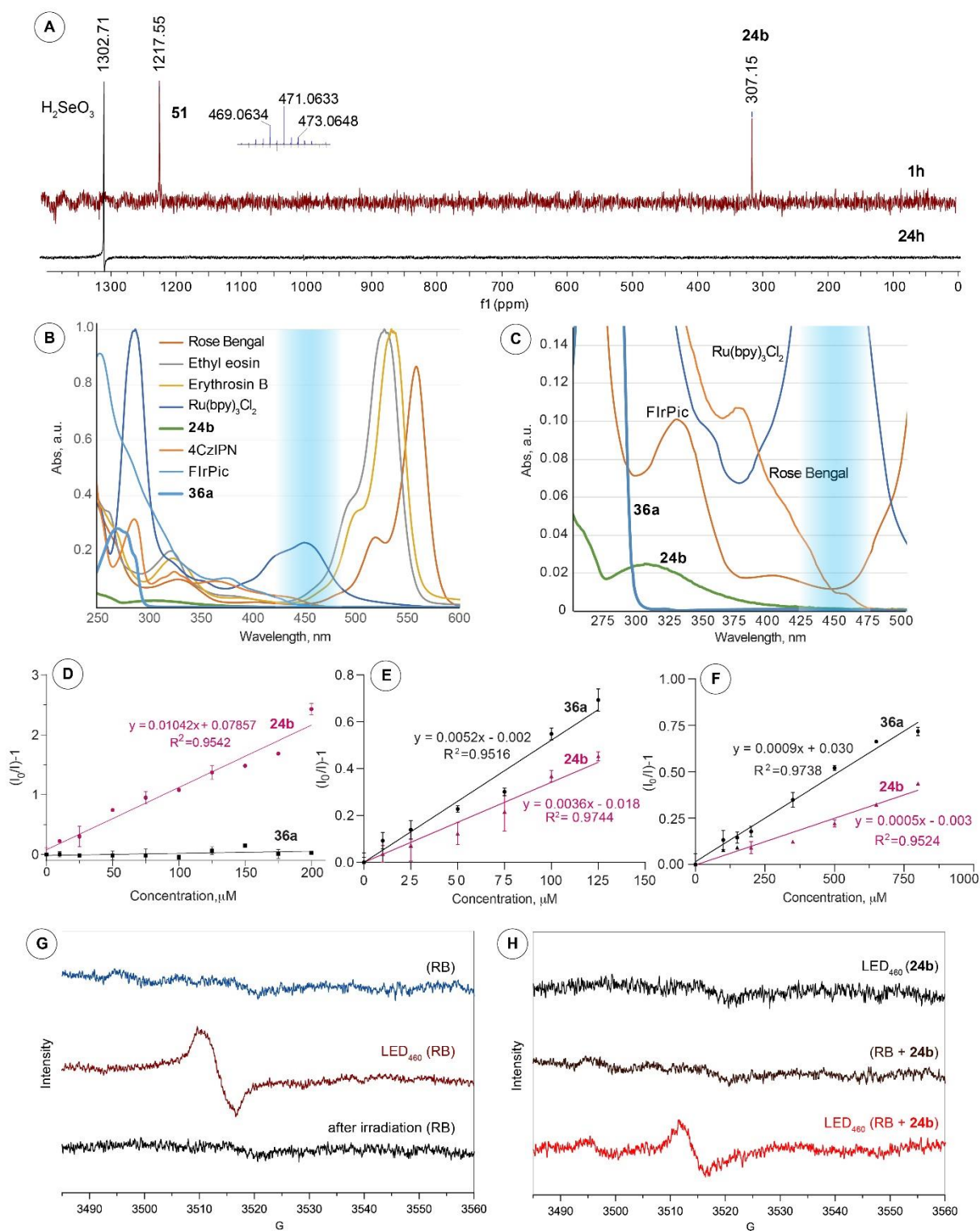


Fig 2. A – ^{77}Se NMR spectrum of **24b** degradation products after 1 h of irradiation and after storage of the reaction mixture in NMR tube for 24 h; B – UV spectra of **24b**, **36a** and photocatalysts; C – magnified UV spectra of 250–500 nm region; D – photoluminescence quenching of RB with **24b** and **36a**; E – photoluminescence quenching of $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ with **24b** and **36a**; F – photoluminescence quenching of FirPic with **24b** and **36a**; G – EPR spectra of RB and RB + **24b** with and without LED_{460} irradiation.

4. Visible light-mediated synthesis of Se–S bond-containing peptides

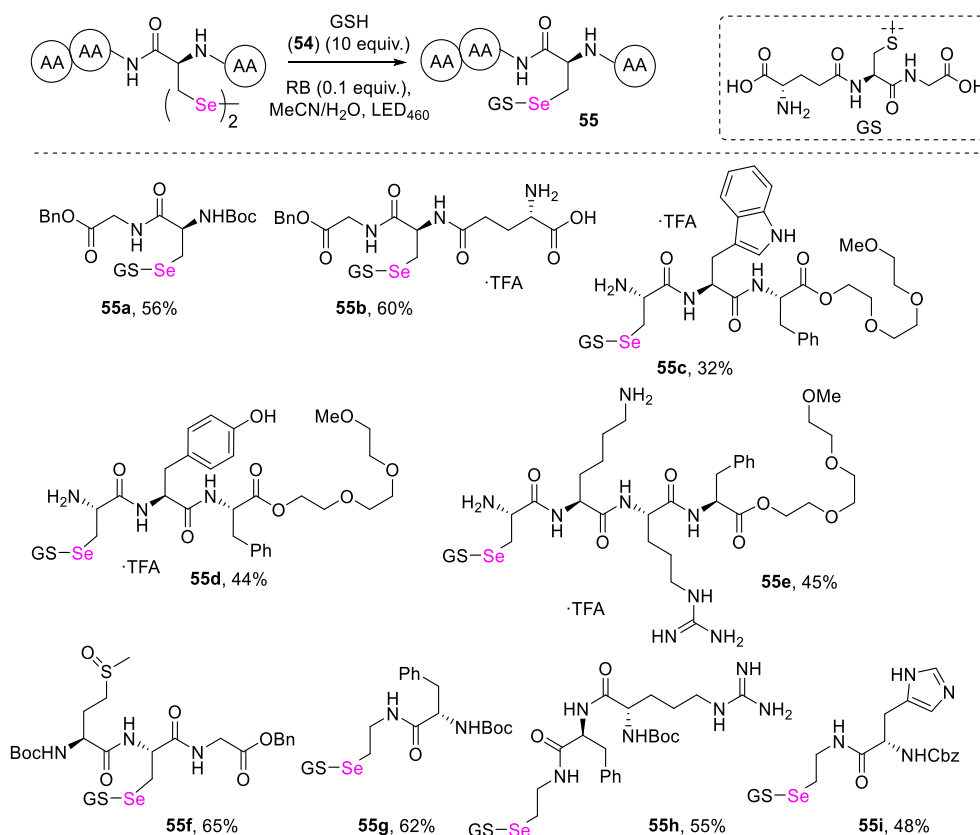
Se–S bond is found in the active center of thioredoxin reductase – one of the major components of the antioxidant system in mammalian cells.^{45,46} Se–S bond-containing intermediate is formed in the catalytic cycle of the glutathione peroxidase – selenoenzyme that is responsible for reduction of H₂O₂ and other peroxides by glutathione.⁴⁷ Low-molecular weight compounds with Se–S bond have been used as fluorescent probes for detection of reactive sulfur species^{48,49} and as prodrugs for inhibition of protein tyrosine phosphatases.⁵⁰

Compounds with Se–S bond are considered unstable, thus the synthesis can be challenging.⁵¹ The exchange reaction between diselenide and thiol, although theoretically possible, is unfavorable because the selenolate byproduct is a stronger nucleophile than thiol.⁵² However, the reaction can be performed under suitable conditions.⁵¹ Diphenyl diselenide reacts with AgSCF₃ providing respective Se–S bond-containing substrate while the selenolate byproduct is stabilized with the silver ion.⁵³ Typically, Se–S bond is prepared by reaction between thiol and electrophilic selenyl species – selenyl halides^{54,55} or organyl seleninic acids.^{56,29} Nevertheless, benzeneselenol can also react with aryl or alkyl thiols in the presence of a catalytic amount of *t*BuOK, while the reaction of benzeneselenol with electrophilic *N*-phenyl-trifluoromethanesulfenamide occurs in acidic conditions.³⁸ Notably, various sugar-selenyl sulfides have been synthesized directly from sugar diselenides and glutathione in a phosphate buffer. Moreover, this efficient method has been extended from using glutathione as a thiol group containing substrate to a protein – a single-cysteine mutant of subtilisin.⁵⁷ Significantly, UV light has been employed for the exchange reaction between diaryl disulfide and dialkyl diselenide. The authors have also stated that Se–S bond is formed under UV light, while longer wavelength (>410 nm, visible light) reverses the reaction.⁵⁸

We developed a novel method for the synthesis of Se–S bond-containing peptides via visible light-initiated reaction. The optimal reaction conditions were found examining the reaction of dipeptide dimer (Boc-Sec-Gly-OBn)₂ **24b** and glutathione (GSH) (**54**) in the mixture of MeCN/H₂O under visible light irradiation. Rose Bengal (RB) again turned out to be the best photocatalyst for the reaction. None of the other tested catalysts (FIRPic, Ru(bpy)₃Cl₂, 4-CzIPN, 9-mesityl-10-methylacridinium tetrafluoroborate, ethyl eosin, fluorescein, 5-TAMRA) showed superior selectivity and ability to ensure higher conversion of the starting materials in 1 h. Due to the competing reaction, homocoupling of GSH forming GS-SG, this substrate should be employed in an excess – 10 equiv. However, both parts of the diselenide are consumed; therefore, the ratio of GSH versus one selenium is 5:1. Control tests proved that both LED₄₆₀ and RB are required for the reaction. Surprisingly, the presence of radical scavenger (TEMPO) did not prevent the formation of **55a**. Most likely, radical quenching with TEMPO is slower than the generation of glutathionyl (GS[•]) radical under visible light irradiation, followed by the formation of Se–S bond or homocoupling reaction.

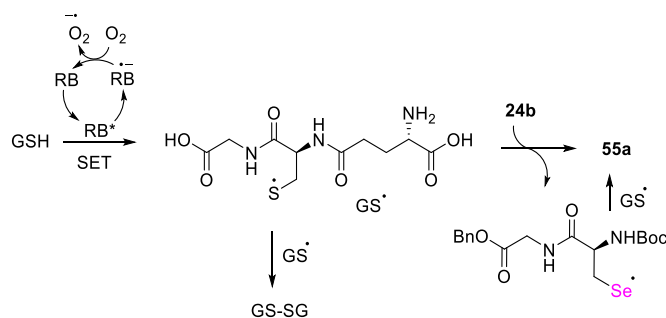
Importantly, the substrate scope evaluation showed that various selenocysteine and selenocystamine peptides with sensitive amino acids (Arg, Glu, Lys, His, Tyr) showed excellent tolerance and provided the desired Se–S bond-containing products (Scheme 21). Although Trp is known to be prone to oxidation by radicals and singlet oxygen, the Trp-containing product

55c was also isolated; however, the yield was lower due to formation of side products. Met-containing peptide yielded the Met sulfoxide-containing product **55f**.



Scheme 21. Scope and limitation studies for the preparation of Se-S bond containing compounds. **55b–e**: the products were obtained employing unprotected peptides as TFA salts.

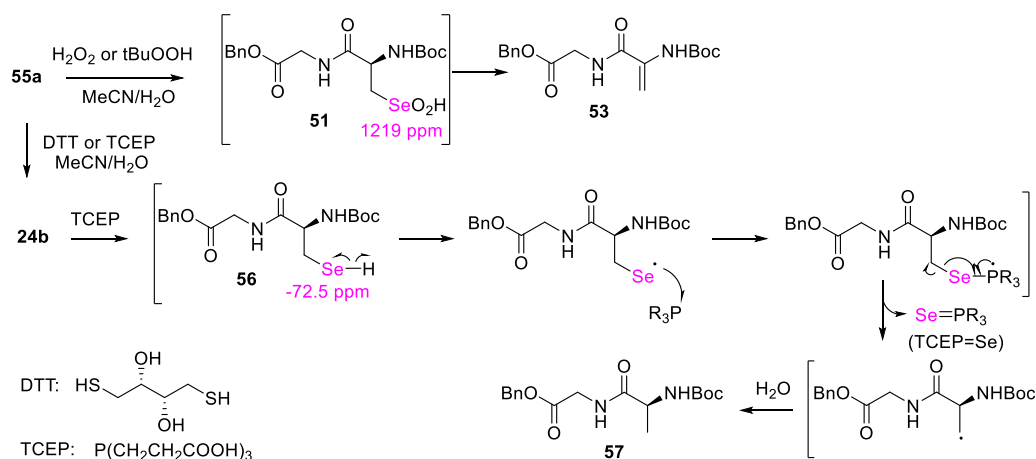
The Stern-Volmer analysis disclosed that the quenching rate constant of RB with GSH was significantly higher (8.8×10^{-3} l/mol) than with **24b** (0.12×10^{-3} l/mol). Therefore, it can be inferred that S-centered radical is rapidly formed under LED₄₆₀ irradiation. Next, the GS radical reacts with the diselenide forming the desired Se-S bond-containing peptide **55a** or it undergoes the homocoupling reaction forming oxidized glutathione (GS-SG), thus an excess of **54** is required for full consumption of **24b** (Scheme 22).



Scheme 22. Proposed mechanism for the formation of Se-S bond-containing substrates.

Next, we examined the stability of Se–S bond-containing peptide **55a** under visible light irradiation, as well as in the presence of oxidants and reducing agents (Scheme 23). Prolonged irradiation (>3 h) of **55a** and RB in MeCN/water with LED₄₆₀ provided alkyl seleninic acid **6** and Boc-Dha-Gly-OBn **53** due to the reaction with H₂O₂ that is formed under irradiation conditions. The oxidation of **55a** with H₂O₂ or *t*BuOOH afforded alkyl seleninic acid. Intermediate **51** was detected by HRMS ([M+Na] = 471.0633) and ⁷⁷Se NMR (δ 1219.8 ppm) spectroscopy. Besides, a small signal of selenonic acid **51'** (δ 1050.8 ppm) was also detected in the ⁷⁷Se NMR spectra (Fig. 3).

The reduction of **55a** with 3 equiv. 1,4-dithiothreitol (DTT) or tris(2-carboxyethyl)phosphine hydrochloride (TCEP) delivered diselenide **24b** and GSH in a short reaction time (30 min). Furthermore, the use of increased amount of TCEP (10 equiv.) led to deselenylation reaction yielding Boc-Ala-Gly-OBn **57** and TCEP=Se ([M-H] = 328.9704) (Scheme 23). The selenol **56** was detected by LC-MS ([M+Na] = 439.03) and ⁷⁷Se NMR spectroscopy (δ -72.5 ppm) as an intermediate of the reduction. The mechanism of deselenylation is known in the literature.³³



Scheme 23. Stability of **55a** in the presence of reducing agents and oxidants.

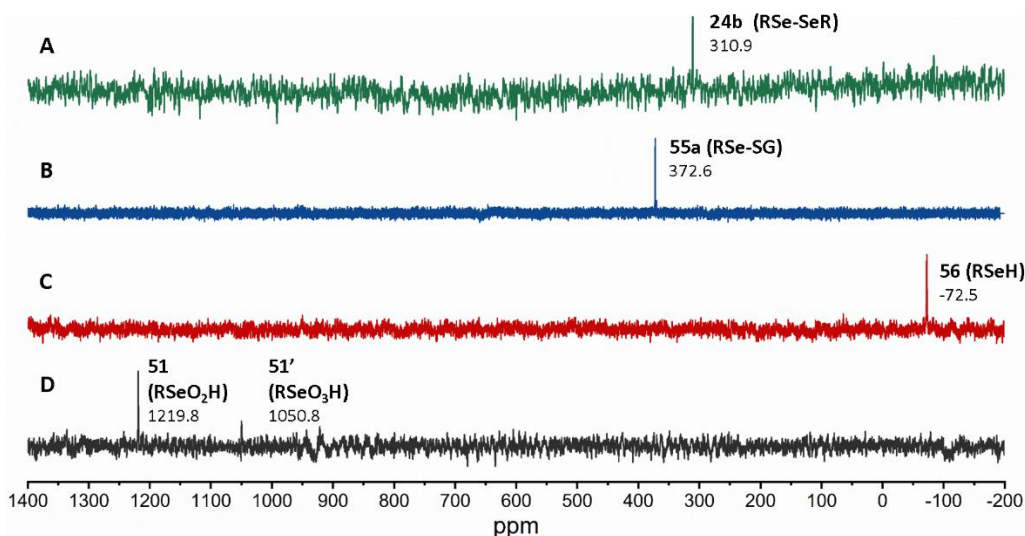
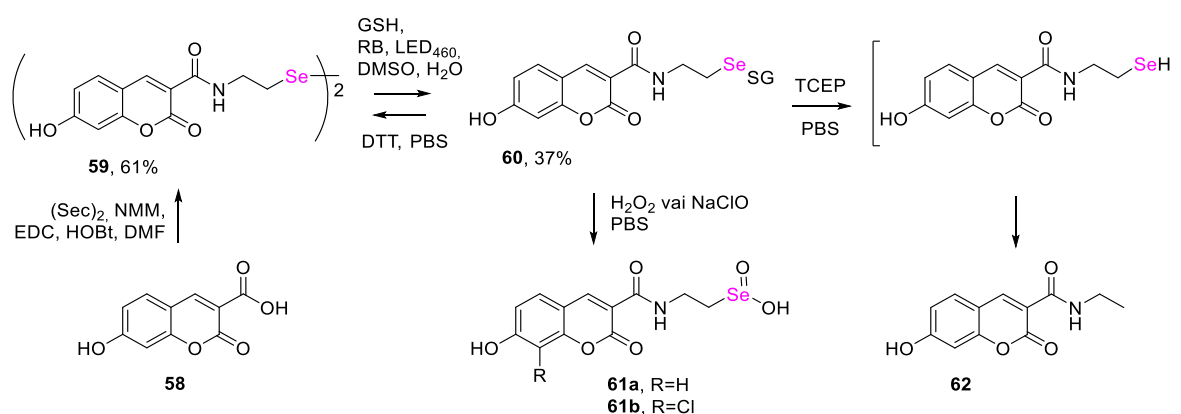


Fig. 3. ⁷⁷Se NMR spectra of **24b** (A), **55a** (B), **56** (C), **51** (D)

Next, aiming to evaluate the possibility to utilize alkylselenenylsulfide moiety as a cleavable linker for the introduction of fluorescent probe to thiol group-containing peptide, diselenide **59** was prepared starting with 7-hydroxy-2-oxo-2*H*-chromene-3-carboxylic acid **58** (Scheme 24). The visible light-initiated reaction between GSH and diselenide **59** provided the desired Se–S bond-containing product **60** in 37 % yield.

Next, the stability of **60** was established. A quick oxidation and formation of the respective seleninic acid **61a** was observed in the presence of H₂O₂. Another oxidant – NaClO provided the respective chlorinated seleninic acid **61b** ([M-H] = 377.9290). The use of DTT (10 equiv.) led to formation of diselenide **59**. Recently, it was demonstrated that a cyclic selenosulfide subjected to reductive conditions (TCEP or DDT) spontaneously eliminates selenoethyl moiety releasing ethylene molecule, besides, all reactions were very slow (up to 6 days).⁵⁹ We did not observe such transformation in the case of **60** – interaction with TCEP (10 equiv.) was very efficient providing ethyl amide **62** in 30 min.



Scheme 24. Synthesis and stability of **60**.

Additionally, the stability of **60** in phosphate-buffered saline (PBS) was established under various pH revealing that the compound is stable in pH range 3.0–8.0 for 24h. Absorption and emission spectra were collected for the solutions of **59**, **60** and **61a** in PBS (pH = 7.4, *c* = 10 μM), as well as the photoluminescence quantum yield (PLQY) of the studied compounds were determined (Fig. 4). The PLQY of the Se–S bond-containing substrate is considerably higher ($\Phi = 29.5\%$) than the PLQY of diselenide **59** ($\Phi = 1.6\%$). However, the highest emission quantum yield was observed for the seleninic acid **61a** ($\Phi = 52.4\%$).

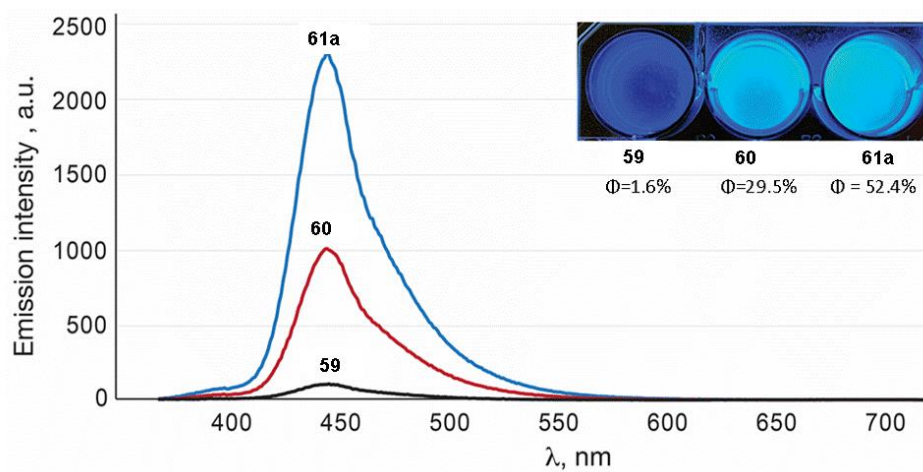


Fig. 4. Emission spectra of **59**, **60**, **61a** upon excitation at 350 nm (PBS, pH = 7.4).

The article about the studies described in this chapter can be found in Appendix V.

CONCLUSIONS

1. Peptides with cysteine residue can be functionalized under mild conditions through the *in situ* preparation of cysteinyl chloride using *N*-chlorosuccinimide.
2. CuBr₂ is an efficient promoter for chalcogenyl electrophile generation from diaryl/dibenzyl dichalcogenides, protected and unprotected selenocystine-containing peptides.
3. K₂S₂O₈ is an efficient promoter for generation of selenyl electrophile from (Boc-Sec)₂ and protected selenocystine-containing peptides.
4. The sulfenyl and selenyl electrophiles can be trapped by suitable triple bond-containing substrates and sequential 5- or 6-*endo-dig* cyclization reactions provides (hetero)cyclic systems attached to cysteine or selenocysteine (indolizinium salts, indoles, benzo[*b*]furans, coumarins, isocoumarins, quinolin-2-ones, isoquinolin-2-ones, polyaromatic hydrocarbons, indeno[1,2-*c*]chromenes).
5. Rose Bengal is an efficient photocatalyst for selenyl electrophile generation from protected and unprotected selenocystine-containing peptides. The electrophile can be trapped by electron-rich *N*-heterocycles. The elaborated atom-economic protocol shows excellent tolerance for selenocystine-containing peptides with 'sensitive' amino acids (Lys, Arg, His, Glu, Tyr). Visible light-mediated intramolecular indole selenylation can be performed under the same conditions affording Sec-macrocycles.
6. Rose Bengal is a suitable photocatalyst to induce formation of Se–S bond-containing peptides.

REFERENCES

- (1) Valeur, E.; Guéret, S. M.; Adihou, H.; Gopalakrishnan, R.; Lemurell, M.; Waldmann, H.; Grossmann, T. N.; Plowright, A. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 10294.
- (2) Lau, J. L.; Dunn, M. K. *Bioorganic Med. Chem.* **2018**, *26*, 2700.
- (3) Rentier, C.; Fukumoto, K.; Taguchi, A.; Hayashi, Y. *J. Pept. Sci.* **2017**, *23*, 496.
- (4) Xu, M.; Zhang, X. H.; Zhong, P. M. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 6800.
- (5) Wismach, C.; Jones, P. G.; Du Mont, W. W.; Mugesh, G.; Papke, U.; Linden, H. B.; Arca, M.; Lippolis, V. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, *8*, 1399.
- (6) Gay, R. M.; Manarin, F.; Schneider, C. C.; Barancelli, D. A.; Costa, M. D.; Zeni, G. F. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5701.
- (7) Fang, X. L.; Tang, R. Y.; Zhang, X. G.; Li, J. H. *Synthesis* **2011**, *7*, 1099.
- (8) Du, H. A.; Tang, R. Y.; Deng, C. L.; Liu, Y.; Li, J. H.; Zhang, X. G. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2739.
- (9) Ni, Y.; Zuo, H.; Li, Y.; Wu, Y.; Zhong, F. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 4350.
- (10) Li, H.; Wang, X.; Yan, J. *Appl. Organomet. Chem.* **2017**, *31*, 1.
- (11) Prasad, C. D.; Kumar, S.; Sattar, M.; Adhikary, A.; Kumar, S. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 8036.
- (12) Goulart, H. A.; Neto, J. S. S.; Barcellos, A. M.; Barcellos, T.; Silva, M. S.; Alves, D.; Jacob, R. G.; Lenardão, E. J.; Perin, G. *Adv. Synth. Catal.* **2019**, *361*, 3403.
- (13) Li, Z.; Hong, L.; Liu, R.; Shen, J.; Zhou, X. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1343.
- (14) Song, Z.; Ding, C.; Wang, S.; Dai, Q.; Sheng, Y.; Zheng, Z.; Liang, G. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 1847.
- (15) Vinogradov, A. A.; Yin, Y.; Suga, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 4167.
- (16) Yu, X.; Sun, D. *Molecules* **2013**, *18*, 6230.
- (17) Martí-Centelles, V.; Pandey, M. D.; Burguete, M. I.; Luis, S. V. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8736.
- (18) De la Torre, B. G.; Albericio, F. *Molecules* **2020**, *25*, 2019.
- (19) McLean, J. T.; Benny, A.; Nolan, M. D.; Swinand, G.; Scanlan, E. M. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50*, 10857.
- (20) Bottecchia, C.; Noël, T. *Chem. A Eur. J.* **2019**, *25*, 26.
- (21) Khanam, H.; Shamsuzzaman. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 483.
- (22) Kaushik, N. K.; Kaushik, N.; Attri, P.; Kumar, N.; Kim, C. H.; Verma, A. K.; Choi, E. H. *Molecules* **2013**, *18*, 6620.
- (23) Welsch, M. E.; Snyder, S. A.; Stockwell, B. R. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 347.
- (24) Saikia, P.; Gogoi, S. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 2063.
- (25) Pranger, A. D.; van der Werf, T. S.; Kosterink, J. G. W.; Alffenaar, J. W. C. *Drugs* **2019**, *79*, 161.
- (26) Diem Ferreira Xavier, M. C.; Andia Sandagorda, E. M.; Santos Neto, J. S.; Schumacher, R. F.; Silva, M. S. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 13975.
- (27) Tiecco, M.; Testaferri, L.; Tingoli, M.; Bartoli, D. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4523.
- (28) Perin, G.; Nobre, P. C.; Mailahn, D. H.; Silva, M. S.; Barcellos, T.; Jacob, R. G.;

- Lenardão, E. J.; Santi, C.; Roehrs, J. A. *Synthesis* **2019**, *51*, 2293.
- (29) Abdo, M.; Knapp, S. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3433.
- (30) Abenante, L.; Padilha, N. B.; Anghinoni, J. M.; Penteado, F.; Rosati, O.; Santi, C.; Silva, M. S.; Lenardão, E. J. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 5210.
- (31) Cohen, D. T.; Zhang, C.; Fadzen, C. M.; Mijalis, A. J.; Hie, L.; Johnson, K. D.; Shriver, Z.; Plante, O.; Miller, S. J.; Buchwald, S. L.; Pentelute, B. L. *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 78.
- (32) Cohen, D. T.; Zhang, C.; Pentelute, B. L.; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 9784.
- (33) Dery, S.; Reddy, P. S.; Dery, L.; Mousa, R.; Dardashti, R. N.; Metanis, N. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 6207.
- (34) Whedon, S. D.; Markandeya, N.; Rana, A. S. J. B.; Senger, N. A.; Weller, C. E.; Tureček, F.; Strieter, E. R.; Chatterjee, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 13774.
- (35) Jiang, H.; Ferrara, G.; Zhang, X.; Oniwa, K.; Islam, A.; Han, L.; Sun, Y. J.; Bao, M.; Asao, N.; Yamamoto, Y.; Jin, T. T. *Chem. A Eur. J.* **2014**, *21*, 4065.
- (36) Chen, C. C.; Wu, M. Y.; Chen, H. Y.; Wu, M. J. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 6071.
- (37) Srivastava, A.; Singh, P. K.; Ali, A.; Singh, P. P.; Srivastava, V. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 39495.
- (38) Jereb, M.; Dolenc, D. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 58292.
- (39) Sharma, S.; Sharma, A. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 4384.
- (40) Rathore, V.; Kumar, S. *Green Chem.* **2019**, *21*, 2670.
- (41) Chen, J.; Chen, R.; Mei, L.; Yan, S.; Wu, Y.; Li, Q.; Yuan, B. *Asian J. Org. Chem.* **2020**, *9*, 181.
- (42) Waliczek, M.; Pehlivan, Ö.; Stefanowicz, P. A. *New J. Chem.* **2020**, *44*, 11433.
- (43) Ji, S.; Cao, W.; Yu, Y.; Xu, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 6781.
- (44) Waliczek, M.; Pehlivan, Ö.; Stefanowicz, P. *ChemistryOpen* **2019**, *8*, 1199.
- (45) Holmgren, A.; Johansson, C.; Berndt, C.; Lönn, M. E.; Hudemann, C.; Lillig, C. H. *Biochem. Soc. Trans.* **2005**, *33*, 1375.
- (46) Canal-Martín, A.; Pérez-Fernández, R. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 1.
- (47) Metanis, N.; Beld, J.; Hilvert, D. *The Chemistry of Selenocysteine*; 2011.
- (48) Suarez, S. I.; Ambrose, R.; Kalk, M. A.; Lukesh, J. C. *Chem. A Eur. J.* **2019**, *25*, 15736.
- (49) Wang, Y.; Yang, C. T.; Xu, S.; Chen, W.; Xian, M. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 7573.
- (50) Tjin, C. C.; Otley, K. D.; Baguley, T. D.; Kurup, P.; Xu, J.; Nairn, A. C.; Lombroso, P. J.; Ellman, J. A. *ACS Cent. Sci.* **2017**, *3*, 1322.
- (51) Hamsath, A.; Xian, M. *Antioxid. Redox Signal.* **2020**, *33*, 1143.
- (52) Hondal, R. J.; Marino, S. M.; Gladyshev, V. N. *Antioxid. Redox Signal.* **2013**, *18*, 1675.
- (53) Saravanan, P.; Anbarasan, P. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 4639.
- (54) Hamsath, A.; Wang, Y.; Yang, C. T.; Xu, S.; Cañedo, D.; Chen, W.; Xian, M. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 5685.
- (55) Gamblin, D. P.; Garnier, P.; Van Kasteren, S.; Oldham, N. J.; Fairbanks, A. J.; Davis, B. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 828.
- (56) Abdo, M.; Sun, Z.; Knapp, S. *Molecules* **2013**, *18*, 1963.

- (57) Boutureira, O.; Bernardes, G. J. L.; Fernández-González, M.; Anthony, D. C.; Davis, B. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 1432.
- (58) Fan, F.; Ji, S.; Sun, C.; Liu, C.; Yu, Y.; Fu, Y.; Xu, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 16426.
- (59) Diemer, V.; Ollivier, N.; Leclercq, B.; Drobecq, H.; Vicogne, J.; Agouridas, V.; Melnyk, O. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 1.

ACKNOWLEDGEMENT

My sincere gratitude goes to my supervisor *Dr. chem.* Pavel Arsenyan for the valuable discussions, suggestions, and support throughout the Thesis. Thank you for sharing the knowledge and skills!

I am grateful to my colleague Pāvels Dimitrijevs for the photophysical studies, useful advice and contribution to our joint papers. I would like to thank *Dr. phys.* Sergejs Beļakovs for X-ray studies, *Dr. chem.* Larisa Baumanė for EPR experiments and Kaspars Leduskrasts for photophysical studies!

I would like to thank my dear husband Linards Lapčinskis for the invaluable support and advice, as well as for the contribution to our joint paper.

Financial support from the Latvian Institute of Organic Synthesis is gratefully acknowledged (student internal grants: IG-2018-06, IG-2020-07, IG-2021-01).

Sindija Lapčinska

PIELIKUMI/APPENDICES