

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

На правах рукописи



Гильфанов Ильмир Рафисович

**ДИЗАЙН, СИНТЕЗ И ВОЗМОЖНОСТИ ПРАКТИЧЕСКОГО
ПРИМЕНЕНИЯ КОНЪЮГАТОВ МОНОТЕРПЕНОИДОВ С
ЛЮМИНОФОРАМИ**

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата химических наук

по специальности 1.4.3. Органическая химия

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор,

Никитина Лилия Евгеньевна

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. БОРОДИПИРРОМЕТЕНОВЫЕ ЛЮМИНОФОРЫ И ИХ КОНЬЮГАТЫ С ПРИРОДНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ	13
1.1. Особенности строения и синтез замещенных люминофоров	14
1.2. Конъюгаты люминофоров с природными соединениями	19
1.2.1. Конъюгаты с витаминами	19
1.2.2. Конъюгаты с углеводами	24
1.2.3. Конъюгаты с липидами и стероидами	26
1.2.4. Конъюгаты с другими природными соединениями	29
1.2.5. Конъюгаты с терпенами	31
1.3. Особенности строения и реакционной способности бициклических монотерпеноидов.....	35
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ЛИТЕРАТУРНОМУ ОБЗОРУ	39
ГЛАВА 2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ. СИНТЕЗ КОНЬЮГАТОВ МОНОТЕРПЕНОИДОВ С ЛЮМИНОФОРАМИ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ	40
2.1. Синтез исходных монотерпеноидов, использованных для получения конъюгатов с люминофорами	41
2.2. Структурные особенности бородипиррометеновых люминофоров, использованных для синтеза конъюгатов с монотерпеноидами.....	54
2.3. Синтез конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами	58
2.3.1. Разработка синтетических подходов к конъюгатам.....	58
2.3.2. Синтез конъюгатов с <i>мезо</i> -замещенными люминофорами	66
2.3.3. Синтез водорастворимых конъюгатов монотерпеноидов	75
2.3.4. Синтез конъюгатов с α -замещенными люминофорами	86

2.4. Исследование возможности практического применения синтезированных соединений.....	93
2.4.1. Противомикробные свойства.....	93
2.4.2. Фотохимические параметры и липофильность конъюгатов монотерпеноидов.....	98
2.4.3. Эксперименты по биовизуализации клеток различного типа....	101
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ.....	112
ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	113
3.1. Физико-химические измерения и исходные вещества.....	113
3.2. Методики синтеза терпеноидов и четвертичных аммонийных солей с терпеновыми фрагментами	117
3.3. Методики синтеза конъюгатов с замещенными люминофорами	128
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	137
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	139

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.

Благодаря крупномасштабному промышленному производству терпенов, их важности как синтонов для органического синтеза и широкому использованию производных терпенов в медицине, косметике и парфюмерии, сохраняется постоянный интерес к химии этих природных соединений. Внимание исследователей к терпенам и терпеноидам обусловлено, в первую очередь, наличием у них широкого спектра биологической активности и низкой острой и хронической токсичности, а также разнообразием строения, позволяющим проводить химическую модификацию молекул для создания новых соединений с практически полезными свойствами.

Среди обширного класса терпеновых соединений можно выделить монотерпены, на основе которых к настоящему времени получено большое количество разнообразных производных [1-3]. Монотерпеноиды представляют собой летучие компоненты эфирных масел растений и живицы хвойных деревьев, обладающие противовоспалительной, ранозаживляющей, противогрибковой, антибактериальной, анальгетической, антиоксидантной, мембранотропной и мембранопротекторной активностью [1]. Благодаря своим свойствам, монотерпеноиды также представляют интерес для конъюгирования с уже известными лекарственными средствами [4-6].

С другой стороны, открытый в конце 80-х годов прошлого столетия класс бородипиррометеновых красителей (BODIPY) известен своими уникальными физико-химическими свойствами, такими как высокие квантовые выходы флуоресценции и молярные коэффициенты экстинкции. На сегодняшний день они нашли применение в качестве фотосенсибилизаторов, молекулярных зондов в диагностических целях, цитотоксических агентов, а также для визуализации малых молекул в клетках. Данный класс люминофоров также обнаружил возможность для создания на их основе, так называемых, биоконъюгатов, несущих фрагменты как

биологически активного соединения, так и молекулы люминесцентного красителя. Полученные конъюгаты обладают большим потенциалом для применения в медицине не только в качестве диагностических инструментов, но и терапевтических средств [7].

Так, в литературе имеются сведения о конъюгатах бородипиррометеновых люминофоров с различными органическими и неорганическими соединениями. Синтезированы конъюгаты на основе природных соединений, таких как витамины, углеводы, стероиды, липиды, сесквитерпены, дитерпены и тритерпены [7-9]. Вместе с тем до начала наших исследований в литературе отсутствовала информация о конъюгатах люминофоров с монотерпеноидами. Получение конъюгатов на основе биологически активных монотерпеноидов представляет собой интерес не только для визуализации клеток различного типа с целью изучения механизма действия соединений, но и для диагностики патологических процессов.

Целью работы является синтез и исследование нового класса соединений — конъюгатов бородипиррометеновых люминофоров с фрагментами биологически активных монотерпеноидов.

Для достижения цели диссертационного исследования в работе поставлены следующие задачи:

1. Синтез исходных монотерпеноидов для получения конъюгатов, установление их структуры и изучение биологической активности;
2. Разработка синтетических подходов к конъюгатам монотерпеноидов с BODIPY люминофорами различного строения и изучение их спектральных и биологических свойств;
3. Исследование возможности применения конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами BODIPY для визуализации клеток различного типа с целью изучения механизма действия соединений и для диагностики патологических процессов.

Научная новизна. Впервые разработан синтетический подход к получению нового класса соединений — конъюгатов биологически активных

монотерпеноидов с люминофорами. Впервые синтезирована серия конъюгатов на основе *мезо*- и α -замещенных бородипиррометеновых люминофоров, содержащих пинановые и борнановые фрагменты. Установлено, что эффективной каталитической системой в этих синтезах является комплекс реагентов DMAP/HATU/DIPEA.

Синтезированы новые терпеновые соединения на основе соответствующих терпенилбромидов, для получения которых был разработан способ, заключающийся в адаптации реакции Аппеля. Обнаружено, что выполнение реакции без использования растворителя позволяет синтезировать терпенилбромиды с высокими выходами.

Разработан синтетический подход к получению водорастворимых конъюгатов катионного типа. На основе диметиламинопропиламина впервые синтезирована серия четвертичных аммонийных солей с терпеновыми фрагментами, представляющих собой структурные аналоги известного лекарственного средства Мирамистин.

Для ряда терпеновых конъюгатов выполнены биологические исследования, подтверждающие перспективность введения в них пинанового и борнанового фрагментов с целью изучения механизма биологического действия соединений, а также для применения в качестве средств биовизуализации и диагностики патологических процессов.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Разработан эффективный метод синтеза терпеновых конъюгатов на основе *мезо*- и α -замещенных люминофоров, основанный на применении комплекса реагентов DMAP/HATU/DIPEA в различных растворителях.

Разработан способ синтеза терпенилбромидов с высокими выходами (75-91%) в результате адаптации метода Аппеля, заключающийся в выполнении реакции без использования растворителя. На основе полученных терпенилбромидов синтезирована серия новых терпеноидов.

Разработан способ введения фрагмента диметиламинопропиламина в структуру нейтральных конъюгатов для получения водорастворимых соединений.

Установлено, что наличие катионного фрагмента способствует увеличению гидрофильности конъюгатов в ~10-13 раз. В результате разработки синтетического подхода к катионным конъюгатам монотерпеноидов с люминофорами получена серия новых четвертичных аммонийных солей с одним или двумя терпеновыми фрагментами. Полученные соединения обладают выраженной антибактериальной и противогрибковой активностью, превосходящей препарат сравнения Мирамистин.

В результате биологических исследований установлено, что для получения изображений высокого качества конъюгаты должны быть синтезированы на основе люминофора с пропановым линкером в *мезо*-положении; для визуализации бактерий наиболее оптимальным является использование конъюгатов с фрагментом (+)-миртенола, а для воздействия на устойчивые биопленки целесообразно введение катионного фрагмента в структуру соединений; для изучения и воздействия на грибы и опухолевые клетки наиболее перспективным является использование конъюгатов с фрагментом изоборнатиоэтанола. Синтезированные конъюгаты бородипиррометеновых люминофоров с фрагментами биологически активных монотерпеноидов представляют интерес в качестве инструментов для диагностики патологических процессов. Показана возможность использования иодзамещенного конъюгата с фрагментом изоборнантиоэтанола в качестве фотосенсибилизатора в рамках фотодинамической терапии.

Синтезировано 44 новых соединения, включая 18 конъюгатов, перспективных как для разработки новых биологически активных веществ и фотосенсибилизаторов, так и для изучения механизма действия соединений и применения в медицине. Благодаря разработанным синтетическим методикам существует возможность развития исследований в области конъюгатов монотерпеноидов с бородипиррометеновыми люминофорами.

Методология и методы исследования. В работе использованы методы классической и современной органической химии, химии природных соединений. Выделение и очистка синтезированных соединений проводились с использованием

общепринятых методов (колоночная хроматография, экстракция и др.). Строение всех синтезированных соединений подтверждено с использованием спектральных методов исследования: ИК- и ЯМР-спектроскопии (^1H , ^{13}C , ^{11}B , ^{19}F ЯМР, АТР, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H TOCSY, ^1H - ^1H NOESY, ^1H - ^{13}C , ^1H - ^{15}N HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC), масс-спектрометрии высокого разрешения (ESI-HRMS), рентгеноструктурного анализа.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных в работе результатов обеспечивается их воспроизводимостью и систематическим применением комплекса современных спектральных методов анализа, необходимых для установления строения органических соединений. Изучение биологической активности синтезированных соединений выполнено с привлечением многократно апробированных ранее методов оценки ключевых параметров, связанных с характеристикой этих свойств.

Положения, выносимые на защиту:

1. Разработка синтетического подхода к получению конъюгатов *мезо*- и α -замещенных люминофоров BODIPY с биологически активными монотерпеноидами;
2. Разработка методов синтеза к получению конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами BODIPY катионного типа и серии четвертичных аммонийных солей с терпеновым фрагментом;
3. Возможность применения полученных конъюгатов для изучения механизма биологического действия монотерпеноидов и диагностики патологических процессов.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах научно-исследовательского процесса, включая постановку целей и задач, планирование и выполнение химических экспериментов, участие в подготовке научных публикаций по теме исследования. Автором лично проведены все химические эксперименты, выделены, очищены и идентифицированы терпеновые соединения, конъюгаты монотерпеноидов с бородипиррометеновыми люминофорами, проведена обработка, обобщение полученных результатов и

формулирование основных выводов по работе. Автор также принимал участие в проведении биологических испытаний.

Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю заведующей кафедрой общей и органической химии Казанского государственного медицинского университета, д.х.н., профессору, члену-корреспонденту Академии наук Республики Татарстан *Никитиной Лилии Евгеньевне* за наставничество, постоянную поддержку, всестороннюю помощь и неоценимый вклад, внесенный в данную работу и непосредственное развитие личности автора. Особую признательность автор выражает сотрудникам лаборатории химии и молекулярной фотоники дипиррометеновых красителей и люминофоров Института химии растворов им. Г.А. Крестова РАН заведующей лабораторией, д.х.н., профессору, г.н.с. *Антиной Елене Владимировне*, к.х.н., с.н.с. *Гусевой Галине Борисовне*, к.х.н., с.н.с. *Ксенофонтову Александру Андреевичу* и д.х.н., г.н.с. *Березину Михаилу Борисовичу* за предоставление исходных бородипиррометеновых люминофоров и изучение фотохимических свойств синтезированных конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами, сотрудникам лаборатории медицинской химии Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН директору института, заведующей лабораторией, д.х.н., с.н.с. *Рубцовой Светлане Альбертовне*, к.х.н., с.н.с. *Изместьеву Евгению Сергеевичу* и н.с., к.х.н. *Пестовой Светлане Валерьевне* за наработку изоборнантиоэтанола, использованного для получения некоторых конъюгатов с люминофорами, с.н.с. лаборатории органического синтеза и химии природных соединений Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, к.х.н. *Фроловой Ларисе Леонидовне* за получение монотерпеновых спиртов и диолов каранового, пинанового и камфаного рядов.

Отдельную благодарность автор выражает в.н.с. ФБУН Казанского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, доценту кафедры микробиологии имени В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета, к.б.н. *Лисовской Светлане Анатольевне*, сотрудникам кафедры генетики микроорганизмов Института фундаментальной биологии и медицины Казанского (Приволжского)

федерального университета заведующему кафедрой, д.б.н., доценту, члену-корреспонденту Академии наук Республики Татарстан *Каюмову Айрату Рашитовичу* и доценту, к.б.н. *Тризне Елене Юрьевне*, сотрудникам кафедры общей патологии Казанского государственного медицинского университета заведующему кафедрой, д.м.н., профессору, члену-корреспонденту Академии наук Республики Татарстан *Бойчуку Сергею Васильевичу* и доценту, к.м.н. *Галембиковой Айгуль Рафиковне*, м.н.с. отдела радиозкологии Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, к.б.н. *Шевченко Оксане Георгиевне* за биологические исследования синтезированных соединений.

Автор выражает благодарность сотрудникам лаборатории дифракционных методов исследования Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН заведующей лабораторией, к.х.н., с.н.с. *Лодочниковой Ольге Александровне*, к.х.н., м.н.с. *Герасимовой Дарье Павловне* и м.н.с. *Французовой Любви Вадимовне* за выполнение рентгеноструктурного анализа, сотрудникам лаборатории физико-химического анализа Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН заведующему лабораторией, к.х.н., с.н.с. *Бабаеву Василию Михайловичу* и к.х.н., н.с. *Бабаевой Ольге Борисовне* за проведение масс-спектрометрических исследований, сотрудникам кафедры медицинской физики Института физики Казанского (Приволжского) федерального университета д.х.н., профессору *Клочкову Владимиру Васильевичу*, доценту, к.ф.-м.н. *Ефимову Сергею Владимировичу* и доценту, к.ф.-м.н. *Рахматуллину Ильфату Зуфаровичу*, заведующему лабораторией ЯМР-спектроскопии растворов и флюидов Института химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, д.ф.-м.н. *Ходову Илье Анатольевичу* за выполнение ЯМР-спектрометрических исследований, с.н.с. лаборатории элементоорганических соединений Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета, к.х.н. *Давлетшину Рустаму Рифхатовичу* за предоставление возможности выполнения непосредственно автором ИК-спектрометрических и поляризметрических измерений.

Также автор выражает благодарность в.н.с. Казанского (Приволжского) федерального университета, к.х.н. *Павельеву Роману Сергеевичу*, сотрудникам Казанского государственного медицинского университета доценту, к.х.н. *Артемовой Надежде Петровне* и доценту, к.х.н. *Старцевой Валерии Андреевне* за помощь, поддержку и наставления на первых этапах исследовательской деятельности автора.

Апробация результатов. Основные результаты работы представлены на следующих конференциях: XXVI и XXVII Международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов–2019» и «Ломоносов–2020» (Москва, 2019 и 2020), I Межвузовская научно-практическая конференция «Химия в медицине: опыт, проблемы, перспективы» (Тверь, 2020), VII Международный молодежный научный медицинский форум «Белые цветы» (Казань, 2020), V Российская конференция по медицинской химии с международным участием «MedChem-Russia 2021» (Волгоград, 2021), XII Всероссийская научная конференция «Химия и технология растительных веществ» (Киров, 2022), IV Научно-практическая конференция «Синтез и перспективы использования новых биологически активных терпеноидов» (Казань, 2023), Международный форум «Kazan Digital Week 2024» (Казань, 2024), XIII Всероссийская научная конференция «Химия и технология растительных веществ» (Сыктывкар, 2024), Межрегиональная научно-практическая конференция «Фундаментальные и прикладные аспекты современной эпидемиологии и инфекционных болезней» (Казань, 2025).

Публикации по теме диссертации. По материалам диссертации опубликовано 8 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, 13 тезисов докладов на российских и международных конференциях, а также 2 патента на изобретение.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 160 страницах машинописного текста, содержит 30 схем, 61 рисунок, 12 таблиц. Диссертация состоит из введения, литературного обзора (Глава 1), обсуждения результатов (Глава 2), экспериментальной части (Глава 3), основных результатов и выводов,

списка сокращений и условных обозначений, списка литературы (156 наименований). Первая глава посвящена обзору литературы по конъюгатам бородипиррометеновых люминофоров с природными соединениями, их биологической активности и возможностям практического применения, а также структурным особенностям люминофоров и бициклических монотерпеноидов. Вторая глава посвящена изложению и обсуждению результатов собственных исследований. В третьей главе приведены экспериментальные данные и характеристики синтезированных соединений.

Соответствие диссертации паспорту специальности. Изложенный материал и полученные результаты соответствуют паспорту специальности 1.4.3. «Органическая химия» в п. 1 «Выделение и очистка новых соединений», п. 3 «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул», п. 7 «Выявление закономерностей типа «структура — свойство».

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет».

Финансирование. Работа поддержана Российским научным фондом в рамках научного проекта №20-64-47014 «Новые подходы к снижению устойчивости микроорганизмов к антибиотикам при смешанных инфекциях: поиск новых антимикробных субстанций на основе полусинтетических тиотерпеноидов, характеристика молекулярных мишеней и механизмов действия, разработка эффективной системы доставки антимикробных агентов и ее визуализация с помощью конъюгатов с BODIPY-люминофорами». Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности «Природные потенциаторы противомикробных препаратов» (FZSM-2022-0017 и FZSM-2025-0003), а также за счет средств программы развития Казанского государственного медицинского университета в рамках программы «Приоритет-2030» для выполнения научно-исследовательской работы №58-012-2022 «Разработка антитромботических лекарственных средств нового типа на основе серосодержащих монотерпеноидов».

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. БОРОДИПИРРОМЕТЕНОВЫЕ ЛЮМИНОФОРЫ И ИХ КОНЬЮГАТЫ С ПРИРОДНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

В последнее время исследователей в области медицинской химии и фармакологии все больше привлекают так называемые тераностические лекарственные средства, способные выполнять в живом организме одновременно диагностическую и терапевтическую функции. Они используются в качестве люминесцентных красителей, маркеров и сенсоров различных физиологических состояний, а также как молекулярные зонды для визуализации процессов транспорта, локализации и накопления малых молекул в клетках. Вместе с тем они также способны оказывать терапевтический эффект, в частности, как цитостатические агенты или фотосенсибилизаторы.

В качестве таких тераностических средств могут выступать биоконъюгаты [7], содержащие в своей структуре фрагменты биологически активных молекул и люминесцентных красителей, соединенных между собой линкерной (или спейсерной) группой. Линкер может раскрываться *in vivo*, высвобождая при этом молекулы, объединенные в структуре биоконъюгата. В некоторых случаях флуоресцентно меченые конъюгаты синтезируются для изучения механизма действия биологически активных соединений. Так, для конъюгирования с красителями могут быть использованы различные классы неорганических и органических соединений, включая и природные вещества, известные своим широким спектром биологической активности.

Терпены и терпеноиды, являясь вторичными метаболитами растений, представляют собой класс природных соединений, состоящих из остатков изопрена. В зависимости от их количества выделяют следующие подклассы терпенов: монотерпены, сексвитерпены, дитерпены, тритерпены и политерпены. К настоящему времени нашей научной группой накоплен большой синтетический опыт получения серосодержащих монотерпеноидов и значительный объем данных

об их биологической активности — противогрибковой, антибактериальной, противовоспалительной, антиоксидантной, мембранотропной и мембранопротекторной активности [1]. Однако механизм их действия до сих пор остается недостаточно хорошо изученным, что делает перспективным проведение исследований в этой области путем создания флуоресцентно меченых монотерпеноидов.

Фрагмент люминесцентного красителя обеспечивает визуальный контроль над процессами адресной доставки, избирательного накопления и локализации биоактивных молекул в клетках. В ряде случаев люминофоры способны также оказывать или усиливать терапевтический эффект за счет придания биоконъюгату новых свойств.

Так, бородипиррометеновые люминофоры обладают уникальными физико-химическими свойствами, такими как высокие квантовые выходы флуоресценции в видимом и ближнем ИК диапазоне и молярные коэффициенты экстинкции, какими и должны обладать тераностические лекарственные средства. При этом они также обладают требуемой фото-, рН- и термостабильностью и не оказывают токсического действия на здоровые клетки. Они перспективны для применения не только в качестве сенсоров и инструментов для биовизуализации, но и как средств для терапии патологических процессов.

В данной главе представлены сведения о конъюгатах бородипиррометеновых люминофоров с различными классами природных соединений. Кроме того, рассмотрены синтез замещенных люминофоров, а также структурные особенности и изомерные превращения бициклических монотерпенов.

1.1. Особенности строения и синтез замещенных люминофоров

Особенностью молекулярного дизайна бородипиррометеновых (BODIPY) люминофоров является возможность введения в ароматическую систему

алкильных или арильных фрагментов, несущих терминальную реакционноспособную группу и изменяющих электронные и физико-химические свойства красителя [10]. Как правило, такие спейсерные фрагменты вводятся либо в *мезо*-положение индаценовой структуры, либо в одно из положений пиррольных циклов (Рис. 1.1). Известно, что *мезо*-положение наиболее чувствительно к эффекту заместителя вследствие конформационных влияний, определяя липофильность, реакцию красителя на свойства окружающей среды и квантовые выходы флуоресценции [11].

Введение заместителей в α - или β -положения люминофора позволяет управлять фотохимическими свойствами молекулы, например, обуславливать красный или синий сдвиг в спектрах поглощения и излучения [12]. Красители со спектральными характеристиками в красной области спектра, в отличие от молекул, излучающих в синем или зеленом свете, представляют больший интерес для исследователей благодаря снижению фонового шума, низкой степени автофлуоресценции, высокой фотостабильности и лучшему проникновению в ткани [13].

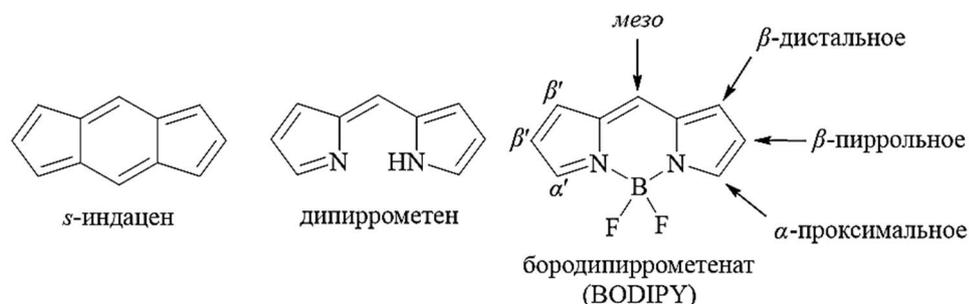


Рис. 1.1. Структурные формулы *s*-индацена, дипиррометена, люминофора BODIPY и положения в его структуре для введения заместителей

Так, в 2006 году были получены новые *мезо*-замещенные люминофоры с различной длиной спейсерной группы [14], а позднее научной группой проф. Антиной Е.В. были синтезированы и подробно изучены свойства *мезо*-замещенных соединений **6** и **7**, содержащих остатки метиловых эфиров пентановой ($n = 3$) и бутановой ($n = 2$) кислот [15,16]. Эти соединения были использованы нами для синтеза первых конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами.

Синтез соединений **6** и **7** включает конденсацию 2,4-диметилпиррола **1** с моноэфирами хлоридов дикарбоновых кислот **2** и **3**, с последующим координированием промежуточных красителей **4** и **5** эфиром трехфтористого бора в условиях катализа триэтиламино (TEA) (Схема 1.1).

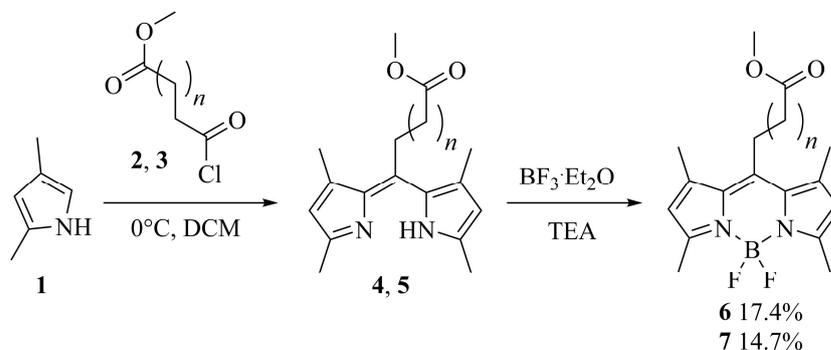


Схема 1.1

Аналогично получают α - и β -замещенные люминофоры, например, соединения **10**, **13**, **16** (Схема 1.2) [17-19]. Некоторые красители BODIPY также являются коммерчески доступными реагентами [20].

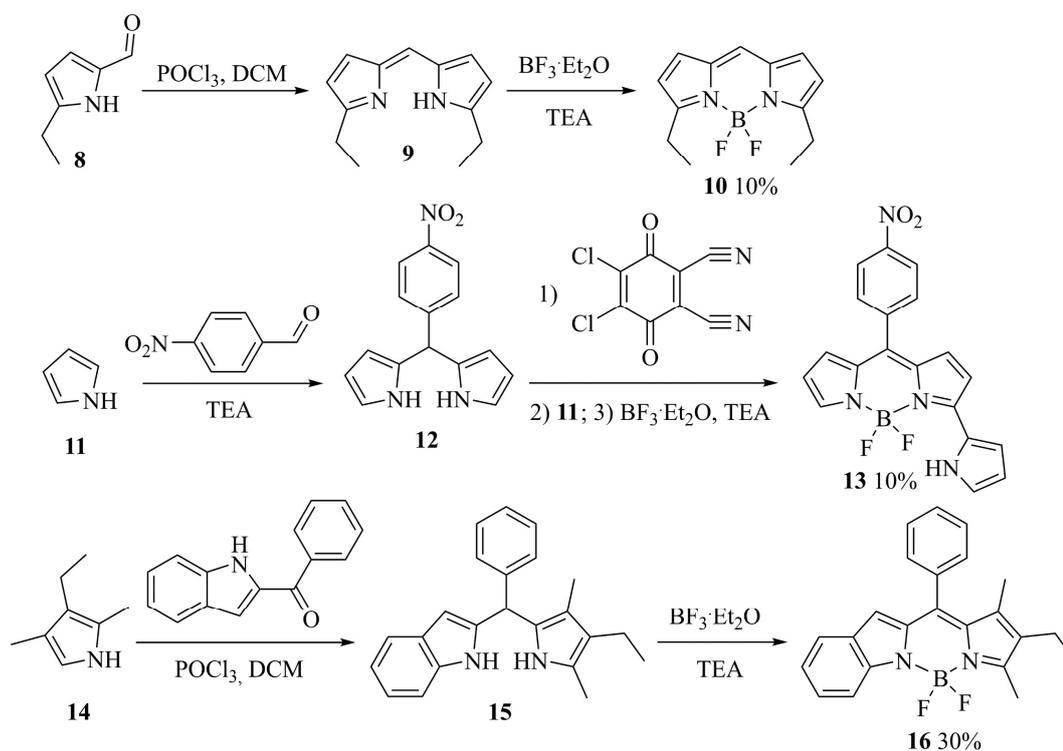


Схема 1.2

В настоящее время многие люминесцентные красители, в том числе и бородипиррометеновые люминофоры, обнаруживают возможность применения в

качестве фотосенсибилизаторов [21,22], генерирующих синглетный кислород и свободные радикалы в результате электронного возбуждения (Рис. 1.2).

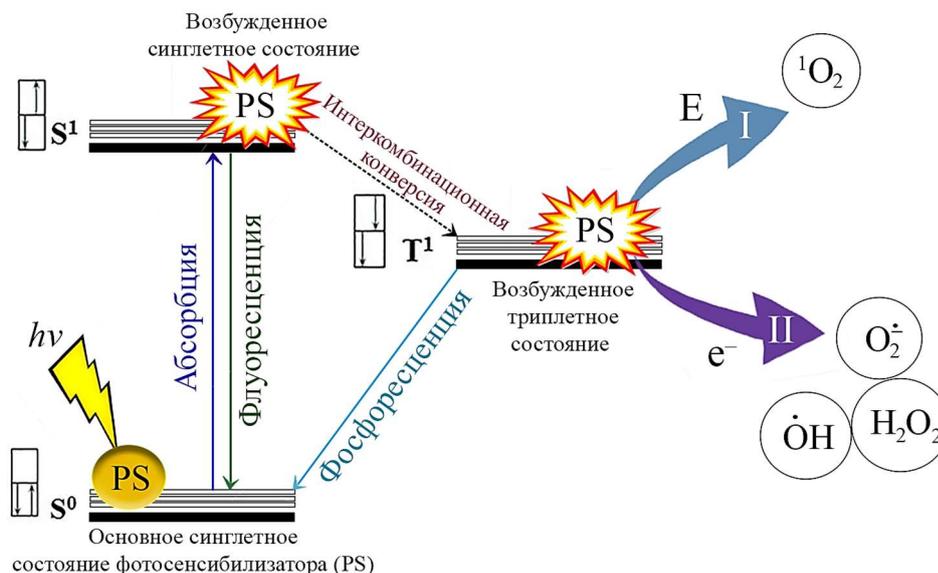


Рис. 1.2. Диаграмма Яблонского, иллюстрирующая общие электронные переходы в молекулах красителей-фотосенсибилизаторов

Синглетный кислород — одна из наиболее распространенных активных форм кислорода, продуцируемых клетками аэробных организмов. Он образуется в результате фотохимической, термической, химической или ферментативной активации молекулы кислорода, однако наибольший выход достигается при реакции фотосенсибилизации. В этом случае молекула красителя-фотосенсибилизатора сначала возбуждается светом, а затем передает энергию молекуле кислорода в основном состоянии, что приводит к образованию синглетного кислорода (тип I) и свободных радикалов (тип II) — чрезвычайно реакционноспособных окислителей, цитотоксичных для большинства биологических объектов [21,23].

Фотосенсибилизаторы, эффективно генерирующие синглетный кислород, широко используются в фотодинамической терапии для уничтожения опухолевых клеток, антибиотикорезистентных бактерий, простейших и грибов. Исследования в этой области направлены на поиск альтернативных методов лечения, учитывая растущую устойчивость патогенов к известным химиотерапевтическим

препаратам. В отличие от многих методов, фотодинамическая терапия не опирается на подходы клеточной биологии или таргетной фармакологии [23].

Увеличить квантовый выход генерации синглетного кислорода фотосенсибилизатором возможно за счет повышения вероятности нерадиационной интеркомбинационной конверсии между уровнями основного и триплетного состояний (Рис. 1.2). Наибольший эффект при этом достигается при введении тяжелых атомов непосредственно в структуру люминофора [21].

Благодаря легкости модификации молекул BODIPY можно вводить не только различные углеводородные фрагменты в индаценовую систему, но и тяжелые атомы галогенов в β -положения пиррольных колец. Например, при взаимодействии люминофора **17** с галогенирующими агентами образуются структуры **18-20**, содержащие атомы галогенов в обоих β -положениях (Схема 1.3) [24]. Известно, что введение одного или двух атомов галогенов в эти положения не только вызывает батохромный сдвиг максимумов поглощения и излучения, но и существенно увеличивает квантовый выход генерации синглетного кислорода [21].

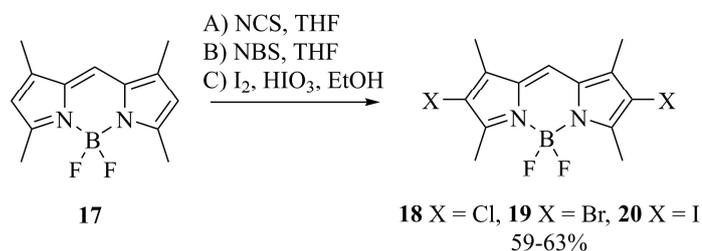


Схема 1.3

Таким образом, химическая универсальность структуры бородипиррометеновых люминофоров позволяет получать красители с заданными физико-химическими свойствами. В частности, введение атомов галогенов способствует увеличению квантового выхода генерации синглетного кислорода — высокоактивного окислителя. Это открывает возможности применения люминофоров BODIPY не только в диагностических целях, но и для терапии грибковых и бактериальных инфекций и опухолевых заболеваний в рамках фотодинамической терапии.

1.2. Конъюгаты люминофоров с природными соединениями

Благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам и возможности тонкой настройки молекулярной структуры под конкретные практические задачи, бородипиррометеновые красители представляют значительный интерес в качестве молекулярных зондов в диагностических целях, фотосенсибилизаторов и цитотоксических агентов, а также для визуализации малых молекул в клетках. В частности, люминофоры, поглощающие и излучающие в видимой области спектра, способны переходить в возбужденное состояние, локализуясь в ближних подкожных слоях, а соединения со спектральными характеристиками в ближней ИК-области, так называемого «фототерапевтического окна» (650-900 нм) [22], способны генерировать синглетный кислород в более глубоких слоях эпидермиса.

В настоящее время люминофоры BODIPY широко применяются для создания биоконъюгатов — соединений, содержащих фрагменты биологически активного вещества и люминесцентного красителя. Так, исследователями во всем мире синтезированы многочисленные конъюгаты не только в целях изучения или уточнения механизма действия соединений, но и для создания на их основе новых диагностических и терапевтических средств. Наибольший интерес представляет синтез конъюгатов на основе природных соединений, обладающих широким спектром биологической активности и выполняющих жизненно важные функции.

1.2.1. Конъюгаты с витаминами

В 2007-2010 годах были получены производные **21-23** с фрагментами люминофоров BODIPY и *R*-токоферола (Рис. 1.3) [25,26] Соединения **21** и **22** имели в качестве линкера сложноэфирную группировку, тогда как конъюгат **23** — метиленовый мостик. Все изученные соединения проявили антиоксидантные

свойства и высокий квантовый выход флуоресценции. Установлено, что замена сложноэфирной группы на углеводородный линкер не оказывает влияния на окислительные-восстановительные свойства фрагмента витамина.

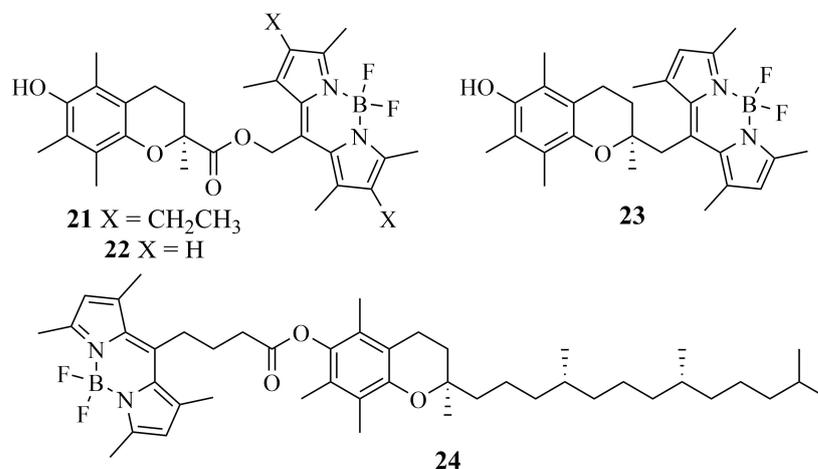


Рис. 1.3. Структуры конъюгатов **21-24** с витамином E

Позднее было синтезировано соединение **24**, в котором фрагмент витамина E выполняет роль эффективного липидного якоря при спонтанном образовании наноэмульсий (Рис. 1.3) [27]. Этот краситель обладает высокими значениями молярных коэффициентов экстинкции, квантовых выходов флуоресценции и липофильности.

Для изучения локализации и внутриклеточного транспорта витамина E были получены соединения **25-27** на основе R-токоферола с C₆-, C₇- или C₈-углеводородным линкером (Рис. 1.4) [28]. Установлено, что для оптимального связывания с белками-переносчиками синтезированные соединения не должны содержать полярных групп в спейсере. Наибольшее сродство к природному лиганду обнаружил конъюгат **27** с октановым линкером.

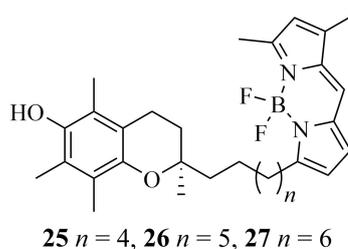


Рис. 1.4. Структуры конъюгатов **25-27** с витамином E

Также были синтезированы другие конъюгаты витамина E, использованные как флуорогенные антиоксиданты митохондрии [29]. Эти соединения содержат в своей структуре не только фрагменты α -токоферола и люминофора, но и заместитель, определяющий тропность красителя к митохондриям (Рис. 1.5). Показано, что конъюгаты **28-31** обладают биологическими свойствами, схожими с природным α -токоферолом. При этом соединения **29** и **31**, содержащие фосфониевую метку, преимущественно накапливаются во внутренней мембране митохондрий.

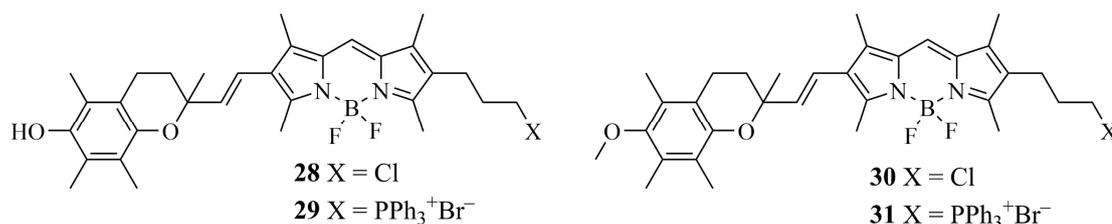


Рис. 1.5. Структуры конъюгатов **28-31** с витамином E

Для изучения дыхательной цепи митохондрий в 2016 году был синтезирован краситель **32**, содержащий фрагмент убихинона (Рис. 1.6) [30]. Характерная особенность данного соединения — способность контролировать люминесценцию: при восстановлении фрагмента убихинона флуоресценция «включается», а при окислении — «выключается». Восстановленная форма **33** проявляет интенсивную флуоресценцию в неполярных растворителях, что позволяет использовать ее для разработки чувствительных зондов и исследования окислительно-восстановительных реакций в неполярных средах.

В том же году получено соединение **34** на основе витамина K (Рис. 1.6) [31]. Подобно красителю **32**, этот конъюгат обладает способностью контролировать флуоресценцию, однако его чувствительность в неполярных средах оказалась гораздо выше.

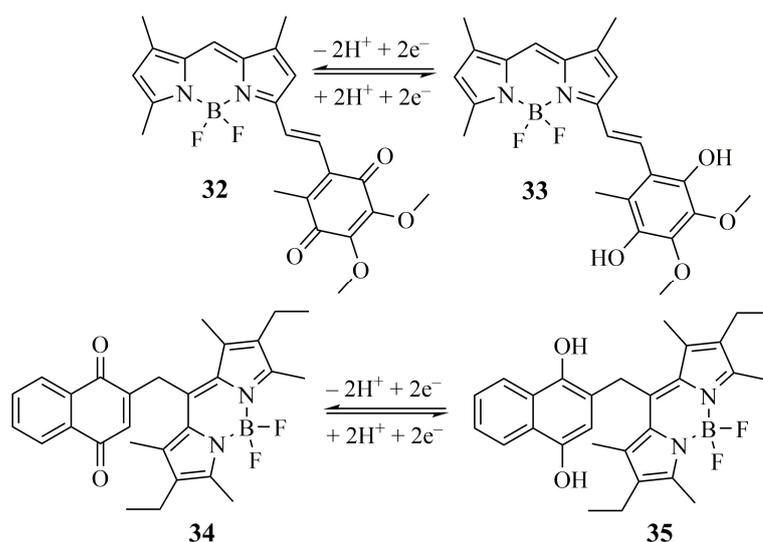


Рис. 1.6. Окисленные и восстановленные формы конъюгатов **32-35**

Для изучения транспорта и накопления витамина В₁₂ был синтезирован его конъюгат **36** (Рис. 1.7) [32]. Обнаружено, что краситель **36**, в отличие от исходного люминофора, способен абсорбироваться и накапливаться внутри клеток аналогично природному витамину. Поэтому исследователями предложена возможность использования соединения **36** в качестве флуоресцентного зонда для изучения внутриклеточного поведения при аномальном потреблении витамина В₁₂.

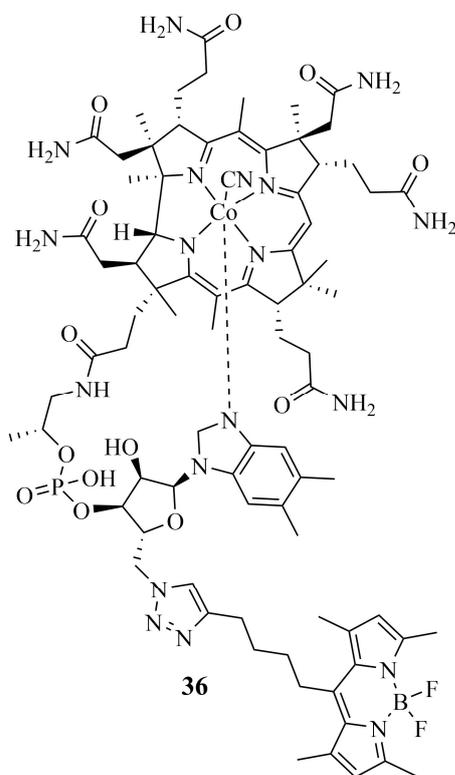


Рис. 1.7. Структура конъюгата **36** с витамином В₁₂

Для повышения селективности красителей-фотосенсибилизаторов к опухолевым клеткам был получен многокомпонентный конъюгат **37** с фрагментом биотина (Рис. 1.8) [33]. Установлено, что введение фрагмента витамина увеличивает накопление соединения в некоторых видах онкологических клеток и способствует его связыванию с ДНК. Структурной особенностью соединения является наличие дисульфидной связи. При изучении флуоресценции красителя **37** в присутствии глутатиона, моделирующего внутриклеточную среду, было зафиксировано постепенное изменение спектра излучения, что, по мнению авторов работы, связано с разрывом дисульфидной связи и образованием отдельных флуоресцентных фрагментов.

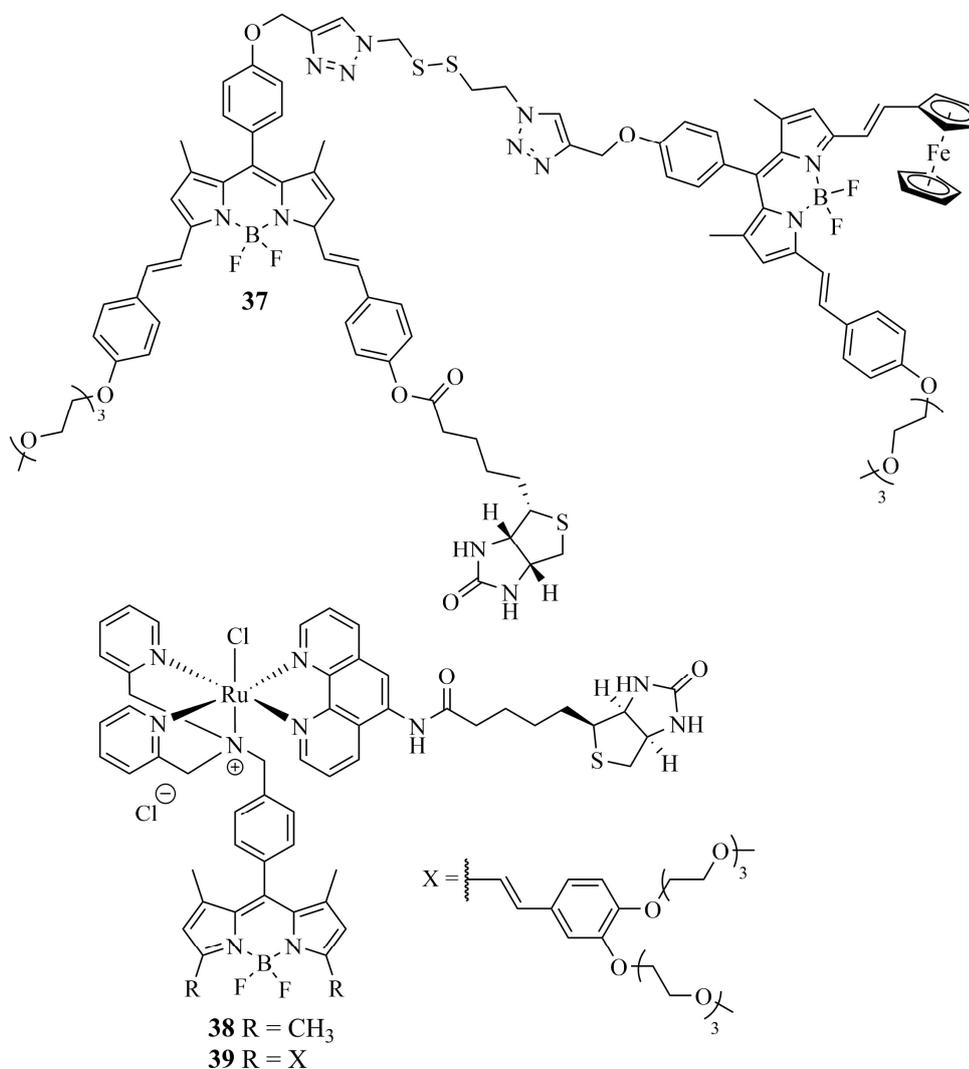


Рис. 1.8. Структуры конъюгатов **37-39** с биотином

Эффективность введения фрагмента биотина для повышения селективности к опухолевым клеткам подтверждена и в 2020 году, когда были исследованы многокомпонентные комплексы рутения (II) [34]. Конъюгаты **38** и **39** (Рис 1.8), содержащие фрагмент биотина, обладали высокой фототоксичностью, тропностью к опухолевым клеткам и большим сродством к ДНК, по сравнению с конъюгатами без витамина. Для соединения **39** также установлены высокие квантовые выходы генерации синглетного кислорода.

1.2.2. Конъюгаты с углеводами

В обзоре итальянских ученых, опубликованным в 2022 году [8], подробно рассмотрены методы синтеза и биологические свойства конъюгатов люминофоров BODIPY, содержащих гликозидные фрагменты и супрамолекулярные углеводные системы. Было показано, что объединение люминофоров с сахарами придает красителям уникальные структурные и биологические свойства, увеличивая их полярность и растворимость в воде. Углеводный фрагмент служит также элементом для специфического распознавания синтезированных зондов, а стереохимия гидроксильных групп играет ключевую роль в организации фотоактивных субъединиц, что приводит к формированию функциональных супрамолекулярных комплексов.

Так, были получены соединения **40-42**, содержащие остатки глюкозы и маннозы (Рис. 1.9) [35,36]. Для конъюгата **40** с глюкозой наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции при взаимодействии с белковыми олигомерами и созревшими амилоидными фибриллами инсулина, что свидетельствует о перспективности данного красителя для прямой визуализации этих структур *in vivo*. В то же время конъюгат **42** с маннозой эффективно абсорбируется иммунными клетками, локализуясь в эндосомальных мембранах.

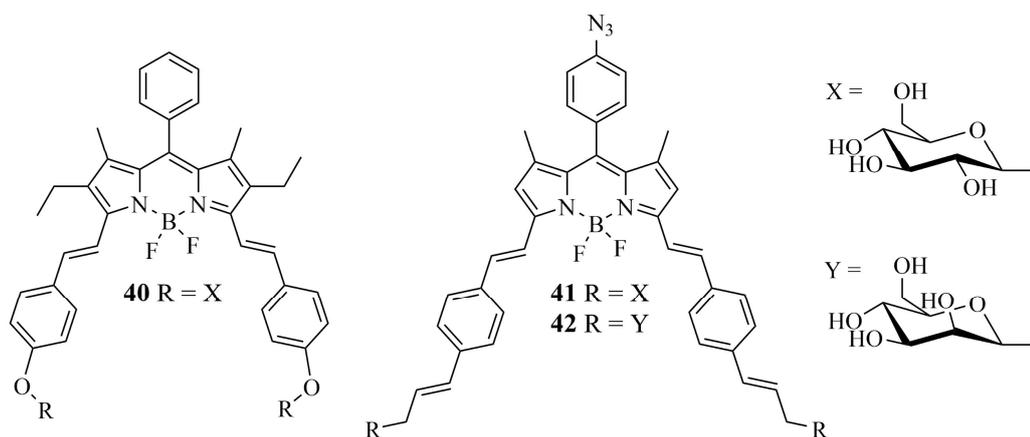


Рис. 1.9. Структуры конъюгатов **40-42** с глюкозой и маннозой

Кроме того, было синтезировано соединение **43**, представляющее собой хитозановую нанокapsулу с фрагментом люминофора и аптамера AS1411 (Рис. 1.10) [37]. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что данный краситель не токсичен для здоровых клеток и может применяться в качестве диагностического агента для флуоресцентной визуализации опухолевых клеток.

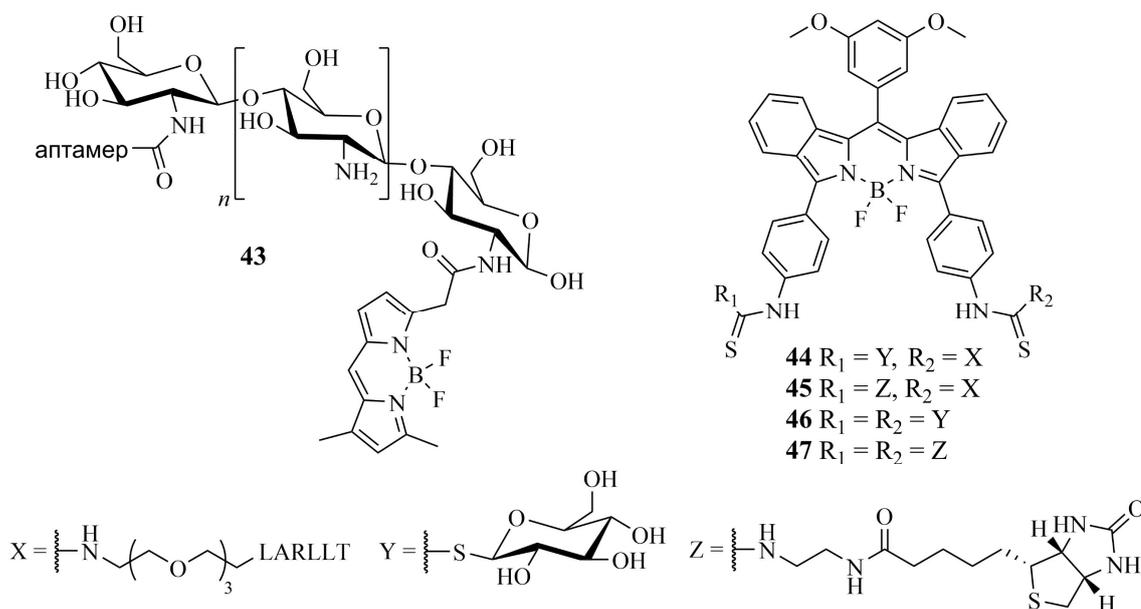


Рис. 1.10. Структура конъюгатов **43-47**

Были получены четыре конъюгата **44-47** с разнообразными биоактивными фрагментами (Рис. 1.10) [38]. В соединениях **46** и **47** в качестве заместителей при структуре люминофора присутствуют остатки тиоглюкозы и этилендиаминобиотина соответственно. Конъюгаты **44** и **45**, дополнительно содержат модифицированный полиэтиленгликолем эпидермальный фактор роста

LARLLT. Все перечисленные соединения способны поглощать ИК-излучение ближнего спектра и обладают низкой токсичностью. Исследования внутриклеточной локализации в клетках рака толстого кишечника показали, что красители с LARLLT селективно связываются с рецепторами эпидермального фактора роста клеток.

1.2.3. Конъюгаты с липидами и стероидами

В 2019 году были синтезированы соединения **48** и **49**, отличающиеся длиной линкера между фрагментами холестерина и люминофора BODIPY (Рис. 1.11) [39]. Установлено, что соединение **48** способно проникать внутрь и накапливаться в жировых каплях клеток HeLa и CHO, тогда как конъюгат **49** с длинным линкером обнаруживается преимущественно на поверхности клеток, предположительно окрашивая богатые холестерином мембраны.

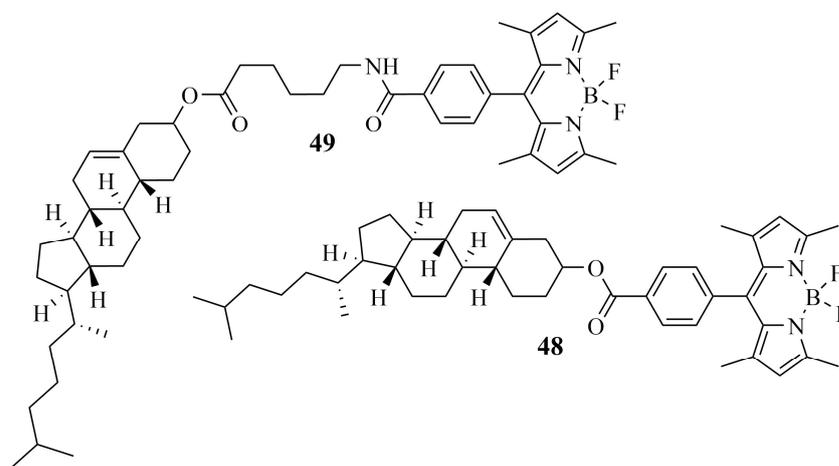


Рис. 1.11. Структуры конъюгатов **48** и **49** с холестерином

Другие красители **50** и **51** с фрагментами холестерина (Рис. 1.11) показали перспективность для биовизуализации распределения, транспорта липидов, а также для изучения влияния холестерина на модельные мембраны и клетки [40].

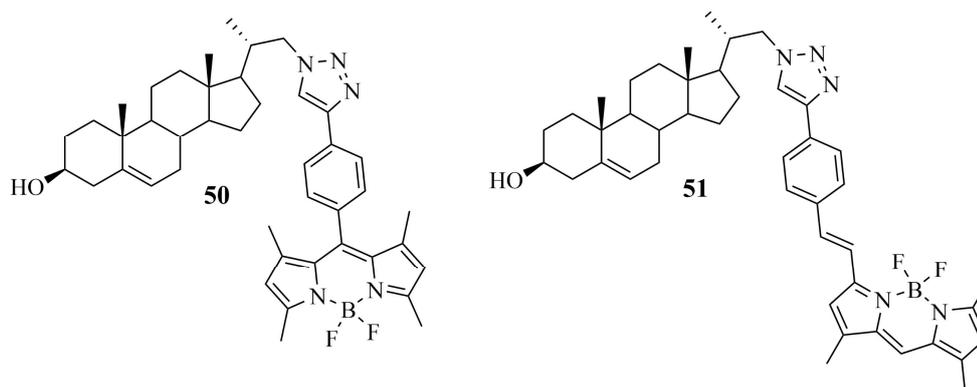


Рис. 1.12. Структуры конъюгатов **50** и **51** с холестерином

Кроме того, был получен конъюгат **52** с фрагментом фосфолипида (Рис. 1.13) [41]. Исследования показали, что краситель **52** способен самостоятельно собираться в липосомальные наночастицы (везикулы). При изучении возможностей для биовизуализации *in vivo* конъюгат **52** был обнаружен в клетках ортотопической опухоли простаты спустя 24 часа после внутривенного введения.

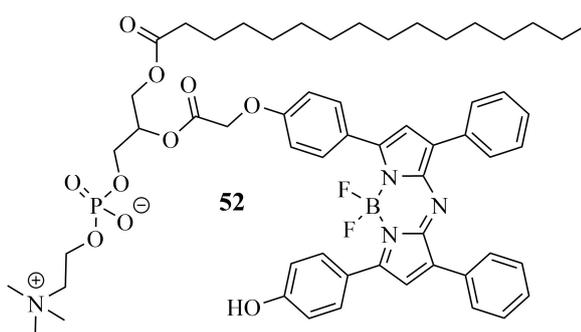


Рис. 1.13. Структура конъюгата **52** с фосфолипидом

Также была исследована серия конъюгатов **53-57**, содержащих фрагменты фосфатидилхолина **53-55**, сфингомиелина **56**, галактоцерамида **57** и люминофора с различной длиной линкера (Рис. 1.14) [14]. Все эти соединения имеют схожие спектральные свойства и способны интегрироваться в искусственно приготовленные липосомы. Конъюгат **56** был также использован в цитологических исследованиях для специфической визуализации некоторых органелл в нейтрофилах.

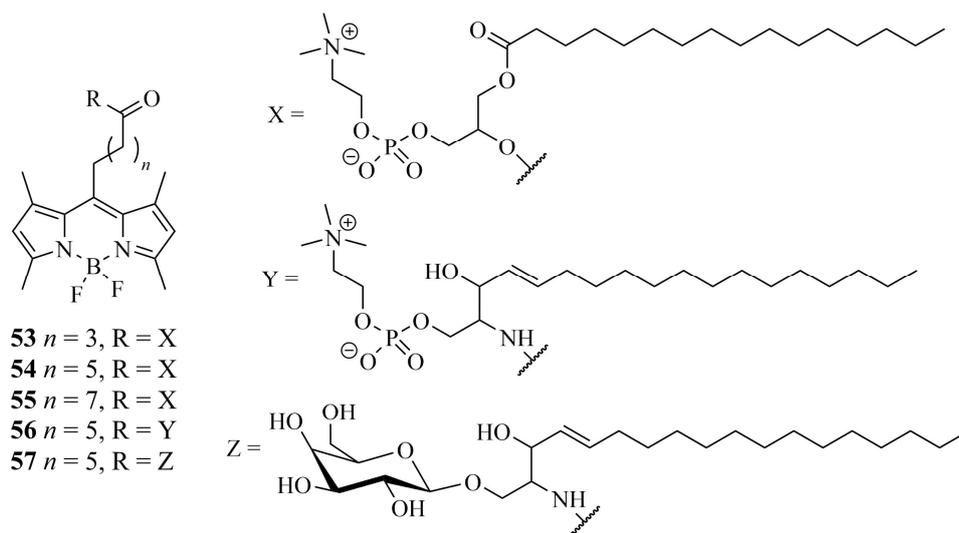


Рис. 1.14. Структуры конъюгатов **53-57** с липидами

В 2012 году было изучено соединение **58** с фрагментом эстрадиола (Рис. 1.15) [42]. Было показано, что этот краситель обладает гормональной активностью и локализуется в ядрах исследуемых клеток, что делает его перспективным для визуализации чувствительных к эстрадиолу клеток.

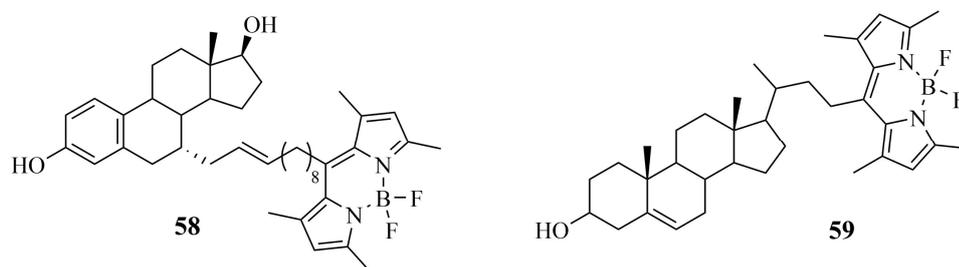


Рис. 1.15. Структуры конъюгатов **58** и **59**

Кроме того, получено соединение **59**, которое способно окрашивать мембраны и внутриклеточные жировые капли микобактерий туберкулеза (Рис. 1.15) [43]. Этот краситель может быть использован в качестве молекулярного зонда для изучения клеток микробактерий, что также может способствовать поиску новых противотуберкулезных препаратов.

В 2018 году исследованы конъюгаты **60** и **61** с фрагментом 17- α -этинилэстрадиола (Рис. 1.16) [44]. Установлено, что они не проявляют токсичности по отношению к здоровым клеткам, а соединение **61**, содержащее триэтиленгликолевый фрагмент, отличается хорошей растворимостью в воде. Более того, оказалось, что с помощью красителя **61** можно различать подтипы рака

молочной железы, что делает его потенциальной альтернативой для иммуногистохимического анализа без применения дорогостоящих и термолабильных антител.

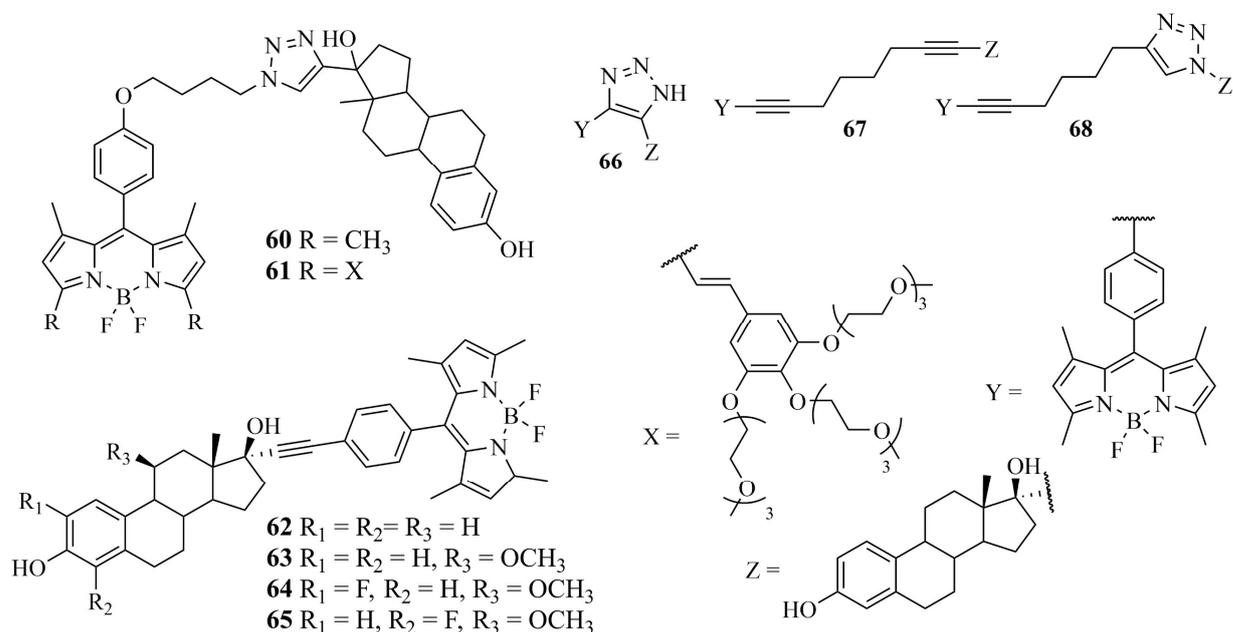


Рис. 1.16. Структуры конъюгатов **60-68** с эстрадиолом

В серии соединений **62-68**, содержащих фрагмент эстрадиола (Рис. 1.16) [45], было установлено, что красители **62-64** не связываются с рецепторами эстрадиола *in vitro*, а конъюгат **65** демонстрирует слабую аффинность. Введение линейного углеводородного линкера между фрагментами эстрадиола и люминофора усиливает связывание, причем максимальная аффинность наблюдается у красителя **67**. Это позволило предположить, что полярный триазоловый фрагмент в линкере способен вмешиваться во взаимодействие конъюгатов с рецепторами.

1.2.4. Конъюгаты с другими природными соединениями

Куркумин известен своими противоопухолевыми свойствами, что обусловлено подавлением ангиогенеза в опухолевой ткани. Он не токсичен для здоровых клеток и способен повышать эффективность химиотерапии. Поэтому

были синтезированы трехкомпонентные конъюгаты **69-72** куркумина на основе оксида ванадия (IV), включающие фрагменты дипиколиламина и люминофоров BODIPY с атомами иода в β -положениях и без них [46] (Рис. 1.17). Исследования показали, что эти соединения преимущественно накапливались в митохондриях опухолевых клеток, причем наибольшую фототоксичность проявил галогензамещенный конъюгат **72**. Следует отметить, что галогензамещенные соединения **71** и **72** были менее стабильны по сравнению с красителями **69** и **70**.

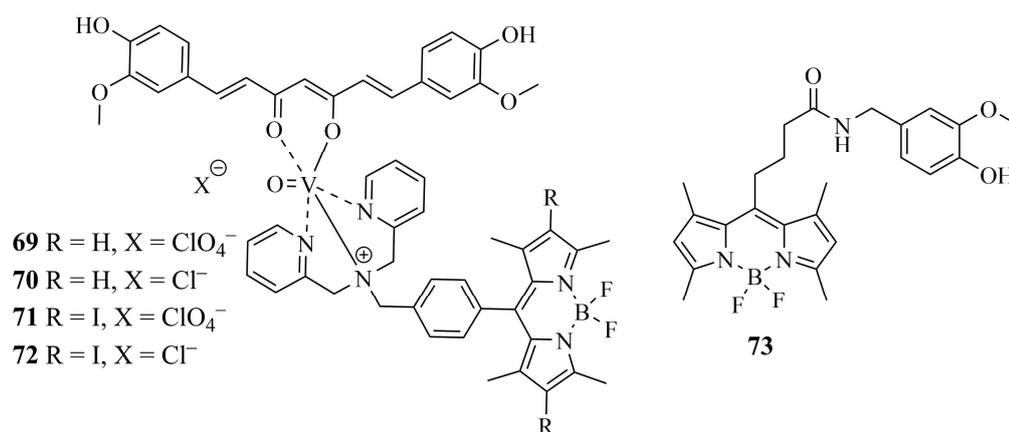


Рис. 1.17. Структуры конъюгатов с куркумином **69-72** и капсаицином **73**

Другим природным веществом с противоопухолевой активностью является капсаицин. В 2018 году исследовалась возможность повышения его противоопухолевой эффективности за счет улучшения проникающей способности и степени задержки в клетках [47]. Для этого был синтезирован конъюгат **73** (Рис. 1.17), который в водной среде способен собираться в глобулярные наноструктуры, разрушавшиеся после проникновения в клетку. Образование наноструктур повышало накопление красителя в опухолевой ткани, что позволило снизить эффективную концентрацию в два раза при сохранении уровня противоопухолевой активности, сравнимого с исходным капсаицином.

Кроме того, был изучен кумариновый краситель **74**, содержащий фрагменты люминофора и триарилфосфина (Рис. 1.18) [48]. Установлено, что соединение **74** обладает чувствительностью к биогенному азанону.

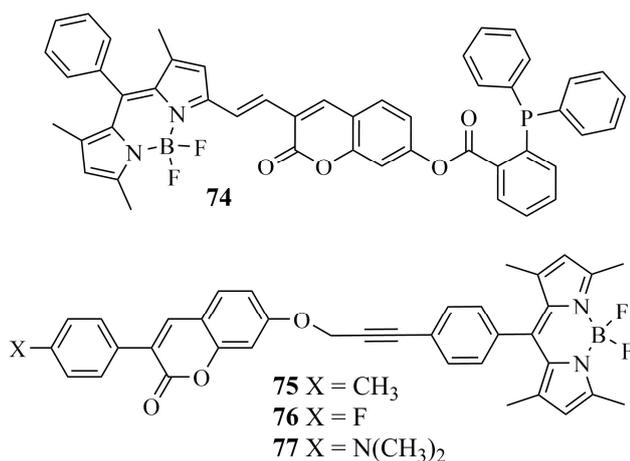


Рис. 1.18. Структуры конъюгатов с кумарином **74-77**

Позднее были синтезированы и другие кумариновые красители **75-77** с фрагментом BODIPY, содержащие заместители с электронодонными или электроноакцепторными свойствами (Рис. 1.18) [49]. Было показано, что введение метильной группы или атома фтора не влияет на квантовые выходы флуоресценции, тогда как введение фрагмента диметиламина приводит к снижению интенсивности максимумов излучения и квантовых выходов флуоресценции. Для красителя **77** было также установлено образование крупномасштабных доменов в тонкой пленке из-за ее кристаллического поведения. Соединения **75-77** являются перспективными для использования как биосенсоры и для обнаружения опухолей.

1.2.5. Конъюгаты с терпенами

В обзоре чешских ученых, опубликованном в 2024 году [9], подробно рассмотрены конъюгаты люминофоров BODIPY с терпеновыми соединениями. Следует подчеркнуть, что раздел, посвященный конъюгатам с монотерпенами и монотерпеноидами, был представлен только результатами, изложенными в настоящей диссертационной работе. Поэтому здесь будут рассмотрены конъюгаты с сесквитерпенами, дитерпенами и тритерпенами.

Сесквитерпеновый лактон тапсигаргин известен противоопухолевой активностью, обусловленной подавлением кальцевой АТФазы саркоплазматического или эндоплазматического ретикулума, регулирующей высвобождение кальция в клетке [50]. На его основе был получен коммерчески доступный молекулярный зонд **78** с люминофором BODIPY (Рис. 1.19), активно применяемый для исследований в этой области [51-55].

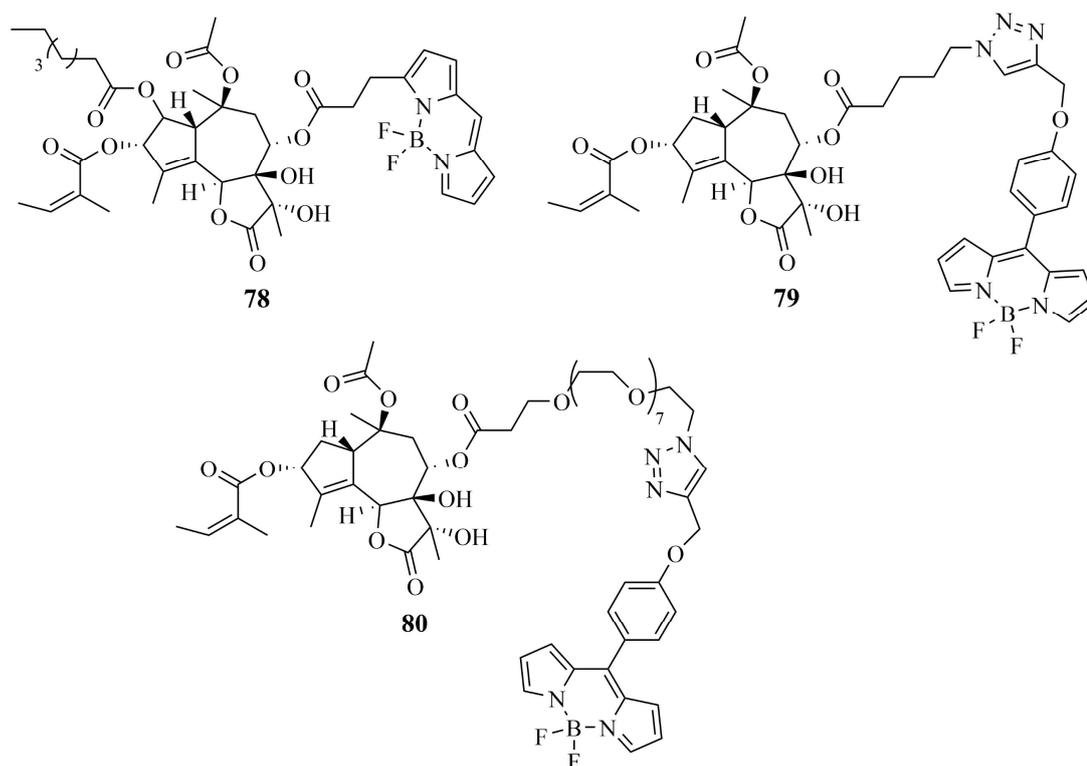


Рис. 1.19. Структуры конъюгатов **78-80** с сесквитерпеноидами

Синтезирована серия конъюгатов с сесквитерпеноидом трилоболоидом — аналогов конъюгата **78** с различными линкерами [56]. Исследования показали, что только соединения **79** и **80** (Рис. 1.19) обладают биологической активностью и локализуются в эндоплазматическом ретикулуме изученных клеточных линий. Конъюгаты **79** и **80** способствуют высвобождению оксида азота (I) в онкоклетках и первичных иммунных клетках, секреции цитокинов в последних, а также фрагментации митохондриальной цепи, что делает эти соединения перспективными для изучения механизма действия трилоболоида.

Дитерпеноид паклитаксел — известный антимиотический препарат, используемый в химиотерапии злокачественных опухолей. Его механизм действия

основан на образовании и стабилизации микротрубочек из тубулиновых димеров, что препятствует нормальному митотическому делению [57]. Однако высокая токсичность и низкая водорастворимость ограничивают клиническое применение паклитаксела, вследствие чего активно разрабатываются его аналоги, включая наночастицы и конъюгаты с люминофорами BODIPY [58].

В 2018 году был синтезирован краситель **81** со спектральными характеристиками в ИК области (Рис. 1.20) [59]. Для него обнаружена способность образования стабильных и однородных наночастиц, оказывающих терапевтический эффект в клетке. Наночастицы демонстрировали интенсивную флуоресценцию и длительное накопление в опухолевых клетках, что делает конъюгат **81** перспективным для диагностики и терапии опухолей.

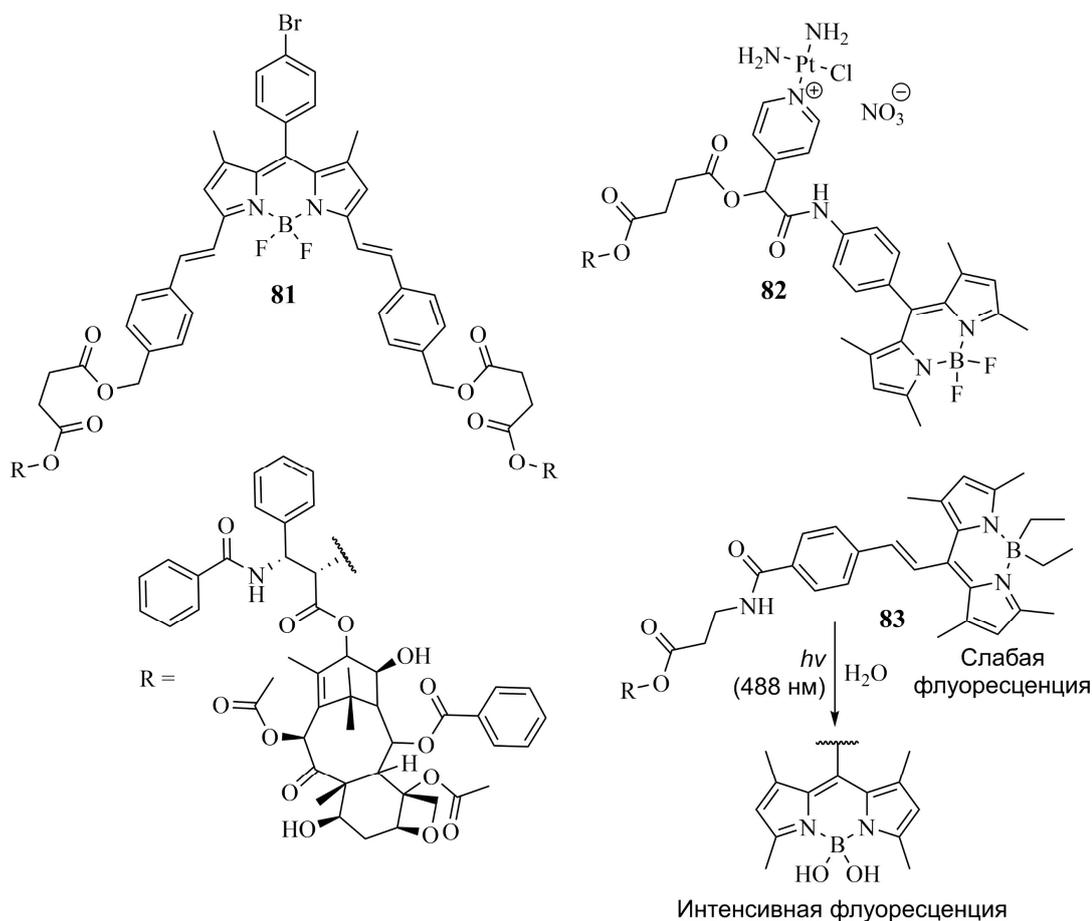


Рис. 1.20. Структуры конъюгатов **81-83** с дитерпеноидом паклитакселом

Также был получен и исследован трехкомпонентный дифильный конъюгат **82** (Рис. 1.20), содержащий фрагменты паклитаксела, люминофора и платиновый компонент [60]. Он формирует стабильные в водной среде сферические

наночастицы со спектральными характеристиками в красной области. После получасовой инкубации наночастицы визуализировались внутри онкоклеток и проявляли цитостатический эффект, подтверждая потенциал дифильных красителей для визуализации и лечения опухолевых заболеваний.

С целью получения изображений микротрубочек тубулина в сверхвысоком разрешении был синтезирован конъюгат **83**, активируемый видимым светом (Рис. 1.20) [61]. Особенностью этого зонда является возможность легко связываться с молекулами, содержащими нуклеофильные группы, что расширяет возможности его применения для визуализации клеточных органелл и биологических мишеней.

Тритерпеноиды обладают широким спектром биологической активности [62-67], что делает их перспективными синтонами для конъюгирования с люминофорами BODIPY с целью изучения механизмов действия соединений и усиления терапевтических свойств.

Синтезирована серия конъюгатов на основе бетулиновой кислоты с различными линкерами в трех положениях тритерпенового цикла [68]. Однако цитотоксический эффект проявлял только краситель **84** (Рис. 1.21), что позволило предположить, что наиболее перспективным является введение спейсерной группы между кольцами D и E, тогда как фармакофорная группа находится в кольце А.

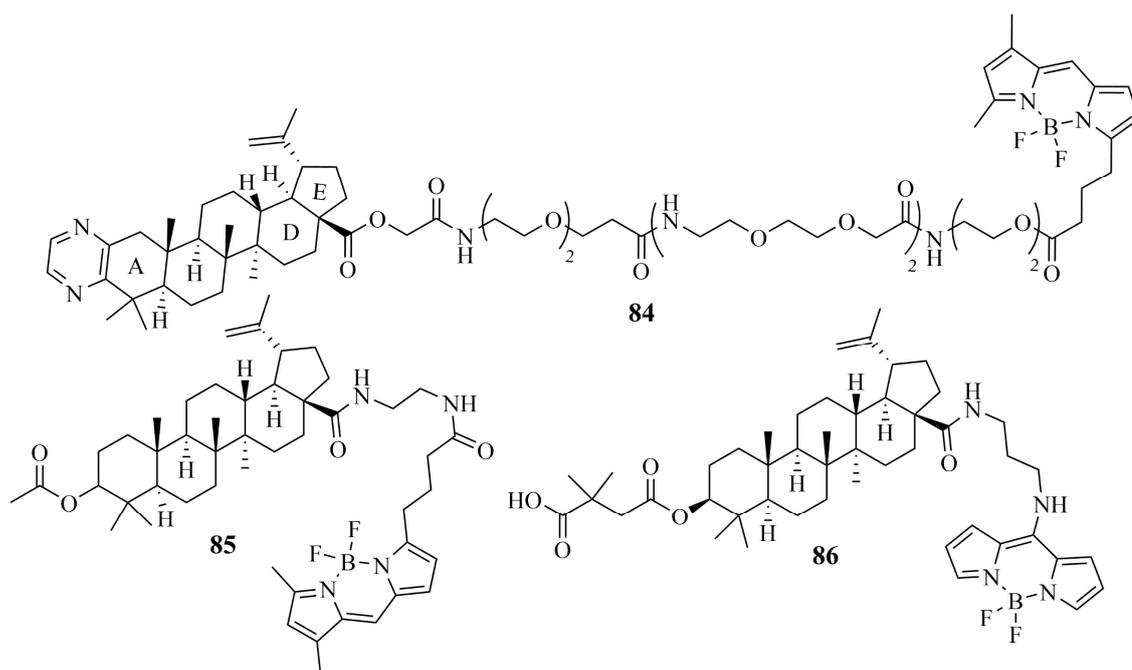


Рис. 1.21 Структуры конъюгатов **84-86** с тритерпеноидами

В 2020 году была получена и изучена серия конъюгатов на основе бетулиновой, олеаноловой, урсоловой и глицирретиновой кислот и бетулина с этилендиаминовыми и пиперазиновыми линкерами разной длины [69]. Конъюгат **85** (Рис. 1.21), содержащий бетулиновую кислоту и этилендиаминовый спейсер, проявлял цитотоксический эффект в отношении клеточной линии MCF-7. Производные с пиперазиновым линкером были менее активны, что позволило предположить, что наиболее подходящей спейсерной группой является короткоцепочечный линкер с аминогруппой.

Синтезирована также серия конъюгатов бевиримата с уникальной синей флуоресценцией, перспективной для использования в качестве люминесцентных красителей [70]. Конъюгат **86** (Рис. 1.21) окрашивал эндоплазматический ретикулум и митохондрии живых клеток. В дополнение авторами было показано, что аминогруппа действительно способна усиливать цитотоксичность соединений.

Таким образом, до начала настоящей работы в литературе отсутствовала информация о конъюгатах монотерпеноидов с бородипиррометеновыми люминофорами. Поэтому интересным представлялось не только получение таких соединений, но и изучение их свойств, поскольку монотерпеновые соединения известны широким спектром биологической активности.

1.3. Особенности строения и реакционной способности бициклических монотерпеноидов

В связи с тем, что в данной работе мы синтезировали конъюгаты с монотерпеноидами, а именно с бициклическими терпеноидами пинановой и борнановой структур, нам представилось полезным включить информацию об особенностях химического поведения соединений этого типа. Дело в том, что по сравнению с моноциклическими монотерпеноидами многие бициклические терпены в ходе некоторых реакций изомеризуются с образованием ментановых

структур или претерпевают различные перегруппировки в другие бициклические структуры, что необходимо учитывать при синтезе терпеновых синтонов для получения конъюгатов.

Так, в 50-х годах прошлого столетия широкое распространение получили карбониево-ионные схемы изомеризации непредельных углеводородов [71,72], опробованные для объяснения взаимосвязи структур бициклических монотерпеноидов (Схема 1.4).

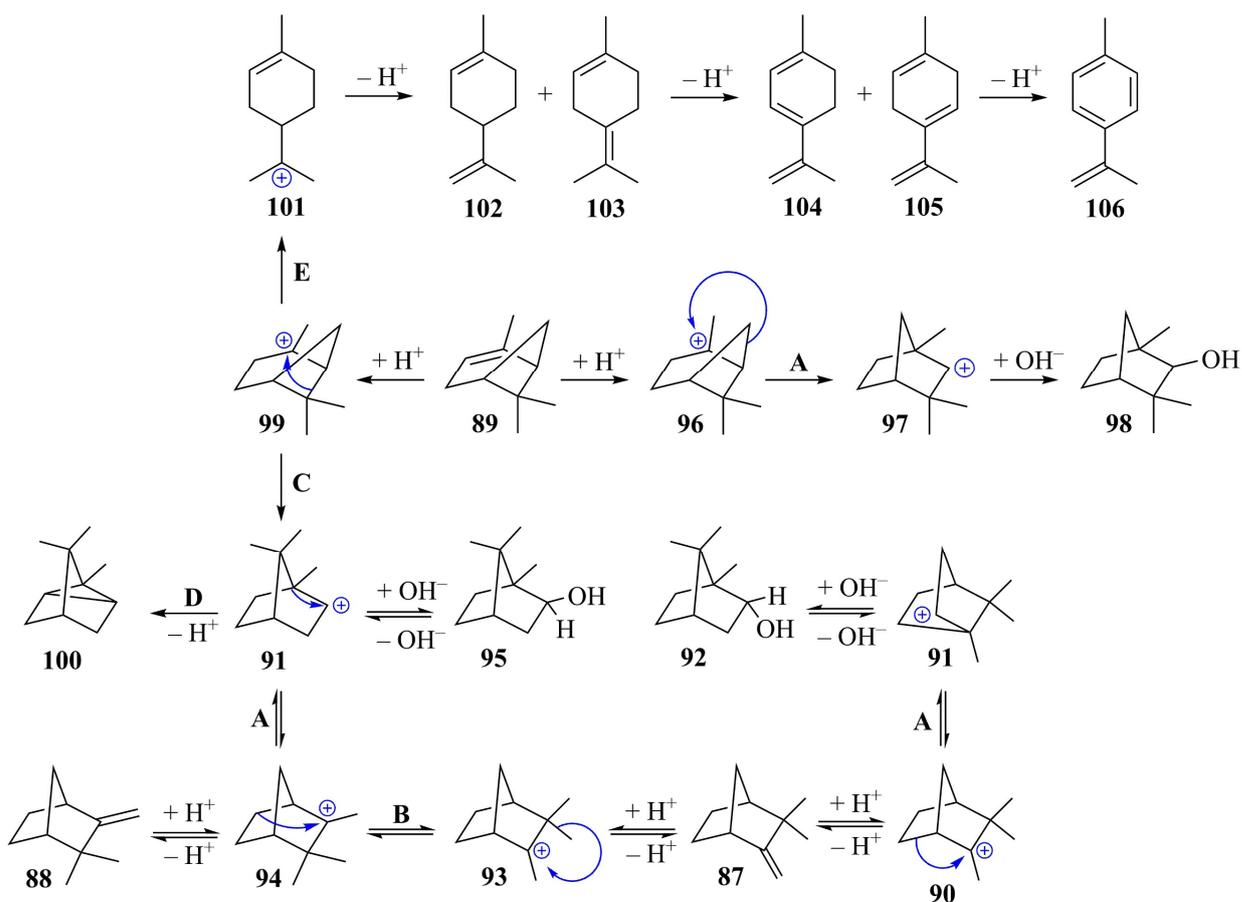


Схема 1.4

В частности, камфеновые перегруппировки I рода, открытые и описанные Е.Е. Вагнером и Г. Меервейном [73] у (+)- и (-)-камфенов **87** и **88**, обуславливают миграцию С–С связи в алицикле (путь А) и образование *эндо*- и *экзо*-борнанных структур **92** и **95**. В свою очередь, камфеновые перегруппировки II рода, известные также как перегруппировка Наметкина [74], сопровождаются протеканием 1,2-*экзо*-метильного сдвига (путь В) в структуре карбокатиона **93**, приводящего к рацемизации смеси [75].

В дальнейшем, при разработке современных представлений об изомеризационных механизмах монотерпеноидов, протекание камфеновых перегруппировок I и II рода были описаны и у соединений пинанового ряда, например, α -пинена **89** [76]. Обнаружено, что перегруппировки приводят к образованию продуктов не только фенхановой структуры **98** (путь А), но и борнилкатиона **91** за счет миграции С–С связи в мостике (путь С), который далее может стабилизироваться за счет «выброса» протона в трициклен **100** (путь D), либо перегруппироваться в изокамфанилкатион **94** (путь А). Однако в некоторых случаях изомеризация пинановой структуры сопровождается разрывом С₁–С₆ связи (путь Е) с образованием продуктов ментановой структуры **102** и **103**. Последние при этом в результате гидридных сдвигов способны частично изомеризоваться в терпинены **104** и **105**, которые, в свою очередь, вследствие обменных редокс-процессов могут трансформироваться в ароматические структуры **106** [76].

В дальнейшем ввиду накопления экспериментальных данных, которые нельзя было объяснить с точки зрения карбониево-ионного механизма, в литературе [77,78] было выдвинуто понятие о «неклассическом» карбокатионе, образующегося в качестве интермедиата либо в результате присоединения электрофильного реагента по двойной связи, либо отщепления аниона при нуклеофильном замещении (Схема 1.5). Образующие карбокатионы способны перестраиваться с образованием равновесных ионов **109-112** [79].

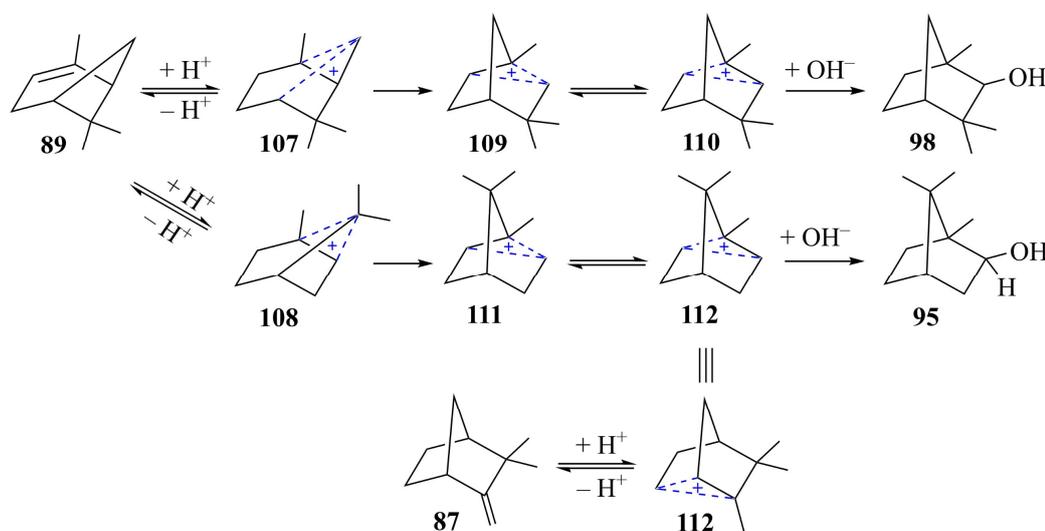


Схема 1.5

Хотя исследователями предлагались различные теории превращений бициклических монотерпеноидов, в некоторых случаях все равно было невозможно объяснить новые экспериментальные данные [80,81]. Так, во многих случаях необходимо было учитывать влияние температуры, полярности растворителя, кислотности среды и природы катализатора на направление реакций.

Таким образом, несмотря на то, что обычно изомеризационные процессы направлены в сторону образования наиболее стабильной структуры, часто в результате реакций образуются смеси изомеров, в том числе рацематы. Как правило, образование той или иной структуры бициклических монотерпеноидов обусловлено условиями синтеза. В частности, в случаях, когда требуется сохранить исходный терпеновый скелет, обязательным является использование не только стерео- и региоселективных методов, но и создание «мягких» условий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ЛИТЕРАТУРНОМУ ОБЗОРУ

В обзоре рассмотрены биологические свойства и возможности практического применения конъюгатов бородипиррометеновых люминофоров с различными природными соединениями — витаминами, углеводами, липидами, стероидами, куркумином, капсаицином, кумарином, сексвитерпенами, дитерпенами и тритерпенами. Показано, что описанные конъюгаты перспективны в качестве биосенсоров, средств для биовизуализации клеточных структур, изучения механизма биологического действия соединений, а также диагностики и терапии онкологических заболеваний. При этом в литературе отсутствовала информация о конъюгатах люминофоров с монотерпеноидами, что было исследовано в рамках настоящей работы и представлено в следующей главе.

Кроме того, в литературном обзоре рассмотрены структурные особенности и синтез замещенных бородипиррометеновых люминофоров, а также описаны особенности строения и реакционной способности бициклических монотерпеноидов, на основе которых были получены конъюгаты, представленные в следующей главе.

ГЛАВА 2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ. СИНТЕЗ КОНЬЮГАТОВ МОНОТЕРПЕНОИДОВ С ЛЮМИНОФОРАМИ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Разработка дизайна биоконъюгатов, сочетающих в одной структуре фрагменты бородипиррометеновых (BODIPY) красителей и природных монотерпеноидов, представляет собой комплексное исследование. Первый этап работы включает разработку эффективных синтетических методик получения исходных монотерпеноидов, изучение их биологической активности и выявление синтонов-лидеров для конъюгирования с доступными и «удобными» для модификации люминофорами. Второй этап заключается в определении оптимальных условий синтеза целевых соединений с высокими выходами и установлении их структуры с использованием комплекса спектральных методов. Третий этап включает исследование свойств синтезированных соединений, где определяли такие характеристики, как оптимальная длина линкера между фрагментами, влияние введенного терпена на спектральные свойства люминофора, степень проникновения в различные клетки, липофильность и стабильность красителей.

Ряд конъюгатов был апробирован в качестве инструментов для биовизуализации клеток различной природы (бактерий, грибов и клеток млекопитающих) и возможного изучения механизма действия соединений. В зависимости от поставленной задачи и объектов исследования, нами также был определен наиболее подходящий дизайн конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами BODIPY.

2.1. Синтез исходных монотерпеноидов, использованных для получения конъюгатов с люминофорами

Терпеновые спирты широко распространены в природе и в значительных количествах обнаруживаются в эфирных маслах растений-эфироносов [82-86]. Например, миртенол, обладающий широким спектром биологической активности, содержится в растениях семейства Миртовых или Розоцветных [1]. С другой стороны, выделение монотерпеновых спиртов из растительного сырья является трудоемким и финансово затратным решением. Поэтому более рациональным представляется разработка синтетических подходов к соединениям этого класса.

В литературе описаны методики получения соответствующих терпеновых соединений из доступного растительного сырья [87-89]. Для наших исследований в Институте химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН к.х.н. Фроловой Л.Л. была синтезирована серия терпеновых спиртов и диолов **113-129** каранового, камфанового и пинанового рядов (Рис. 2.1) в соответствии с ранее опубликованными методиками [89-100].

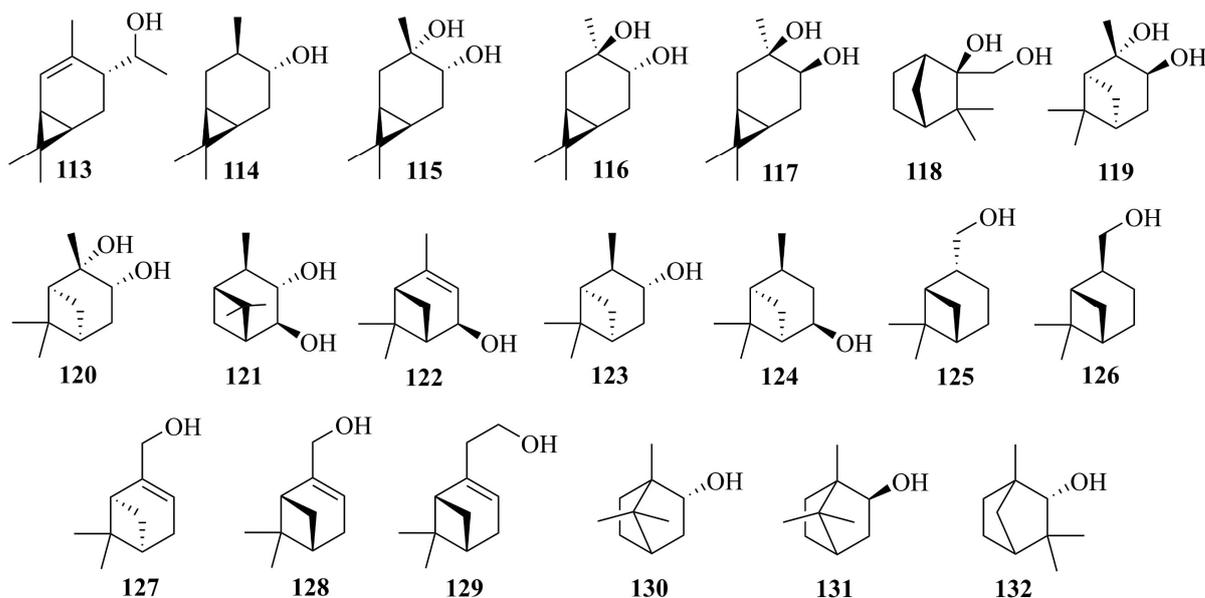


Рис. 2.1. Структурные формулы спиртов и диолов **113-132**

Синтезированная серия была представлена следующими соединениями: (+)-4-(1-гидроксиэтил)карен-2 **113**, (-)-изокаранол-4 **114**, (+)-3 α ,4 α -карандиол **115**,

(-)-3 β ,4 α -карандиол **116**, (+)-3 β ,4 β -карандиол **117**, (\pm)-2-экзо-10-эндо-камфандиол **118**, (-)-2 α ,3 α -пинандиол **119**, (-)-2 α ,3 β -пинандиол **120**, (-)-3 α ,4 β -пинандиол **121**, (-)-*цис*-вербенол **122**, (-)-изопинокамфеол **123**, (-)-неоизовербанол **124**, (-)-*цис*-миртанол **125**, (-)-*транс*-миртанол **126**, (+)-миртенол **127**, (-)-миртенол **128** и (-)-нопол **129**. Спирты (-)-борнеол **130**, (-)-изоборнеол **131** и (+)- α -фенхол **132** являются коммерчески доступными реагентами.

Представленные соединения рассматривались нами как потенциальные кандидаты для конъюгирования с бородипиррометеновыми люминофорами. Однако перед непосредственным синтезом конъюгатов необходимо было определить наиболее перспективные терпеновые синтоны как в биологических, так и синтетических аспектах. В связи с этим на базе ФБУН Казанского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора к.б.н. Лисовской С.А. была проведена оценка противогрибковой активности соединений **113-132** *in vitro*. На следующем этапе наиболее активные соединения исследовались на антиоксидантную и мембранопротекторную активность к.б.н. Шевченко О.Г. в Институте биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН.

Было установлено, что наибольшую противогрибковую активность как в отношении дрожжеподобных, так и мицелиальных грибов проявили (+)- и (-)-миртенолы **127** и **128**, а также (-)-*цис*-вербенол **122** [100]. Эти же соединения демонстрировали высокую мембранопротекторную и антиоксидантную активность [100]. При этом вторичный спирт (-)-*цис*-вербенол **122** является крайне «неудобным» синтоном вследствие возможного существования в пространственно-затрудненных конформациях, что значительно затрудняет введение данного фрагмента в молекулу люминофора.

Таким образом, среди спиртов и диолов каранового, камфанового, пинанового, борнанового и фенханового рядов наиболее перспективными как по проявлению биологической активности, так и с точки зрения реализации синтетических решений являлись (+)- и (-)-миртенолы **134** и **135**.

Ранее в нашей лаборатории были синтезированы серосодержащие монотерпеноиды борнанового и пинанового рядов **133-146** и изучена их биологическая активность (Рис. 2.2) [101-106].

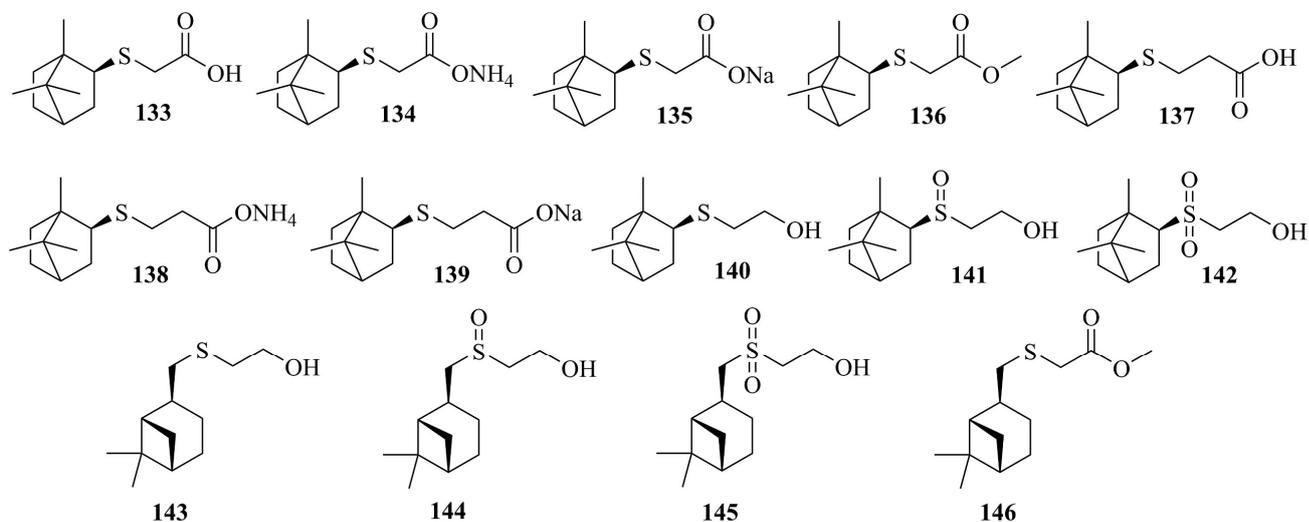


Рис. 2.2. Структурные формулы тиотерпеноидов **133-146**

Примечательно, что при наработке сульфона **145** из соответствующего сульфида **143** нами было получено примесное соединение **147**, кристалл которого был отобран из смеси с пинанилсульфоном **145**. Его структура была изучена методом рентгеноструктурного анализа (РСА) (Рис. 2.3) [107].

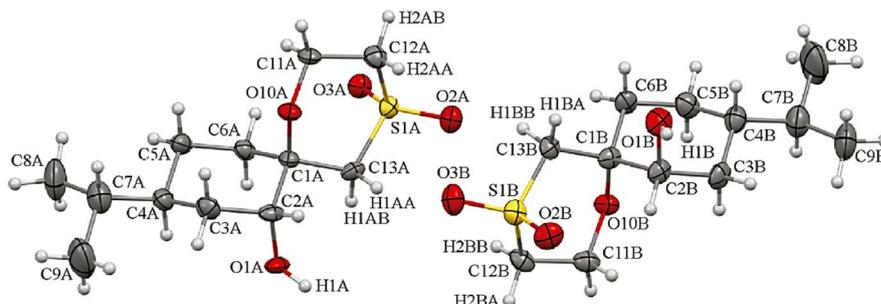


Рис. 2.3. Геометрия независимых молекул А и В в кристалле соединения **147**

По-видимому, в ходе образования сульфонной группы произошло «переоисление», обуславливающее раскрытие напряженного бутанового цикла и дальнейшую циклизацию молекулы в устойчивую спироструктуру с двумя шестичленными циклами (Схема. 2.1).

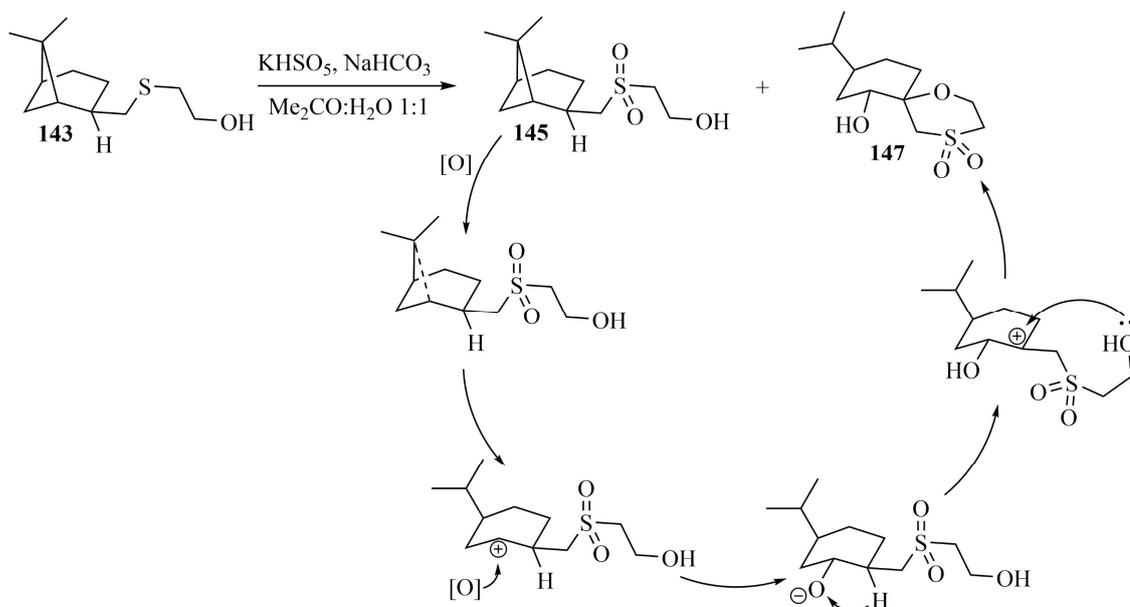
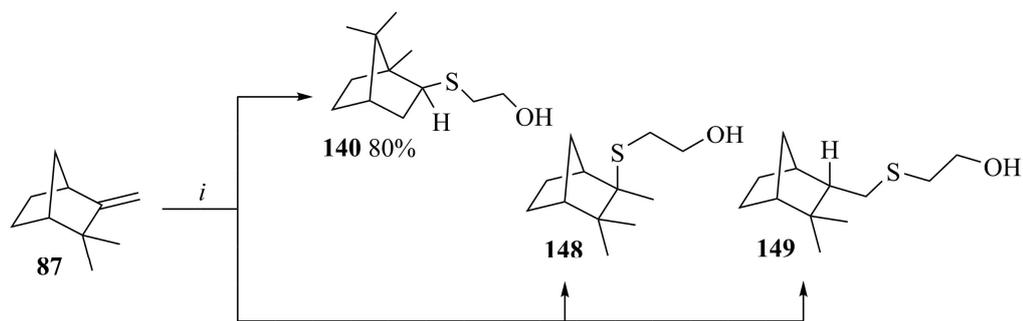


Схема 2.1

В результате исследований было установлено, что тиотерпеноид **140**, содержащий фрагмент 2-меркаптоэтанола, являлся соединением-лидером и демонстрировал не только перспективные противогрибковые¹, но и антитромботические свойства на уровне препаратов сравнения [108].

Впервые изоборнантиоэтанол **140** был синтезирован реакцией электрофильного присоединения 2-меркаптоэтанола к камфену **87** в условиях катализа эфиром трехфтористого бора — сильной кислоты Льюиса (Схема 2.2) [109]. Реакция сопровождалась изомеризацией изокамфанового цикла в борнановую структуру.



Реагенты и условия: *i*: $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 1.3 экв., $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, DCM , rt , 2 ч.

Схема 2.2

¹ Результаты противогрибковой активности соединения **140** представлены в разделе 2.4.1.

Однако недостатком данного метода являлось возможное образование трудноразделимой смеси аддуктов присоединения по правилу Марковникова (**140** и **149**) или против него (**148**) с изокамфановой (**148** и **149**) или борнановой (**140**) структурами. При образовании борнанных аддуктов также наблюдалась рацемизация продуктов реакции, даже при использовании оптически чистого камфена.

Как известно, для практического применения предпочтительным является получение фармацевтических субстанций в оптически чистом виде. В связи с этим нами был использован метод синтеза энантиочистого сульфида **140** из природного (–)-борнеола **130**, разработанный д.х.н. Рубцовой С.А., к.х.н. Измestьевым Е.С. и к.х.н. Пестовой С.В. в Институте химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (Схема 2.3, *ii*) [110].

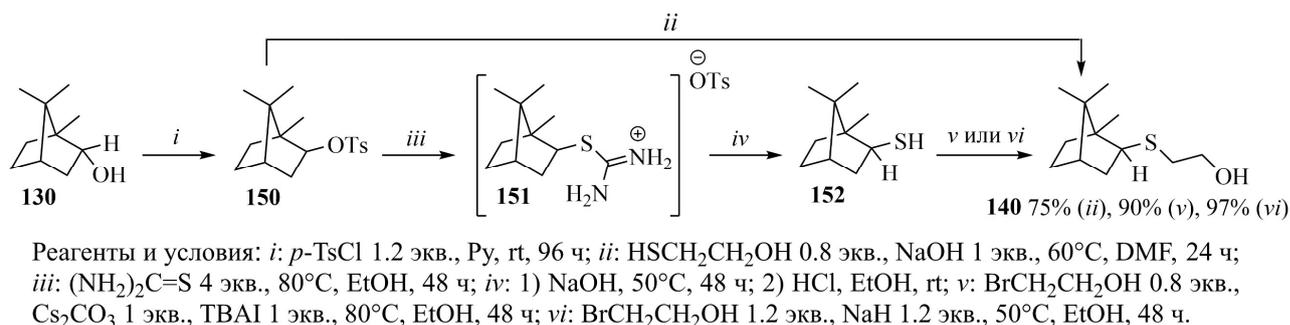


Схема 2.3

В дальнейшем способ получения изоборнантиоэтанола **140** был усовершенствован с целью увеличения его выхода (Схема 2.3, *v*) [111]. Для этого промежуточный оптически чистый изоборнантиол **152** был получен гидролизом изотиоурониевой соли **151** по ранее опубликованной методике [112]. Однако новый способ требовал использования дорогостоящих реагентов, поэтому в рамках настоящей работы был разработан метод *vi*, основанный на реакции изоборнантиола **152** с 2-бромэтанолом в присутствии гидрида натрия [108].

Поскольку наиболее перспективными в биологическом аспекте оказались изомерные миртенолы **127**, **128** и изоборнантиоэтанол **140**, интересным для нас представлялось изучение и сравнение влияния терпенового остова и типа

гетероатома на активность соединений. С этой целью была получена серия их *O*-, *S*- и *N*-содержащих «аналогов».

На начальном этапе для синтеза пинанилтиоэтанола **143**, аналогично рацемическому изоборнантиоэтанолу **140**, нами использовалась реакция электрофильного присоединения 2-меркаптоэтанола по двойной связи (1*S*)-(-)- β -пинена **153** в условиях катализа хлоридом цинка — слабой кислоты Льюиса (Схема 2.4) [113]. Недостатком данного метода являлось протекание гидролиза хлорида цинка, что провоцировало изомеризацию пинанового остова и снижало выходы целевого продукта.

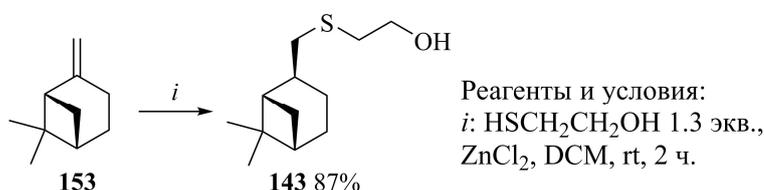


Схема 2.4

В дальнейшем для получения пиненового тиотерпеноида был применен ранее разработанный в нашей лаборатории регио- и стереоселективный метод замещения спиртовой функции (-)-*цис*-вербенола **122** на -SR группу в условиях катализа слабой кислотой Льюиса (Схема 2.5) [114].

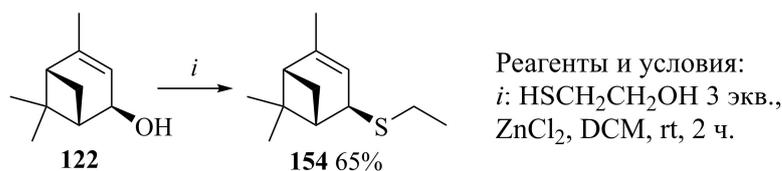


Схема 2.5

Однако при аналогичной реакции (+)-миртенола **127** с 2-меркаптоэтанолом происходило осмоление и образование трудноразделимой смеси четырех соединений. Поэтому в качестве исходных синтонов для синтеза производных были выбраны соответствующие бромопроизводные **155** и **156** (Схема 2.6).

На первом этапе реакция замещения спиртовой функции (+)- и (-)-миртенолов **127** и **128** на атом брома проводилась с использованием реагентов *N*-бромсукцинимид (NBS) и трифенилфосфин в DCM (Схема 2.6, *i*). Однако в этом случае установлено образование целевых терпенилбромидов **159** и **160** с

«нестабильными»² выходами (7-56%). Применение для этой цели трехбромистого фосфора также оказалось неэффективным: наблюдалось осмоление с образованием трудноразделимой смеси.

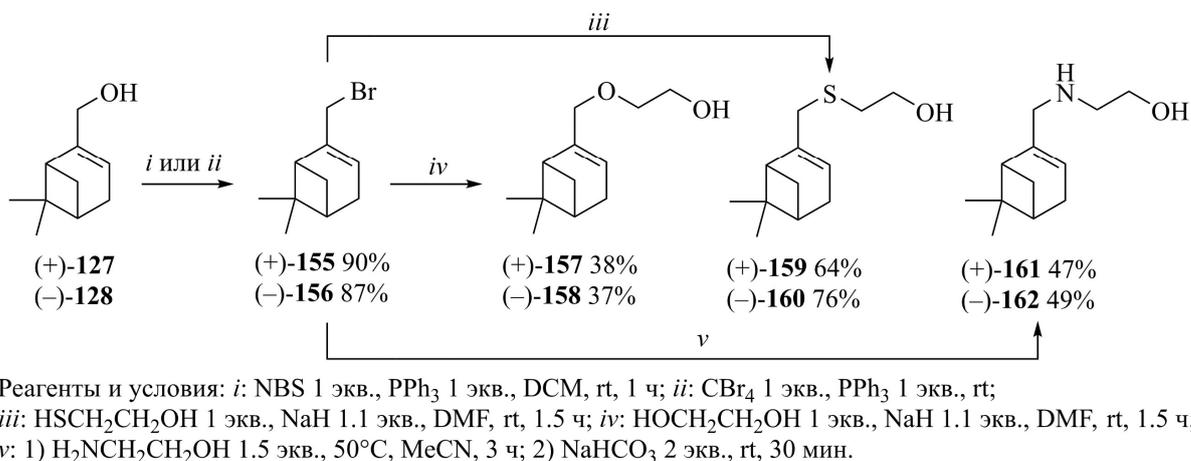


Схема 2.6

Поэтому для увеличения выходов целевых бромидов **155** и **156** нами была применена реакция Аппеля [88,115], предусматривающая взаимодействие спиртов с тетрабромметаном и трифенилфосфином в апротонном растворителе. Однако и в данном случае нам пришлось подбирать условия этой реакции, поскольку выполнение синтеза в различных апротонных растворителях оказалось безуспешным. При анализе смеси методом ТСХ не было обнаружено признаков протекания реакции даже по истечении 24 часов после ее начала.

В связи с этим нами было решено попробовать выполнить синтез без добавления растворителей, то есть растворение тетрабромметана и трифенилфосфина проводили непосредственно в терпеновом спирте (Схема 2.6, *ii*). Такая адаптация реакции Аппеля позволила получать терпенилбромиды **155** и **156** с высокими выходами (Табл. 1).

Таблица 1. Практические выходы терпенилбромидов **155** и **156** в различных условиях

Выход соединения, %	NBS/PPh ₃		Адаптированная реакция Аппеля	
	155	156	155	156
Минимальный	7	10	85	80
Максимальный	56	50	90	87

² Подразумевается большой разброс выходов терпенилбромидов при одинаковых условиях синтеза.

Нами также была исследована возможность применения SOCl_2 в качестве замены дорогостоящего тетрабромметана. Однако, согласно данным ЯМР-спектроскопии, эта попытка не увенчалась успехом. Очевидно, использование SOCl_2 приводило к введению атома хлора в иные положения структуры монотерпеноидов, а также к изомеризации терпенового остова. В связи с этим в дальнейшем нами были использованы только бромпроизводные, полученные по адаптированной реакции Аппеля.

Простые эфиры **157** и **158** были ранее получены и описаны в работе [116]. В оригинальной методике использовалась реакция терпенилбромидов **155** или **156** с этиленгликолем, активированным *in situ* металлическим натрием в THF. В рамках настоящей работы нами был проведен аналогичный синтез с использованием гидрида натрия и более доступного растворителя (DMF) (Схема 2.6) [117,118].

Соединения **157** и **158** с выходами 38 и 37% соответственно были выделены колоночной хроматографией на силикагеле, а их спектральные характеристики соответствовали литературным данным [116]. Синтез терпеноидов **157** и **158** с выходами ниже литературных (99%) объясняется изменением условий реакции и образованием второго продукта, обнаруживаемого при ТСХ реакционной смеси, структура которого нами не была установлена.

Для усиления нуклеофильных свойств тиола при синтезе сульфидов **159** и **160** нами изначально использовался катализ карбонатом калия. Однако в этих условиях наблюдалось образование трудноразделимой смеси трех соединений. Поэтому тиотерпеноиды **159** и **160** были успешно синтезированы посредством генерации сильных нуклеофилов *in situ* добавлением гидрида натрия (Схема 2.6) [117,118].

По данным ТСХ синтез завершился с образованием двух продуктов, где целевые соединения **159** и **160** с выходами 64 и 76% соответственно были выделены методом колоночной хроматографии на силикагеле. Структура второго продукта нами не была установлена.

Спектральные характеристики (+)-миртенола **127** и изомерных миртанолов **125** и **126** были ранее опубликованы в работах [119,120]. ПМР спектры соединений **159** и **160** (Рис. 2.4) содержат характерные для пинанового остова синглеты

протонов *гем*-диметильного фрагмента (3H-9,8) и двойной связи (H-3) в области 0.83, 1.29 и 5.37 м.д. соответственно. Протоны фрагмента тиоэтанола резонируют при 2.64 и 3.7 м.д. в виде мультиплетов (2H-11,12), в то время как АВ система с центром в области 3.04 м.д. ($J = 13.4$ Гц) принадлежит протонам метиленовой группы (2H-10) пинанового остова.

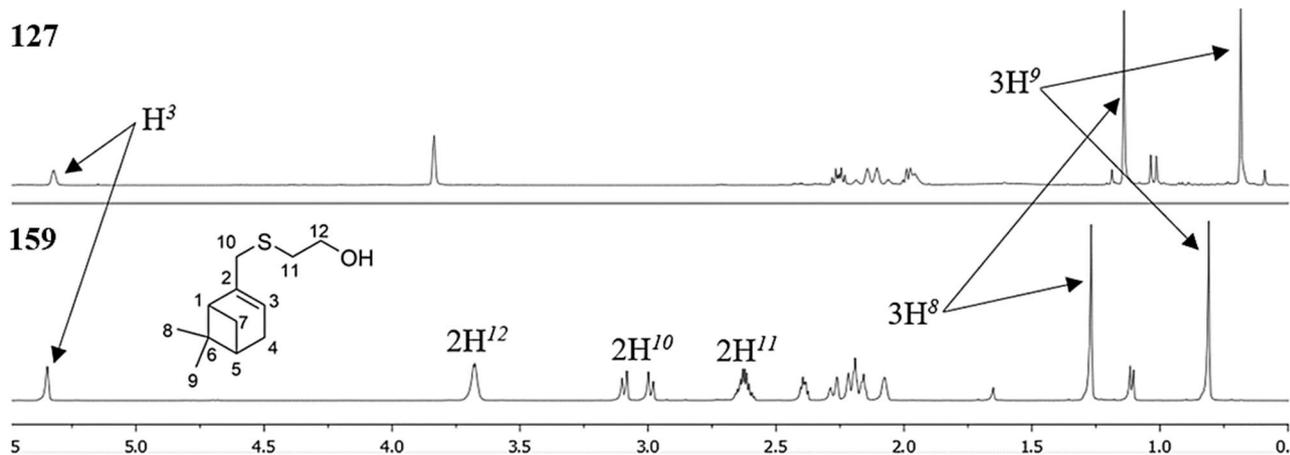


Рис. 2.4. Сравнительные ПМР спектры (500 МГц, CDCl₃) соединений **127** и **159**

В ¹³C ЯМР спектрах соединений **159** и **160** содержатся сигналы 12 атомов углерода, подтверждающие образование заданной структуры. Атомы углерода –SCH₂CH₂OH группы резонируют в области 45.18 (C-11) и 60.20 м.д. (C-12).

В ИК-спектре соединения **159** присутствуют характерные полосы валентных колебаний С–Н связей в области 3000-2840 см⁻¹, С=С связи в области 1645 см⁻¹ и О–Н группы в области 3365 см⁻¹.

В спектрах MS присутствует пик $[M + Na]^+$, соответствующий молекулярным ионам **159** и **160**.

Амины **161** и **162** были получены реакцией алкилирования моноэтаноламина бромиды **155** и **156** (Схема 2.6) [117,118]. Из-за возможных трудностей при выделении и очистке продуктов синтез проводили без использования катализаторов.

По данным ТСХ реакция завершилась образованием единственного продукта, который выделяли методом колоночной хроматографии. Получение соединений **161** и **162** с умеренными выходами (47 и 49% соответственно), возможно, объясняется неполной конверсией терпенилбромидов.

ПМР спектры соединений **161** и **162** (Рис. 2.10) содержат характерные для пинанового скелета синглеты протонов *gem*-диметильного фрагмента (3H-9,8) и двойной связи (H-3) в области 0.85, 1.31 и 5.85 м.д. соответственно, а при 3.61 м.д. присутствует синглет протона метиленовой группы (2H-10). В области 3.17 и 4.05 м.д. в виде триплетов резонируют протоны (2H-11,12) аминоэтанольного фрагмента.

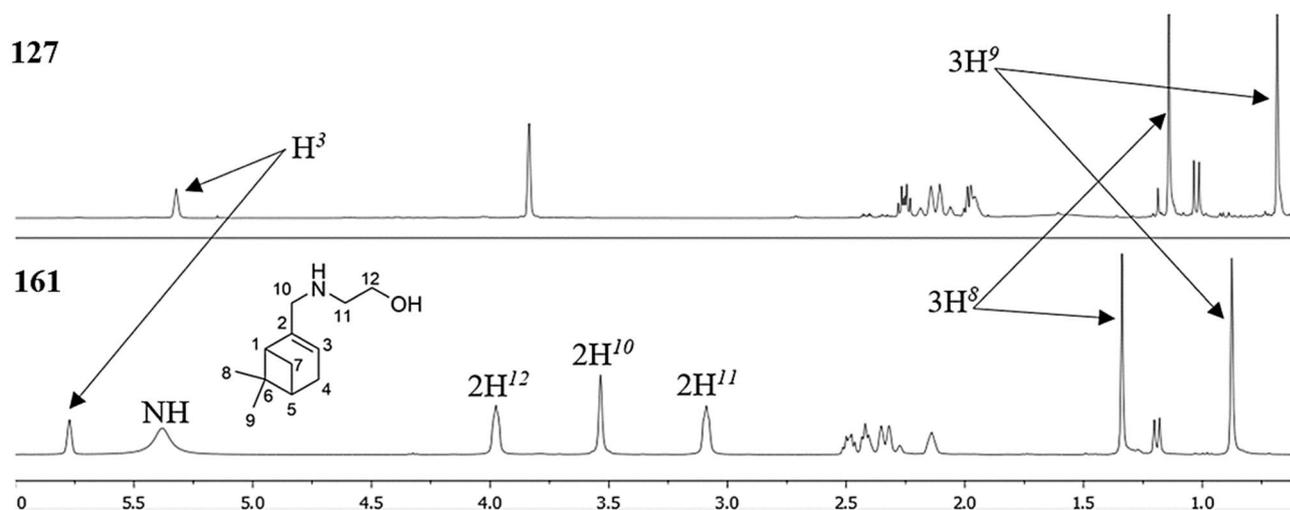


Рис. 2.5. Сравнительные ПМР спектры (500 МГц, CDCl_3) соединений **127** и **161**

В ^{13}C ЯМР спектрах соединений **161** и **162** содержатся сигналы 12 атомов углерода, подтверждающие образование требуемой структуры. Атомы углерода – $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ группы резонируют в области 52.74 (C-11) и 57.95 м.д. (C-12).

В спектрах MS присутствует пик $[M + H]^+$, соответствующий молекулярным ионам **161** и **162**.

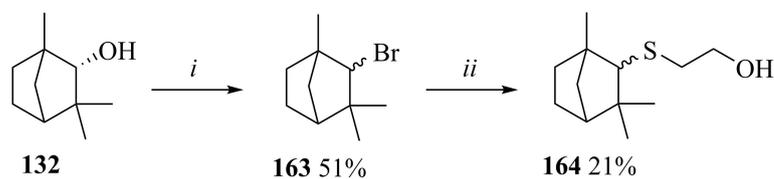
Таким образом, с целью изучения и сравнения влияния терпенового остова и типа гетероатома на свойства монотерпеноидов была синтезирована серия пиненовых *O*-, *S*- и *N*-содержащих производных **157-162**. Представленные соединения также являлись потенциальными кандидатами для конъюгирования с люминофорами BODIPY. Однако и в этом случае требовалось провести биологические испытания для выявления наиболее перспективных синтонов.

Ранее нами сообщалось о проявлении сульфидом **143** антитромботических свойств [121]. Поэтому соединения **157-162** были исследованы на антикоагуляционную и антиагрегационную активность, а также изучены методом

молекулярного докинга на возможность связывания с мембранными рецепторами тромбоцитов. В результате было установлено, что именно благодаря наличию атома серы соединения **159** и **160** способны подавлять агрегацию тромбоцитов [117]. Кроме того, синтезированные монотерпеноиды **157-162** были протестированы на противогрибковые свойства³, где наибольшую активность демонстрировал (+)-пиненилтиоэтанол **159** [118].

Таким образом, среди соединений **157-162** наиболее перспективным с точки зрения биологической активности являлся тиотерпеноид **159**, на основе которого в последующем был получен конъюгат с люминофором BODIPY.

Нами также были предприняты попытки синтеза серосодержащего монотерпеноида **164** фенханового ряда методом, аналогичным для соединений **159** и **160** (Схема 2.7). Обнаружено, что исходный (+)- α -фенхильный спирт **132** проявлял антитромботическую активность *in vitro*, сопоставимую с препаратами сравнения и соединением **140**. Поэтому интересным для нас являлось сравнение биологической активности не только тиотерпеноидов, но и конъюгатов с такими фрагментами.



Реагенты и условия: *i*: CBr₄ 1 экв., PPh₃ 1 экв., rt;
ii: HSCH₂CH₂OH 1 экв., NaNH 1.1 экв., DMF, rt, 1.5 ч.

Схема 2.7

Бромирование спирта **132** с использованием системы NBS/PPh₃ также оказалось малоэффективным (выход 14%). Поэтому соединение **163** было получено по адаптированной реакции Аппеля и выделено методом колоночной хроматографии на силикагеле с выходом 51%.

Характерной особенностью этой стадии является рацемизация смеси вследствие инверсии карбинольного центра [115]. Поэтому в последующей

³ Результаты противогрибковой активности соединений **157-162** в сравнении с изомерными миртенолами **127** и **128** представлены в разделе 2.4.1.

реакции нуклеофильного замещения также наблюдалось образование смеси стереоизомеров.

ПМР спектр соединения **164** (Рис. 2.11) содержит синглеты протонов метильной группы (3H-8) и *gem*-диметильного фрагмента (3H-9,10) при 0.70, 0.82 и 0.93 м.д. соответственно, характерные для фенханового остова молекулы. Особенностью ПМР спектра этого соединения является присутствие синглетов данных групп в удвоенном количестве с близкой интенсивностью, что свидетельствует об образовании двух стереоизомеров в соотношении ~1:1. Это также подтверждается наличием в спектре сигнала протона (H-2) при асимметрическом углероде в виде двух близкорасположенных дублетов в области 1.5 м.д. с различной константой спин-спинового взаимодействия ($J = 8.3$ и 2.6 Гц). Мультиплеты в области 2.18 и 3.08 м.д. соответствуют протонам метиленовой группы (2H-11,12) тиоэтанольного фрагмента.

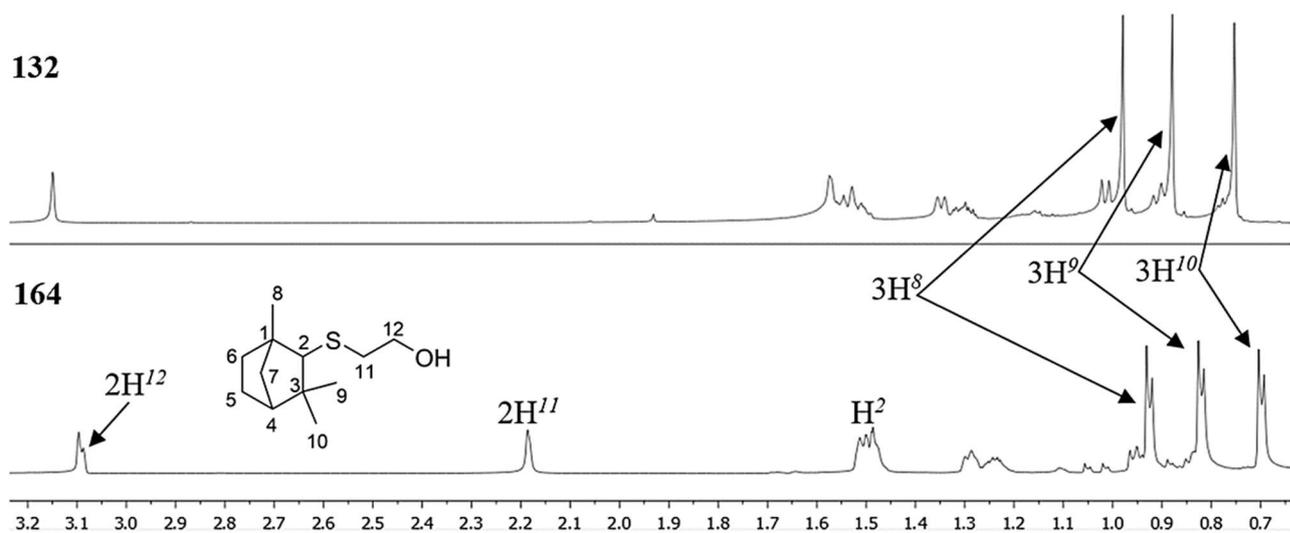


Рис. 2.6. Сравнительные ПМР спектры (500 МГц, CDCl₃) соединений **132** и **164**

В ¹³C ЯМР спектре соединения **164** содержатся сигналы 12 атомов углерода, подтверждающие образование указанной структуры. Так, в области 25.09, 26.06 и 40.99 м.д. резонируют атомы углерода метильных групп (C-9,10,8). Сигналы атомов углерода –SCH₂CH₂ОН группы содержатся в области 47.92 (C-11) и 84.87 м.д. (C-12).

В ИК-спектре соединения **164** присутствуют характеристические полосы валентных колебаний С–Н связей в области 3000-2840 см⁻¹ и О–Н группы в области 3425 см⁻¹.

При исследовании антитромботических свойств *in vitro* установлено, что фенхилтиоэтанол **164** проявляет активность на уровне изоборнантиоэтанола **140**. Однако, поскольку соединение **164** было получено в виде смеси стереоизомеров с низкими выходами (21%), в рамках настоящей работы нами не исследовалась возможность синтеза конъюгата на его основе. Это станет возможным после разработки методики синтеза фенхилтиоэтанола **164** в энантиоцистом виде с высокими выходами.

Таким образом, среди монотерпеноидов каранового, камфанового, пинанового, борнанового и фенханового рядов нами были выявлены синтоны-лидеры для конъюгирования с люминофорами: (+)- и (-)-миртенолы, изоборнантиоэтанол и (+)-пиненилтиоэтанол. Эти соединения были перспективными как в плане проявления биологической активности, так и с точки зрения синтетических решений.

Изоборнантиоэтанол был получен с высокими выходами (97%) в результате оптимизации синтетической методики, а именно четвертой стадии, включающей реакцию изоборнантиола с 2-меркаптоэтанолом в присутствии гидрида натрия.

Разработаны синтетические подходы к получению (+)-пиненилтиоэтанола. Установлено, что применение для этой цели катализа карбонатом калия или методов, разработанных ранее в нашей лаборатории — электрофильное присоединение 2-меркаптоэтанола по двойной связи (1S)-(-)-β-пинена или нуклеофильное замещение ОН-группы терпеноида тиолом — оказались малоэффективными. (+)-Пиненилтиоэтанол был получен в две стадии с выходом 64%. Первая стадия включала синтез терпенилбромида на основе (+)-миртенола, вторая — реакцию нуклеофильного замещения атома брома 2-меркаптоэтанолом в присутствии гидрида натрия.

Показано, что применение адаптированной реакции Аппеля позволяет получать требуемые терпенилбромиды с оптимальными выходами. Адаптация метода заключалась в использовании исходного терпенового спирта в качестве растворителя.

На следующем этапе работы нами исследовались структурные особенности исходных люминофоров BODIPY, использованных для синтеза конъюгатов с вышеперечисленными монотерпеноидами.

2.2. Структурные особенности бородипиррометеновых люминофоров, использованных для синтеза конъюгатов с монотерпеноидами

Исходные люминофоры BODIPY, использованные в настоящей работе, были получены в Институте химии растворов им. Г.А. Крестова РАН под руководством д.х.н., профессора Антиной Е.В. [15,16,20]. Научная группа Антиной Е.В. известна своим многолетним опытом в синтезе и изучении спектральных свойств бородипиррометеновых люминофоров [122-124].

Для введения фрагментов монотерпеноидов в структуру красителей BODIPY нам были необходимы люминофоры, содержащие функциональную группу, способную к модификации терпеновыми спиртами. Наиболее подходящими для этой цели являлись карбоксильная группа или сложноэфирный фрагмент, соединенные с индаценовой системой посредством спейсера разной длины.

На первом этапе нашего исследования в качестве исходных синтонов были использованы соединения **6** и **7**, содержащие остатки метиловых эфиров пентановой и бутановой кислот в *мезо*-положении (Рис. 2.7). Указанные люминофоры отличались между собой только длиной линкера, а именно на одну метиленовую группу, что, как показано далее, имеет определенное влияние на свойства конъюгатов.

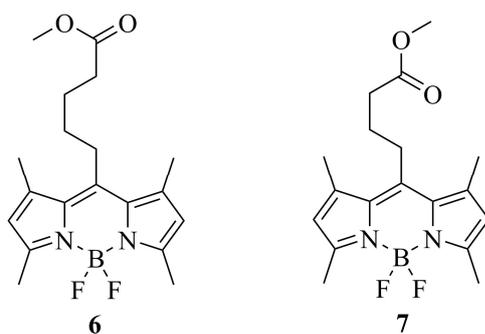


Рис. 2.7. Структурные формулы *мезо*-замещенных люминофоров **6** и **7**

Предоставленные порошкообразные образцы соединений **6** и **7** были подвергнуты нами перекристаллизации для выполнения РСА. Установлено, что соединение **6** кристаллизуется с образованием четырех независимых молекул, а люминофор **7** — только в виде одного конформера (Рис. 2.8) [15,16]. Полученные данные позволяли предположить высокую степень подвижности спейсерной группы у соединения **6**, что могло оказать влияние на спектральные⁴ и биологические свойства красителей.

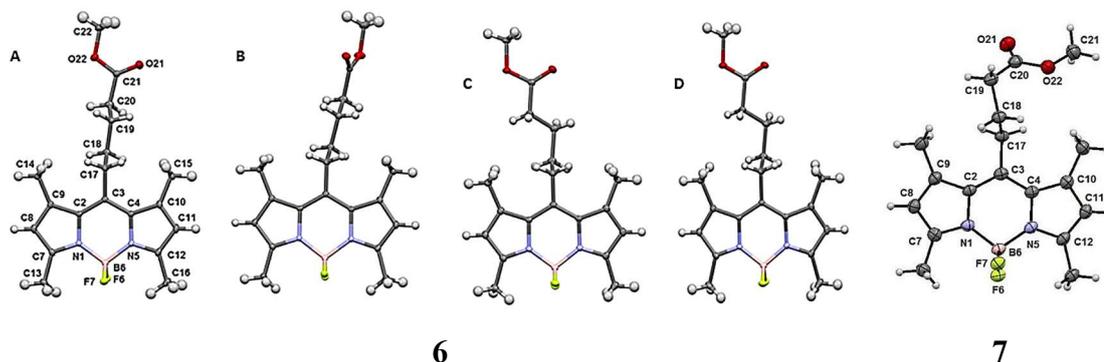


Рис. 2.8. Геометрия соединений **6** и **7** по данным РСА

Действительно, при биовизуализации клеток бактерий и грибов методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии были выявлены различия в качестве изображений. В частности, при использовании люминофора **7** (с пропановым линкером) изображения в ряде случаев получались более четкими. По-видимому, удлинение спейсера даже на одну метиленовую группу придает этой

⁴ Увеличение длины линкера обуславливает незначительный (~1-4 нм) гипсохромный сдвиг в спектрах излучения и поглощения люминофора **6** [14,15] вследствие конформационного влияния заместителя в *мезо*-положении [10].

части молекулы слишком высокую степень подвижности, что негативно отражается на качестве изображений.

Тем не менее, несмотря на выявленную структурную особенность соединения **6**, нам представлялось интересным получение конъюгатов с монотерпеноидами на основе обоих люминофоров **6** и **7**. Это позволило бы оценить влияние степени подвижности спейсера на биологические свойства целевых конъюгатов.

Помимо *мезо*-замещенных люминофоров **6** и **7**, для синтеза конъюгатов нами были использованы соединения **165-170** с линкерами в α -положении (Рис. 2.9). Эти люминофоры содержат в α -положении свободную карбоксильную функцию в виде остатка пропановой кислоты (или аминогруппу⁵ в случае соединения **167**), а в α' -положении — различные хромофорные заместители.

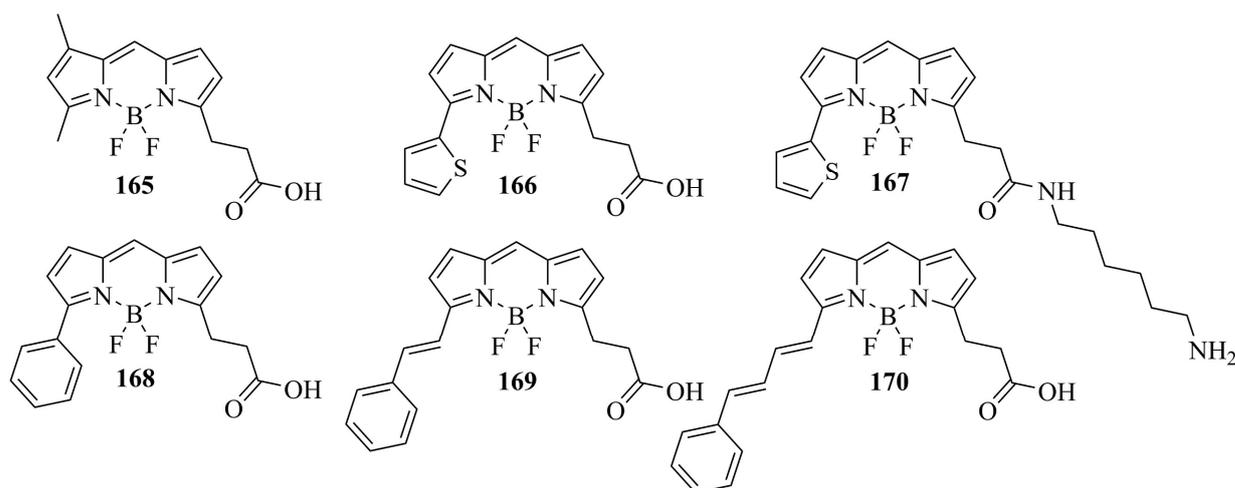


Рис. 2.9. Структурные формулы α -замещенных люминофоров **165-170**

Порошкообразные образцы соединений **165-170** также были перекристаллизованы нами для выполнения дифракционного анализа. По данным РСА люминофор **165** кристаллизуется с образованием только одной независимой молекулы, тогда как соединение **169** — в виде трех конформеров вследствие π - π -стэкинга фенилэтиленовых фрагментов (Рис. 2.10).

⁵ В виде фрагмента *N*-(6-гексиламино)пропанамида.

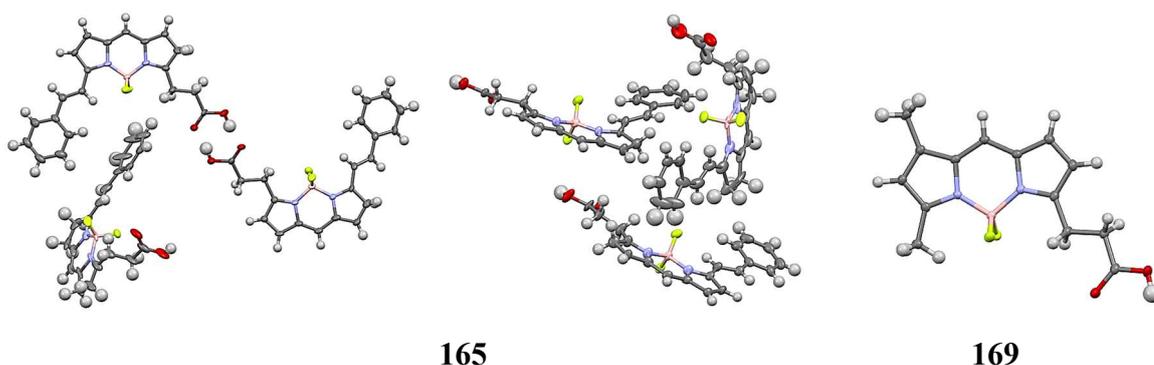


Рис. 2.10. Геометрия соединений **165** и **169** по данным РСА

Также были предприняты попытки синтеза конъюгатов на основе динатриевой соли дисульфанилзамещенного люминофора **171** (Рис. 2.11). Функциональные группы соединения **171**, способные к модификации терпеновыми спиртами, содержатся в β, β' -положениях.

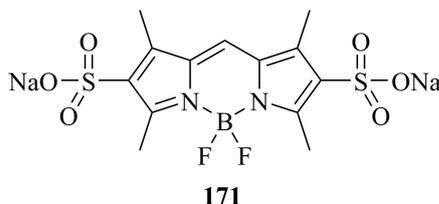


Рис. 2.11. Структурная формула люминофора **171**

Этот краситель отличается хорошей растворимостью в водных средах, в то время как другие люминофоры обладают гидрофобными свойствами. Получение конъюгатов на его основе значительно расширило бы возможности биовизуализации клеток в физиологических средах.

Таким образом, для модификации монотерпеноидами нами были выбраны подходящие бородипиррометеновые люминофоры, различающиеся по положению и длине линкера, а также по природе хромофорных заместителей. Методом РСА изучена пространственная структура некоторых исходных соединений. Для люминофора с фрагментом метилпентаноата выявлена высокая степень подвижности спейсера.

На следующем этапе работы нами разрабатывались синтетические подходы к получению целевых конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами BODIPY.

2.3. Синтез конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами

В связи с тем, что до начала наших исследований в литературе отсутствовала информация о конъюгатах монотерпеноидов и методах их получения, нам было необходимо не только провести «отбор» наиболее перспективных соединений, но и разработать оптимальные синтетические условия их объединения, позволяющие также минимизировать образование побочных продуктов.

2.3.1. Разработка синтетических подходов к конъюгатам

Как отмечалось выше, наиболее подходящей функцией в структуре люминофоров для модификации терпеновыми спиртами является карбоксильная группа. Однако ординарные синтетические методики ее этерификации обнаруживают ряд ограничений. В частности, в условиях кислотного катализа бициклические монотерпеноиды пинанового ряда изомеризуются с образованием фенхановой, борнановой или ментановой структур [73-79]. Кроме того, нами было обнаружено, что исходные люминофоры также подвержены деструкции при воздействии концентрированных кислот и повышенных температур (выше 60°C).

В связи с этим перед нами стояла непростая задача — разработать синтетические подходы к объединению в одну структуру фрагментов лабильных монотерпеноидов и люминофоров BODIPY. На первом этапе для проведения реакции этерификации был выбран метод Стеглиха [125], основанный на применении комплекса реагентов *N,N'*-дициклогексилкарбодиимид (DCC) и 4-диметиламинопиридин (DMAP), традиционно используемый для синтеза амидов, ангидридов и сложных эфиров.

Реакцию этерификации люминофоров BODIPY со сложноэфирным фрагментом осуществляли в две стадии: 1) высвобождение карбоксильной функции *in situ* посредством гидролиза и 2) собственно этерификация полученной кислоты терпеновым спиртом. Для этого к раствору люминофора в *i*-PrOH добавляли 0.1 н раствор NaOH, образовавшуюся натриевую соль обрабатывали 0.1 н раствором HCl с добавлением толуола, после чего выделенную кислоту экстрагировали и использовали для последующего синтеза.

Так, кислоту **172**, полученную *in situ*, этерифицировали (+)-миртенолом **127** в DCM по известной методике (Схема 2.8) [125]. Продукт реакции был выделен методом колоночной хроматографии на силикагеле в виде кристаллического порошка, который далее был подвергнут нами перекристаллизации для выполнения PCA.

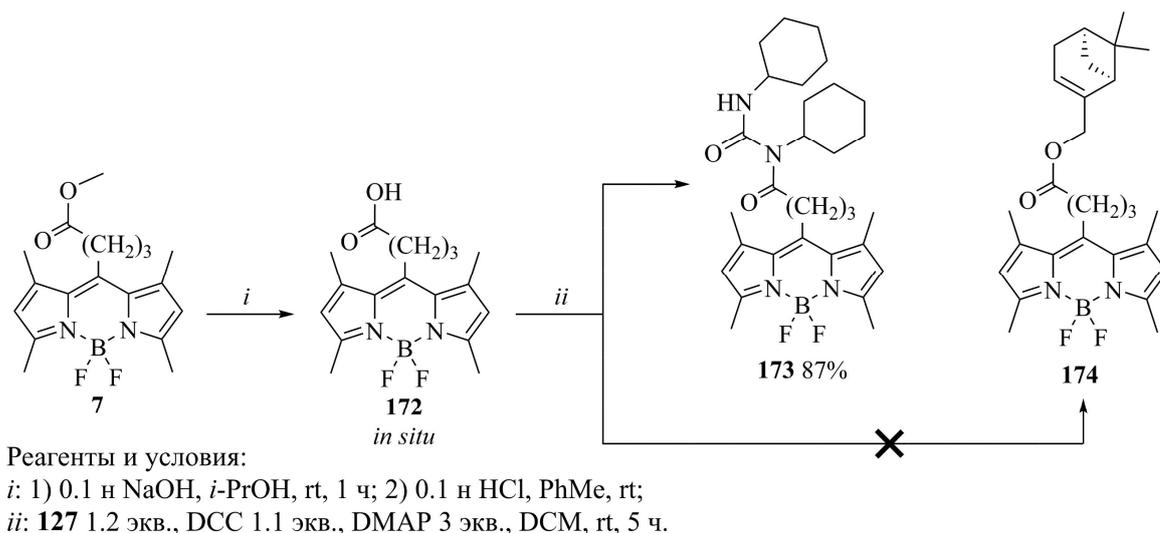


Схема 2.8

Согласно данным PCA (Рис. 2.12) и ЯМР-спектроскопии (Рис. 2.13) основным продуктом реакции являлось соединение **173** [126] — результат взаимодействия кислоты **172** с *N,N'*-дициклогексилмочевинной (DCU), образующейся при гидратации DCC (Схема 2.9) [127]. Образование целевого конъюгата **174** с пинановым монотерпеноидом не наблюдалось. Вероятно, это связано с протеканием конкурирующей реакции с участием DCU, которая проявляет себя как более сильный нуклеофил по сравнению с терпеновыми спиртом.

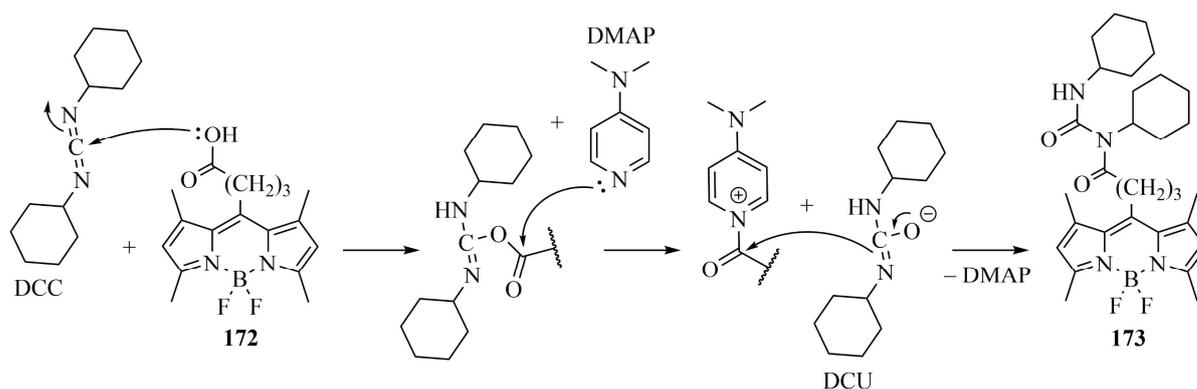
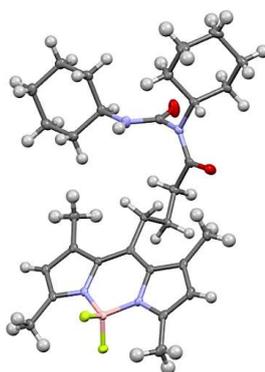
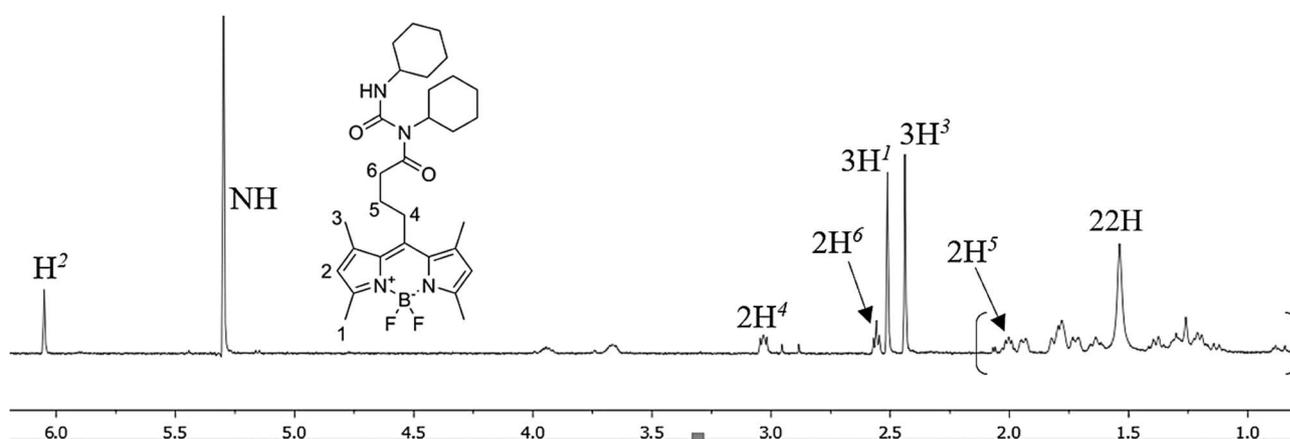


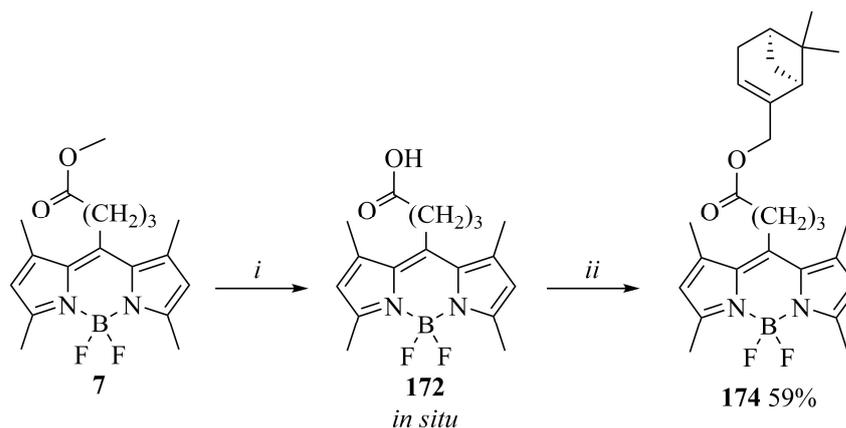
Схема 2.9

Рис. 2.12. Геометрия молекулы **173** по данным РСА

ПМР спектр соединения **173** (Рис. 2.13) содержит характерные для фрагмента люминофора синглеты протонов в β, β' -положениях (H-2) в области 6.08 м.д. и четырех метильных групп (3H-3,1), резонирующих попарно при 2.46 и 2.54 м.д. ввиду их магнитной эквивалентности [16]. Протоны спейсерной группы дают мультиплеты в области 2.03 (2H-5), 2.58 (2H-6) и 3.06 м.д. (2H-4). В области сильного поля (0.85-2.1 м.д.) присутствуют мультиплетные сигналы протонов циклогексильных групп (22H).

Рис. 2.13. ПМР спектр (500 МГц, CDCl_3) соединения **173**

В дальнейшем нами было решено попробовать заменить DCC на другой реагент, например, *O*-(7-азабензотриазол-1-ил)-*N,N,N,N*-тетраметилурония гексафторфосфат (НАТУ) (Схема 2.10), применяемый в синтезе амидов и пептидов для генерации активного эфира из карбоновой кислоты [128]. В данной реакции DMAP выполнял одновременно две функции: депротонирующего агента и переносчика ацильных групп.



Реагенты и условия:

i: 1) 0.1 н NaOH, *i*-PrOH, rt, 1 ч; 2) 0.1 н HCl, PhMe, rt;

ii: **127** 1.2 экв., НАТУ 3 экв., DMAP 1 экв., DCM, rt, 5 ч.

Схема 2.10

Целевой конъюгат **172** был выделен методом колоночной хроматографии на силикагеле в виде кристаллического порошка, который был подвергнут нами перекристаллизации для выполнения дифракционного анализа. По данным РСА, соединение содержит фрагменты исходного пинанового монотерпеноида **127** и люминофора **172** и кристаллизуется в виде двух независимых конформеров (Рис. 2.14) [129].

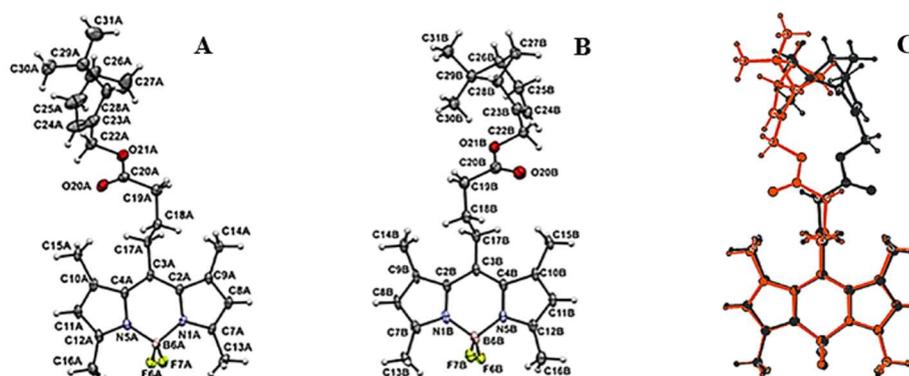


Рис. 2.14. Геометрия конформеров (А, В) в кристалле **174** и их наложение (С)

Следует отметить, что индаценовая система люминофора и терпеновый остов в молекуле соединения **174** являлись конформационно жесткими. Фрагмент монотерпеноида в независимых молекулах А и В был зеркально-симметричным, что характерно для пинановых производных [130,131].

Таким образом, нами был получен первый конъюгат монотерпеноида с люминофором BODIPY, структура которого была надежно установлена не только с помощью РСА и масс-спектрометрии, но и комплекса методов ЯМР-спектроскопии. В спектре MS присутствует пик $[M + Na]^+$, соответствующий молекулярному иону **174**.

В спектре ПМР соединения **174** (Рис. 2.15) присутствуют характерные синглеты протонов *гем*-диметильного фрагмента (3H-*r,s*) пинанового остова в области сильного поля (0.76 и 1.26 м.д.). Протон двойной связи (H-*l*) резонирует при 5.54 м.д. в виде синглета.

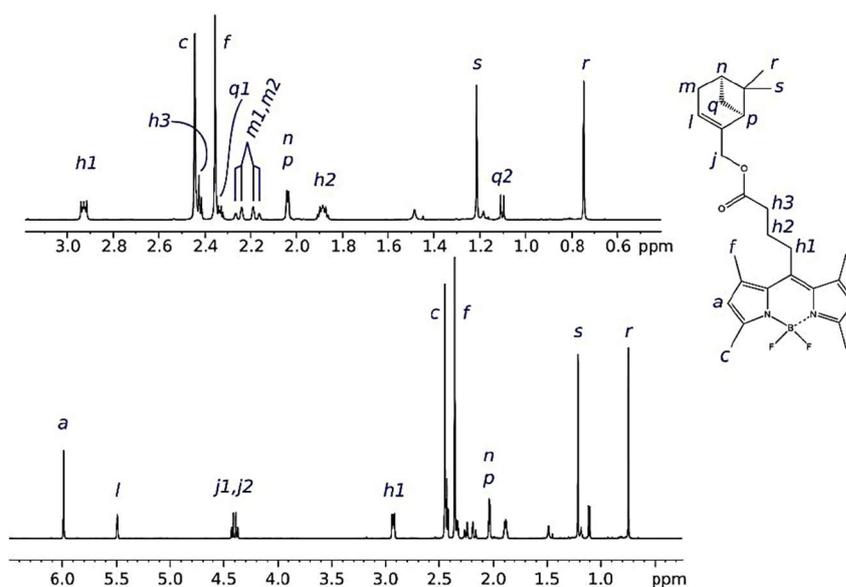


Рис. 2.15. ^1H ЯМР спектр (700 МГц, CDCl_3) конъюгата **174**

Соотнесение синглетов *гем*-диметильного фрагмента (3H-*r,s*) было сделано с помощью двумерной спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера (NOESY), которая позволила установить, что одна из метильных групп (3H-*r*) находится ближе к мостику бицикла (2H-*q*), в то время как другая (3H-*s*) — ближе к двойной связи терпена, обуславливая незначительный (~ 0.5 м.д.) сдвиг в сторону слабого поля (Рис. 2.16).

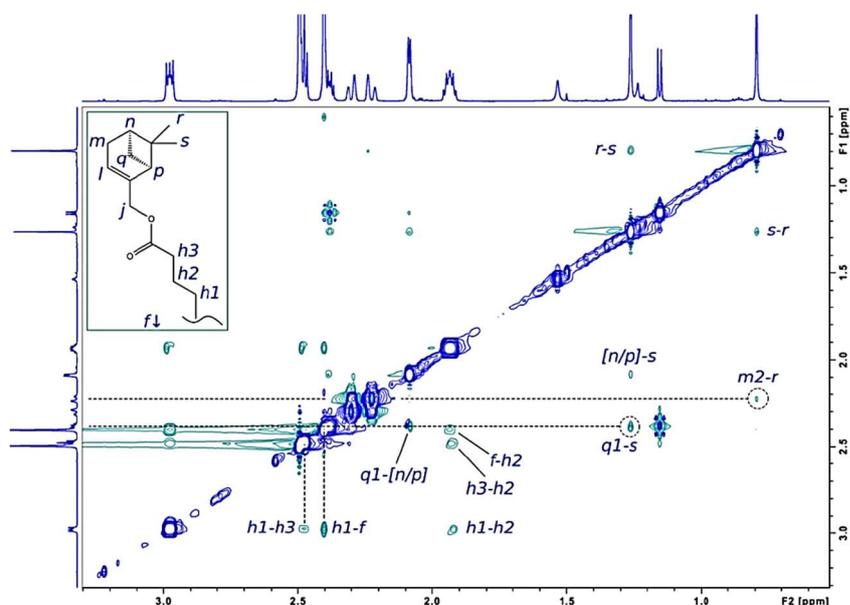


Рис. 2.16. 2D NOESY спектр (700 МГц, CDCl_3) конъюгата **174**

В ПМР спектре соединения **174** протоны спейсерной группы в *мезо*-положении индаценового ядра резонируют в виде мультиплетов в области 1.93 (2H- h_2), 2.47 (2H- h_3) и 2.97 м.д. (2H- h_1), что также характерно и для исходного люминофора **7** [16]. Проведение двумерной корреляционной спектроскопии COSY и TOCSY подтвердило близкое расположение данных протонов (Рис. 2.17). Сигнал протонов 2H- h_1 группы присутствует в области 2.97 м.д. вследствие сильного дезэкранирующего эффекта индаценовой структуры, а в то время как мультиплет при 2.47 м.д. принадлежит протонам 2H- h_3 при сложноэфирной группе.

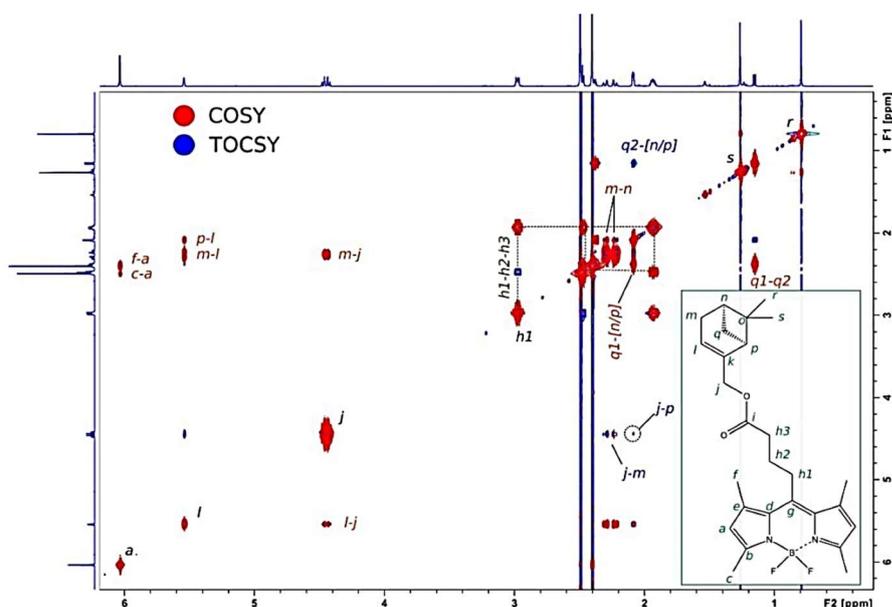


Рис. 2.17. 2D COSY и 2D TOCSY спектры (700 МГц, CDCl_3) конъюгата **174**

Проведение гетероядерной одноквантовой корреляционной спектроскопии (HSQC) на ядрах ^1H и ^{15}N , оптимизированной для дальнего взаимодействия ($J_{\text{NH}} = 6$ Гц), позволило выявить неэквивалентность протонов метиловых групп (3H-*c,f*) люминофора **174** вследствие дезэкранирующего эффекта бордифторидного фрагмента, а также обнаружить сигнал атома азота при 190.3 м.д.. Протоны в β,β' -положениях индаценовой системы (H-*a*) резонируют в области 6.03 м.д. в виде одного синглета вследствие их магнитной эквивалентности.

Для соотнесения сигналов первичных, вторичных, третичных и четвертичных атомов углеродов в спектре ^{13}C ЯМР проводили тест на присоединенный протон (APT) (Рис. 2.18), HSQC и гетероядерную многосвязную корреляционную спектроскопию (HMBC) на ядрах ^1H и ^{13}C . В ^{13}C спектре присутствуют сигналы 27 атомов углерода, подтверждающие образование требуемой структуры **174**.

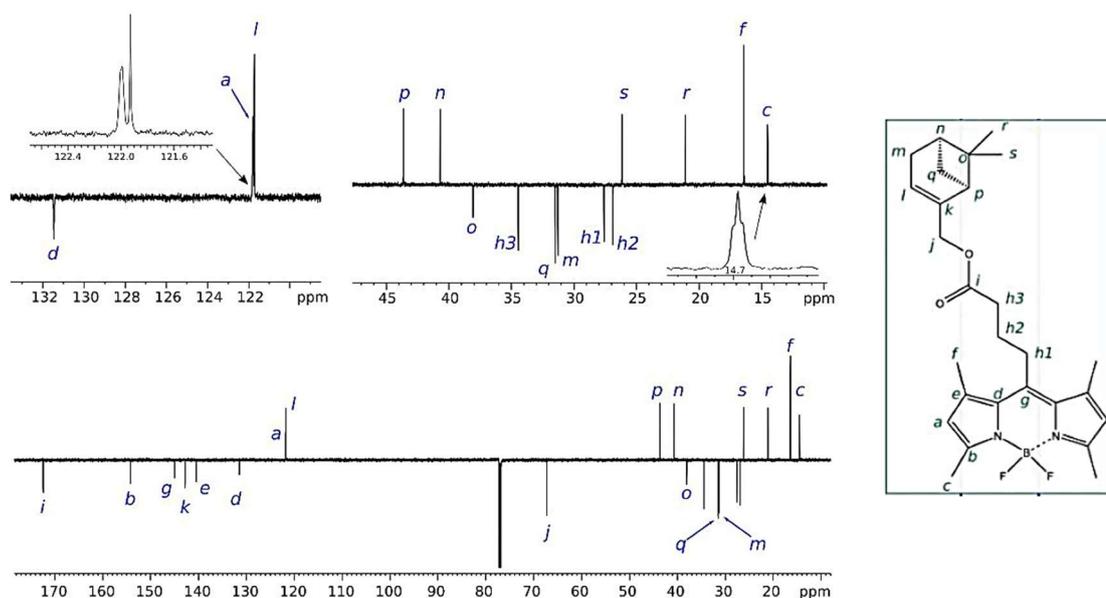


Рис. 2.18. ^{13}C APT спектр (125 МГц, CDCl_3) конъюгата **174**

Содержание в составе пинанового конъюгата **174** бордифторидного фрагмента подтверждалось нами при помощи ЯМР-спектроскопии на ядрах ^{19}F и ^{11}B (Рис. 2.19), где обнаруживались сигнал атома бора в виде триплета в области 0.41 м.д. и два перекрывающихся квартета двух атомов фтора в области -146.60 и -146.68 м.д. ($J = 33$ Гц) вследствие их неэквивалентности.

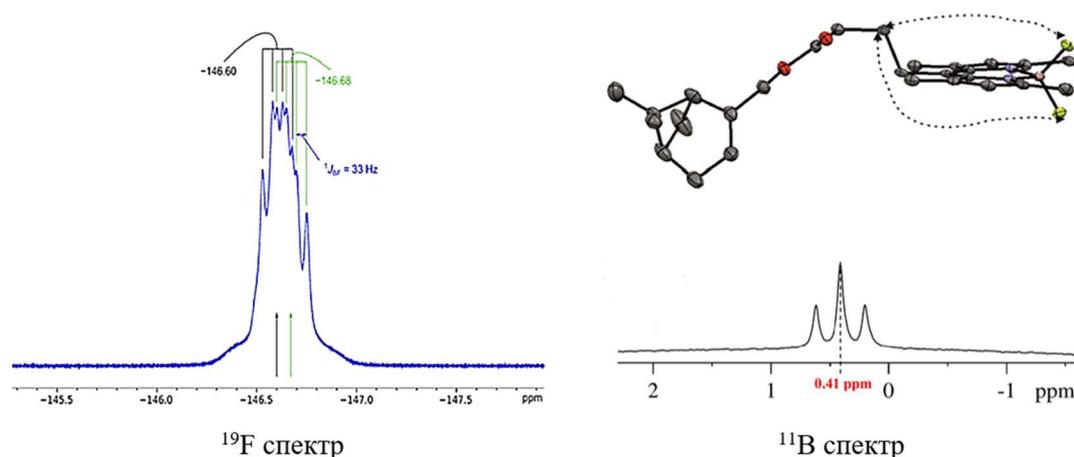


Рис. 2.19. ^{19}F и ^{11}B ЯМР спектры (658.78 и 160.46 МГц) и структура конъюгата **174** по данным квантово-химических расчетов CAM-B3LYP / def2-TZVP

Согласно квантово-химическим расчетам (Рис. 2.19), индаценовая система является плоской, а фрагмент F–B–F перпендикулярен ей. Ориентация алкильной цепи в *мезо*-положении пинанового конъюгата **174** определяется стерическим эффектом метиленовых групп: первый фрагмент цепи расположен ортогонально, а второй — в *транс*-конфигурации. Это приводит к тому, что оба атома фтора находятся по разные стороны от плоскости цикла, являясь магнитно неэквивалентными.

Таким образом, нами был получен первый пинановый конъюгат на основе *мезо*-замещенного бородипиррометенового люминофора с пропановым линкером. Структура соединения надежно установлена с привлечением комплекса спектральных методов ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Полное соотнесение сигналов ^1H и ^{13}C выполнено с помощью теста на присоединенный протон (АТР), двумерных гомо- (^1H – ^1H COSY и TOCSY, ^1H – ^1H NOESY) и гетероядерных (^1H – ^{13}C , ^1H – ^{15}N HSQC, ^1H – ^{13}C HMBC) экспериментов. Содержание в составе пинанового конъюгата бордифторидного фрагмента подтверждено при помощи ЯМР-спектроскопии на ядрах ^{19}F и ^{11}B . Пространственное строение конъюгата изучено методом PCA, с помощью которого установлено, что он кристаллизуется с образованием двух независимых конформеров.

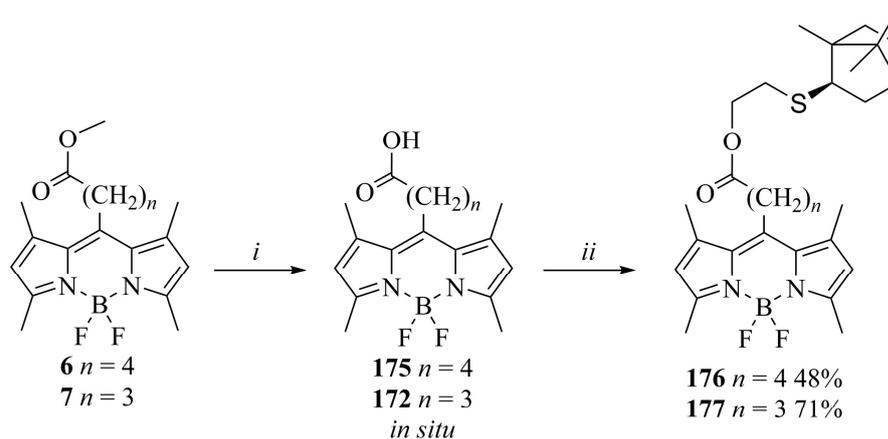
Синтез пинанового конъюгата на основе *мезо*-замещенного люминофора со сложноэфирным фрагментом включал две стадии: высвобождение карбоксильной функции *in situ* посредством гидролиза и последующую ее этерификацию по разработанной нами методике. Показано, что применение комплекса реагентов *O*-(7-азабензотриазол-1-ил)-*N,N,N,N*-тетраметилурония гексафторфосфата и 4-диметиламинопиридина (НАТУ/DMAP) обеспечивает образование продукта искомой структуры с 59% выходом. Использование метода Стеглиха оказалось неэффективным, так как приводит к образованию продукта иной структуры.

На основе разработанной методики впоследствии нами была получена серия новых конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами BODIPY. Однако для подробного изучения биологических, спектральных и физико-химических свойств искомых соединений нам требовалось провести их наработку. Поэтому в дальнейшем нами были внесены коррективы в условия проведения реакции и разработана оригинальная методика этерификации.

2.3.2. Синтез конъюгатов с *мезо*-замещенными люминофорами

На следующем этапе работы нами были получены конъюгаты с пинановыми и борнановыми фрагментами на основе *мезо*-замещенных люминофоров **6** и **7** в две стадии. Высвобождение кислот *in situ*, выполнение реакции этерификации и выделение продуктов с помощью колоночной хроматографии выполняли аналогично описанному ранее конъюгату **174**. Структура искомых соединений была также надежно установлена с привлечением комплекса спектральных методов анализа.

Для изучения влияния степени подвижности линкера на биологические свойства конъюгатов в реакциях этерификации кислот **172** и **175** были синтезированы соединения **176** и **177** с фрагментами изоборнантиоэтанола **140** (Схема 2.11) [132,133]. Выходы продуктов составляли 48 и 71% соответственно.



Реагенты и условия:

i: 1) 0.1 н NaOH, *i*-PrOH, rt, 1 ч; 2) 0.1 н HCl, PhMe, rt;

ii: **140** 1.2 экв., NATU 3 экв., DMAP 1 экв., DCM, rt, 5 ч.

Схема 2.11

Для соединения **177** были также получены данные PCA (Рис. 2.20) [133]. В его кристалле, как и для пинанового конъюгата **174**, наблюдалось образование двух независимых молекул.

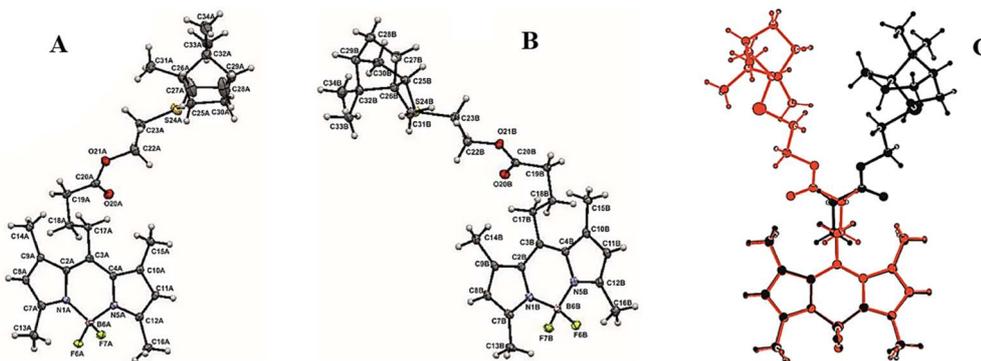


Рис. 2.20. Геометрия конформеров (А, В) в кристалле **177** и их наложение (С)

Спектральные характеристики изоборнантиоэтанола **140** были описаны ранее в работах [108-110]. Аналогичные сигналы были обнаружены и в ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах соединений **176** и **177**.

ПМР спектр конъюгата **177** (Рис. 2.21) содержит синглеты протонов метильной группы (3H-10) и *гем*-диметильного фрагмента (3H-8,9) в области 0.96, 0.92 и 0.79 м.д. соответственно, характерных для борнанового остова терпена [111]. Мультиплеты в области 2.72 и 4.19 м.д. соответствуют протонам $-\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ группы. Сигналы протонов спейсерной группы содержатся при 2.98 (2H- h_1), 1.94 (2H- h_2) и 2.48 м.д. (2H- h_3) в виде мультиплетов, а протоны индаценовой структуры (H-2 и 3H-1,3) резонируют в области 6.03, 2.49 и 2.40 м.д. в виде синглетов.

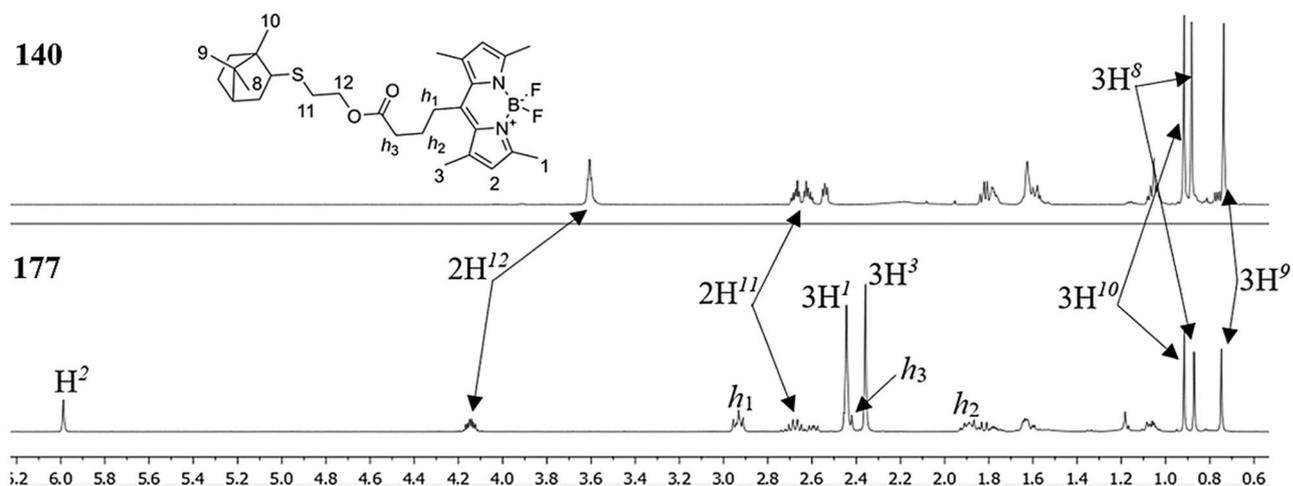


Рис. 2.21. Сравнительные ПМР спектры (500 МГц, CDCl_3) соединений **140** и **177**

В ^{13}C ЯМР спектре соединения **177** содержатся сигналы 29 атомов углерода, подтверждающие образование заданной структуры. В области 20.60, 20.38 и 14.16 м.д. резонируют атомы углерода метильных групп (C-10,8,9), а при 122.01 м.д. — атом углерода индаценовой структуры (C-2). В области 14.68 и 16.61 м.д. содержатся сигналы атомов углерода C-1,3 групп.

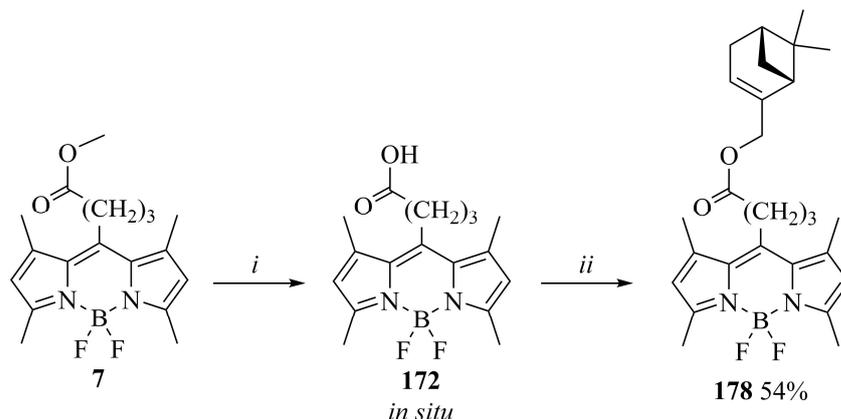
В ИК-спектре соединения **177** присутствуют характеристические полосы валентных колебаний C–H связей в области $3000\text{--}2840\text{ см}^{-1}$ и C=O сложноэфирной группы в области 1735 см^{-1} .

Аналогичные сигналы протонов и атомов углерода присутствовали и в ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах конъюгата **176**, что подтверждает образование соединения требуемой структуры. Протоны спейсерной группы резонируют в области 2.89 (2H- h_1), 1.60 (2H- h_2), 1.75 (2H- h_3) и 2.31 м.д. (2H- h_4) в виде мультиплетов, а в ^{13}C ЯМР спектре соединения **176** содержатся сигналы 30 атомов углерода. В его ^{11}B и ^{19}F ЯМР спектрах присутствуют триплет атома бора в области 0.41 м.д. и два перекрывающихся квартета двух атомов фтора в области -146.22 м.д. ($J = 31$ Гц).

В спектрах MS этих соединений присутствует пик $[M + \text{Na}]^+$, соответствующий молекулярным ионам **176** и **177**.

Для изучения влияния пространственного строения пинанового остова на свойства конъюгатов, также было синтезировано соединение **178** (выход 54%) на основе (–)-миртенола **128** (Схема 2.12) [134]. Спектральные характеристики продукта **178** были аналогичны полученному ранее конъюгату **174** с фрагментом

(+)-миртенола, поскольку они отличались между собой только пространственным строением терпенового остова.



Реагенты и условия:

i: 1) 0.1 н NaOH, *i*-PrOH, rt, 1 ч; 2) 0.1 н HCl, PhMe, rt;

ii: **128** 1.2 экв., NATU 3 экв., DMAP 1 экв., DCM, rt, 5 ч.

Схема 2.12

Поскольку для продолжения наших исследований требовалось увеличить практические выходы конъюгатов, на следующем этапе работы была усовершенствована существующая синтетическая методика. Для этой цели был проведен подбор условий реакции этерификации (Табл. 2).

Таблица 2. Синтез конъюгата **177** в гетеро- (DCM) и гомогенной (DMF) среде⁶

Растворитель	Вариант	Кол-ва реагентов, экв.			Кол-во спирта 140 , экв.	Время выдержки до добавления спирта 140 , мин	Время реакции, ч	Выход, % ⁷
		DMAP	NATU	DIPEA				
DCM	1	1	3	—	1.2	—	5	71
	2	1	3	—	1.2	—	3	70
	3	—	3	1	1.2	—	3	65
	4	1	3	1	1.2	—	3	73
	5	1	1.5	1	1.5	—	3	75
	6	1.3	1.5	1	1.5	—	3	77
	7	1.3	1.5	2	1.5	—	3	80
	8	1.3	1.5	3	1.5	—	3	91
	9	1.3	1.5	3	1.5	—	4	82
	10	1.3	1.5	3	1.5	—	5	73
DMF	11	1.3	1.5	3	1.5	10	3	89
	12	1.3	1.5	3	1.5	20	3	95
	13	1.3	1.5	3	1.5	30	3	90

⁶ При подборе условий использовано 0.1 ммоль (1 экв.) кислоты BODIPY **172**, по отношению которой проводили расчет других реагентов.

⁷ Выходы определены практическим способом.

Сочетание реагентов *O*-(7-азабензотриазол-1-ил)-*N,N,N,N*-тетраметилурония гексафторфосфата (НАТУ) и 4-диметиламинопиридином (DMAР) не является классическим и не описано в литературе. Наиболее часто в дополнение к НАТУ применяется депротонирующий агент *N,N'*-диизопропилэтиламин (DIPEA) в диметилформамиде (DMF) [135], тогда как применение хлористого метилена (DCM) приводит к образованию гетерогенной системы.

Установлено, что реакция этерификации в гомогенной среде (вариант №12) позволяет получить максимальный (95%) практический выход конъюгата **177**. В этом случае также используется в два раза меньшее количество дорогостоящего реагента НАТУ, по сравнению с первоначальным способом (вариант №1). Однако в синтезе некоторых конъюгатов большую эффективность обнаружил вариант №8 в гетерогенной среде.

Примечательно, что при вариантах №9, 10 и 13 имела место деструкция люминофора. При анализе реакционной смеси методом ТСХ наблюдалось образование пятна синего цвета без флуоресценции, представляющей собой по данным хромато-масс-спектрометрии неидентифицируемую смесь соединений. Поэтому дальнейшее увеличение времени синтеза или выдержки реакционной системы является нецелесообразным.

Удаление из реакционной смеси неорганических веществ методом экстракции оказалось неэффективным из-за необратимой адсорбции соединений на осушителях. Поэтому выделение и очистку продуктов реакции выполняли при помощи двух последовательных колоночных хроматографий:

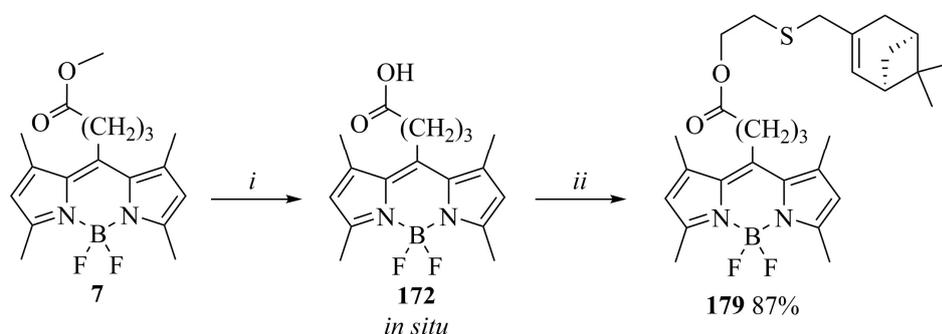
1) первая хроматография⁸ проводилась для удаления неорганических веществ, остаточного количества исходного монотерпеноида, катализаторов и продуктов их превращения;

2) вторую хроматографию выполняли для непосредственного выделения и очистки конъюгатов.

⁸ Данный этап также использовался для «консервации» реакционной смеси, поскольку даже после удаления растворителя наблюдалась последующая деструкция люминофора.

Таким образом, нами была разработана оригинальная методика этерификации, позволившая провести наработку терпеновых конъюгатов для дальнейших исследований.

С использованием оптимизированной методики (варианта №12) был также получен конъюгат **179** на основе (+)-пиненилтиоэтанола **159** с выходом 87% (Схема 2.13). Следует отметить, что применение гетерогенного катализа (вариант №8) при его синтезе приводило к образованию смеси нескольких продуктов, неразделимых методом колоночной хроматографии на силикагеле. Соединение **179** отличалось от конъюгата **177** структурой бициклического терпенового скелета.



Реагенты и условия:

i: 1) 0.1 н NaOH, *i*-PrOH, rt, 1 ч; 2) 0.1 н HCl, PhMe, rt;

ii: **159** 1.5 экв., DMAP 1.3 экв., NATU 1.5 экв., DIPEA 3 экв., DMF, rt, 3 ч.

Схема 2.13

Конъюгат **179** представлял собой кристаллическую массу с низкой температурой плавления, что существенно затрудняло выращивание кристаллов.

ПМР спектра соединения **179** (Рис. 2.22) содержит характерные синглеты протонов *гем*-диметильного фрагмента (3H-9,8) и двойной связи (H-3) пинанового остова при 0.77, 1.23 и 5.32 м.д. соответственно, в то время как АВ система с центром в области 3.02 м.д. ($J = 13.3$ Гц) принадлежит протонам (2H-10) метиленовой группы. В области 4.16 (2H-12) и 2.61 м.д. (2H-11) содержатся мультиплеты протонов $-SCH_2CH_2O-$ группы. Образование конъюгата искомой структуры было также подтверждено присутствием сигналов протонов спейсерной группы в области 2.94 (2H- h_1), 1.92 (2H- h_2) и 2.34 м.д. (2H- h_3) в виде мультиплетов. Синглеты протонов в β, β' -положениях индаценовой системы и метильных групп при ней также присутствуют в области 5.98 (H-2), 2.45 и 2.37 м.д. (3H-1,3).

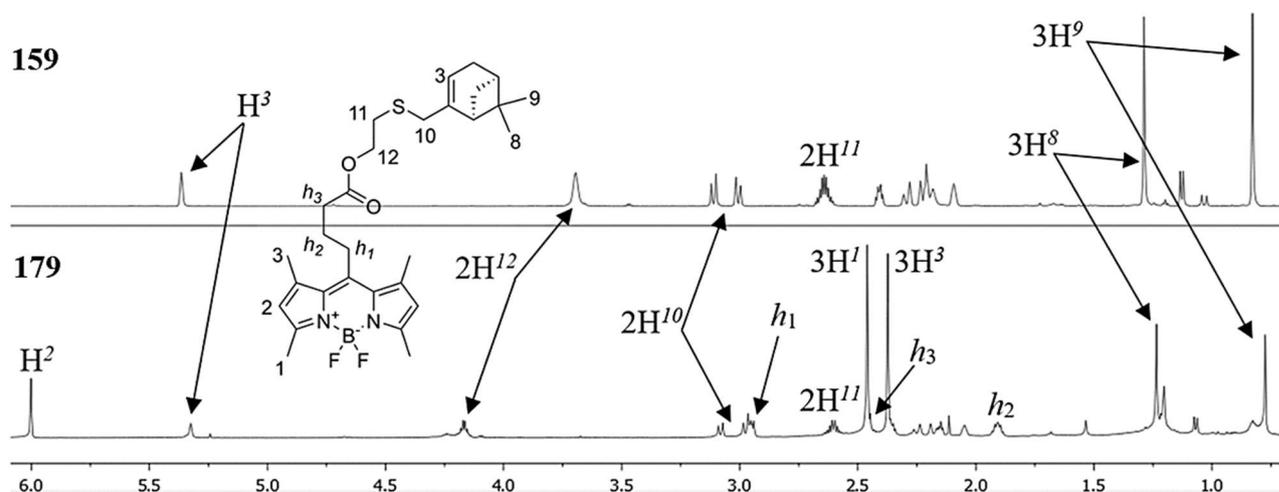


Рис. 2.22. Сравнительные ПМР спектры (500 МГц, CDCl_3) соединений **159** и **179**

В ^{13}C ЯМР спектре соединения **179** содержатся сигналы 29 атомов углерода, подтверждающие образование требуемой структуры. В области 22.44 и 27.45 м.д. резонируют атомы углерода (C-9,8) *гем*-диметильного фрагмента, а при 123.11 м.д. — атом углерода (C-2) в β,β' -положениях индаценовой системы. В области 15.77 и 17.69 м.д. присутствуют сигналы атомов углерода метильных групп (C-1,3).

Для изучения терапевтического потенциала конъюгатов на следующем этапе работы нами была исследована возможность их применения в качестве фотосенсибилизаторов в рамках фотодинамической терапии. Для этого была получена серия иод- и бромзамещенных соединений **180-183** (Рис. 2.23), поскольку известно, что введение тяжелых атомов в β,β' -положения структуры люминофора увеличивает квантовый выход генерации синглетного кислорода [21] — чрезвычайно реакционноспособной формы молекулы кислорода [22].

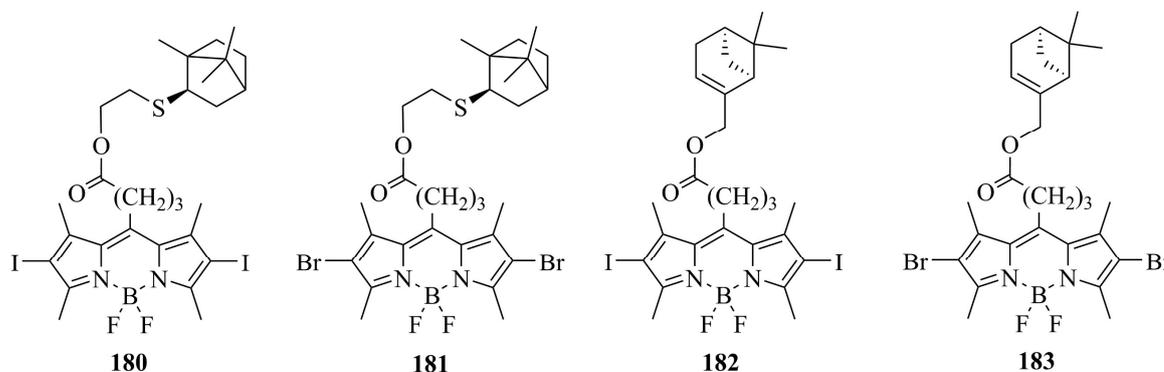
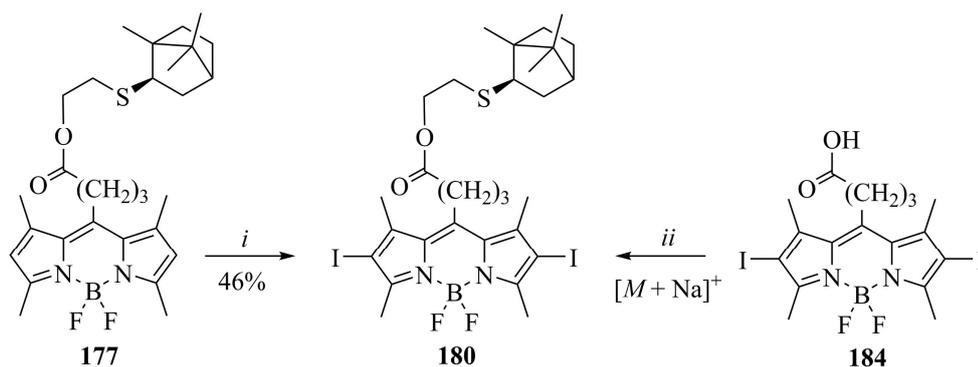


Рис. 2.23. Структурные формулы галогензамещенных конъюгатов **180-183**

Иод- и бромзамещенные соединения **180-183** были получены в Институте химии растворов им. Г.А. Крестова РАН д.х.н., проф. Антиной Е.В. и к.х.н. Гусевой Г.Б. в реакции синтезированных и предоставленных нами терпеновых конъюгатов с *N*-галогенсукцинимидами. Так, соединение **180** с 46% выходом было получено в реакции борнанового конъюгата **177** с *N*-иодсукцинимидом (Схема 2.14, *i*), структура которого была установлена при помощи ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии [136].



Реагенты и условия:

i: *N*-иодсукцинимид 8 экв., 40°C, DCM:DMF 4:1, 48 ч;

ii: **28** 1.5 экв., DMAP 1.3 экв., HATU 1.5 экв., DIPEA 3 экв., DMF, rt, 3 ч.

Схема 2.14

В нашей лаборатории исследовалась возможность получения этого же конъюгата **180** на основе исходного иодзамещенного люминофора **184** по разработанной ранее методике этерификации в гомогенной среде (Схема 2.14, *ii*). Соединение **184** было предоставлено к.х.н. Гусевой Г.Б. в виде карбоновой кислоты.

При очистке продукта реакции методом колоночной хроматографии было обнаружено образование трудноразделимой смеси из четырех соединений, из которой нам не удалось выделить целевой конъюгат в чистом виде. Полученная смесь была проанализирована нами методами ^1H ЯМР-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии.

В MS спектре присутствует пик $[M + \text{Na}]^+$, соответствующий молекулярному иону **180** с m/z 805. ПМР спектр содержит синглеты протонов метильной группы и *гем*-диметильного фрагмента в области 0.74, 0.87 и 0.91 м.д., характерных для борнанового скелета монотерпеноида. Протоны индаценовой структуры, а именно

метильных групп при ней, резонируют в области 2.43 и 2.54 м.д. в виде синглетов. В ПМР спектре отсутствуют сигналы протонов в β, β' -положения индаценовой структуры люминофора, что характерно также для исходного соединения **184**.

Поскольку выделение иодзамещенного конъюгата с борнанным фрагментом, полученного в реакции этерификации, обнаружило трудности, за пределами настоящей работы будет проведен пересмотр синтетических условий, что в дальнейшем позволит получать искомые конъюгаты двумя разными способами.

Таким образом, на основе *мезо*-замещенных бордипиррометеновых люминофоров с высокими выходами в две стадии были получены новые конъюгаты с пинановыми и борнанными остовами. Структура соединений надежно установлена с привлечением комплекса спектральных методов ^1H и ^{13}C ЯМР- и ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии. Полное соотнесение сигналов ^1H и ^{13}C выполнено с помощью теста на присоединенный протон (АТР), двумерных гомо- (^1H - ^1H COSY и TOCSY, ^1H - ^1H NOESY) и гетероядерных (^1H - ^{13}C HSQC и HMBSC) экспериментов. Содержание в составе новых конъюгатов бордифторидного фрагмента также подтверждено при помощи ЯМР-спектроскопии на ядрах ^{19}F и ^{11}B . Пространственное строение конъюгата с фрагментами изоборнантиоэтала и люминофора с пропановым линкером изучено методом PCA, с помощью которого установлено, что он кристаллизуется с образованием двух независимых конформеров.

Путем варьирования растворителя (DCM или DMF), эквимольных количеств реагентов (DMAP, NATU, DIPEA) и терпенового спирта, времени выдержки и времени проведения реакции этерификации (второй стадии разработанной нами оригинальной методики этерификации) были определены оптимальные условия получения борнанного конъюгата с 95% выходом.

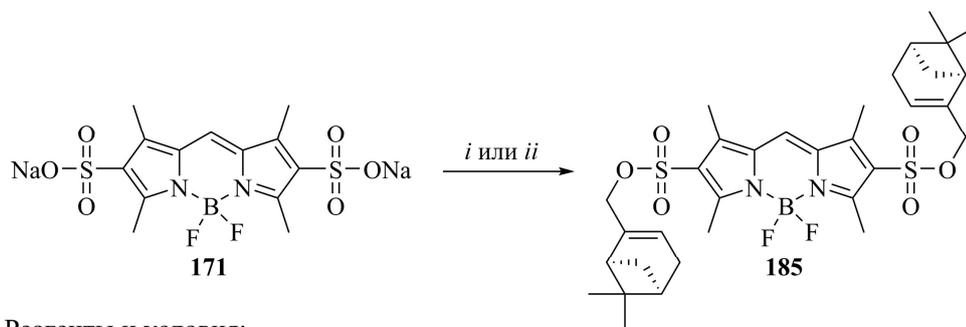
С целью изучения терапевтического потенциала терпеновых красителей, а именно возможности их применения как фотосенсибилизаторов в фотодинамической терапии, на основе синтезированных нами конъюгатов была

получена серия иод- и бромзамещенных соединений. В рамках настоящей работы исследовалась возможность получения иодзамещенного конъюгата на базе разработанной нами методики этерификации. Образование искомого соединения в реакционной смеси доказано на основе данных ^1H ЯМР-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии.

2.3.3. Синтез водорастворимых конъюгатов монотерпеноидов

Вышеописанные пинановые и борнанные конъюгаты, полученные на основе *мезо*-замещенных люминофоров, обладают гидрофобными свойствами, что затрудняет проведение биологических испытаний с их участием в водных или спиртовых растворах. В связи с этим нами была поставлена задача разработки дизайна водорастворимых конъюгатов.

С этой целью на первом этапе работы нами была проведена реакция динатриевой соли дисульфанилзамещенного люминофора **171** с (+)-пиненилбромидом **155** в некаталитических условиях (Схема 2.15, *i*). Согласно данным ТСХ, реакция завершилась образованием двух водорастворимых продуктов с ярко-желтой флуоресценцией, аналогичной исходному люминофору, которые были выделены колоночной хроматографией на силикагеле и проанализированы с помощью ^1H ЯМР-спектроскопии.



Реагенты и условия:

i: **155** 2 экв., Me_2CO , rt, 1.5 ч; *ii*: **155** 2 экв., ТВАI 0.5 экв., DMF, rt, 1.5 ч.

Схема 2.15

В ПМР спектре одного из продуктов присутствуют синглеты метильных групп индаценовой структуры в области 2.76 и 2.79 м.д. и сигналы протонов пинанового остова в удвоенном количестве, характерных для соединения **185**. В ПМР спектре второго продукта сигналы протонов пинанового остова не были обнаружены. Поскольку конъюгат **185** не удалось выделить в чистом виде, была опробована методика с использованием в качестве катализатора иодида тетрабутиламмония (ТВАИ) в DMF (Схема 2.15, *ii*) [137].

По данным ТСХ, реакция завершилась с образованием двух продуктов разной полярности, которые были выделены колоночной хроматографией на силикагеле. При этом характерная желтая флуоресценция сохранилась только у водорастворимого соединения. Однако в его ПМР спектре отсутствовали сигналы протонов терпенового остова.

В связи со сложностью выделения соединения **185** в индивидуальном виде, нами был разработан дизайн конъюгатов монотерпеноидов катионного типа — четвертичных аммонийных солей (ЧАС), обладающих хорошей растворимостью в воде.

Известно, что катионные поверхностно-активные вещества проявляют выраженное противомикробное действие и широко используются в качестве антисептических средств. К соединениям данного класса относится коммерчески доступный лекарственный препарат Мирамистин **186** (Рис. 2.24), в структуре которого можно выделить «центральный фрагмент» — синтетически «удобный» диметиламинопропиламин (DMAPA).

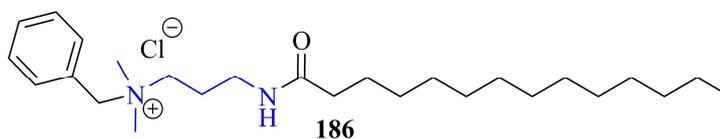


Рис. 2.24. Структурная формула Мирамистина **186**

Нам представлялось интересным попробовать ввести фрагмент данного амина в структуру терпеновых конъюгатов с бородипиррометеновыми люминофорами. Однако на первом этапе этой работы требовалось провести биологические испытания, подтверждающие перспективность дизайна ЧАС на

основе монотерпеноидов. При этом полученные соединения содержали бы вместо бензольного кольца остаток природного терпеноида, что, очевидно, несло бы преимущества «зеленой химии».

С этой целью были синтезированы соединения **194-196**, содержащие два терпеновых фрагмента (Схема 2.16) [138,139]. В качестве исходных синтонов использовали (-)-миртеную **187**, (-)-*цис*-миртановую **188** и (-)-*транс*-миртановую **189** кислоты, а также (+)-миртенол **127**, превращенный в терпенилбромид **155** адаптированной реакцией Аппеля.

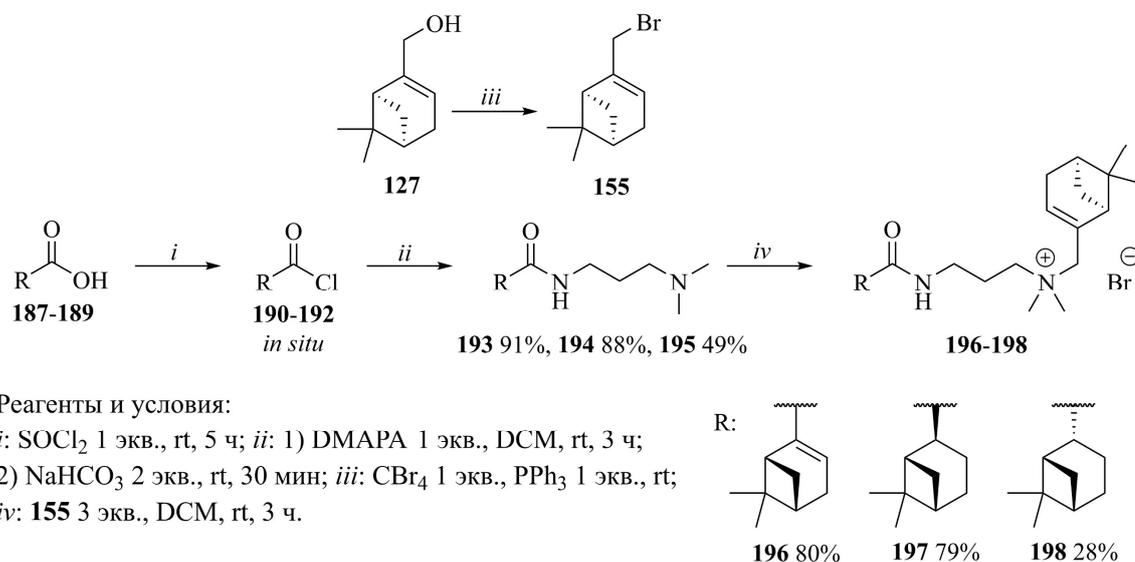


Схема 2.16

Синтез солей **196-198** с выходами 28-80% заключался в алкилировании ациламидами **193-195**, полученных при взаимодействии хлорангидридов **190-192** с DMAPA. Реакцию алкилирования проводили без катализатора, чтобы упростить выделение и очистку целевых продуктов. Поэтому было подобрано оптимальное количество терпенилбромидов **155**, где использование трехкратного избытка реагента оказалось наиболее эффективным. Низкий выход соединения **198** (28%), вероятно, объясняется неполной конверсией терпенилбромидов **155**.

Ацилхлориды **190-192** были получены *in situ* в реакции соответствующих кислот с SOCl_2 (выходы условно считали количественными). Ациламидами **193-195** использовали без дополнительной очистки (выходы 49-91%).

Продукты **196-198** выделяли методом замены растворителя: реакционную смесь растворяли в минимальном объеме хлористого метилена и при интенсивном

перемешивании по каплям вносили в избыток гексана. Структура соединений была установлена с помощью ^1H и ^{13}C ЯМР- и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии.

Следует отметить, что пространственное строение *цис*- **188** и *транс*-миртановых **189** кислот определяли по взаимному расположению метинового протона (H-2) и объемного *гем*-диметильного заместителя (CH_3 -8,9) (Рис. 2.25). Для *цис*-изомера характерно нахождение протона и заместителя по разные стороны от плоскости цикла, а для *транс*- — с одной стороны. Дело в том, что при нахождении объемного заместителя *R* рядом с *гем*-диметильным фрагментом, происходит экранирование одного из метилов (CH_3 -8), что обнаруживается на ПМР спектре в виде сдвига его синглета (3H-8) в сторону сильного поля.

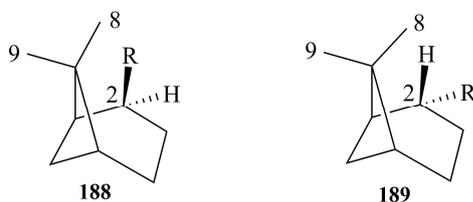


Рис. 2.25. Stereokonфигурация кислот **188** и **189**

ПМР спектр соединения **196** (Рис. 2.26) содержит характерные синглеты протонов *гем*-диметильных фрагментов в области 0.79, 1.29 (3H-9,8) и 0.81, 1.31 м.д. (3H-9',8') и синглеты протонов двойных связей пинановых остовов при 6.12 (H-3) и 6.67 м.д. (H-3').

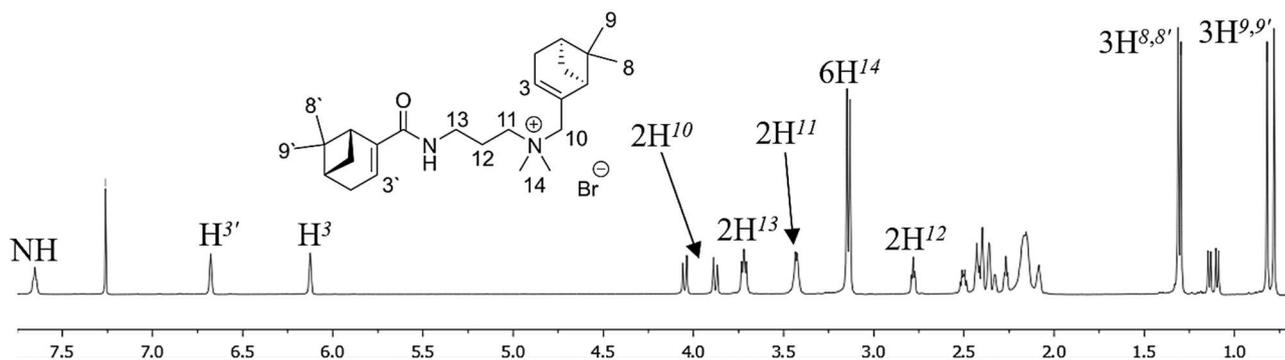


Рис. 2.26. ПМР спектр (500 МГц, CDCl_3) соединения **196**

Успешность аликирования подтверждается присутствием АВ системы с центром в области 3.93 м.д. ($J = 12.7$ Гц), принадлежащей протонам метиленовой группы (2H-10) пиненового остова. В области 3.13 и 3.14 м.д. резонируют в виде синглетов протоны метильных групп (6H-14) при четвертичном атоме азота, а

мультиплетные сигналы метиленовых групп фрагмента ДМАРА присутствуют в области 2.78 (2H-12), 3.42 (2H-11) и 3.71 м.д. (2H-13). Протон амидной группы (NH) резонирует при 7.65 м.д..

В ^{13}C ЯМР спектре соединения **196** содержатся сигналы 25 атомов углерода, что подтверждает образование требуемой структуры. В области 21.03 (C-8), 21.29 (C-8'), 25.91 (C-9) и 25.96 м.д. (C-9') резонируют атомы углеродов *гем*-диметильных фрагментов пинановых остовов. Сигналы атомов углерода при двойной связи терпеновых скелетов присутствуют в области 130.50 (C-3) и 136.50 м.д. (C-3'). Атом углерода амидной группы содержится при 168.18 м.д..

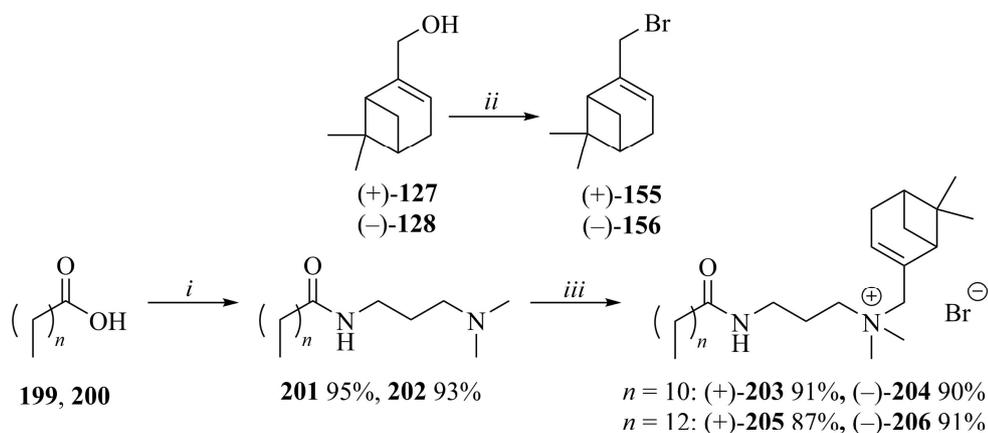
Аналогичные сигналы протонов и атомов углерода присутствуют и в ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах соединений **197** и **198**. Следует отметить, что, действительно, вследствие экранирующего эффекта объемного заместителя *R* (Рис. 2.25) происходит смещение (на ~ 0.1 м.д.) синглета метильной группы (3H-8') в область сильного поля (1.23 м.д.), что соответствует *цис*-конфигурации пинанового остова у соединения **197**. В его ПМР спектре присутствуют синглет протона при двойной связи (H-3) в области 6.13 м.д., АВ и АВХ системы с центрами в областях 4.00 ($J = 12.7$ Гц) и 3.40 м.д., принадлежащие протонам метиленовых групп (2H-10,3').

В ^{13}C ЯМР спектре соединения **197** атомы углерода *гем*-диметильных фрагментов пинановых остовов резонируют в области 21.29 (C-8'), 22.26 (C-9) и 25.16 м.д. (C-9'), причем сигнал атома углерода метильной группы C-8 присутствует в области 15.84 м.д., что, по-видимому, обусловлено экранирующим эффектом π -электронов двойной связи.

Однако, несмотря на бифармакофорную природу (сочетание в одной структуре монотерпеноидов и ЧАС), соединения **196-198** не обладали выраженными противогрибковыми и антибактериальными свойствами⁹. Мы предположили, что причиной тому являлось экранирование фрагмента ЧАС двумя объемными пинановыми заместителями.

⁹ Результаты представлены в разделе 2.4.1.

Поэтому на следующем этапе были синтезированы наиболее близкие «структурные аналоги» Мирамистина **186** [140]. В качестве исходных синтонов использовали изомерные миртенолы **127** и **128**, лауриновую **199** ($n = 10$) и миристиновую **200** ($n = 12$) кислоты (Схема 2.17).



Реагенты и условия:

i: DMAPA 1 экв., *p*-TsOH 0.2 экв., PhMe, 140°C, 20 ч; *ii*: CBr₄ 1 экв., PPh₃ 1 экв., rt;

iii: **155** или **156** 3 экв., DCM, rt, 3 ч;

Схема 2.17

Ациламиды **201** и **202** с выходами 93 и 95% были получены в результате азеотропной перегонки смеси кислот **199**, **200** и DMAPA с добавлением каталитического количества *p*-TsOH. Реакцию алкилирования ациламидов **201** и **202** и очистку продуктов проводили аналогично соединениям **196-198**.

Следует отметить, что в реакции алкилирования нами использовались не только представленные терпенилбромиды **155** и **156**, но и бромпроизводные (–)-*цис*-**125** и (–)-*транс*-миртанолов **126**. Однако в их случае реакция протекала с низкими выходами или вовсе не приводила к получению целевых соединений, что, возможно, объясняется стерической загруженностью этих насыщенных терпенов и возможностью существования в «неудобных» конформациях.

ПМР спектр соединения **205** (Рис. 2.27) содержит характерные синглеты протонов *гем*-диметильного фрагмента (3H-9,8) и протона при двойной связи (H-3) пинанового остова в области 0.85, 1.32 и 6.16 м.д. соответственно, а АВ система с центром в области 4.01 м.д. ($J = 12.6$ Гц) принадлежит протонам метиленовой группы (2H-10). Успешность алкилирования подтверждается присутствием синглетов метильных групп (6H-14) при четвертичном атоме азота в области 3.16

и 3.18 м.д., а мультиплетные сигналы в области 2.31 (2H-12), 3.37 (2H-11) и 3.81 м.д. (2H-13) соответствуют протонам метиленовых групп фрагмента ДМАРА. Сигналы протонов фрагмента миристиновой кислоты резонируют в области 0.88 м.д. (3H-27), 1.61 м.д. (2H-15) и 1.23-1.30 м.д. (22H-16-26) в виде мультиплетов.

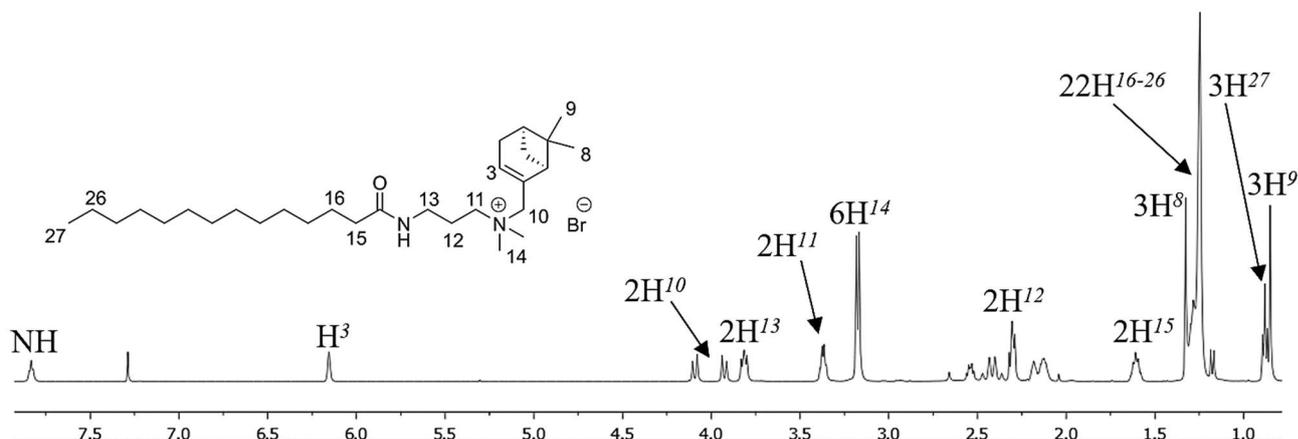


Рис. 2.27. ПМР спектр (500 МГц, CDCl_3) соединения **205**

В ^{13}C ЯМР спектр соединения **205** содержатся сигналы 29 атомов углерода, что подтверждает образование искомой структуры. Сигналы атомов углерода *гем*-диметильных фрагмента (C-8,9) резонируют в области 21.3 и 22.7 м.д., а при 136.57 м.д. присутствует сигнал атома углерода при двойной связи (C-3) пинанового остова.

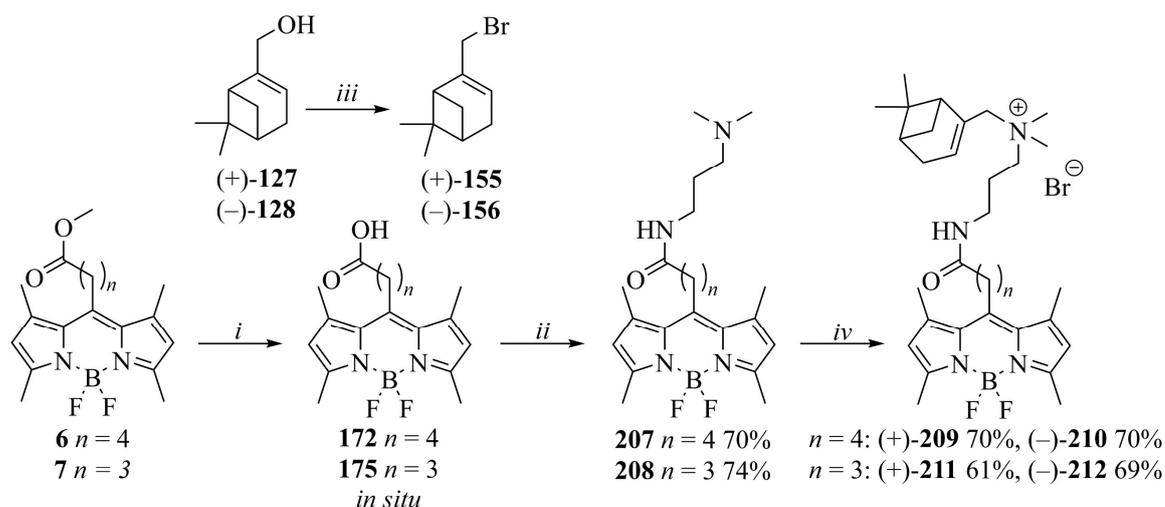
В ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах соединений **203**, **204** и **206** содержатся аналогичные сигналы протонов и атомов углерода, подтверждающие образование требуемых структур.

При оценке противомикробных свойств соединения **203-206** проявили значительную активность в отношении как клеток бактерий, так и грибов¹⁰. Таким образом, была подтверждена перспективность дизайна ЧАС с одним терпеновым фрагментом.

Поэтому на следующем этапе работы нами была синтезирована серия катионных конъюгатов с пинановыми фрагментами на основе *мезо*-замещенных люминофоров **6** и **7** (Схема 2.18) [141]. Исследование таких соединений позволило бы нам определить влияние заряженного фрагмента на биологические и

¹⁰ Результаты представлены в разделе 2.4.1.

спектральные свойства конъюгатов. Кроме того, это позволило бы использовать полученные конъюгаты в диагностических целях.



Реагенты и условия:

i: 1) 0.1 н NaOH, *i*-PrOH, rt, 1 ч; 2) 0.1 н HCl, PhMe, rt;

ii: DMAPA 1 экв., NATU 1.5 экв., DMAP 1.3 экв., DIPEA 3 экв., DCM, rt, 3 ч;

iii: CBr₄ 1 экв., PPh₃ 1 экв., rt; *iv*: **155** или **156** 3 экв., DCM, rt, 3 ч.

Схема 2.18

Ациламиды **207** и **208** с выходами 70 и 74% соответственно были получены при взаимодействии кислот **172** и **175** с эквимолярным количеством DMAPA по ранее разработанной нами методике этерификации в гетерогенной среде. Для этого также высвобождали *in situ* карбоксильную функцию люминофоров **6** и **7**. Примечательно, что использование в реакции 1.5 эквимолярного количества амина обусловило деструкцию люминофора.

Ациламиды **207** и **208** были выделены обращенно-фазовой колоночной хроматографией на модифицированном силикагеле C18. Причиной тому являлось необратимая адсорбция этих соединений на «обычном» силикагеле вследствие высокой полярности этих соединений. Для этого использовали коммерчески доступные флэш-картриджи с соответствующим сорбентом. Структура ациламидов установлена при помощи масс-спектрометрии.

Соединения **209-212** с выходами 61-70% были получены реакцией алкилирования ациламидов **207** и **208** трехкратным избытком терпенилбромидов **155** и **156**. Выделение продуктов выполняли также обращенно-фазовой хроматографией на силикагеле C18.

В отличие от нейтральных конъюгатов, синтезированные соединения **209-212** отличались хорошей растворимостью в водных средах, однако представляли собой вязкие масла, что обнаружило некоторые неудобства в работе с ними и невозможность изучения пространственной структуры методом РСА.

ПМР спектр соединения **209** (Рис. 2.28) содержит характерные синглеты протонов *гем*-диметильного фрагмента (3H-9,8) и двойной связи (H-3) при 0.74, 1.24 и 5.29 м.д. соответственно, а АВ система с центром в области 3.80 м.д. ($J = 12.6$ Гц) принадлежит протонам метиленовой группы (2H-10) терпенового скелета. Синглеты протонов индаценовой структуры присутствуют в области 2.37 (3H-3), 2.42 (3H-1) и 6.03 м.д. (H-2). Мультиплетные сигналы в области 1.56 (2H- h_2), 1.77 (2H- h_3), 2.14 (2H- h_4) и 3.62 (2H- h_1) м.д. соответствуют протонам спейсерной группы. Успешность алкилирования подтверждается присутствием сигналов протонов метильных групп (6H-14) при четвертичном атоме азота в области 2.85-2.87 м.д. в виде двух близкорасположенных синглетов. В свою очередь, мультиплеты протонов метиленовых групп (2H-12,11,13) фрагмента ДМАРА присутствуют в области 2.00, 2.90 и 3.26 м.д. соответственно. Протон амидной группы (NH) резонирует в области 8.19 м.д..

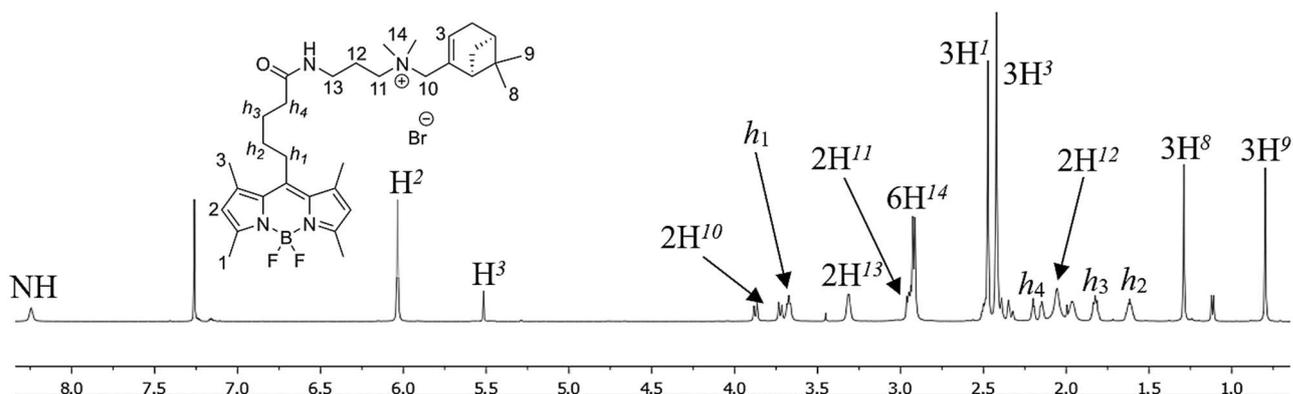


Рис. 2.28. ПМР спектр (500 МГц, CDCl_3) соединения **209**

В ^{13}C ЯМР спектре соединения **207** содержатся сигналы 33 атомов углерода, подтверждающие образование заданной структуры.

В ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах соединений **210-212** содержатся аналогичные сигналы протонов и атомов углерода, подтверждающие образование искомым структур.

Таким образом, была синтезирована серия пинановых конъюгатов с катионным фрагментом, введение которого действительно способствовало увеличению растворимости соединений в водных средах¹¹.

Ввиду выявленных перспективных свойств соединений **203-206** нами была расширена серия солей с одним терпеновым фрагментом¹² (Схема 2.19) [142].

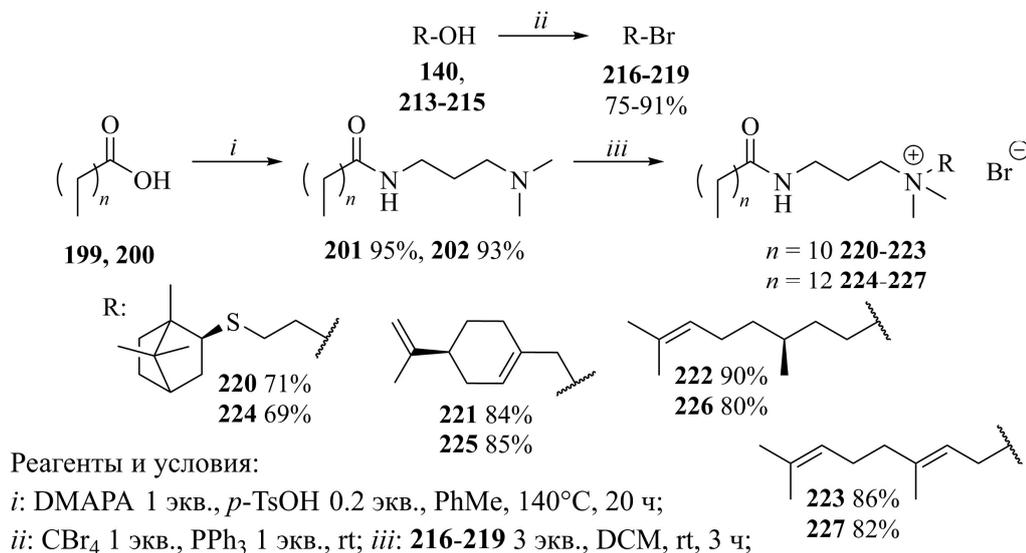


Схема 2.19

В качестве исходных синтонов были использованы ранее полученный изоборнантиоэтанол **140** и коммерчески доступные (*S*)-(-)-перилловый спирт **213**, (+)-цитронеллол **214**, гераниол **215** (содержание *транс*-изомера 98%), обладающие уникальными биологическими свойствами [1,82-86,108]. Терпенилбромиды **216-219** были синтезированы в адаптированной реакции Аппеля с выходами 75-91%.

Соединения **220-227** были получены с выходами 69-90%. Их очистку осуществляли методом замены растворителя. Структура соединений **220-227** установлена с помощью ¹H и ¹³C ЯМР- и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии. В ¹H и ¹³C ЯМР спектрах содержатся необходимые сигналы протонов и атомов углерода, подтверждающие образование заданных структур.

Таким образом, введение катионного фрагмента в структуру пинановых конъюгатов на основе *мезо*-замещенных люминофоров позволило получить

¹¹ Результаты исследований липофильности представлены в разделе 2.4.2.

¹² Результаты противомикробной активности соединений **220-227** представлены в разделе 2.4.1.

водорастворимые соединения. Для их выделения был применен метод обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле С18. Структура синтезированных конъюгатов надежно установлена с привлечением комплекса спектральных методов ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Полное соотнесение сигналов протонов и атомов углерода в ЯМР спектрах выполнено с помощью двумерных гомо- (^1H - ^1H COSY) и гетероядерных (^1H - ^{13}C HSQC и HMBC) экспериментов.

Катионные конъюгаты были получены с выходами 61-70% в результате введения фрагмента диметиламинапропиламина в структуру нейтральных соединений с пинановым остовом. Для этого был осуществлен четырехстадийный синтез, на втором этапе которого реакция амидирования проводилась по ранее разработанной нами оригинальной методике этерификации. Полученный результат подтверждает эффективность разработанной методики для амидирования бородипиррометеновых кислот.

Установлено, что полученные в три стадии четвертичные аммонийные соли с одним терпеновым фрагментом обладают значительной противомикробной активности. В связи с этим нами была получена серия структурных «аналогов» известного лекарственного средства Мирамистин, включающей в общей сложности 15 новых соединений, структура которых была установлена с использованием спектральных методов ^1H и ^{13}C ЯМР- и ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии

Путем варьирования количества терпенилбромида были определены оптимальные условия синтеза четвертичных аммонийных солей, где использование трехкратного избытка реагента способствовало получению целевых соединений с выходами 28-91%.

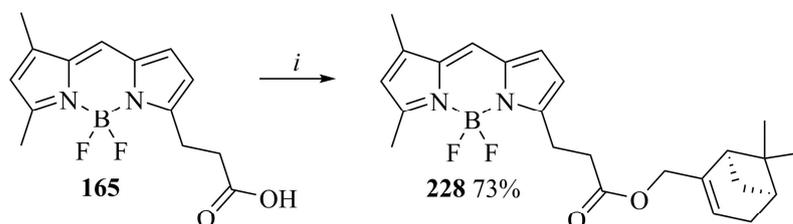
Предпринята попытка синтеза водорастворимых конъюгатов на основе динатриевой соли дисульфанилзамещенного люминофора. Установлено, что ее взаимодействие с (+)-пиненилбромидом в некаталитических условиях приводит к образованию целевого продукта, что подтверждено при помощи ^1H ЯМР-

спектроскопии. Однако выделение соединения в индивидуальном виде оказалось затруднительным.

2.3.4. Синтез конъюгатов с α -замещенными люминофорами

На следующем этапе работы нами была синтезирована серия терпеновых конъюгатов на основе α -замещенных люминофоров со свободной карбоксильной группой, то есть реакция этерификации выполнялась в одну стадию. Характерной особенностью данных люминофоров является наличие различных хромофорных заместителей при индаценовой структуре, обуславливающих красный сдвиг в спектрах поглощения и излучения.

В реакции люминофора **165** с (+)-миртенолом **127** было получено соединение **228** с выходом 73% (Схема 2.20) [143], которое выделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле.



Реагенты и условия:

i: **127** 1.5 экв., DMAP 1.3 экв., NATU 1.5 экв., DIPEA 3 экв., DCM, rt, 3 ч.

Схема 2.20

ПМР спектр соединения **228** (Рис. 2.29) содержит характерные синглеты протонов *gem*-диметильного фрагмента (3H-9,8) и двойной связи (H-3) пинанового остова в области 0.82, 1.27 и 5.54 м.д. соответственно. Протоны метиленовой группы (2H-10) резонируют в виде мультиплета при 4.47 м.д., в то время как в спектре также присутствует АВХ система в области 0.90-1.24 м.д., принадлежащая метиленовой группе (2H-7) алицикла терпенового остова. Мультиплеты при 3.29 и 2.76 м.д. соответствуют протонам спейсерной группы (2H-11,12). Протоны метильных групп (3H-1,3) при индаценовой системе резонируют в области 2.23 и

2.55 м.д. в виде синглетов. В то же время синглеты протонов бородипиррометена (H-2,2',3') содержатся при 6.09, 6.26 и 6.86 м.д. соответственно, а протон в мезо-положении (H-*ms*) люминофора резонирует в области 7.06 м.д. в виде синглета.

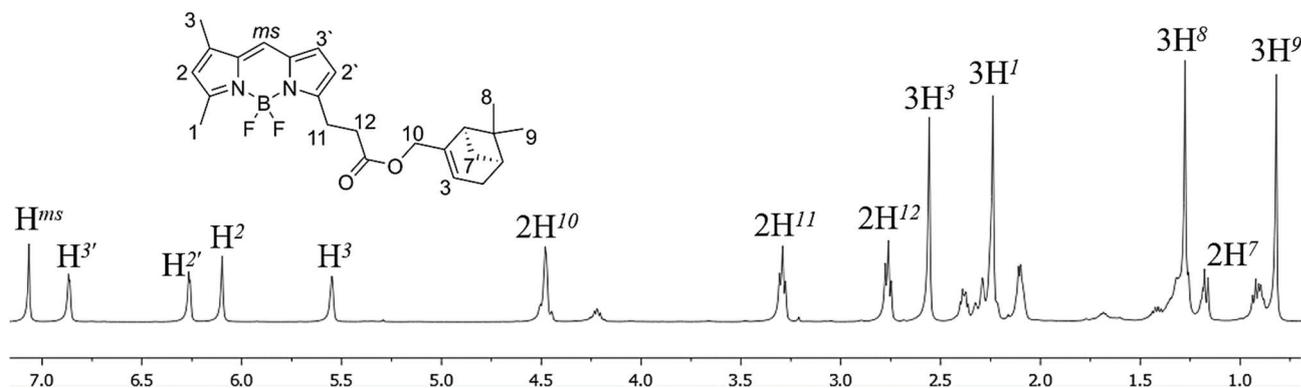
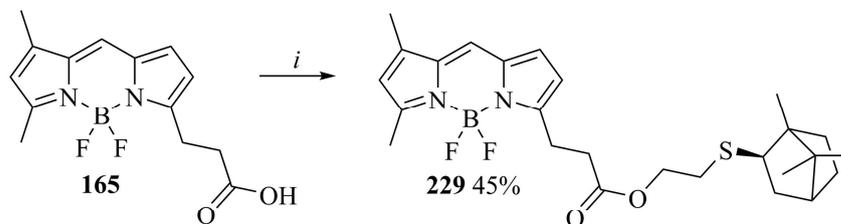


Рис. 2.29. ПМР спектр (500 МГц, CDCl₃) конъюгата **228**

В ¹³C ЯМР спектре содержатся сигналы 24 атомов углерода, подтверждающие образование заданной структуры. Сигналы атомов углерода метильных групп (C-1,3) при индаценовой структуре присутствуют при 14.0 и 24.0 м.д., а атомы углерода *гем*-диметильного фрагмента (C-8,9) пинанового остова резонирует в области 20.3 м.д..

Аналогичным образом был получен конъюгат **229** с борновым фрагментом (Схема 2.21) [143]. Однако, по данным ТСХ, реакция протекала с образованием нескольких продуктов, что, по-видимому, объясняет более низкий выход (45%) конъюгата **229** по сравнению с пинановым соединением **228** (73%). Так, при проведении колоночной хроматографии наблюдалось разделение на несколько окрашенных зон, однако структура побочных продуктов не была установлена вследствие их необратимой адсорбции на силикагеле.



Реагенты и условия:

i: **140** 1.5 экв., DMAP 1.3 экв., NATU 1.5 экв., DIPEA 3 экв., DCM, rt, 3 ч.

Схема 2.21

ПМР спектр соединения **229** (Рис. 2.30) содержит характерные синглеты метильной группы (3H-10) и *гем*-диметильного фрагмента (3H-8,9) борнанового остова в области 0.98, 0.94 и 0.81 м.д. соответственно. Протоны фрагмента –SCH₂CH₂O– резонируют в области 2.69-2.72 (2H-11') и 4.20 м.д. (2H-12') в виде мультиплетов, а протоны спейсерной группы (2H-11,12) — в виде мультиплетов при 3.29 и 2.76 м.д.. Синглеты протонов метильных групп (3H-1,3) при индаценовой системе содержатся при 2.23 и 2.55 м.д.. Протоны люминофора (H-2,2',3') резонируют в виде синглетов в области 6.10, 6.27 и 6.86 м.д. соответственно. Синглет протона в *мезо*-положении (H-*ms*) присутствует при 7.06 м.д..

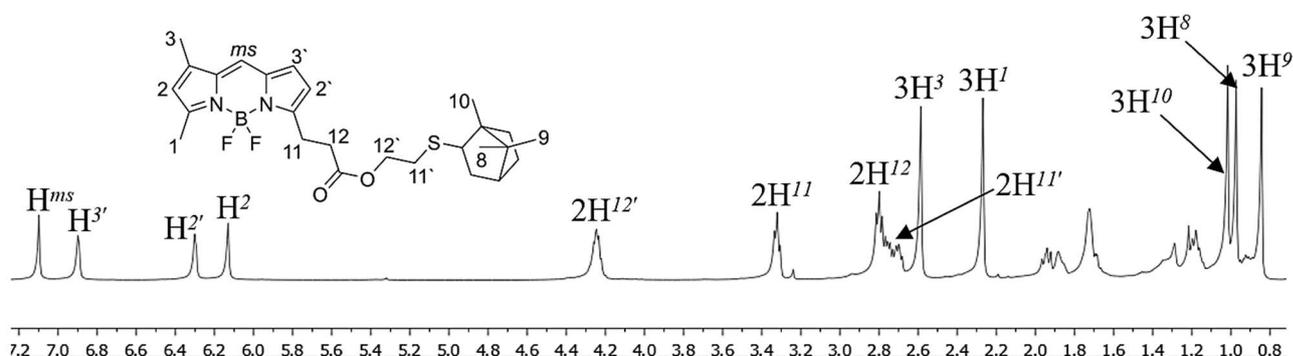
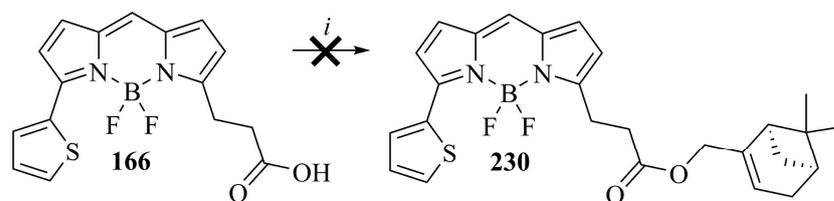


Рис. 2.30. ПМР спектр (500 МГц, CDCl₃) конъюгата **229**

В ¹³C ЯМР спектре содержатся сигналы 26 атомов углерода, подтверждающие образование искомой структуры.

На следующем этапе работы были предприняты попытки синтеза конъюгатов на основе люминофоров с тиенильным фрагментом в α' -положении. В реакции соединения **166** с пинановым монотерпеноидом **127** (Схема 2.22) не наблюдалось образования целевого конъюгата **230** ни в гетеро-, ни в гомогенной среде. Вместо этого было выделено соединение, в ПМР спектре которого отсутствовали характерные сигналы протонов как терпенового остова, так и исходного люминофора.



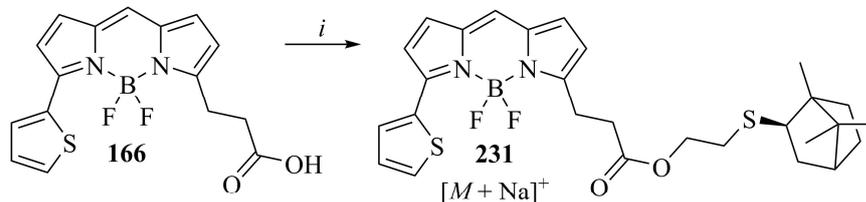
Реагенты и условия:

i: **127** 1.5 экв., DMAP 1.3 экв., NATU 1.5 экв., DIPEA 3 экв., DCM или DMF, rt, 3 ч.

Схема 2.22

По нашим предположениям, это связано как с возможной изомеризацией пинанового остова, так и вероятностью протекания реакции циклоприсоединения, где реакционноспособный тиенильный фрагмент выступал бы в качестве диена, а миртенол — диенофила. Однако нам не удалось установить структуру выделенного соединения.

Более успешной оказалась реакция люминофора **166** с изоборнантиэтанолом **140** в гетерогенной среде (Схема 2.23). При гомогенных условиях происходило образование смеси нескольких продуктов, где искомым конъюгат **231** обнаруживался лишь в следовых количествах.



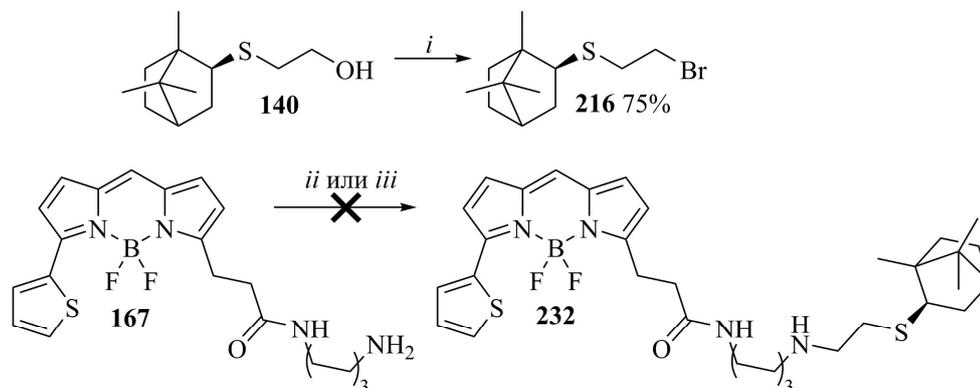
Реагенты и условия:

i: **140** 1.5 экв., DMAP 1.3 экв., NATU 1.5 экв., DIPEA 3 экв., DCM, rt, 3 ч.

Схема 2.23

В ходе колоночной хроматографии была выявлена нестабильность соединения **231** на поверхности силикагеля. Применение обращенно-фазовой хроматографии также оказалось неэффективным. Поэтому получить продукт **231** в чистом виде на настоящий момент не представляется возможным. Образование борнанового конъюгата **231** подтверждено с помощью ^1H ЯМР-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии реакционной смеси. В ПМР спектре содержатся характерные сигналы протонов борнанового остова и люминофора, а в MS спектре присутствует пик $[M + \text{Na}]^+$, соответствующий молекулярному иону **231** с m/z 565.

Поэтому далее был предпринят синтез конъюгата **232** на основе схожего люминофора **167** с фрагментом *N*-(6-гексиламино)пропанамида в α -положении. Для этого выполняли алкилирование аминогруппы трехкратным избытком терпенилбромида **216** (Схема 2.24).



Реагенты и условия:

i: CBr_4 1 экв., PPh_3 1 экв., *rt*; *ii*: 1) **216** 3 экв., DCM, *rt*, 3 ч; 2) NaHCO_3 2 экв., *rt*, 30 мин;

iii: 1) **216** 3 экв., DIPEA 1 экв., DCM, *rt*, 3 ч; 2) NaHCO_3 2 экв., *rt*, 30 мин.

Схема 2.24

По данным ТСХ, в некаталитических условиях (*ii*) образовывался единственный продукт, который выделяли колоночной хроматографией на силикагеле С18. Однако в его ПМР спектре отсутствовали характерные сигналы протонов борнанового остова.

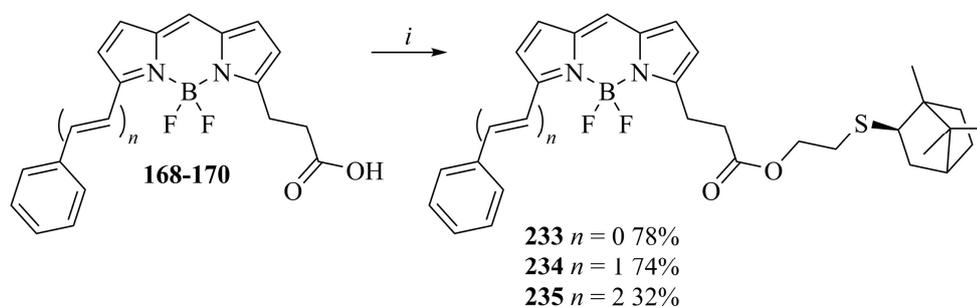
В связи с этим мы опробовали реакцию алкилирования в каталитических условиях DIPEA (*iii*). Согласно данным ТСХ, наблюдалось образование трех продуктов, выделение которых также проводили на силикагеле С18. Однако в ПМР спектрах этих соединений также отсутствовали характерные сигналы протонов борнанового остова.

По-видимому, наличие реакционноспособного тиенильного фрагмента в структуре люминофоров **166** и **167** обуславливает их высокую нестабильность при конъюгировании с терпенами (Схемы 2.22-2.24), особенно в гомогенной среде. В связи с этим для получения искомым конъюгатов требуется разработка новых «мягких» синтетических условий, что будет сделано за пределами настоящей работы.

На следующем этапе были синтезированы борнановые конъюгаты на основе люминофоров **168-170**, содержащих в α' -положении различные сопряженные

фрагменты: фенил (**168**), 2-фенилвинил (**169**), (1*E*,3*E*)-фенилбута-1,3-диен-1-ил (**170**). В качестве исходного терпенового синтона нами был использован только изоборнантиоэтанол **140**, поскольку проведенные на момент синтеза биологические исследования показали большую перспективность конъюгатов именно на его основе.

В результате этерификации были получены соединения **233-235** с выходами 32-78% (Схема 2.25). Низкий выход (32%) конъюгата **235** обусловлен деструкцией исходного люминофора в ходе реакции. Следует отметить, что выполнение синтеза в гетерогенной среде в случае этих люминофоров оказалось неэффективным вследствие образования трудноразделимой смеси нескольких продуктов.



Реагенты и условия:

i: **140** 1.5 экв., DMAP 1.3 экв., HATU 1.5 экв., DIPEA 3 экв., DMF, rt, 3 ч.

Схема 2.25

ПМР спектр соединения **233** (Рис. 2.31) содержит характерные синглеты метильной группы (3H-10) и *гем*-диметильного фрагмента (3H-8,9) борнанового остова в области 0.91, 0.86 и 0.74 м.д. соответственно. Мультиплеты протонов фрагмента –SCH₂CH₂O– присутствуют в области 2.61-2.67 (2H-11') и 4.12 м.д. (2H-12'). Протоны спейсерной группы (2H-11,12) содержатся в спектре при 3.23 и 2.68 м.д. в виде мультиплетов. Синглеты в области 6.32, 6.56, 6.95 и 7.02 м.д. соответствуют протонам индаценовой структуры (H-2',2,3,3'). Протон в *мезо*-положении (H-*ms*) резонирует при 7.14 м.д. также в виде синглета. В области 7.33-7.88 м.д. содержатся мультиплеты протонов фенильного фрагмента (5H).

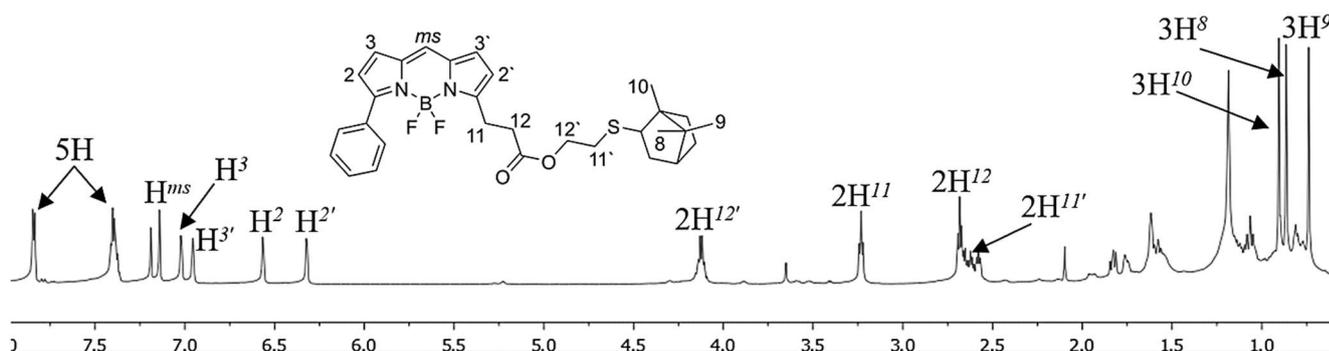


Рис. 2.31. ПМР спектр (500 МГц, CDCl_3) конъюгата **233**

В ^{13}C ЯМР спектре содержатся сигналы 30 атомов углерода, подтверждающие образование искомой структуры.

В ИК-спектре соединения **233** присутствуют характеристические полосы валентных колебаний С–Н связей в области $3000\text{--}2840\text{ см}^{-1}$, С=О сложноэфирной группы в области 1735 см^{-1} и С–С связей в области 1608 см^{-1} .

В ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах соединений **234** и **235** содержат аналогичные сигналы протонов и атомов углерода, подтверждающие образование заданных структур.

Таким образом, в одну стадию была получена серия терпеновых конъюгатов на основе α -замещенных люминофоров с выходами 32–78%. Структура синтезированных соединений была установлена при помощи ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Полное соотнесение сигналов протонов и атомов углерода в ЯМР спектрах выполнено с помощью двумерных гомо- ($^1\text{H}\text{--}^1\text{H}$ COSY) и гетероядерных ($^1\text{H}\text{--}^{13}\text{C}$ HSQC) экспериментов.

Предприняты попытки синтеза конъюгатов на основе люминофоров с тиенильным заместителем. Установлено, что получение борнанового соединения в гетерогенных условиях является наиболее эффективным. Однако выделение продукта в чистом виде затруднено его нестабильностью при колоночной хроматографии.

2.4. Исследование возможности практического применения синтезированных соединений

На каждом этапе настоящей работы, помимо химических экспериментов, проводились всесторонние исследования свойств синтезированных соединений. Так, для выбора наиболее перспективных терпеновых синтонов для конъюгирования с люминофорами необходимо было убедиться в проявлении ими биологической активности. При разработке дизайна водорастворимых соединений требовалось подтвердить целесообразность введения терпенового остова в структуру четвертичной аммонийной соли. Наконец, перед проведением экспериментов по биовизуализации было важно изучить физико-химические свойства полученных конъюгатов с монотерпеноидами, подтверждающие возможность их применения в качестве красителей.

2.4.1. Противомикробные свойства

Оценку противомикробного действия соединений проводили на штаммах дрожжевых *Candida albicans* NCTC-885-653 / RKPG Y-401, *C. albicans* C-417-20 (клинический изолят), *C. albicans* C-4215-23 (клинический изолят), *Rhodotorula rubra* 3964-15 и мицелиальных грибов *Aspergillus niger* VCM F-1119, *Rhizopus nigricans* F-1537/1722, *Trichophyton rubrum* (клинический изолят), *Fusarium solani* F-417-20 (клинический изолят), *Fusarium oxysporum* (клинический изолят), грамположительных *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* MG 1655, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 путем

определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК)¹³ методом серийных разведений. Культивирование грибов проводили на среде Сабуро, а бактерий — в бульоне RPMI. В качестве препаратов сравнения использовали мирамистин, бензалкония хлорид, флуконазол, тербинафин или исходные соединения.

Изоборнантиоэтанол **140**, использованный для синтеза конъюгатов с бородипиррометеновыми люминофорами, был выбран нами в качестве исходного синтона благодаря своим мембранотропным¹⁴ и противогрибковым свойствам, в некоторых случаях превосходящим известные лекарственные средства (Табл. 3). В экспериментах *in vivo* на модели инфекционного дерматита, вызванного грибами *F. solani*, изоборнантиоэтанол **140** также проявлял активность на уровне препарата сравнения пимафуцина, способствуя скорейшему заживлению ран [108].

Таблица 3. Противогрибковая активность *in vitro* соединения **140**

Соединение	МИК, мкг/мл				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> (клинич.)	<i>Rh. rubra</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. solani</i> (клинич.)
140	11.2	22.5	22.5	90	90
Мирамистин	45	90	45	90	90
Бензалкония хлорид	11.2	11.2	11.2	11.2	22.5
Флуконазол	45	90	90	360	180
Тербинафин	11.2	90	22.5	5.6	45

Изомерные миртенолы **127** и **128**, как уже отмечалось ранее, обнаружили значительную противогрибковую, мембранопротекторную и антиоксидантную активность [100,134] и являлись перспективными синтонами с точки зрения синтетических решений. На их основе были синтезированы *O*-, *S*- и *N*-содержащие производные **157-162**, среди которых наибольшую противогрибковую активность обнаружил (+)-пиненилтиоэтанол **159** (Табл. 4) [118], что определило его выбор в качестве исходного синтона для получения конъюгатов.

¹³ Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) — показатель действия соединения на микробную культуру, равный его минимальной концентрации, при которой происходит прекращение или подавление видимого роста микроорганизмов в течение 24-48 ч инкубации.

¹⁴ Подразумевается способность соединения взаимодействовать с мембранами тромбоцитов, обуславливая антитромботический эффект [108].

Таблица 4. Противогрибковая активность *in vitro* соединений **157-162**. Препараты сравнения: (+)-миртенол **127**, (-)-миртенол **128** и флуконазол

Соединение	МИК, мкг/мл		
	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. solani</i>
127	94	192	192
128	47	94	47
157	>1500	>1500	>1500
158	1500	>1500	>1500
159	375	375	375
160	375	750	750
161	1500	1500	1500
162	>1500	>1500	>1500
Флуконазол	24	750	375

Всесторонние исследования монотерпеноидов, включающие испытания на острую токсичность для человека, животных и растений, а также тесты на генотоксичность, тератогенную токсичность и влияние на репродуктивные функции организмов показали, что соединения **127**, **128** и **140**, относятся к малотоксичным веществам (показатель острой токсичности $LD_{50} = 1432$ и 835 мг/кг соответственно), не обладают мутагенными свойствами и не являются репродуктивными ядами [108,144].

В соответствии с классификацией опасности веществ по степени воздействия на организм [145] соединения **127**, **128** и **140** относятся к классу умеренно опасных веществ, а по классификации токсичности веществ [146] — к относительно безвредным или практически нетоксичным соединениям, что также подтверждает возможность применения конъюгатов монотерпеноидов в качестве инструментов для биовизуализации.

Результаты биологических испытаний конъюгатов **177**, **228** и **229** установили, что введение терпенового остова в структуру люминофоров снижало МИК в ~8 и более раз по сравнению с исходными люминофорами **7** и **165** (Табл. 5 и 6).

Таблица 5. Противогрибковая активность *in vitro* соединений **7** и **177**

Соединение	МИК, мкг/мл		
	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. solani</i>
7	>1500	>1500	>1500
177	94	187.5	94

Таблица 6. Противогрибковая активность *in vitro* соединений **113, 224** и **225**

Соединение и штамм	МИК, мкг/мл		
	165	228	229
<i>C. albicans</i>	>1536	96	48
<i>C. albicans</i> (клинич.)	>1536	192	192

Таким образом, выбранные терпеноиды действительно являлись перспективными синтонами для конъюгирования с люминофорами.

На этапе разработки водорастворимых конъюгатов были синтезированы четвертичные аммонийные соли **196-198** с двумя пинановыми фрагментами, не проявившие выраженной активности против бактерий и грибов (Табл. 7) [138].

Таблица 7. Противомикробная активность *in vitro* соединений **196-198**

Соединение	МИК, мкг/мл							
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>A. niger</i>	<i>Rh. nigricans</i>	<i>Tr. rubrum</i> (клинич.)	<i>F. oxysporum</i> (клинич.)
196	128	512	750	750	750	>1500	>1500	>1500
197	128	512	1500	1500	>1500	>1500	>1500	>1500
198	256	1500	>1500	>1500	>1500	>1500	>1500	>1500
Мирамистин	4	8	>1500	>1500	>1500	>1500	>1500	>1500

В дальнейшем были получены соединения **203-206** и **220-227** с одним терпеновым фрагментом, проявившие значительную активность против бактерий и грибов, в отличие от препарата сравнения (Табл. 8) [140,142].

Таблица 8. Противомикробная активность *in vitro* соединений **203-206** и **220-227**

Соединение	МИК, мкг/мл				
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. oxysporum</i> (клинич.)
203	8	32	128	128	128
204	2	512	32	32	32
205	2	64	32	64	32
206	1	64	16	128	64
220	4	256	256	512	1024
221	4	64	16	128	64
222	2	512	256	256	512
223	2	32	16	64	64
224	2	32	512	512	512
225	2	512	32	512	64
226	4	64	16	32	32
227	4	>1024	128	512	128
Мирамистин	4	>1024	>1500	>1500	>1500

Наибольшую активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжевых и мицелиальных грибов обнаружили соединения **205** с остатком миристиновой кислоты и (+)-миртенола, **223** с фрагментами лауриновой кислоты и гераниола и **226**, содержащее остаток миристиновой кислоты и фрагмент (+)-цитронеллола.

Соединение **205** оказывало подавляющее действие в отношении *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *A. niger* и *F. oxysporum* в концентрации 2, 64, 32, 64 и 32 мкг/мл соответственно. Значения МИК соединения **223** в отношении протестированных микроорганизмов составляли 2, 32, 16, 64 и 64 мкг/мл соответственно. В то же время соединение **226** подавляло рост тестируемых микроорганизмов в концентрации 4, 64, 16, 32 и 32 мкг/мл соответственно.

Вышеперечисленные четвертичные аммонийные соли, как и другие из синтезированной серии, представляют собой потенциальные кандидаты для использования в качестве антисептических средств.

Таким образом, выбранные терпеновые синтоны — изомерные миртенолы, изоборнантиоэтанол и (+)-пиненилтиоэтанол — продемонстрировали перспективную противогрибковую активность.

(+)-Миртенол **127** оказывал подавляющее действие в отношении *C. albicans*, *A. niger* и *F. solani* в концентрации 94, 192 и 192 мкг/мл соответственно, в то время как (–)-миртенола **128** — 47, 94 и 47 мкг/мл соответственно. (+)-Пиненилтиоэтанол **159** демонстрировал противогрибковую активность при значениях 375, 375 и 375 мкг/мл соответственно. В то же время значения минимальной ингибирующей концентрации препарата сравнения флуконазола в отношении протестированных грибов составляли 24 750 и 375 мкг/мл соответственно.

Изоборнантиоэтанол **140** подавлял рост грибов *C. albicans* (музейного и клинического штамма), *Rh. rubra*, *A. niger* и *F. solani* в концентрации 11.2, 22.5, 22.5, 90 и 90 мкг/мл соответственно, в некоторых случаях будучи более активным, чем препараты сравнения мирамистин, бензалкония хлорид, флуконазол и тербинафин.

Конъюгирование люминофоров с (+)-миртенолом и изоборнантиоэтанолом повышало их активность в отношении протестированных грибов в ~8 и более раз, по сравнению с исходными люминофора без терпенового фрагмента.

2.4.2. Фотохимические параметры и липофильность конъюгатов монотерпеноидов

Исследования свойств терпеновых конъюгатов с люминофорами BODIPY, результаты которых приведены в настоящем разделе, были выполнены под руководством д.х.н., профессора Антиной Е.В. в Институте химии растворов им. Г.А. Крестова РАН. Методология исследований и полученные результаты были ранее опубликованы в ряде работ [15,16,20,129,132,133,136,141,143,147].

Для подтверждения возможности применения синтезированных конъюгатов (Рис. 2.32) в качестве люминесцентных красителей, а также установления влияния введенного терпенового фрагмента на свойства люминофоров, были исследованы их фотохимические параметры, липофильность и стабильность.

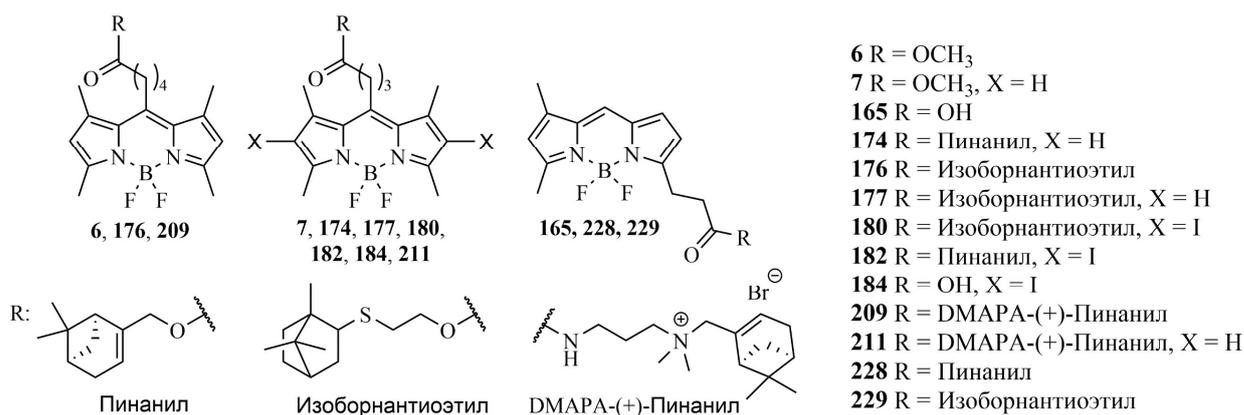


Рис. 2.32. Структурные формулы изученных соединений

Исследование фотохимических характеристик конъюгатов включало подробный анализ их спектров поглощения и излучения, а также определение квантового выхода флуоресценции (Табл. 9). Эти данные необходимы для определения локализации красителей в тестируемых клетках, так как положение

максимума излучения определяет условия регистрации их флуоресценции [7]. Дополнительно определялся квантовый выход генерации синглетного кислорода (Табл. 10), что имеет ключевое значение при оценке возможности применения соединений в качестве агентов фотодинамической терапии [21].

Таблица 9. Максимумы поглощения и излучения (нм), квантовые выходы флуоресценции (%) соединений в DMSO¹⁵ (воде)

№	6	7	165	174	176	177	180	182	184	209	211	228	229
λ_{max}^{abs}	497	499	506	499	498	498	530	531	530	500 (497)	498 (495)	507	507
λ_{max}^{fl}	511	515	518	515	513	515	551	553	554	511 (510)	510 (509)	517	518
φ^{fl}	77	73	75	79	75	76	2	2	3	74 (72)	72 (67)	79	77

Таблица 10. Квантовые выходы генерации синглетного кислорода соединений в EtOH

Соединение	6	7	174	176	177	180	182	184	209	211
$\Phi_A, \%$	~4	~4	~3.6	~5.4	~5.3	92	80	72	~9.0	~9.3

Для оценки липофильности соединений рассчитывался коэффициент распределения $\log P$ (Табл. 11) в двухфазовой модели [143,147]. Этот параметр служит индикатором потенциальной биодоступности и мембранной проницаемости красителей. Особое внимание уделялось влиянию катионного фрагмента на водорастворимость конъюгатов.

Таблица 11. Липофильность красителей

Соединение	6	7	165	174	176	177	209	211	228	229
$\log P$	1.83	1.68	0.80	1.87	1.84	1.85	0.14	0.16	1.56	1.43

В свою очередь, красители, предназначенные для биовизуализации, должны сохранять стабильность в условиях воздействия света, температуры и различных значений pH. В настоящей работе изучена фото-, термо- и pH-стабильность синтезированных конъюгатов.

Анализ полученных данных показал, что введение терпенового фрагмента не оказывает негативного эффекта на фотохимические свойства соединений.

¹⁵ Фотохимические параметры соединений изучены в различных полярных и неполярных растворителях [129,132,133,136,141,143,147]. Для катионных конъюгатов дополнительно приведены данные в воде.

Квантовые выходы флуоресценции конъюгатов в полярных и неполярных средах сохранялись на высоком уровне (~66-100%) [129,132,133,141,143,147]. Установлено, что введение пинанового остова (**174**) приводит к незначительному (~0.4%) снижению квантового выхода генерации синглетного кислорода, тогда как включение катионного фрагмента (**209**, **211**) или изоборнантиоэтанола (**176**, **177**), напротив, способствует его увеличению (на ~5 и ~1.3% соответственно) [147]. Галогенирование люминофоров (**180**, **182**, **184**) приводит к увеличению (в ~20 раз) квантовых выходов генерации синглетного кислорода [136], при одновременном снижении квантового выхода флуоресценции до 2-6%, что согласуется с их поведением как типичных фотосенсибилизаторов [21].

Исследование липофильности показало, что введение терпенового остова повышает значения $\log P$ в ~1.1-3 раза по сравнению с исходными люминофорами [15,16,20,142,146], тогда как наличие катионного фрагмента значительно (в ~10-13 раз) улучшает растворимость соединений **207** и **209** в воде [147].

Изучение стабильности красителей установило, что синтезированные конъюгаты обладают требуемой фото-, термо- и pH-стабильностью [143,147], причем, введение терпенового фрагмента в структуру α -замещенных люминофоров (**226**, **227**) способствовало также повышению их устойчивости [143].

Таким образом, проведенные исследования подтвердили возможность применения синтезированных конъюгатов в качестве люминесцентных красителей для биовизуализации. Установлено, что введение фрагмента терпеноидов не снижает фотохимические характеристики и стабильность соединений, а также способствует повышению их липофильности. Включение катионного фрагмента улучшает водорастворимость конъюгатов, что делает их перспективными для практического применения в диагностических целях.

2.4.3. Эксперименты по биовизуализации клеток различного типа

Эксперименты по биовизуализации проводили на штаммах дрожжевых *C. albicans* и мицелиальных грибов *F. solani*, грамположительных *S. aureus* и грамотрицательных бактерий *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, а также на фибробластах человека BJ tert, клетках стромальной опухоли желудка GIST T-1R и эпителиальных клетках легких эмбриона быка LEK с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Скорость и степень проникновения соединений оценивали по изменению интенсивности флуоресценции. Локализацию синтезированных соединений внутри клеток определяли визуально по зеленой флуоресценции. В качестве препаратов сравнения использовались исходные бородипиррометеновые люминофоры (зеленая флуоресценция), а также красители: калькофлюор белый (CFW) для окрашивания клеточной стенки (синяя флуоресценция), 4',6-диамидино-2-фенилиндол (DAPI) для окрашивания цитоплазматического содержимого или ядер клеток (синяя флуоресценция), LysoRed и MitoTrackerRed для окрашивания лизосом и митохондрий соответственно (красная флуоресценция). Оценку терапевтического потенциала иодзамещенных соединений проводили на штаммах дрожжевых грибов *C. albicans* NCTC-885-653 путем определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) в условиях облучения (>400 нм) и без него. В качестве препаратов сравнения использовались исходные бородипиррометеновые люминофоры.

По результатам исследований было установлено влияние введенного терпенового остова (Рис. 2.33) на степень проникновения и локализацию соединений в тестируемых клетках.

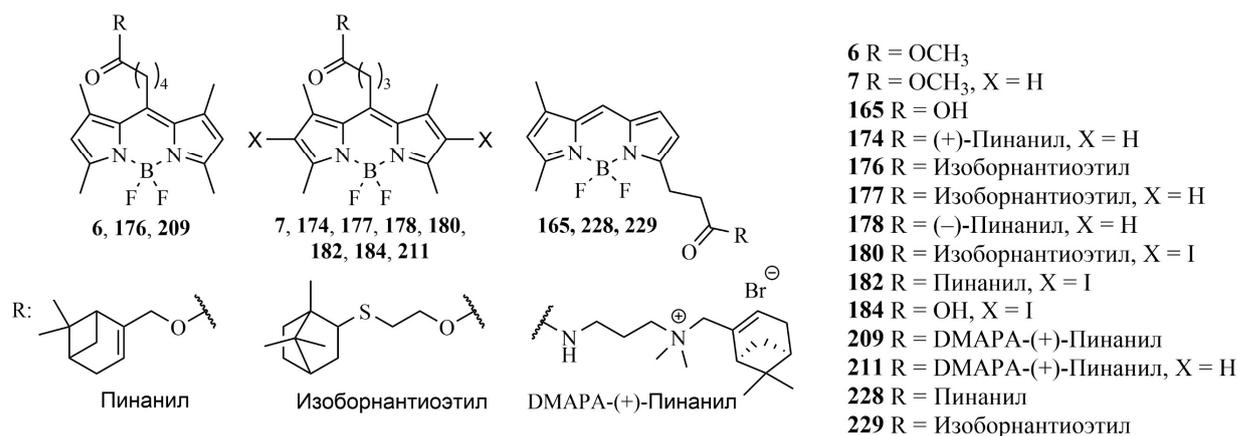


Рис. 2.33. Структурные формулы изученных соединений

Как отмечалось ранее, при сравнении конъюгатов с различной длиной спейсера в случае бутанового линкера нередко наблюдалось ухудшение качества получаемых изображений¹⁶. Поэтому использование в качестве исходного синтона люминофора **7** с пропановым линкером представлялось наиболее оптимальным решением, поскольку красители, используемые в медицине, должны обеспечивать высокое качество изображений [7].

Исследования конъюгатов различной структуры на клетках бактерий (Рис. 2.34) [129,133,147] показали, что введение терпенового фрагмента способствует увеличению скорости проникновения красителей внутрь только грамположительных бактерий. В случае грамотрицательных бактерий наблюдалось окрашивание внешней мембраны, предположительно периплазмы, без дальнейшего проникновения красителей внутрь бактерий.

При изучении влияния пространственного строения пинанового остова на степень проникновения и локализацию красителей **174** и **178** в клетках бактерий не было выявлено существенных различий [134]. Аналогичный эффект наблюдался и для соединений с фрагментом изоборнантиоэтанола.

Единственным конъюгатом, способным проникать в грамотрицательные бактерии, оказалось α -замещенное соединение **228** с пинановым фрагментом, которое слабо визуализировалось внутри *P. aeruginosa* (Рис. 2.34) [143].

¹⁶ Полученные изображения с низким качеством не представлены в настоящей работе ввиду их низкой информативности.

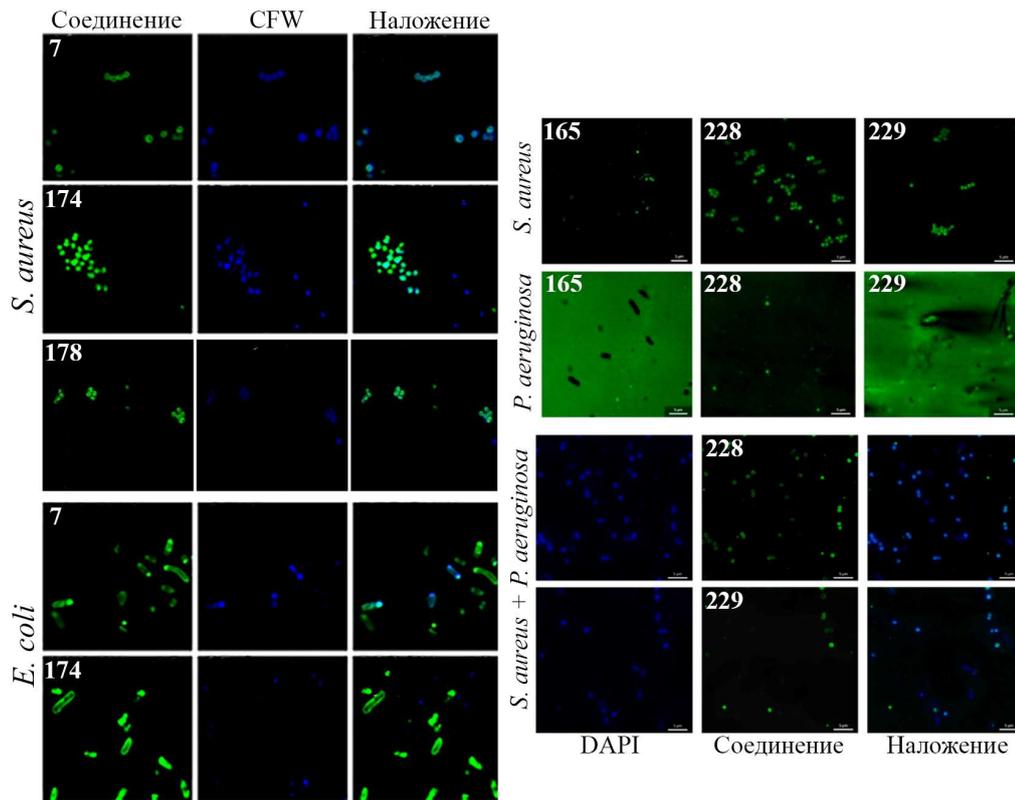


Рис. 2.34. Биовизуализация грамположительных и грамотрицательных бактерий

Таким образом, установлено, что введение терпенового фрагмента влияет на скорость проникновения конъюгатов только в случае грамположительных бактерий. Это свойство может быть использовано для проведения дифференциальной экспресс-диагностики инфекционных заболеваний, позволяя отличить грамположительные бактерии от грамотрицательных. В свою очередь, конъюгат **228**, слабо обнаруживаемый внутри *P. aeruginosa*, можно рассматривать как перспективный инструмент для визуализации грамотрицательных бактерий.

На следующем этапе были проведены эксперименты с дрожжевыми и мицелиальными грибами, оказавшиеся более информативными, поскольку клетки бактерий, в отличие от грибов, лишены мембранных и внутриклеточных структур. Следует отметить, что пространственное строение пинанового фрагмента у конъюгатов **174** и **178** также не выявило существенного влияния [134].

Было показано, что введение терпенового остова способствует не только улучшению проникновения красителей внутрь клеток грибов, но и изменению их предпочтительной мишени для окрашивания (Рис. 2.35) [129,133,147].

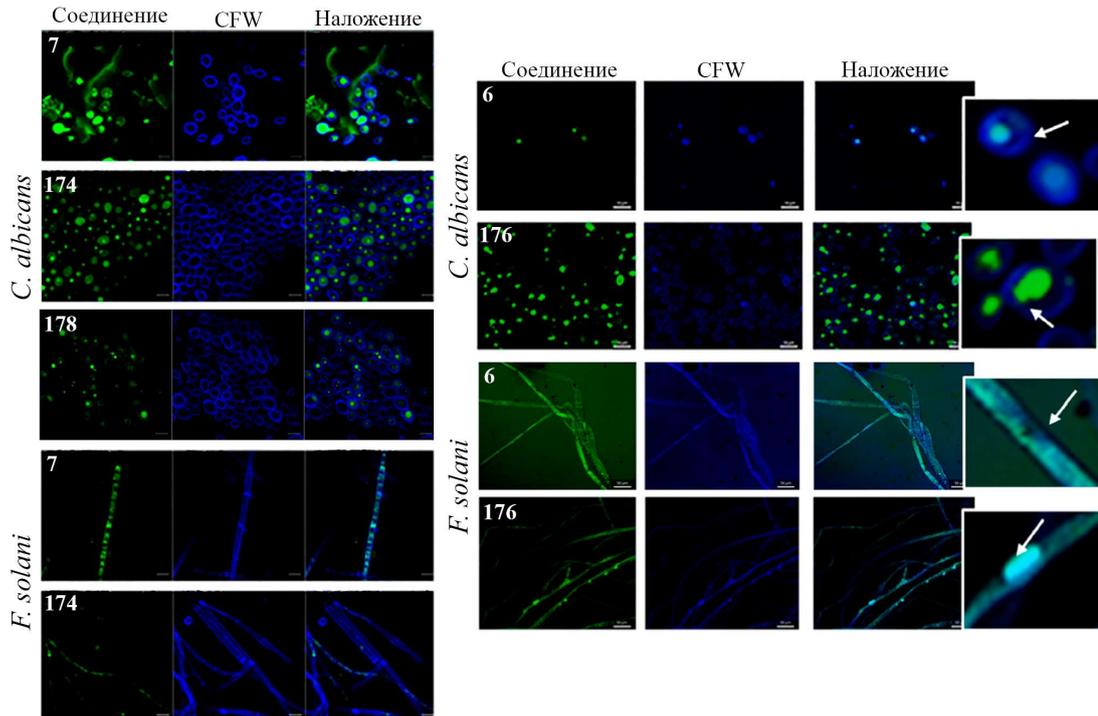


Рис. 2.35. Биовизуализация дрожжевых и мицелиальных грибов

В случае дрожжевых грибов исходные люминофоры локализовались преимущественно в цитоплазматическом содержимом, тогда как синтезированные конъюгаты связывались с ядром клеток. При визуализации мицелиальных грибов терпеновые конъюгаты обнаруживались лишь в определенных местах, тогда как исходные соединения окрашивали всю длину нитей, что, по-видимому, связано с изменением мембранотропных свойств красителей. Причем этот эффект был особенно выражен у конъюгатов **176** и **177** с фрагментами изоборнатиэтанола (Рис. 2.35).

Действительно, оказалось, что введение изоборнанового остова также способствует проникновению красителя **177** внутрь зрелых клеток грибов (Рис. 2.36) [148], отличающихся повышенным содержанием хитина в клеточной мембране¹⁷. В реальных условиях молекулы лекарственных средств с трудом проникают внутрь таких клеток, что является одним из факторов резистентности грибов. Так, пинановый конъюгат **174**, как и исходный люминофор **7**, не обладали способностью проникать внутрь зрелых клеток.

¹⁷ Повышенное содержание хитина в клеточной стенке зрелых грибов обусловлено образованием так называемых «шрамов почкования», возникших вследствие серии делений [148].

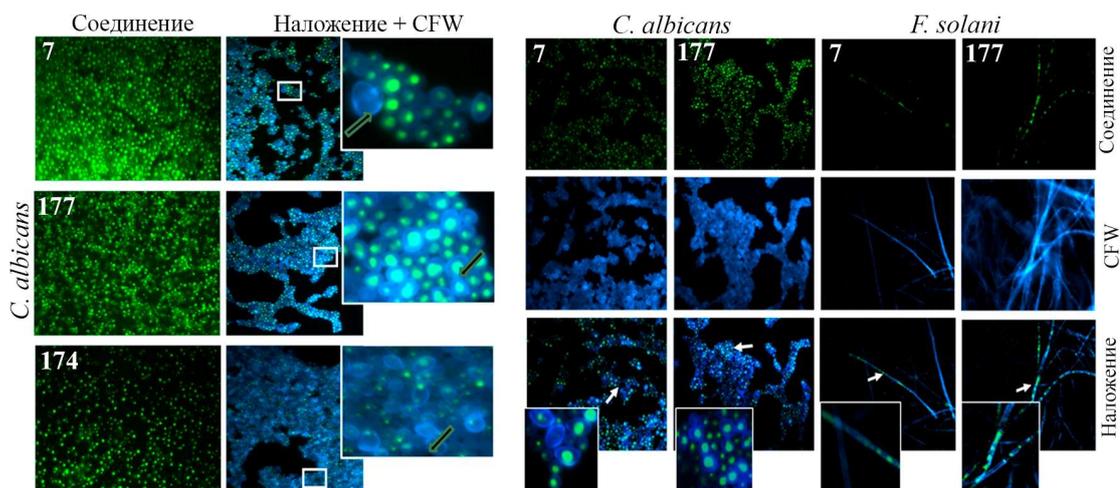


Рис. 2.36. Биовизуализация дрожжевых и мицелиальных грибов. Стрелками показано проникновение в клетки зрелых грибов

Эти данные подтверждается и для α -замещенных соединений (Рис. 2.37) [142]. Конъюгат **229** с фрагментом изоборнантиоэтанола демонстрировал лучшую проникающую способность, связываясь с органеллами грибов. В то же время пинановый конъюгат **228**, несмотря на активное проникновение в цитоплазму, слабо связывался с мембранами органелл, а исходный люминофор **165** вовсе не проникал внутрь исследуемых клеток.

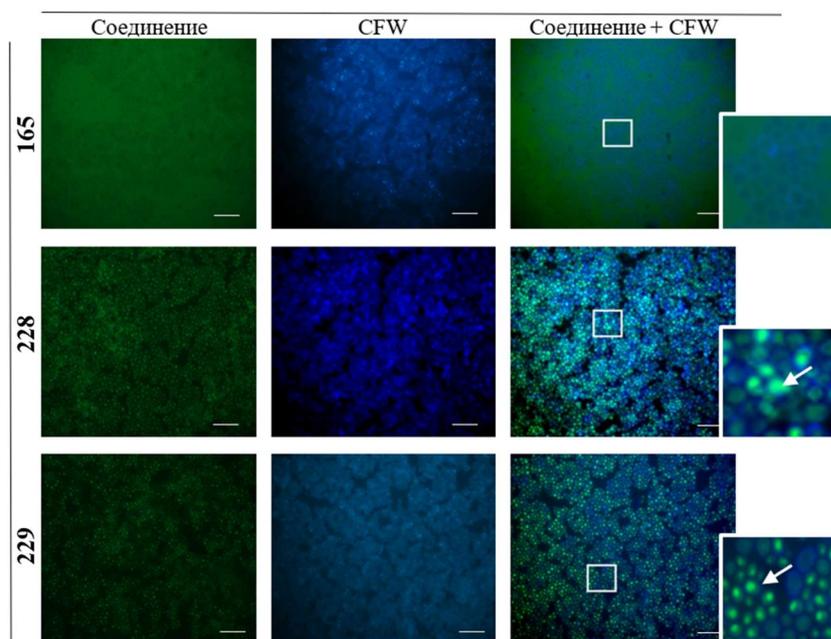


Рис. 2.37. Биовизуализация грибов *C. albicans*. Стрелки указывают на окрашенные структуры цитоплазматического содержимого

Таким образом, при помощи конъюгатов был продемонстрирован механизм биологического действия изоборнантиэтанол **140**, заключающийся в мембранотропном эффекте¹⁸ [132,133,148], который способствует повышению проникающей способности красителей с данным фрагментом и, как следствие, обуславливает гибель микроорганизмов. Кроме того, конъюгаты позволили изучить предполагаемые мишени действия монотерпеноидов: в большинстве случаев наблюдалось связывание соединений с ядрами клеток грибов. В результате можно предположить, что изоборнантиэтанол **140** также способен оказывать влияние на активность белковых систем [148,149]. Помимо этого, полученные *мезо*-замещенные соединения могут быть использованы для дифференцирования клеток бактерий и грибов в случае смешанных инфекций.

На следующем этапе работы было исследовано влияние введенного катионного фрагмента на свойства пинановых конъюгатов. Установлено, что благодаря наличию такого фрагмента синтезированные соединения оказались эффективными в отношении грамотрицательных бактерий, в том числе в составе биопленок [141,147]. Для сравнения, нейтральные конъюгаты проникали внутрь только грамположительных клеток. Данный результат является важным, поскольку в реальных условиях бактерии и грибы не существуют изолированно, а формируют индивидуальные или смешанные консорциумы (биопленки), обуславливающие лекарственную резистентность микроорганизмов.

В случае грибов, напротив, введение катионного фрагмента заметно снижало проникающую способность соединений (Рис. 2.38) [141,147]. Показано, что заряженные конъюгаты **209** и **211** преимущественно локализуются на поверхности клеточных стенок дрожжевых и мицелиальных грибов.

Таким образом, модификация структуры пинановых конъюгатов введением катионного фрагмента не только улучшает растворимость соединений в водных средах, но и обуславливает их активность в отношении грамотрицательных

¹⁸ Мембранотропный эффект представляет собой механизм действия, при котором вещество, взаимодействуя с мембранами клеток, изменяет их структуру или функции за счет влияния на проницаемость, текучесть или активность мембранных белков [150-156].

бактерий, даже в составе биопленок, где нейтральные конъюгаты оказывались неэффективными.

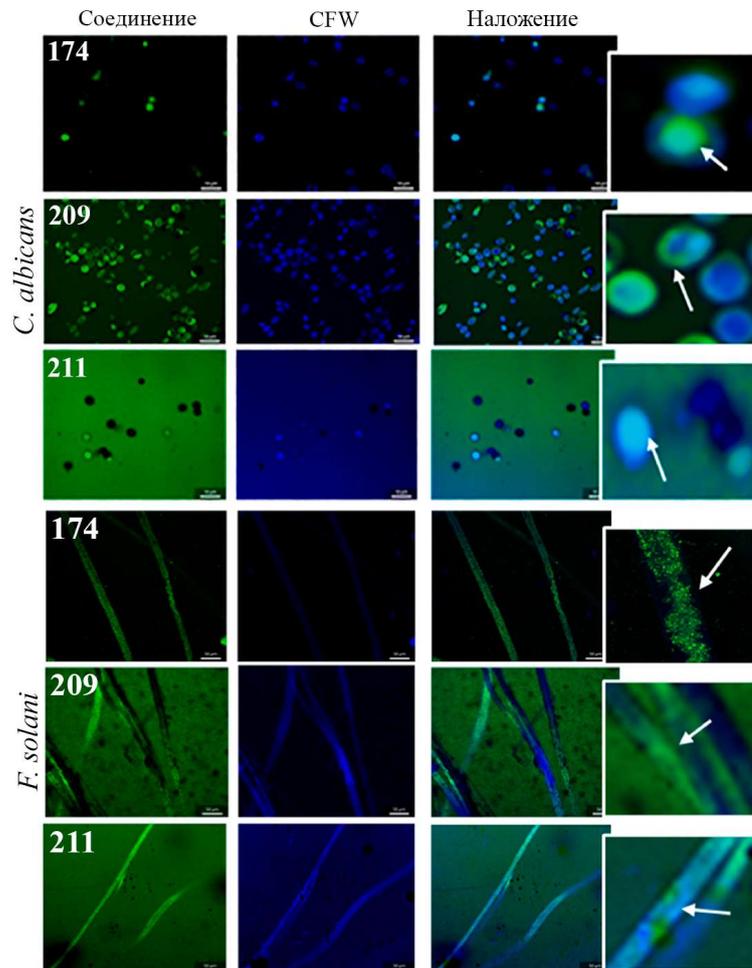


Рис. 2.38. Бивизуализация дрожжевых и мицелиальных грибов

На следующем этапе исследовался диагностический потенциал синтезированных соединений в отношении клеток млекопитающих — как нормальных (нетрансформированных), так и опухолевых (трансформированных) (Рис. 2.39) [129,143]. Известно, что трансформированные клетки характеризуются более высокой метаболической активностью по сравнению с нетрансформированными, что может быть использовано при их обнаружении.

Показано, что введение терпенового остова повышает проникающую способность *мезо*-замещенных красителей внутрь исследуемых клеток.

Для уточнения внутриклеточной локализации и накопления соединений использовались специальные маркеры лизосом (LysoRed) и митохондрий (MitoTrackerRed) (Рис. 2.39). Установлено, что конъюгат **174** демонстрирует

высокую степень колокализации с лизосомами (74%) и сравнительно низкую — с митохондриями (45%). В этих же условиях исходный BODIPY проявлял значительно более слабую колокализацию как с лизосомами (15%), так и с митохондриями (18%). В результате, по интенсивности проникновения конъюгата с терпеновым фрагментом в лизосомы, можно судить о развитии раковой опухоли.

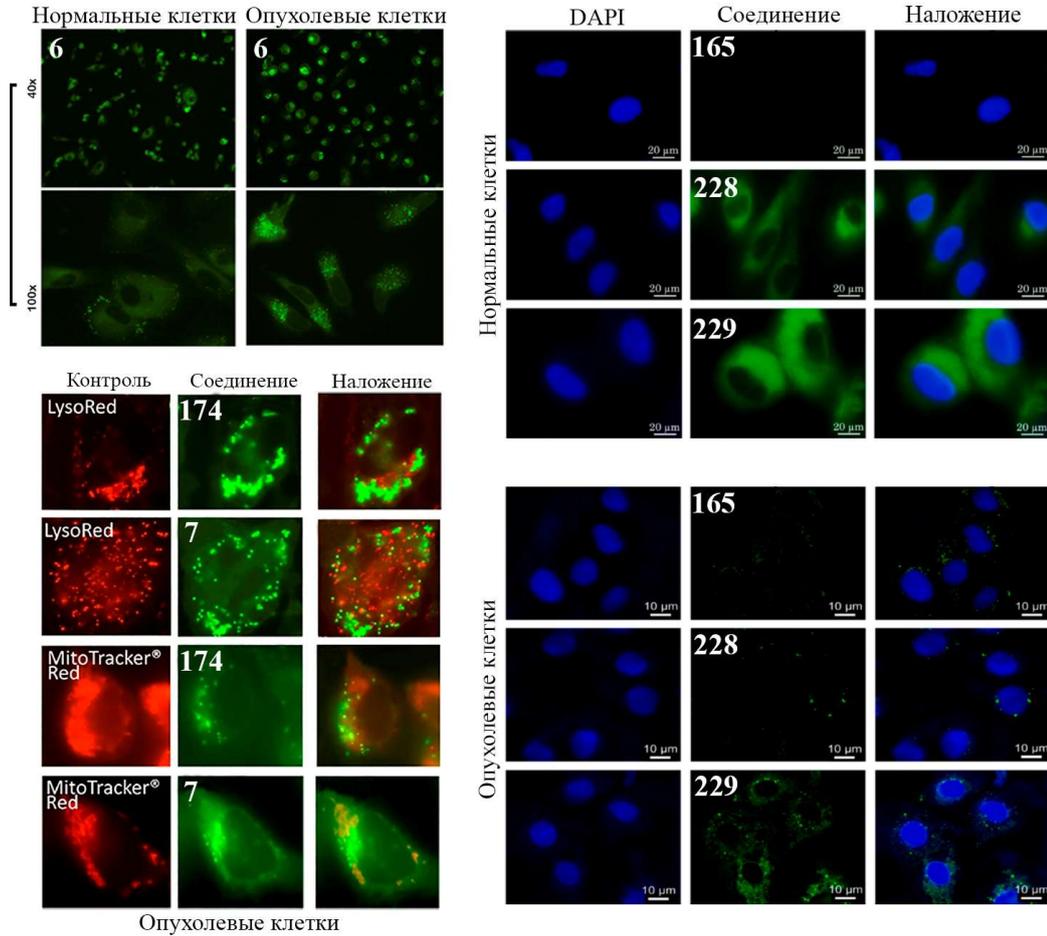


Рис. 2.39. Биовизуализация нормальных и опухолевых клеток

В случае α -замещенных соединений **228** и **229** (Рис. 2.39) введение терпенового остова также обеспечивало более эффективное проникновение красителей внутрь нормальных клеток, тогда как исходный люминофор **165** не проявлял аналогичной активности. В экспериментах с опухолевыми клетками выявлено, что только конъюгат **229**, содержащий фрагмент изоборнантиоэтанола, способен проникать внутрь клеток, что также свидетельствует об изменении мембранотропных свойств красителя.

Таким образом, синтезированные соединения действительно являются перспективными инструментами для биовизуализации не только бактерий и грибов, но и клеток млекопитающих, что также может быть использовано для обнаружения опухолевых клеток. Это подтверждает диагностический потенциал конъюгатов монотерпеноидов с бородипиррометеновыми люминофорами.

В продолжение исследований был оценен терапевтический потенциал иодзамещенных соединений, в частности их возможность использования в качестве фотосенсибилизаторов при фотодинамической терапии. С этой целью изучали воздействие красителей на грибы *C. albicans* в условиях облучения и без него (Рис. 2.40) [136].

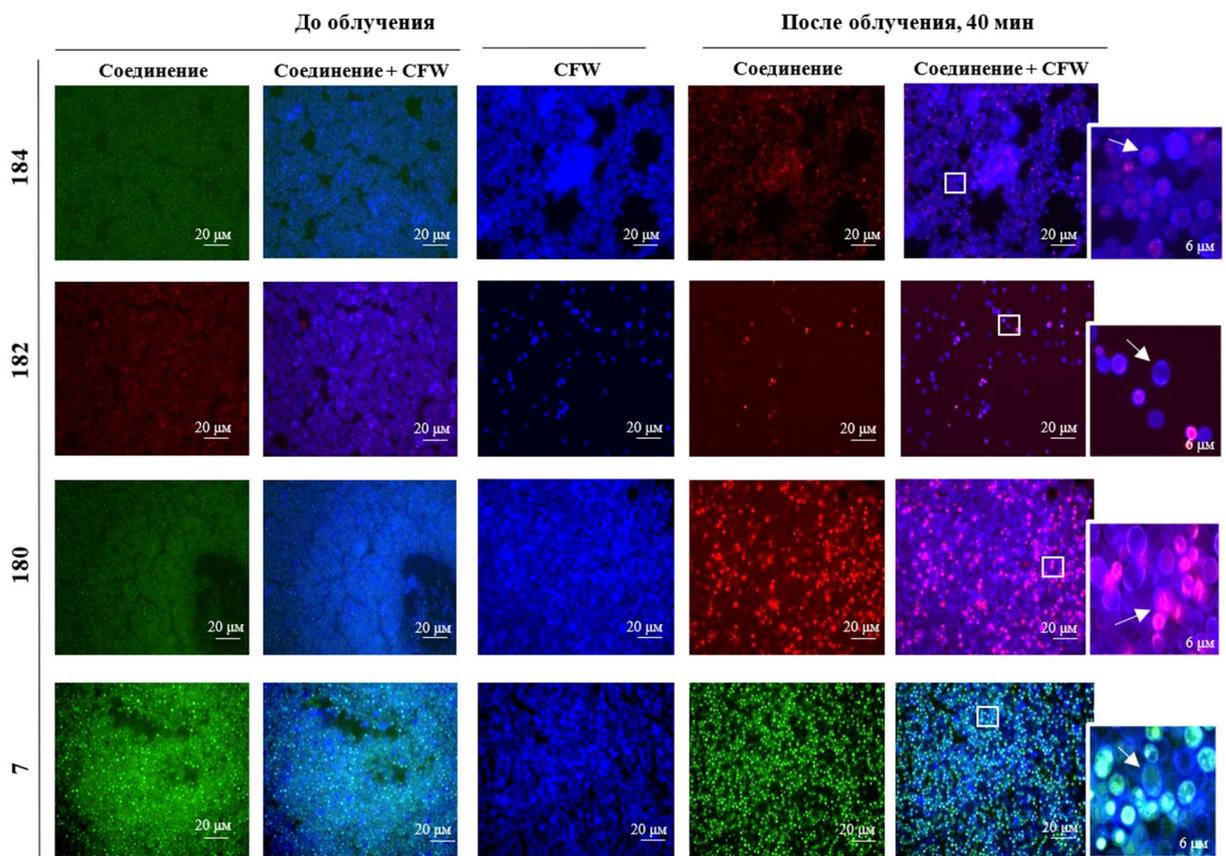


Рис. 2.40. Биовизуализация дрожжевых грибов *C. albicans* в условиях облучения (>400 нм) и без него. Стрелками показано проникновение в клетки зрелых грибов

Показано, что без облучения исходные люминофоры **7** и **184** не оказывают выраженного подавляющего эффекта (Табл. 12). В то же время значения МИК для терпеновых конъюгатов **180** и **182** составляют 125 и 250 мкг/мл соответственно. При облучении наблюдается резкое возрастание противогрибковой активности:

исходный иодзамещенный люминофор **184** подавляет деление клеток грибов, тогда как соединение **7** (без атомов иода) остается неактивным. Наибольшую активность проявляют галогенированные терпеновые конъюгаты **180** и **182** (значения МИК 31 и 125 мкг/мл соответственно).

Таблица 12. Противогрибковая активность *in vitro* соединений **7**, **180**, **182** и **184**

Соединения и штамм	МИК, мкг/мл							
	До облучения				После облучения, 40 мин			
	7	180	182	184	7	180	182	184
<i>C. albicans</i>	>500	125	250	>500	>500	31	125	500

Несомненным лидером среди исследованных соединений оказался конъюгат **180** с фрагментом изоборнантиоэтанола. В отличие от других красителей он демонстрировал лучшую проникающую способность внутрь клеток грибов, высокую стабильность свечения и индуцировал гибель клеток после облучения вследствие генерации синглетного кислорода. Эти данные подтверждают возможность использования конъюгата **180** в качестве эффективного агента фотодинамической терапии.

Таким образом, проведенные исследования подтвердили перспективность введения фрагментов монотерпеноидов в структуру *мезо*- и α -замещенных люминофоров BODIPY. Синтезированные соединения могут быть использованы в качестве диагностических инструментов для отличия грамположительных бактерий от грамотрицательных, нормальных клеток млекопитающих от опухолевых, а также дифференциации бактерий и грибов.

Установлено, что введение терпенового фрагмента улучшало скорость, степень проникновения и изменяло локализацию красителей в исследуемых клетках, при этом наибольший эффект обнаружен для борнанных конъюгатов. Показана возможность использования конъюгатов для изучения возможного механизма действия и локализации соединений. Изучена возможность применения синтезированных конъюгатов в качестве фотосенсибилизаторов, где наиболее эффективным является соединение с фрагментом изоборнантиоэтанола. В

зависимости от поставленной задачи и объектов исследования, определен наиболее подходящий дизайн конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами:

1) установлено, что для получения изображений высокого качества оптимальным является использование красителей, синтезированных на основе люминофора с пропановым линкером в *мезо*-положении;

2) показано, что для визуализации бактерий наилучшие результаты дают конъюгаты с фрагментом (+)-миртенола, а для воздействия на биопленки эффективнее всего введение катионного фрагмента;

3) обнаружено, что для исследования и воздействия на грибы и опухолевые клетки наиболее перспективны конъюгаты на основе изоборнантиэтанол.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Впервые синтезирован новый класс соединений — конъюгаты монотерпеноидов с *мезо*- и α -замещенными бородипиррометеновыми люминофорами.

2. Разработан метод синтеза терпенилбромидов путем адаптации реакции Аппеля. Обнаружено, что выполнение реакции без использования растворителя позволяет получать с высокими выходами терпенилбромиды, на основе которых синтезирована серия новых монотерпеноидов.

3. Разработана оригинальная методика этерификации с участием терпеновых спиртов и BODIPY люминофоров с использованием комплекса реагентов DMAP/HATU/DIPEA.

4. Разработан синтетический подход к получению водорастворимых катионных конъюгатов путем введения в структуру соединений фрагмента диметиламинопропиламина. Показана эффективность разработанной методики для амидирования бородипиррометеновых кислот.

5. Впервые синтезирована серия новых четвертичных аммонийных солей с одним и двумя терпеновыми фрагментами на основе диметиламинопропиламина, являющихся структурными аналогами известного противомикробного препарата Мирамистин. Обнаружена высокая противогрибковая и антибактериальная активность соединений с одним терпеновым фрагментом.

6. В ряду биологически активных монотерпеноидов определены наиболее перспективные синтоны для конъюгирования с люминофорами: (+)- и (-)-миртенолы, изоборнантиоэтанол и (+)-пиненилтиоэтанол.

7. Показана возможность использования конъюгатов монотерпеноидов с люминофорами BODIPY в качестве инструментов для визуализации клеток различного типа и диагностики патологических процессов.

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1. Физико-химические измерения и исходные вещества

Идентификация и установление структур синтезированных конъюгатов монотерпеноидов с бородипиррометеновыми люминофорами проводились методами ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа. Получение известных соединений подтверждалось сравнением их физико-химических параметров (^1H и ^{13}C ЯМР) с характеристиками, описанными в литературе.

Углы оптического вращения измерялись в лаборатории элементоорганических соединений Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета на автоматизированном цифровом поляриметре P8000-T (объем кюветы 10 мл, растворители: метанол, хлороформ или хлористый метилен).

Спектральные методы. Спектры ^1H , ^{13}C и ^{19}F ЯМР регистрировались на кафедре медицинской химии Института физики Казанского (Приволжского) федерального университета на спектрометре Bruker Avance-II-500 или Bruker Avance-III-ND-700 (500 или 700, 125 и 658.78 МГц для ^1H , ^{13}C и ^{19}F соответственно). Химические сдвиги (δ) для ядер ^1H и ^{13}C приведены в м.д. относительно ТМС, сигналы растворителя CDCl_3 использованы в качестве внутреннего стандарта ($\delta_{\text{H}} = 7.26$ м.д., $\delta_{\text{C}} = 77.23$ м.д.). Спектры ^{11}B регистрировались в Институте химии растворов им. Г.А. Крестова РАН на спектрометре Bruker Avance-III-500 (160.46 МГц для ^{11}B). Химические сдвиги для ядер ^{19}F и ^{11}B приведены в м.д. относительно $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, использованного в качестве внешнего стандарта. Константы спин-спинового взаимодействия (J) приведены в Гц. Полное соотнесение сигналов ^1H и ^{13}C выполнено с помощью теста на присоединенный протон (АТР), двумерных

гомо- (^1H - ^1H COSY и TOCSY, ^1H - ^1H NOESY) и гетероядерных (^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC) экспериментов.

Масс-спектрометрический анализ был выполнен в лаборатории физико-химического анализа Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанского НЦ РАН на масс-спектрометре Impact II с системой Elute UHPLC, диапазон сканируемых масс m/z 50-1500 (ESI, 4500 В).

Рентгеноструктурный анализ был выполнен в лаборатории дифракционных методов исследований Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанского НЦ РАН на автоматическом трехкружном дифрактометре Bruker D8 QUEST с двумерным детектором PHOTON III и микрофокусной рентгеновской трубкой $\mu\text{S DIAMOND}$ ($\lambda[\text{MoK}\alpha] = 0.71073 \text{ \AA}$).

ИК-спектры регистрировали в лаборатории элементоорганических соединений Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета на ИК-фурье спектрометре Spectrum two PERKIN ELMER с приставкой UATR (Single Reflection Diamond) в области длин волн $400\text{-}4000 \text{ см}^{-1}$. Твердые образцы наносили на приставку и прижимали с помощью ручного пресса до получения максимального поглощения. Жидкие и вязкие образцы наносили на приставку и проводили измерение.

Хроматографические методы. Контроль за ходом реакции и чистоту соединений осуществляли с помощью аналитической тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах Sorbfil PTLC-AF-A-UF (алюминиевая фольга с закрепленным слоем силикагеля и УФ-индикатором). В качестве элюента применяли смесь растворителей гексан:диэтиловый эфир, тетрахлорметан:метил *трет*-бутиловый эфир, тетрахлорметан:диэтиловый эфир, этилацетат:изопропанол, а также гексан в чистом виде. Для визуализации хроматограммы использовали УФ-лампу с длинами волн 365 и 254 нм или реагент для проявления — смесь анисового альдегида и серной кислоты в 96% этаноле в соотношении 5:5:90.

Адсорбционную колоночную хроматографию проводили на силикагеле фирмы Acros с размером частиц $60\text{-}200\mu$ при изократическом элюировании

смесью растворителей, указанных ниже (наполнение «мокрым» способом). Обращенно-фазовую хроматографию проводили при градиентном элюировании вода → метанол на коммерчески доступных флэш-картриджах PuriFlash Column, 15 μ , C18 HP, 6 г.

Реактивы и растворители. Органические растворители использовали свежеперегнанными, предварительно обезвоженными над слоем MgSO₄, CuSO₄ или цеолита 3Å и обработанными в течение двух суток свежим активированным углем, если не указано иное. Хранили полученные растворители над слоем цеолита 3Å в темном месте. Неорганические вещества использовали без предварительной очистки. В работе использовали коммерчески доступные неорганические и органические реагенты фирм Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), Acros Organics (Geel, Belgium), Alfa Aesar (Heysham, UK), Macklin (Pudong, Shanghai, China) и Вектон (Санкт-Петербург, Россия) без предварительной очистки, если не указано иное.

Изомерные миртенолы **127** и **128** были синтезированы восстановлением NaBH₄ сульфитных производных альдегидов, полученных окислением (+)- или (-)- α -пинена *трет*-бутиловым пероксидом в присутствии каталитического количества SeO₂, по описанной ранее методике [90].

Диметилформамид интенсивно встряхивали в течение 30 минут со свежепрокаленным CuSO₄ (10 г на 500 мл растворителя), фильтровали на воронке Бюхнера и перегоняли под вакуумом при 50°C с отбрасыванием первых порций перегона и кубового остатка изумрудного цвета. Полученный диметилформамид представляет собой бесцветную жидкость без запаха.

N-Бромсукцинимид желтоватого или оранжевого цвета с бромистым запахом растворяли в горячей воде из расчета, что 200 г вещества растворяется в 2.5 л воды при 75-80°C. Полученную смесь фильтровали и охлаждали, выпавшие кристаллы отфильтровывали и сушили между листами фильтровальной бумаги. Очищенный *N*-бромсукцинимид представляет собой белые или бесцветные кристаллы без резкого бромистого запаха.

Тетрабромметан кремово-желтоватого цвета или с бромистым запахом растворяли в небольшом количестве 96% этанола (5-10 мл) и проводили операцию по замене растворителя (20-ти кратным объемом дистиллированной воды) при интенсивном перемешивании. Выпавший белый осадок собирали и растворяли в пентане. Органический раствор экстрагировали 10% раствором гидрокарбоната натрия до исчезновения желтого окрашивания, а затем отделяли и сушили над слоем $MgSO_4$. Растворитель упаривали и высушивали тетрабромметан в темноте под вакуумом средней глубины без нагревания (вещество возгоняется). Полученный белый кристаллический порошок без запаха хранили в темном и прохладном месте.

Моноаминоэтанол желто-оранжевого цвета перегоняли при глубоком вакууме при $50^\circ C$ до получения бесцветной маслянистой жидкости с характерным аммиачным запахом.

Обезвоживание *p*-толуолсульфокислоты проводили вакуумной перегонкой с добавлением свежеперегнанного и обезвоженного толуола.

(+)- α -Фенхол **132** с запахом гнилых яблок растворяли в гексане (20 мл). Органический слой экстрагировали дистиллированной водой (3 x 15 мл), а затем отделяли и сушили над слоем $MgSO_4$. Растворитель упаривали под вакуумом и полученную жидкокристаллическую массу очищали методом колоночной хроматографии (элюент — гексан). После удаления растворителя полученный (+)- α -фенхол представляет собой ароматную с камфорным запахом кристаллическую массу при комнатной температуре.

3.2. Методики синтеза терпеноидов и четвертичных аммонийных солей с терпеновыми фрагментами

Методика синтеза терпенилбромидов в адаптированной реакции Аппеля (155, 156, 163, 216-219). К соответствующему терпеновому спирту (0.1 ммоль, 1 экв) добавляли тетрабромметан (0.1 ммоль, 1 экв) и перемешивали смесь до полного растворения последнего. Далее к полученному раствору одновременно добавляли все количество трифенилфосфина (0.1 ммоль, 1 экв) и интенсивно перемешивали шпателем в течение двух-трех минут. Реакционную систему оставляли при комнатной температуре до полного остывания. Выделение терпенилбромида проводили колоночной хроматографией на силикагеле (элюент — гексан). Для этого реакционную смесь растворяли в хлористом метиле (3 x 1 мл) и полученный раствор наносили на поверхность сорбента для последующего элюирования.

(1*S*,5*R*)-2-(Бромметил)-6,6,-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен (155). Выход 90%. Светло-желтое или бесцветное ароматное масло. Спектральные характеристики соединения были аналогичны приведенным в литературе [88].

(1*R*,5*S*)-2-(Бромметил)-6,6,-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен (156). Выход 87%. Светло-желтое или бесцветное ароматное масло. Спектральные характеристики соединения были аналогичны приведенным в литературе [88].

(1*S*,2*R*,4*R*)-2-Бром-1,3,3-триметилбицикло[2.2.1]гептан (163). Выход 51%. Светло-желтое или зеленоватое ароматное масло.

(1*S*,2*S*,4*S*)-2-((2-Бромэтил)тио)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан (216). Выход 75%. Бесцветное или светло-желтое ароматное масло.

(4*S*)-1-(Бромметил)-4-(проп-1ен-2-ил)циклогексен-1 (217). Выход 81%. Светло-желтое или желтое ароматное масло.

(6*R*)-8-Бром-2,6-диметилоктен-2 (218). Выход 80%. Светло-желтое или бесцветное ароматное масло.

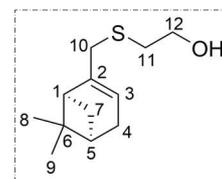
(2E)-1-Бром-3,7-диметилокта-2,6-диен (219). Выход 91%. Светло-желтое или бесцветное ароматное масло.

Общая методика синтеза монотерпеноидов с фрагментами окси- или тиоэтанола (157-160, 164). К раствору 2-меркаптоэтанола (0.1 ммоль, 1 экв) или этиленгликоля (0.1 ммоль, 1 экв) в холодном диметилформамиде (5 мл) добавляли NaH (0.11 ммоль, 1.1 экв) и интенсивно перемешивали суспензию в течение 30 минут. К полученному раствору добавляли требуемый терпенилбромид (0.1 ммоль, 1 экв) и перемешивали в течение 1 часа. Далее к смеси добавляли 20 мл воды и экстрагировали водный слой хлористым метиленом (3 x 15 мл). Объединенные органические экстракты сушили над слоем MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали под вакуумом. Полученную смесь растворяли в хлороформе (10 мл) и фильтровали, после чего растворитель удаляли под вакуумом. Продукты реакции выделяли колоночной хроматографией на силикагеле (элюент — гексан:диэтиловый эфир, 1:1).

2-(((1S,5R)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил)метокси)этан-1-ол (157). Выход 37%. Бесцветное масло со специфическим запахом. Спектральные характеристики соединения были аналогичны приведенным в литературе [116].

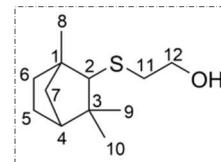
2-(((1R,5S)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил)метокси)этан-1-ол (158). Выход 36%. Бесцветное масло со специфическим запахом. Спектральные характеристики соединения были аналогичны приведенным в литературе [116].

2-(((1S,5R)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил)метил)тио)этан-1-ол (159). Выход 76%. Светло-желтое ароматное масло. ИК-спектр, ν, cm^{-1} : 3365 (OH), 3000-2840 (C-H), 1645 (C=C). $[\alpha]_D^{23} -5.0$ (с 1.0; MeOH). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ , м.д.: 0.83 с (3H, H⁹), 1.13 д (2H, H⁷, $J = 2.2$), 1.29 с (3H, H⁸), 2.09 уш.с (1H, OH), 2.15-2.23 м (1H, H⁵), 2.20-2.34 кв (2H, H⁴), 2.39-2.45 м (1H, H¹), 2.59-2.69 м (2H, H¹¹), 2.97-3.13 АВ (2H, H¹⁰, $J = 13.4$), 3.65-3.74 м (2H, H¹²), 5.37 с (1H, H³). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ , м.д.: 21.26 (C⁸), 26.27 (C⁹), 31.43 (C⁴), 31.85 (C⁷), 34.16 (C⁶), 37.67 (C¹), 38.27 (C⁵), 40.65 (C¹⁰), 45.18 (C¹¹), 60.20 (C¹²), 120.49 (C³), 143.52 (C²). HRMS-ESI, m/z : [M + H]⁺ вычислено для C₁₂H₂₁OS: 213.1313; найдено: 213.1313.



2-((((1*R*,5*S*)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил)метил)тио)этан-1-ол (160). Выход 64%. Бесцветное ароматное масло. Спектральные характеристики были аналогичны соединению **159**.

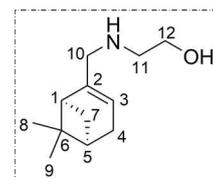
2-(((1*S*,2*RS*,4*R*)-1,3,3-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-ил)тио)этан-1-ол (164). Выход 21%. Светло-оранжевое ароматное



масло. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3425 (ОН), 3000-2840 (С–Н). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.70 с (3H, H^8), 0.82 с (3H, H^9), 0.93 с (3H, H^{10}), 1.5 д (2H, H^2 , $J = 8.3, 2.6$), 2.18 м (2H, H^{11}), 3.08 м (2H, H^{12}). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 19.45 (C^5), 20.30 (C^6), 25.09 (C^9), 25.45 (C^4), 26.06 (C^{10}), 30.67 (C^7), 35.69 (C^1), 39.02 (C^3), 40.99 (C^8), 47.92 (C^{11}), 49.04 (C^2), 84.87 (C^{12}).

Общая методика синтеза пинениламиноэтанолов (161, 162). К раствору соответствующего пиненилбромида (0.1 ммоль, 1 экв) в ацетонитриле (10 мл) добавляли моноэтаноламин (0.15 ммоль, 1.5 экв) и интенсивно перемешивали смесь в течение 3 часов при 50°C . Далее для нейтрализации HBr к реакционной системе прибавляли NaHCO_3 (0.2 ммоль, 2 экв) и перемешивали суспензию в течение 30 минут при комнатной температуре. Твердый остаток отфильтровывали, после чего удаляли растворитель при пониженном давлении. Продукты реакции выделяли колоночной хроматографией на силикагеле (элюент — этилацетат:изопропанол, 9:1).

2-((((1*S*,5*R*)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил)метил)амино)этан-1-ол (161). Выход 47%. Светло-желтое



масло со специфическим запахом. $[\alpha]_D^{23} +24.4$ (с 0.86; CHCl_3). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.85 с (3H, H^9), 1.16 д (2H, H^7 , $J = 8.8$), 1.31 с (3H, H^8), 2.11 уш.с (1H, ОН), 2.22-2.34 кв (1H, H^4), 2.35-2.42 м (1H, H^5), 2.44-2.50 м (1H, H^1), 3.07 м (2H, H^{11}), 3.51 м (2H, H^{10}), 3.95 м (2H, H^{12}), 5.36 уш.с (1H, NH), 5.75 с (1H, H^3). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 21.29 (C^8), 26.08 (C^9), 31.66 (C^4), 31.82 (C^7), 38.34 (C^6), 40.47 (C^1), 44.20 (C^5), 49.20 (C^{10}), 52.74 (C^{11}), 57.95 (C^{12}), 126.11 (C^3), 139.82 (C^2). HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{NO}$: 196.1701; найдено: 196.1701.

2-((((1*R*,5*S*)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил)метил)амино)этан-1-ол (162). Выход 49%. Светло-желтое масло со специфическим запахом. Спектральные характеристики были аналогичны соединению **161**.

Общая методика синтеза терпенилкарбоксамидов (193-195). К исходной пинановой кислоте (0.5 ммоль, 1 экв) добавляли SOCl_2 (0.5 ммоль, 1 экв) и интенсивно перемешивали смесь в течение 5 часов. Образовавшийся ацилхлорид растворяли в хлористом метиле (25 мл). К полученному раствору добавляли ДМАРА (0.5 ммоль, 1 экв) и перемешивали в течение 3 часов. Для нейтрализации HCl к реакционной системе прибавляли NaHCO_3 (1.0 ммоль, 2 экв) и перемешивали суспензию в течение 30 минут при комнатной температуре. Твердый остаток отфильтровывали, после чего удаляли растворитель при пониженном давлении. Полученные ациламида использовались в дальнейшем без дополнительной очистки.

(1*R*,5*S*)-*N*-(3-(Диметиламино)пропил)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-карбоксамид (193). Выход 91%. Бледно-желтая аморфная масса.

(1*R*,2*S*,5*R*)-*N*-(3-(Диметиламино)пропил)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гептан-2-карбоксамид (194). Выход 88%. Бледно-желтая аморфная масса.

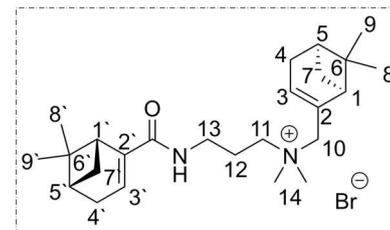
(1*R*,2*R*,5*R*)-*N*-(3-(Диметиламино)пропил)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гептан-2-карбоксамид (195). Выход 49%. Бледно-желтая аморфная масса.

Общая методика синтеза четвертичных аммонийных солей с двумя пинановыми фрагментами (196-198). К раствору соответствующего ациламида (0.5 ммоль, 1 экв) в хлористом метиле (20 мл) добавляли (+)-пиненилбромид (1.5 ммоль, 3 экв) и интенсивно перемешивали смесь в течение 3 часов при комнатной температуре. Далее растворитель упаривали при пониженном давлении, после чего продукты реакции выделяли и очищали методом замены растворителя. Для этого полученную аморфную массу растворяли в дихлорметане (3 x 1 мл) и по каплям прибавляли к гексану (50 мл) при интенсивном перемешивании. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали гексаном два раза и сушили под вакуумом.

N-(((1'*S*,5'*R*)-6',6'-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2'-ен-2'-ил)метил)-3-
 ((1*R*,5*S*)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-

карбоксамид)-*N,N*-диметил пропан-1-аммония

бромид (196). Выход 80%. Аморфная масса белесно-кремового цвета. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3439 (NH), 3000-

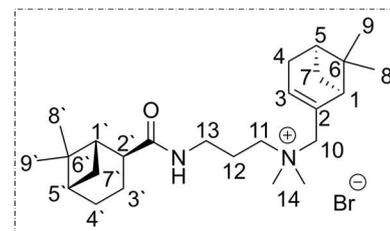


2840 (C–H), 1643, 1612 (C=C), 1557 (NH–C=O). $[\alpha]_D^{23}$ –9.45 (с 0.811; MeOH). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.79 с (3H, H^9), 0.81 с (3H, $\text{H}^{9'}$), 1.08-1.10 д (2H, H^7), 1.13-1.14 д (2H, $\text{H}^{7'}$), 1.29 с (3H, H^8), 1.31 с (3H, $\text{H}^{8'}$), 2.12-2.2 м (2H, $\text{H}^{5,5'}$), 2.25-2.28 м (1H, H^1), 2.31-2.45 м (4H, $\text{H}^{4,4'}$), 2.48-2.53 м (1H, $\text{H}^{1'}$), 2.78 м (2H, H^{12}), 3.13, 3.14 с (6H, H^{14}), 3.42 м (2H, H^{11}), 3.71 м (2H, H^{13}), 3.86-4.05 АВ (2H, H^{10} , $J = 12.7$), 6.12 с (1H, H^3), 6.67 с (1H, $\text{H}^{3'}$), 7.65 с (1H, NH). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 21.03 (C^8), 21.29 ($\text{C}^{8'}$), 23.15 (C^{12}), 25.91 (C^9), 25.96 ($\text{C}^{9'}$), 31.41 (C^4), 31.88 (C^7), 32.14 ($\text{C}^{7'}$), 36.67 (C^5), 37.69 (C^6), 38.05 ($\text{C}^{6'}$), 39.67 (C^{13}), 40.45 ($\text{C}^{5'}$), 41.48 (C^1), 47.09 ($\text{C}^{1'}$), 50.19, 50.27 (C^{14}), 62.97 (C^{11}), 69.79 (C^{10}), 130.5 (C^3), 135.94 (C^2), 136.5 ($\text{C}^{3'}$), 142.76 ($\text{C}^{2'}$), 168.18 (C=O). HRMS-ESI, m/z : $[\text{M}]^+$ вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}^+$: 385.3219; найдено: 385.3219.

N-(((1'*S*,5'*R*)-6',6'-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2'-ен-2'-ил)метил)-3-
 ((1*R*,2*S*,5*R*)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гептан-2-

карбоксамид)-*N,N*-диметил пропан-1-аммония

бромид (197). Выход 79%. Аморфная масса белесно-кремового цвета. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3401 (NH), 3000-



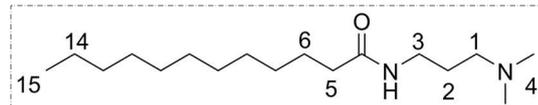
2840 (C–H), 1633 (C=C), 1531 (NH–C=O). $[\alpha]_D^{23}$ –12.83 (с 0.149; MeOH). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.85 с (3H, H^9), 0.87 с (3H, $\text{H}^{9'}$), 1.14-1.18 м (4H, $\text{H}^{7,7'}$), 1.23 с (3H, H^8), 1.33 с (3H, $\text{H}^{8'}$), 1.83-2.00 м (2H, $\text{H}^{5,5'}$), 2.14 м (2H, H^{12}), 2.29 м (1H, H^1), 2.31-2.47 м (4H, $\text{H}^{4,4'}$), 2.53 м (1H, $\text{H}^{1'}$), 2.55 м (2H, H^{11}), 2.95 м (1H, $\text{H}^{2'}$), 3.16, 3.18 с (6H, H^{14}), 3.32-3.49 АВХ (3H, $\text{H}^{3'}$), 3.77 м (2H, H^{13}), 3.91-4.10 АВ (2H, H^{10} , $J = 12.7$), 6.16 с (1H, H^3), 7.31 с (1H, NH). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 15.84 (C^8), 21.29 ($\text{C}^{8'}$), 22.26 (C^9), 23.07 (C^{12}), 25.16 ($\text{C}^{9'}$), 25.91 ($\text{C}^{3'}$), 27.45 (C^4), 30.34 ($\text{C}^{4'}$), 31.89 (C^5), 32.15 (C^7), 36.63 ($\text{C}^{7'}$), 38.09 (C^6), 38.62 ($\text{C}^{6'}$), 39.68 ($\text{C}^{2'}$), 40.66 (C^{13}), 43.66 ($\text{C}^{5'}$), 45.11 (C^1), 47.12 ($\text{C}^{1'}$), 50.10, 50.17 (C^{14}), 63.02 (C^{11}), 69.88 (C^{10}), 135.93 (C^2), 136.58

(C³), 173.6 (C=O). HRMS-ESI, m/z : [M]⁺ вычислено для C₂₅H₄₃N₂O⁺: 387.3375; найдено: 387.3375.

***N*-(((1'*S*,5'*R*)-6',6'-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2'-ен-2'-ил)метил)-3-((1*R*,2*R*,5*R*)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гептан-2-карбоксамид)-*N,N*-диметилпропан-1-аммония бромид (198).** Выход 28%. Аморфная масса белесно-кремового цвета. Спектральные характеристики были аналогичны соединению 197.

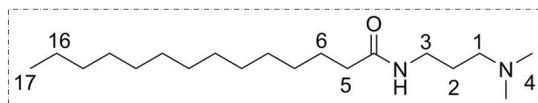
Общая методика синтеза ациламидов на основе лауриновой и миристиновой кислот (201, 202). К раствору лауриновой или миристиновой кислоты (5.0 ммоль, 1 экв) в толуоле (50 мл) добавляли DMAPA (5.0 ммоль, 1 экв) и *p*-TsOH (1.0 ммоль, 0.2 экв). Реакционную смесь кипятили в колбе, оснащенной насадкой Дина-Старка, при 140°C в течение 20 часов. По окончании реакции растворитель упаривали до 5 мл и к полученному раствору добавляли 30 мл воды. Водный слой экстрагировали хлористым метиленом (3 x 20 мл). Объединенные органические экстракты сушили над слоем MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали под вакуумом.

***N*-(3-(Диметиламино)пропил)додеканамид (201).** Выход 95%. Беловатая аморфная масса. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3309 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1636 (C=O), 1542 (N–C=O).



ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ , м.д.: 0.79 т (3H, H¹⁵, $J = 6.7$), 1.17 уш.с (16H, H⁷⁻¹⁴), 1.52 м (2H, H⁶), 1.59 м (2H, H²), 2.07 т (2H, H⁵, $J = 7.4$), 2.16 с (6H, H⁴), 2.31 т (2H, H¹, $J = 6.7$), 3.22 м (2H, H³), 7.10 с (1H, NH). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ , м.д.: 14.0 (C¹⁵), 22.6 (C¹⁴), 25.7 (C⁶), 26.2 (C²), 29.3 (C^{7,8}), 29.5 (C⁹⁻¹²), 31.8 (C¹²), 36.8 (C⁵), 38.7 (C³), 45.0 (C⁴), 58.1 (C¹), 173.2 (C=O). HRMS-ESI, m/z : [M + H]⁺ вычислено для C₁₇H₃₇N₂O⁺ 285.2900; найдено: 285.2905.

***N*-(3-(Диметиламино)пропил)тетрадеканамид (202).** Выход 93%. Бледно-желтая аморфная масса. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3303 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1639 (C=O), 1551



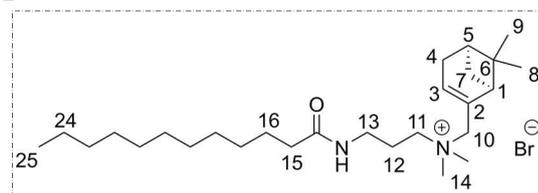
(N–C=O). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ , м.д.: 0.80 т (3H, H¹⁷, $J = 6.7$), 1.18 уш.с (20H, H⁷⁻¹⁷), 1.52 м (2H, H⁶), 1.61 м (2H, H²), 2.07 т (2H, H⁵, $J = 7.4$), 2.19 с (6H, H⁴), 2.34 т

(2H, H¹, *J* = 6.7), 3.22 м (2H, H³), 7.00 с (1H, NH). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.0 (C¹⁷), 22.6 (C¹⁶), 25.7 (C⁶), 26.0 (C²), 26.0 (C^{7,8}), 29.4 (C⁹⁻¹⁴), 31.8 (C¹⁵), 36.7 (C⁵), 38.6 (C³), 44.9 (C⁴), 57.8 (C¹), 173.2 (C=O). HRMS-ESI, *m/z*: [M + H]⁺ вычислено для C₁₉H₄₁N₂O⁺ 313.3213; найдено: 313.3215.

Общая методика синтеза четвертичных аммонийных солей с одним терпеновым фрагментом (203-206, 220-227). К раствору соответствующего ациламида (0.1 ммоль, 1 экв) в хлористом метиле (20 мл) прибавляли требуемый терпенилбромид (0.3 ммоль, 3 экв) и интенсивно перемешивали смесь в течение 3 часов при комнатной температуре. Далее растворитель упаривали при пониженном давлении, после чего продукты реакции выделяли и очищали методом замены растворителя. Для этого полученную аморфную массу растворяли в дихлорметане (3 x 1 мл) и по каплям прибавляли к гексану (50 мл) при интенсивном перемешивании. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали гексаном два раза и сушили под вакуумом.

***N*-(((1'*S*,5'*R*)-6',6'-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2'-ен-3'-ил)метил)-*N,N*-диметил-3-додеканамидопропан-1-аммония бромид (203).** Выход 91%. Желтая аморфная масса. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3416, 3259

(N–H), 3000-2840 (C–H), 1650 (C=O), 1541 (N–C=O). $[\alpha]_D^{26} +8.8$ (с 1.06; MeOH). ЯМР ¹H



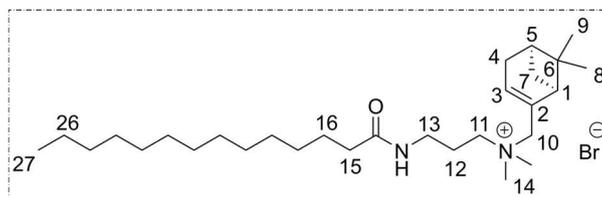
спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.85 с (3H, H⁹), 0.88 т (3H, H²⁵, *J* = 6.7), 1.18 д (2H, H⁷, *J* = 9.4), 1.25 уш.с (16H, H¹⁶⁻²⁴), 1.33 с (3H, H⁸), 1.61 м (2H, H⁵), 2.09-2.19 м (1H, H⁵), 2.31 м (2H, H¹²), 2.42 кв (2H, H⁴, *J* = 3.1), 2.55 м (1H, H¹), 3.16, 3.17 с (6H, H⁴), 3.37 м (2H, H¹¹), 3.80 м (2H, H¹³), 3.90-4.09 АВ (2H, H¹⁰, *J* = 12.6), 6.15 с (1H, H³), 7.82 с (1H, NH). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 114.1 (C²⁵), 21.3 (C⁸), 22.7 (C⁹), 23.08 (C¹²), 25.9 (C⁴), 29.2-29.8 (C¹⁸⁻²⁴), 31.9 (C⁵), 32.1 (C¹⁷), 36.2 (C⁷), 36.5 (C¹⁵), 38.1 (C⁶), 39.7 (C¹³), 43.13 (C¹⁶), 47.1 (C¹), 50.07, 50.17 (C¹⁴), 63.1 (C¹¹), 69.9 (C¹⁰), 135.9 (C²), 136.6 (C³), 174.7 (C=O). HRMS-ESI, *m/z*: [M – Br]⁺ вычислено для C₂₇H₅₁N₂O⁺ 419.3996; найдено: 419.3998.

***N*-(((1'*R*,5'*S*)-6',6'-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2'-ен-3'-ил)метил)-*N,N*-диметил-3-додеканамидопропан-1-аммония бромид (204).** Выход 87%.

Беловатая аморфная масса. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3257 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1661 (C=O), 1541 (N–C=O). $[\alpha]_D^{24} -12.8$ (с 0.22; MeOH). Спектральные характеристики были аналогичны соединению **203**. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} - \text{Br}]^+$ вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}^+$ 419.3996; найдено: 419.3996.

***N*-(((1'*S*,5'*R*)-6',6'-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2'-ен-3'-ил)метил)-*N,N*-диметил-3-тетрадеканамидопропан-1-аммония бромид (205).** Выход 90%.

Желтая аморфная масса. ИК-спектр, ν , cm^{-1} :

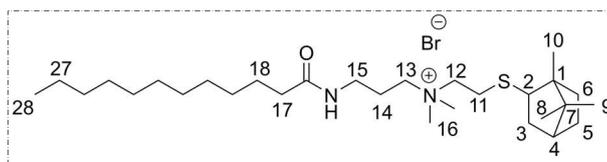


1 : 3413, 3261 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1663 (C=O), 1540 (N–C=O). $[\alpha]_D^{26} +8.5$ (с 0.74; MeOH). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.85 с (3H, H^9), 0.88 т (3H, H^{27} , $J = 6.7$), 1.18 д (2H, H^7 , $J = 9.4$), 1.25 уш.с (20H, H^{16-26}), 1.32 с (3H, H^8), 1.60 м (1H, H^{15}), 2.11-2.18 м (1H, H^5), 2.31 м (2H, H^{12}), 2.41 кв (2H, H^4 , $J = 3.2$), 2.53 м (1H, H^1), 3.16, 3.18 с (6H, H^4), 3.37 м (2H, H^{11}), 3.81 м (2H, H^{13}), 3.9-4.1 АВ (2H, H^{10} , $J = 12.6$), 6.16 с (1H, H^3), 7.83 с (1H, NH). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.1 (C^{27}), 21.3 (C^8), 22.7 (C^9), 23.0 (C^{12}), 25.9 (C^4), 29.7 (C^{16-26}), 31.9 (C^5), 36.2 (C^7), 36.5 (C^{15}), 38.1 (C^6), 39.64 (C^{13}), 47.08 (C^1), 50.05, 50.16 (C^{14}), 63.01 (C^{11}), 69.8 (C^{10}), 135.91 (C^2), 136.57 (C^3), 174.69 (C=O). HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} - \text{Br}]^+$ вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}^+$ 447.4309; найдено: 447.4309.

***N*-(((1'*R*,5'*S*)-6',6'-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2'-ен-3'-ил)метил)-*N,N*-диметил-3-тетрадеканамидопропан-1-аммония бромид (206).** Выход 91%. Желтоватая аморфная масса. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3296 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1640 (C=O), 1541 (N–C=O). $[\alpha]_D^{22} -15.4$ (с 0.24; MeOH). Спектральные характеристики были аналогичны соединению **205**. HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} - \text{Br}]^+$ вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}^+$ 447.4309; найдено: 447.4308.

3-Додеканамидо-*N,N*-диметил-*N*-(2'-((1',7',7'-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2'-ил)тио)этил)пропан-1-аммония бромид (220). Выход 71%.

Желтоватая аморфная масса. ИК-спектр, ν ,



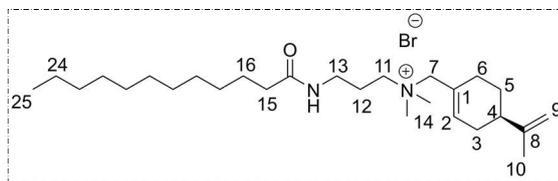
cm^{-1} : 3263 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1650 (C=O), 1538 (N–C=O). $[\alpha]_D^{24} +12.1$ (с 0.08; MeOH). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.80 с (3H, H^9), 0.86 т (3H, H^{28} , $J = 6.8$), 0.90 с (3H, H^8), 0.96 с (3H, H^{10}), 1.23 уш.с (16H, H^{18-27}), 1.62 м (2H, H^{17}), 1.54-1.74 м (2H,

H⁵, H⁶), 1.80 м (2H, H³), 1.93-2.11 м (2H, H⁵, H⁶), 2.22 м (1H, H⁴), 2.28 м (2H, H¹⁴), 2.76 м (1H, H²), 2.89 м (2H, H¹¹), 3.32 с (6H, H¹⁶), 3.35 м (2H, H¹³), 3.6 м (2H, H¹²), 3.82 м (2H, H¹⁵), 7.76 с (1H, NH). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.09 (C¹⁰), 19.96 (C⁹), 20.03 (C⁸), 20.38 (C²⁷⁻²⁸), 22.66 (C¹⁷), 22.9 (C²¹), 24.75 (C¹⁵), 25.84 (C²⁶), 26.88 (C²⁵), 27.15 (C⁵), 29.6 (C¹⁹⁻²⁴), 31.9 (C¹⁸), 36.04 (C⁶), 36.46 (C¹⁴), 38.2 (C³), 40.88 (C¹⁶), 43.22 (C¹¹), 45.8 (C⁴), 47.47 (C¹), 49.7 (C⁷), 51.25 (C²), 63.03 (C¹³), 64.3 (C¹²), 174.65 (C=O). HRMS-ESI, *m/z*: [M – Br]⁺ вычислено для C₂₉H₅₇N₂OS⁺ 481.4186; найдено: 481.4182.

3-Додеканамидо-N,N-диметил-N-((4'S-(проп-8'-ен-7'-ил)циклогекс-1'-ен-1'-ил)метил)пропан-1-аммония бромид

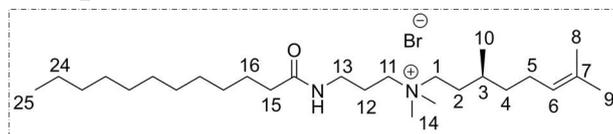
(221). Выход 84%. Буроватая аморфная масса.

ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3259 (N–H), 3000-2840



(C–H), 1646 (C=O), 1539 (N–C=O). $[\alpha]_D^{24}$ –20.4 (с 0.27; MeOH). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.90 т (3H, H²⁷, *J* = 6.8), 1.26 уш.с (20H, H¹⁶⁻²⁶), 1.62 с (2H, H¹⁵), 1.88 д (2H, H⁴, *J* = 3.8), 2.11-2.29 м (6H, H^{3,5,6}), 1.75 с (3H, H¹⁰), 2.32 т (2H, H¹², *J* = 7.6), 3.21, 3.22 с (6H, H¹⁴), 3.39 м (2H, H¹¹), 3.81 м (2H, H¹³), 4.05 с (2H, H⁷), 4.71, 4.80 с (2H, H⁹), 5.31 с (1H, H²), 7.77 с (1H, NH). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.1 (C²⁵), 20.7 (C¹⁰), 22.6 (C²⁴), 23.03 (C¹²), 25.86 (C²³), 27.2 (C²²), 29.4 (C⁵), 29.61 (C¹⁷⁻²¹), 31.1 (C⁶), 31.9 (C¹⁶), 36.18 (C³), 36.46 (C¹⁵), 39.5 (C¹³), 43.4 (C⁴), 50.52, 50.67 (C¹⁴), 63.2 (C¹¹), 71.2 (C⁷), 109.5 (C⁹), 125.95 (C¹), 140.3 (C²), 148.04 (C⁸), 174.72 (C=O). HRMS-ESI, *m/z*: [M – Br]⁺ вычислено для C₂₇H₅₁N₂O⁺ 419.3996; найдено: 419.3999.

N-(3-Додеканамидопропил)-N,N,3',7'-тетраметилокт-6'-ен-1-аммония бромид (222). Выход 90%. Белесная аморфная масса. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3278



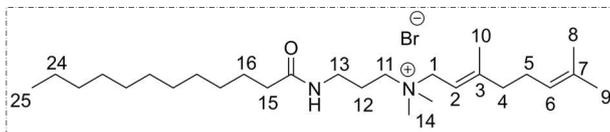
(N–H), 3000-2840 (C–H), 1649 (C=O), 1544 (N–C=O). $[\alpha]_D^{24}$ –5.8 (с 0.13; MeOH). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.85 т (3H, H²⁵, *J* = 6.9), 0.95 м (3H, H¹⁰), 1.22 уш.с (17H, H^{3,16-24}), 1.57 с (2H, H¹⁵), 1.65 с (6H, H^{8,9}), 2.12 м (6H, H^{2,4,5}), 2.23 м (2H, H¹², *J* = 7.8), 2.86 с (6H, H¹⁴), 3.19 м (2H, H¹¹, *J* = 7.4), 3.24 м (2H, H¹), 3.36 м (2H, H¹³), 5.05 м (1H, H⁶), 7.40 с (1H, NH). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.03 (C²⁵), 17.57 (C⁹), 18.77 (C⁸), 22.58 (C¹⁰), 24.57 (C¹²), 25.72 (C^{23,24}), 29.5 (C¹⁷⁻²²), 31.8 (C¹⁶), 35.9 (C⁵), 36.4 (C⁴),

39.9 (C^{13}), 43.05 (C^{15}), 51.1 (C^1), 55.53 (C^{11}), 62.03, 62.24 (C^{14}), 123.5 (C^6), 124.3 (C^7), 174.74 ($C=O$). HRMS-ESI, m/z : $[M - Br]^+$ вычислено для $C_{27}H_{55}N_2O^+$ 423.4309; найдено: 423.4309.

***N*-(3-Додеканамидопропил)-*N,N,3',7'*-тетраметилокта-2',6'-диен-1-**

аммония бромид (223). Выход 86%.

Буроватая аморфная масса. ИК-спектр, ν ,



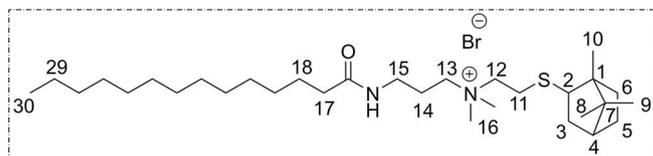
cm^{-1} : 3281 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1649 (C=O), 1539 (N–C=O). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.85 т (3H, H^{27} , $J = 6.8$), 1.23 уш.с (16H, H^{16-25}), 1.58 с (2H, H^{15}), 1.66 с (6H, $H^{8,9}$), 1.82 с (3H, H^{10}), 1.99-2.29 м (4H, $H^{4,5}$), 2.15 м (2H, H^{12}), 3.13 с (6H, H^{14}), 3.34 м (2H, H^{11}), 3.64 м (2H, H^{13}), 4.05 д (2H, H^1 , $J = 8.1$), 5.00 т (1H, H^6 , $J = 6.5$), 5.29 т (1H, H^2 , $J = 8.1$), 7.76 с (1H, NH). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.1 (C^{25}), 17.5 (C^9), 17.79 (C^8), 22.67 (C^{10}), 22.89 (C^{12}), 25.78 ($C^{23,24}$), 29.5 (C^{17-22}), 31.9 (C^{16}), 36.18 (C^5), 36.47 (C^4), 40.06 (C^{13}), 43.57 (C^{15}), 49.55 (C^1), 56.06 (C^{11}), 62.3, 62.5 (C^{14}), 110.01 (C^6), 122.9 (C^2), 132.7 (C^7), 153.02 (C^3), 174.75 ($C=O$). HRMS-ESI, m/z : $[M - Br]^+$ вычислено для $C_{27}H_{53}N_2O^+$ 421.4152; найдено: 421.4146.

3-Тетрадекканамидо-*N,N*-диметил-*N*-(2'-((1',7',7'-триметилбицикло

[2.2.1]гептан-2'-ил)тио)этил)пропан-

1-аммония бромид (224). Выход 69%.

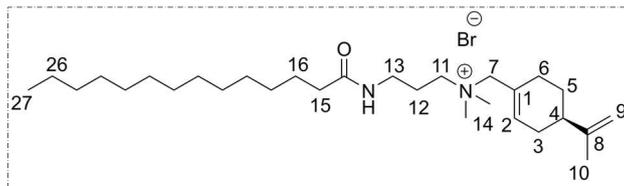
Желтоватая аморфная масса. ИК-спектр,



ν , cm^{-1} : 3254 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1650 (C=O), 1548 (N–C=O). $[\alpha]_D^{24} +8.4$ (с 0.07; MeOH). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.81 с (3H, H^9), 0.87 т (3H, H^{30} , $J = 6.9$), 0.91 с (3H, H^8), 0.97 с (3H, H^{10}), 1.24 уш.с (20H, H^{18-29}), 1.62 м (2H, H^7), 1.57-1.75 м (2H, H^5 , H^6), 1.82 м (2H, H^3), 1.95-2.11 м (2H, H^5 , H^6), 2.24 м (1H, H^4), 2.28 т (2H, H^{14} , $J = 7.7$), 2.76 м (1H, H^2), 2.92 м (2H, H^{11}), 3.32 с (6H, H^6), 3.37 т (2H, H^{13} , $J = 7.3$), 3.59 м (2H, H^{12}), 3.81 м (2H, H^{15}), 7.76 с (1H, NH). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.1 (C^{10}), 19.94 (C^{30}), 20.03 (C^8), 20.39 (C^9), 22.67 (C^{29}), 22.9 (C^{23}), 24.75 (C^{15}), 25.87 (C^{28}), 26.88 (C^{27}), 27.15 (C^5), 29.7 (C^{18-26}), 31.9 (C^{17}), 36.05 (C^{14}), 36.5 (C^6), 38.2 (C^3), 40.89 (C^{16}), 43.25 (C^{11}), 45.9 (C^4), 47.48 (C^1), 49.7 (C^7), 51.3 (C^2), 63.1 (C^{13}), 64.3 (C^{12}), 174.75 ($C=O$). HRMS-ESI, m/z : $[M - Br]^+$ вычислено для $C_{31}H_{61}N_2OS^+$ 509.4499; найдено: 509.4504.

3-Тетрадеканамидо-*N,N*-диметил-*N*-((4'*S*-проп-8'-ен-7'-ил)циклогекс-1'-ен-1'-ил)метил)пропан-1-аммония

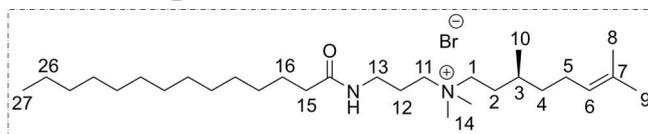
бромид (225). Выход 85%. Буроватая аморфная масса. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3245



(N–H), 3000-2840 (C–H), 1650 (C=O), 1542 (N–C=O). $[\alpha]_D^{24} -22.4$ (с 0.28; MeOH). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.90 т (3H, H^{27} , $J = 6.8$), 1.26 уш.с (20H, H^{16-26}), 1.62 с (2H, H^{15}), 1.88 д (2H, H^4 , $J = 3.8$), 2.11-2.29 м (6H, $\text{H}^{3,5,6}$), 1.75 с (3H, H^{10}), 2.32 т (2H, H^{12} , $J = 7.6$), 3.21, 3.22 с (6H, H^{14}), 3.39 м (2H, H^{11}), 3.81 м (2H, H^{13}), 4.05 с (2H, H^7), 4.71, 4.80 с (2H, H^9), 5.31 с (1H, H^2), 7.77 с (1H, NH). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.1 (C^{27}), 20.7 (C^{10}), 22.7 (C^{26}), 23.1 (C^{12}), 25.9 (C^{25}), 27.2 (C^{24}), 29.4 (C^5), 29.7 (C^{17-23}), 31.1 (C^6), 31.9 (C^{16}), 36.5 (C^3), 36.19 (C^{15}), 39.5 (C^{13}), 43.1 (C^4), 50.56, 50.71 (C^{14}), 63.2 (C^{11}), 71.2 (C^7), 109.5 (C^9), 125.95 (C^1), 140.27 (C^2), 148.05 (C^8), 174.78 (C=O). HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} - \text{Br}]^+$ вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}^+$ 447.4309; найдено: 447.4311.

***N*-(3-Тетрадеканамидопропил)-*N,N,3',7'*-тетраметилокт-6'-ен-1-аммония**

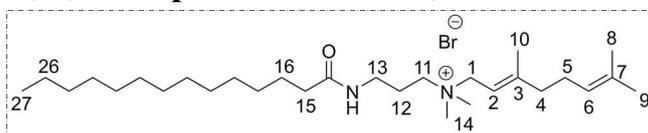
бромид (226). Выход 80%. Беловатая аморфная масса. ИК-спектр, ν , cm^{-1} :



3284 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1650 (C=O), 1545 (N–C=O). $[\alpha]_D^{24} -1.7$ (с 0.17; MeOH). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.88 т (3H, H^{27} , $J = 6.8$), 0.98 м (3H, H^{10}), 1.25 уш.с (21H, $\text{H}^{3,16-26}$), 1.62 с (2H, H^{15}), 1.69 с (6H, $\text{H}^{8,9}$), 2.12 м (6H, $\text{H}^{2,4,5}$), 2.26 м (2H, H^{12} , $J = 7.7$), 2.86 с (6H, H^{14}), 3.18 м (2H, H^{11} , $J = 7.2$), 3.27 м (2H, H^1), 3.40 м (2H, H^{13}), 5.05 м (1H, H^6), 7.25 с (1H, NH). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.1 (C^{27}), 17.18 (C^9), 17.6 (C^8), 22.7 (C^{10}), 24.59 (C^{12}), 25.7 ($\text{C}^{25,26}$), 29.5 (C^{17-24}), 31.9 (C^{16}), 35.9 (C^5), 36.5 (C^4), 40.1 (C^{13}), 43.57 (C^{15}), 49.6 (C^1), 56.61 (C^{11}), 62.03, 62.24 (C^{14}), 123.6 (C^6), 124.3 (C^7), 174.77 (C=O). HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} - \text{Br}]^+$ вычислено для $\text{C}_{29}\text{H}_{59}\text{N}_2\text{O}^+$ 451.4622; найдено: 451.4620.

***N*-(3-Тетрадеканамидопропил)-*N,N,3',7'*-тетраметилокта-2',6'-диен-1-аммония бромид (227).** Выход 82%.

Буроватая аморфная масса. ИК-спектр,



ν , cm^{-1} : 3288 (N–H), 3000-2840 (C–H), 1650 (C=O), 1542 (N–C=O). ЯМР ^1H спектр

(CDCl₃), δ , м.д.: 0.85 т (3H, H²⁷, $J = 6.9$), 1.22 уш.с (20H, H¹⁶⁻²⁶), 1.58 с (2H, H¹⁵), 1.66 с (6H, H^{8,9}), 1.84 с (3H, H¹⁰), 2.07-2.18 м (4H, H^{4,5}), 2.16 м (2H, H¹²), 3.17 с (6H, H¹⁴), 3.36 м (2H, H¹¹), 3.73 м (2H, H¹³), 4.05 д (2H, H¹, $J = 8.0$), 5.00 т (1H, H⁶, $J = 6.5$), 5.29 т (1H, H², $J = 8.1$), 7.80 с (1H, NH). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ , м.д.: 14.1 (C²⁷), 17.5 (C⁹), 17.8 (C⁸), 22.7 (C¹⁰), 22.9 (C¹²), 25.9 (C^{25,26}), 29.5 (C¹⁷⁻²⁴), 31.9 (C¹⁶), 36.2 (C⁵), 36.5 (C⁴), 40.1 (C¹³), 43.57 (C¹⁵), 49.6 (C¹), 56.13 (C¹¹), 62.3, 62.5 (C¹⁴), 110.03 (C⁶), 122.9 (C²), 132.7 (C⁷), 152.9 (C³), 174.7 (C=O). HRMS-ESI, m/z : [M – Br]⁺ вычислено для C₂₉H₅₇N₂O⁺ 449.4465; найдено: 449.4467.

3.2. Методики синтеза конъюгатов с замещенными люминофорами

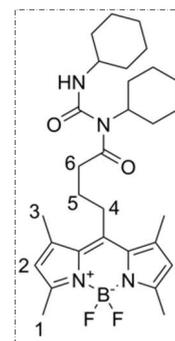
Общая методика высвобождения *in situ* карбоксильной функции люминофоров (172, 175). К раствору люминофоров **6** или **7** (0.1 ммоль, 1 экв) в изопропанол (10 мл) добавляли 0.1 н раствор NaOH (2 мл) и перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре до полной трансформации сложного эфира в натриевую соль по данным ТСХ (элюент — тетрахлорметан:диэтиловый эфир, 10:1). После упаривания большей части раствора к полученной смеси добавляли 10 мл толуола и интенсивно перешивали при прибавлении по каплям 0.1 н раствора HCl до полной трансформации натриевой соли в карбоновую кислоту по данным ТСХ (элюент — тетрахлорметан:диэтиловый эфир, 10:1). Органический слой отделяли, добавляли 20 мл воды и экстрагировали водный слой толуолом (3 x 10 мл). Объединенные органические экстракты сушили над слоем MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали под вакуумом. Продукты реакции представляли собой аморфно-кристаллические массы и использовались в дальнейшем без предварительной очистки.

Методика этерификации по методу Стеглиха (173). К раствору бородипиррометеновой кислоты **172** (0.1 ммоль, 1 экв) в хлористом метиле (10 мл) добавляли (+)-миртенол **127** (0.12 ммоль, 1.2 экв), DMAP (0.3 ммоль, 3 экв) и

DCC (0.1 ммоль, 1 экв). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 часов до исчезновения исходной кислоты по данным ТСХ (элюент — тетрахлорметан:диэтиловый эфир, 10:1). Растворитель удаляли под вакуумом и выделяли продукт реакции колоночной хроматографией на силикагеле (элюент — тетрахлорметан:диэтиловый эфир, 19:1). Перекристаллизацию соединения для РСА проводили в хлористом метиле.

***BF₂-мезо-4-(N-Циклогексил-N'-(циклогексилкарбамоил)бутанамидо)-3,3',5,5'*-тетраметил-2,2'-дипиррометен (173).** Выход 87%.

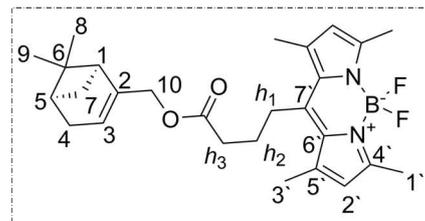
Оранжевый кристаллический порошок. ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.85-2.1 м (22H, циклогексильные группы), 2.03 м (2H, H⁵), 2.46 с (6H, H³), 2.54 с (6H, H¹), 2.58 т (2H, H⁶, *J* = 7.2), 3.06 м (2H, H⁴), 5.32 с (1H, NH), 6.08 с (2H, H²). HRMS-ESI, *m/z*: [M + Na]⁺ вычислено для C₃₀H₄₃BF₂N₄O₂Na⁺: 563.3339; найдено: 563.3339.



Общая методика синтеза конъюгатов до оптимизации (174, 176-178). К раствору бородипиррометеновой кислоты **172** или **175** (0.1 ммоль, 1 экв) в хлористом метиле (20 мл) добавляли требуемый терпеновый спирт (0.12 ммоль, 1.2 экв), DMAP (0.1 ммоль, 1 экв) и NATU (0.3 ммоль, 3 экв) и интенсивно перемешивали реакционную смесь в течение 5 часов при комнатной температуре до исчезновения исходной карбоновой кислоты по данным ТСХ (элюент — тетрахлорметан:метил *трет*-бутиловый эфир, 10:1). Колбу с реакционной системой при этом плотно накрывали алюминиевой фольгой. Растворитель удаляли под вакуумом и продукт реакции выделяли колоночной хроматографией на силикагеле (элюент — тетрахлорметан:метил *трет*-бутиловый эфир, 19:1). Перекристаллизацию соединений для РСА проводили в хлористом метиле.

***BF₂-мезо-4-(((1''S,5''R)-6'',6''-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2''-ен-2''-ил)метоксикарбонилпропил)-3,3',5,5'*-тетраметил-2,2'-дипиррометен (174).** Выход 59%. Оранжевый кристаллический порошок. $[\alpha]_D^{23} +28.3$ (с 0.01; CHCl₃). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.79 с (3H, H⁹), 1.15 д (1H, H⁷, *J* = 8.7), 1.26 с (3H, H⁸), 1.93 м (2H, H^{h2}), 2.08 м (2H, H^{l,5}), 2.22-2.29 кв (2H, H⁴, *J* = 17.8), 2.38 м (1H, H⁷),

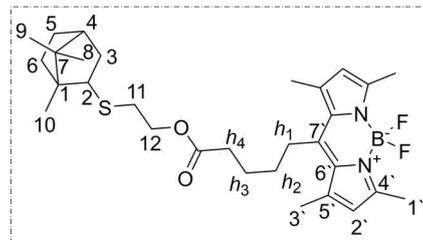
2.38 с (6H, H^{3'}), 2.47 м (2H, H^{h3}), 2.49 с (6H, H^{1'}), 2.97 м (2H, H^{h1}), 4.43-4.46 АВ (2H, H¹⁰, $J = 12.2$), 5.54 с (1H, H³), 6.03 с (2H, H^{2'}). ЯМР ¹³С спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.69 τ (C^{1'}, $J = 2.7$), 16.58 (C^{3'}), 21.28 (C⁹), 26.34 (C⁸),



27.07 (C^{h2}), 27.77 (C^{h1}), 31.47 (C⁴), 31.68 (C⁷), 34.64 (C^{h3}), 38.28 (C⁶), 40.88 (C⁵), 43.82 (C¹), 67.46 (C¹⁰), 121.93 (C³), 122.00 (C^{2'}), 131.66 (C^{6'}), 140.64 (C^{5'}), 142.96 (C²), 145.21 (C^{7'}), 154.38 (C^{4'}), 172.62 (C=O). ЯМР ¹⁵N спектр, δ, м.д.: 190.3. ЯМР ¹⁹F спектр, δ, м.д.: -146.60, -146.68 ($J = 33$). ЯМР ¹¹B спектр, δ, м.д.: +0.41. HRMS-ESI, m/z : [M + Na]⁺ вычислено для C₂₇H₃₅BF₂N₂O₂Na⁺: 491.2652; найдено: 491.2657.

BF₂-мезо-4-(((1''S,2''S,4''S)-1'',7'',7''-Триметилбцикло[2.2.1]гептан-2'')тио)этоксикарбонилпентил)-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен (176).

Выход 48%. Аморфно-кристаллическая масса оранжевого цвета. ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.75 с (3H, H⁹), 0.87 с (3H, H⁸), 0.91 с (3H, H¹⁰), 1.04-1.09 м (2H, H⁵, H⁶), 1.13-1.23 м (2H, H⁵, H⁶), 1.77-1.84 м (2H,

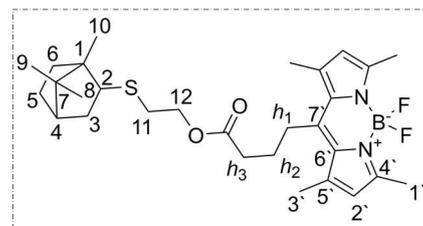


H³), 1.60-1.64 м (2H, H^{h2}), 1.57-1.60 (1H, H⁴), 1.75 м (2H, H^{h3}), 2.32 м (2H, H^{h4}), 2.34 с (6H, H^{3'}), 2.43 с (6H, H^{1'}), 2.56-2.62 м (1H, H²), 2.62-2.73 м (2H, H¹¹), 2.89 м (2H, H^{h1}), 4.09 м (2H, H¹²), 6.05 с (2H, H^{2'}). ЯМР ¹³С спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.63 (C^{1'}), 16.57 (C^{3'}), 22.29 (C⁸), 23.72 (C⁹), 23.78 (C⁵), 24.24 (C³), 25.49 (C^{h3}), 28.29 (C^{h1}), 28.37 (C¹⁰), 29.01 (C¹¹), 31.42 (C^{h2}), 33.89 (C^{h4}), 35.93 (C⁶), 44.22 (C¹), 50.00 (C²), 51.53 (C⁴), 59.10 (C⁷), 64.31 (C¹²), 121.87 (C^{2'}), 131.58 (C^{6'}), 140.47 (C^{5'}), 145.88 (C^{7'}), 154.15 (C^{4'}), 173.07 (C=O). ЯМР ¹⁹F спектр, δ, м.д.: -146.22 ($J = 31$). ЯМР ¹¹B спектр, δ, м.д.: +0.41. HRMS-ESI, m/z : [M + Na]⁺ вычислено для C₃₀H₄₃BF₂N₂O₂SNa⁺: 567.2999; найдено: 567.3004.

BF₂-мезо-4-(((1''S,2''S,4''S)-1'',7'',7''-Триметилбцикло[2.2.1]гептан-2'')тио)этоксикарбонилбутил)-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен (177).

Выход 48%. Оранжевый кристаллический порошок. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3000-2840 (C-H), 1735 (C=O). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.79 с (3H, H⁹), 0.92 с (3H, H⁸), 0.96 с (3H, H¹⁰), 1.03-1.11 м (2H, H⁵, H⁶), 1.13-1.23 м (2H, H⁵, H⁶), 1.61-1.66 м (1H, H⁴), 1.73-1.85 м (2H, H³), 1.94 м (2H, H^{h2}), 2.40 с (6H, H^{3'}), 2.48 м (2H, H^{h3}), 2.49 с

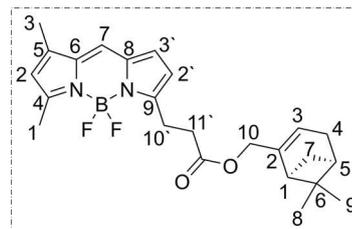
(6H, H^{1'}), 2.63-2.70 м (1H, H²), 2.70-2.80 м (2H, H¹¹), 2.98 м (2H, H^{h1}), 4.19 м (2H, H¹²), 6.03 с (2H, H^{2'}). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.16 (C⁹), 14.68 т (C^{1'}, J = 2.5), 16.61 (C^{3'}), 20.38 (C⁸), 20.60 (C¹⁰), 46.05 (C⁴), 47.53 (C⁷), 49.70 (C¹), 55.27 (C²), 64.04 (C¹²), 122.01 (C^{2'}), 131.65 (C^{6'}), 140.60 (C^{5'}), 145.14 (C^{7'}), 154.40 (C^{4'}), 172.53 (C=O). HRMS-ESI, m/z: [M + Na]⁺ вычислено для C₂₄H₂₉BF₂N₂O₂Na⁺: 449.2187; найдено: 449.2187.



BF₂-мезо-4-(((1''R,5''S)-6'',6''-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2''-ен-2''-ил)метоксикарбонилпропил)-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен (178). Выход 54%. Оранжевый кристаллический порошок. Спектральные характеристики были аналогичны соединению 174.

Общая оптимизированная методика синтеза конъюгатов в гетерогенной среде (228, 229). К раствору люминофора 165 (0.1 ммоль, 1 экв) в хлористом метиле (20 мл) добавляли DIPEA (0.3 ммоль, 3 экв), HATU (0.15 ммоль, 1.5 экв), соответствующий терпеновый спирт (0.15 ммоль, 1.5 экв) и DMAP (0.13 ммоль, 1.3 экв). Реакционную смесь интенсивно перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре до исчезновения исходной карбоновой кислоты по данным ТСХ (элюент — тетрахлорметан:диэтиловый эфир, 10:1). Колбу с реакционной системой при этом плотно накрывали алюминиевой фольгой. Растворитель удаляли под вакуумом и продукт реакции выделяли при помощи двух последовательных колоночных хроматографий на силикагеле (элюент — тетрахлорметан:диэтиловый эфир, 17:1).

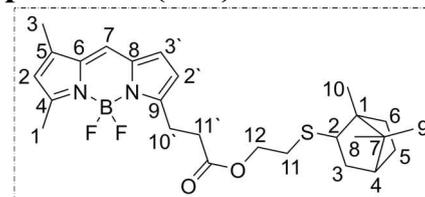
BF₂-α-3'-(((1''R,5''S)-6'',6''-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2''-ен-2''-ил)метоксикарбонилэтил)-3,5-диметил-2,2'-дипиррометен (228). Выход 73%. Вязкое темно-оранжевое масло. [α]_D³⁰ +23.3 (с 0.01; MeOH). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.86 с (3H, H⁸), 0.89-1.24 АВХ (2H, H⁷), 1.31 с (3H, H⁹), 2.13 м (2H, H^{1,5}), 2.27 с (3H, H¹), 2.40 м (2H, H⁴), 2.59 с (3H, H³), 2.80 т (2H, H^{11'}, J = 7.7), 3.32 т (2H, H^{10'}, J = 7.7), 4.51 с (2H, H¹⁰), 5.58 с (1H, H³), 6.13 с (1H, H²), 6.29 с (1H, H^{2'}), 6.90 с (1H, H^{3'}), 7.10 с (1H, H⁷). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.0 (CH₃¹),



20.3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3^{8,9}$), 24.0 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3^3$), 27.4 (C^{10}), 32.9 ($\underline{\text{C}}\text{H}^1$), 33.4 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2^7$), 38.6 (C^{11}), 41.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}^5$), 45.9 (C^6), 55.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2^4$), 63.9 (C^{10}), 116.8 ($\underline{\text{C}}\text{H}^2$), 120.5 ($\text{C}^{2'}$), 123.9 ($\text{C}^{3'}$), 128.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}^7$), 133.4 (C^5), 133.7 (C^2), 135.3 (C^6), 138.6 ($\underline{\text{C}}\text{H}^3$), 144.0 (C^8), 157.1 (C^9), 160.6 (C^4), 172.4 ($\text{C}=\text{O}$). HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ вычислено для $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}^+$: 449.2187; найдено: 449.2187.

***BF*₂- α -3'-((((1''S,2''S,4''S)-1'',7'',7''-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2''тио)этоксикарбонилэтил)-3,5-диметил-2,2'-дипиррометен (229). Выход 45%.**

Вязкое темно-оранжевое масло. $[\alpha]_D^{30} +38.7$ (с 0.02; MeOH). ЯМР ^1H спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.86 с (3H, H^9), 0.97 с (3H, H^8), 0.98 с (3H, H^{10}), 1.20 м (2H, H^5 , H^6), 1.34



м (2H, H^5 , H^6), 1.73 м (1H, H^4), 1.94 т (2H, H^3 , $J = 10.9$), 2.27 с (3H, H^1), 2.59 с (2H, H^3), 2.71 м (1H, H^2), 2.76 м (2H, H^{11}), 2.80 м (2H, H^{11}), 3.32 т (2H, H^{10} , $J = 7.4$), 4.25 м (2H, H^{12}), 6.13 с (1H, H^2), 6.30 с (1H, $\text{H}^{2'}$), 6.90 с (1H, $\text{H}^{3'}$), 7.10 с (1H, H^7). ЯМР ^{13}C спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 11.3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3^1$), 14.1 (C^{10}), 15.0 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3^3$), 21.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3^9$), 23.0 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2^5$), 24.0 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3^8$), 26.1 (C^{11}), 26.2 (C^{10}), 31.3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2^6$), 31.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2^3$), 33.5 (C^{11}), 38.1 (C^2), 38.8 ($\underline{\text{C}}\text{H}^4$), 40.8 (C^7), 43.6 (C^1), 67.2 (C^{12}), 116.8 ($\text{C}^{2'}$), 120.4 ($\text{C}^{3'}$), 121.6 ($\underline{\text{C}}\text{H}^2$), 123.8 ($\underline{\text{C}}\text{H}^7$), 128.1 (C^6), 128.9 (C^8), 143.0 (C^5), 157.3 (C^9), 160.4 (C^4), 172.4 ($\text{C}=\text{O}$). HRMS-ESI, m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}^+$: 511.2377; найдено: 511.2378.

Общая методика синтеза бородипиррометеновых ациламидов (207, 208).

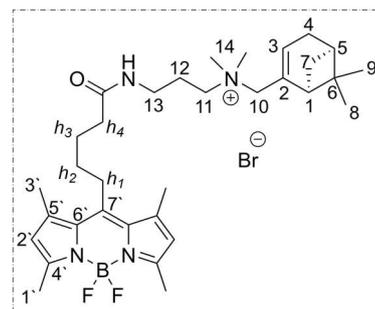
К раствору бородипиррометеновой кислоты **172** или **175** (0.1 ммоль, 1 экв) в хлористом метиле (20 мл) добавляли DIPEA (0.3 ммоль, 3 экв), NATU (0.15 ммоль, 1.5 экв), DMAPA (0.1 ммоль, 1 экв) и DMAP (0.13 ммоль, 1.3 экв). Реакционную смесь интенсивно перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре до исчезновения исходной карбоновой кислоты по данным ТСХ (элюент — этилацетат). Колбу с реакционной системой при этом плотно накрывали алюминиевой фольгой. Растворитель удаляли под вакуумом и продукт реакции выделяли при помощи обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле С18 (элюент — вода → метанол).

BF₂-мезо-4-(Пентанамидо-*N*-(*N*',*N*'-диметилпропан-1-амин))-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен (207). Выход 70%. Оранжевый кристаллический порошок. HRMS-ESI, *m/z*: [M + H]⁺ вычислено для C₂₃H₃₆BF₂N₄O⁺: 433.2945; найдено: 433.2952.

BF₂-мезо-4-(Бутанамидо-*N*-(*N*',*N*'-диметилпропан-1-амин))-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен (208). Выход 74%. Оранжевый кристаллический порошок. HRMS-ESI, *m/z*: [M + H]⁺ вычислено для C₂₂H₃₄BF₂N₄O⁺: 419.2788; найдено: 419.2794.

Общая методика синтеза конъюгатов с катионным фрагментом (209-212). К раствору бородипиррометенового ациламида **207** или **208** (0.1 ммоль, 1 экв) в хлористом метиле (20 мл) добавляли требуемый пиненилбромид (0.3 ммоль, 3 экв) и перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Колбу с реакционной системой при этом плотно накрывали алюминиевой фольгой. Растворитель удаляли под вакуумом и продукт реакции выделяли при помощи обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле C18 (элюент — вода → метанол).

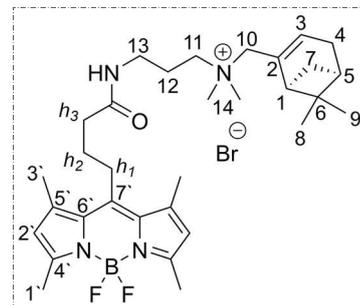
BF₂-мезо-4-(Пентанамидо-*N*-(((1''*S*,5''*R*)-6'',6''-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2''-ен-2''-ил)метил)-*N*',*N*'-диметилпропан-1-аммония)-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен бромид (209). Выход 70%. Вязкое темно-оранжевое масло. [α]_D²³ +8.0 (с 0.16; MeOH). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.74 с (3H, H⁹), 1.06 д (2H, H⁷), 1.24 с (3H, H⁸), 1.56 м (2H, H^{h2}), 1.77 м (2H, H^{h3}), 2.00 м (5H, H^{l2}), 2.09 м (1H, H⁵), 2.14 м (2H, H^{h4}), 2.27 м (1H, H^l), 2.28-2.34 м (2H, H⁴), 2.37 с (6H, H³), 2.42 с (6H, H^l), 2.85, 2.87 с (6H, H^{l4}), 2.90 м (2H, H^{l1}), 3.26 м (2H, H^{l3}), 3.62 м (4H, H^{h1}), 3.74 АВ (2H, H^{l0}, *J* = 12.6), 5.29 с (1H, H³), 6.03 с (1H, H²), 8.19 с (1H, NH). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 14.62 (C^l), 16.67 (C³), 21.41 (C⁹), 22.99 (C^{l2}), 26.04 (C⁸), 26.26 (C^{h3}), 28.46 (C^{h2}), 31.59 (C^{h1}), 31.99 (C⁴), 32.28 (C⁷), 35.78 (C^{h4}), 36.06 (C⁶), 38.23 (C^{l3}), 39.76 (C⁵), 47.21 (C^l), 49.92, 50.10 (C^{l4}), 63.35 (C^{l1}), 70.08 (C^{l0}), 121.88 (C⁵), 125.47 (C⁶), 128.4 (C³), 129.21 (C²), 131.46 (C²), 135.86 (C⁷), 136.79 (C⁵), 141.09 (C⁴), 146.63 (C⁶), 153.87 (C⁴), 173.9



(C=O). HRMS-ESI, m/z : $[M]^+$ вычислено для $C_{33}H_{50}BF_2N_4O^+$: 567.60; найдено: 567.4046.

BF₂-мезо-4-(Пентанамидо-*N*-(((1''*R*,5''*S*)-6'',6''-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2''-ен-2''-ил)метил)-*N',N'*-диметилпропан-1-аммония)-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен бромид (210). Выход 70%. Вязкое темно-оранжевое масло. Спектральные характеристики были аналогичны соединению **209**.

BF₂-мезо-4-(Бутанамидо-*N*-(((1''*S*,5''*R*)-6'',6''-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2''-ен-2''-ил)метил)-*N',N'*-диметилпропан-1-аммония)-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен бромид (211). Выход 61%. Вязкое темно-оранжевое масло. $[\alpha]_D^{23} +35.5$ (с 0.14; MeOH). ЯМР 1H спектр ($CDCl_3$), δ , м.д.: 0.84 с (3H, H^9), 1.16 д (2H, H^7), 1.33 с (3H, H^8), 1.43 м (2H, H^{h2}), 1.96 м (5H, H^{l2}), 2.09 м (1H, H^5), 2.26 м (1H, H^l), 2.36-2.45 м (2H, H^4), 2.47 с (6H, H^{3^*}), 2.51 с (6H, H^{l^*}), 2.57 м (2H, H^{h3}), 3.04 м (2H, H^{l1}), 3.08, 3.10 с (6H, H^{l4}), 3.38 м (2H, H^{l3}), 3.83 м (4H, H^{h1}), 3.80-3.98 м (2H, H^{l0} , $J = 12.4$), 5.32 с (1H, H^3), 6.06 с (1H, H^{2^*}), 8.61 с (1H, NH). ЯМР ^{13}C спектр ($CDCl_3$), δ , м.д.: 14.43 (C^{l^*}), 16.53 (C^{3^*}), 21.25 (C^9), 22.71 (C^{l2}), 25.87 (C^8), 27.81 (C^{h2}), 27.88 (C^{h1}), 32.87 (C^4), 32.14 (C^7), 36.16 (C^{h3}), 38.08 (C^6), 39.63 (C^{l3}), 45.86 (C^5), 47.19 (C^l), 49.96, 50.10 (C^{l4}), 63.22 (C^{l1}), 70.17 (C^{l0}), 121.64 (C^{5^*}), 125.47 (C^{6^*}), 128.4 (C^3), 129.21 (C^2), 131.51 (C^{2^*}), 135.79 (C^{7^*}), 136.68 (C^{5^*}), 140.94 (C^4), 146.97 (C^{6^*}), 153.80 (C^4), 173.3 (C=O). HRMS-ESI, m/z : $[M]^+$ вычислено для $C_{32}H_{48}BF_2N_4O^+$: 553.57; найдено: 553.3889.



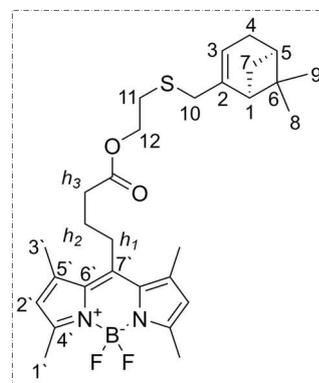
BF₂-мезо-4-(Бутанамидо-*N*-(((1''*R*,5''*S*)-6'',6''-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2''-ен-2''-ил)метил)-*N',N'*-диметилпропан-1-аммония)-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен бромид (212). Выход 69%. Вязкое темно-оранжевое масло. Спектральные характеристики были аналогичны соединению **211**.

Общая оптимизированная методика синтеза конъюгатов в гомогенной среде (179, 233-235). К раствору бородипиррометеновой кислоты **172** или люминофоров **168-170** (0.1 ммоль, 1 экв) в диметилформамиде (10 мл) добавляли DIPEA (0.3 ммоль, 3 экв) и HATU (0.15 ммоль, 1.5 экв) и перемешивали в течение 20 минут. Колбу с реакционной системой при этом плотно накрывали

алюминиевой фольгой. Далее к смеси добавляли требуемый терпеновый спирт (0.15 ммоль, 1.5 экв) и DMAP (1.3 ммоль, 1.3 экв) и перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре до исчезновения исходной кислоты по данным ТСХ (элюент — тетрахлорметан:диэтиловый эфир, 10:1). Растворитель удаляли под вакуумом и продукт реакции выделяли при помощи двух последовательных колоночных хроматографий на силикагеле (элюент — тетрахлорметан:диэтиловый эфир, 17:1).

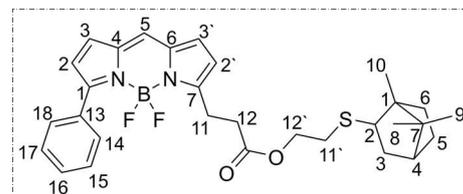
BF₂-мезо-4-((((1''S,5''R)-6'',6''-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2''-ен-2''-ил)метил)тио)этоксикарбонилпропил)-3,3',5,5'-тетраметил-2,2'-дипиррометен

(179). Выход 87%. Оранжевая кристаллическая масса. ЯМР ¹H спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 0.76 с (3H, H⁹), 1.05 д (2H, H⁷, *J* = 8.7), 1.22 с (3H, H⁸), 1.89 м (2H, H^{h2}), 2.03 м (1H, H^l), 2.12-2.14 м (2H, H⁵), 2.14-2.25 м (2H, H⁴), 2.36 с (6H, H^{3'}), 2.43 м (2H, H^{h3}), 2.44 с (6H, H^{l'}), 2.58 (2H, H^{l1}) 2.92-2.94 м (2H, H^{h1}), 2.95-3.08 АВ (2H, H^{l0}, *J* = 13.3), 4.15 м (2H, H^{l2}), 5.32 с (1H, H³), 5.98 с (2H, H^{2'}). ЯМР ¹³C спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 15.77 (C^{l'}), 17.69 (C^{3'}), 22.44 (C⁹), 27.45 (C⁸), 27.07 (C^{h2}), 28.80 (C^{h1}), 30.39 (C⁴), 31.01 (C⁷), 32.63 (C⁶), 33.05 (C⁵), 35.54 (C^{h3}), 39.44 (C^l), 39.54 (C^{l1}), 41.81 (C^{l0}), 46.34 (C^{l1}), 64.75 (C^{l2}), 121.82 (C³), 123.11 (C^{2'}), 132.22 (C^{6'}), 132.77 (C^{5'}), 141.71 (C²), 144.55 (C^{7'}), 146.26 (C^{4'}), 155.50 (C²), 173.62 (C=O). HRMS-ESI, *m/z*: [M + Na]⁺ вычислено для C₂₉H₃₉BF₂N₂O₂SNa: 551.2686; найдено: 551.2686.



BF₂-α-3'-((((1''S,2''S,4''S)-1'',7'',7''-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2''))тио)этоксикарбонилэтил)-3-фенил-2,2'-дипиррометен **(233)**. Выход 78%.

Аморфная масса розово-лилового цвета. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3000-2840 (C–H), 1735 (C=O), 1608 (C–C). $[\alpha]_D^{29} +41.7$ (с 0.07; DCM). ЯМР ¹H спектр (CDCl₃),



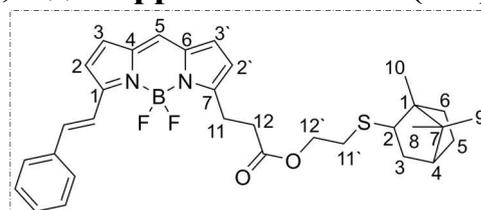
δ, м.д.: 0.74 с (3H, H⁹), 0.81 м (1H, H⁵), 0.86 с (3H, H⁸), 0.91 с (3H, H^{l0}), 1.07 м (2H, H⁵, H⁶), 1.19 м (2H, H⁵, H⁶), 1.62 м (1H, H⁴), 1.83 м (2H, H³), 2.58 м (1H, H²), 2.62 м (2H, H^{l1'}), 2.68 м (2H, H^{l2}), 3.23 т (2H, H^{l1}, *J* = 7.6), 4.12 м (2H, H^{l2'}), 6.32 с (1H, H^{2'}), 6.57 с (1H, H²), 6.96 с (1H, H^{3'}), 7.02 с (1H, H³), 7.14 с (1H, H⁵), 7.36-7.44 м (2H,

$H^{15,17}$), 7.83-7.86 м (3H, $H^{14,16,18}$). ЯМР ^{13}C спектр ($CDCl_3$), δ , м.д.: 15.3 (C^{10}), 21.5 (C^8), 21.7 (C^9), 24.0 ($C_{CH_2^5}$), 25.5 ($C_{CH_2^6}$), 28.6 (C^{11}), 34.4 ($C^{11'}$), 39.8 (C^3), 42.4 (C_{CH^1}), 47.2 (C^{12}), 48.6 (C_{CH^4}), 50.8 (C^7), 56.4 (C^2), 65.3 ($C^{12'}$), 120.6 ($C^{2'}$), 121.6 ($C^{3'}$), 129.4 (C^7), 129.68 (C_{CH^5}), 130.67 (C^{16}), 131.01 (C^{18}), 131.66 (C^{17}), 131.92 (C^{15}), 132.07 (C^6), 133.7 (C^{14}), 134.39 (C^{13}), 136.3 (C_{CH^3}), 137.7 (C_{CH^2}), 160.1 (C^1), 162.8 (C^4), 173.4 ($C=O$). HRMS-ESI, m/z : $[M + Na]^+$ вычислено для $C_{30}H_{35}BF_2N_2O_2SNa^+$: 559.2373; найдено: 559.2376.

BF_2 - α -3'-((((1''S,2''S,4''S)-1'',7'',7''-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2''тио)этоксикарбонилэтил)-3-(2-фенилвинил)-2,2'-дипиррометен (234).

Выход 74%. Аморфная масса фиолетового цвета.

ЯМР 1H спектр ($CDCl_3$), δ , м.д.: 0.82 с (3H, H^9), 0.95 с (3H, H^8), 0.99 с (3H, H^{10}), 1.70 м (1H, H^4), 1.92 м



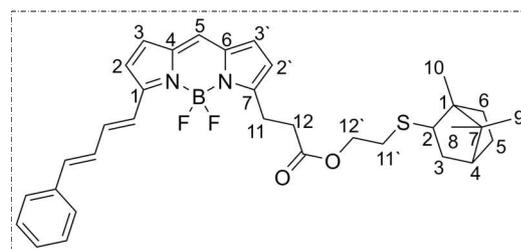
(2H, H^3), 2.66-2.69 м (1H, H^2), 2.70-2.80 м (2H, $H^{11'}$), 2.82 м (2H, H^{12}), 3.37 т (2H, H^{11} , $J = 7.4$), 4.24 м (2H, $H^{12'}$), 6.36 д (1H, $H^{2'}$, $J = 4.0$), 6.92 д (1H, H^2 , $J = 4.5$), 6.95 д (1H, $H^{3'}$, $J = 4.0$), 7.03 д (1H, H^3 , $J = 4.3$), 7.07 с (1H, H^5), 7.32-7.42, 7.60-7.63 м (7H, фенилвинил). HRMS-ESI, m/z : $[M + Na]^+$ вычислено для $C_{32}H_{37}BF_2N_2O_2SNa^+$: 585.2573; найдено: 585.6187.

BF_2 - α -3'-((((1''S,2''S,4''S)-1'',7'',7''-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2''тио)этоксикарбонилэтил)-3-((1E,3E)-фенилбута-1,3-диен-1-ил)-2,2'-дипиррометен (235).

Выход 32%. Аморфная

масса сине-фиолетового цвета. ЯМР 1H спектр

($CDCl_3$), δ , м.д.: 0.82 с (3H, H^9), 0.95 с (3H, H^8), 1.00 с (3H, H^{10}), 1.92 м (2H, H^3), 2.66-2.70 м (1H,



H^2), 2.71-2.78 м (2H, $H^{11'}$), 2.81 т (2H, H^{12} , $J = 7.6$), 3.35 т (2H, H^{11} , $J = 7.6$), 4.23 м (2H, $H^{12'}$), 6.35 д (1H, $H^{2'}$, $J = 4.1$), 6.86 д (1H, H^2 , $J = 4.5$), 6.93 д (1H, $H^{3'}$, $J = 4.1$), 7.01 д (1H, H^3 , $J = 4.5$), 7.05 с (1H, H^5), 7.08-7.50 м (9H, фенилбута-1,3-диен-1-ил). HRMS-ESI, m/z : $[M + Na]^+$ вычислено для $C_{34}H_{39}BF_2N_2O_2SNa^+$: 611.2686; найдено 611.2686.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

δ — химический сдвиг

J — константа спин-спинового взаимодействия

λ_{max}^{abs} — максимум поглощения

λ_{max}^{fl} — максимум излучения

φ^{fl} — квантовый выход флуоресценции

Φ_{Δ} — квантовый выход генерации синглетного кислорода

APT — тест на присоединенный протон

BODIPY — бородипиррометенат

CFW — калькофлюор белый

COSY — корреляционная спектроскопия

DAPI — 4',6-диамидино-2-фенилиндол

DCC — дициклогексилкарбодиимид

DCM — дихлорметан или хлористый метилен

DCU — дициклогексилмочевина

DIPEA — *N,N*-диизопропилэтиламин

DMAP — диметиламинопиридин

DMAPA — диметиламинопропиламин

DMF — диметилформаид

HATU — *O*-(7-азабензотриазол-1-ил)-*N,N,N,N*-тетраметилурионий
гексафторфосфат

HMBC — гетероядерная многосвязная корреляционная спектроскопия

HSQC — гетероядерная одноквантовая корреляционная спектроскопия

MTBE — метил *трет*-бутиловый эфир

MS — масс-спектрометрия

NBS — *N*-бромсукцинимид

NOESY — спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера

Py — пиридин

p-TsCl — тозилхлорид

p-TsOH — *p*-толуолсульфокислота

reflux — кипячение с обратным холодильником

TEA — триэтиламин

TOCSY — полная корреляционная спектроскопия

ИК — инфракрасный

МИК — минимальная ингибирующая концентрация

ТСХ — тонкослойная хроматография

РСА — рентгеноструктурный анализ

ЧАС — четвертичная аммонийная соль

ЯМР — ядерный магнитный резонанс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Никитина, Л.Е. Природные и тиомодифицированные монотерпеноиды: монография / Л.Е. Никитина, Н.П. Артемова, В.А. Старцева. — Казань: Отечество, 2011. — 157 с.
2. Sudarikov, D. Monoterpene Thiols: Synthesis and Modifications for Obtaining Biologically Active Substances / D. Sudarikov, L. Nikitina, P. Rollin, E. Izmet'sev, S. Rubtsova // International Journal of Molecular Sciences. — 2023. — V. 24. — Article 15884.
3. Zlotin, S.G. The Green Chemistry Paradigm in Modern Organic Synthesis / S.G. Zlotin, K.S. Egorova, V.P. Ananikov, A.A. Akulov, M.V. Varaksin, O.N. Chupakhin, V.N. Charushin, K.P. Bryliakov, A.D. Averin, I.P. Beletskaya, E.L. Dolengovski, Y.H. Budnikova, O.G. Sinyashin, Z.N. Gafurov, A.O. Kantyukov, D.G. Yakhvarov, A.V. Aksenov, M.N. Elinson, V.G. Nenajdenko, A.M. Chibiryayev, N.S. Nesterov, E.A. Kozlova, O.N. Martyanov, I.A. Balova, V.N. Sorokoumov, D.A. Guk, E.K. Beloglazkina, D.A. Lemenovskii, I.Y. Chukicheva, L.L. Frolova, E.S. Izmet'sev, I.A. Dvornikova, A.V. Popov, A.V. Kuchin, D.M. Borisova, A.A. Kalinina, A.M. Muzafarov, I.V. Kuchurov, A.L. Maximov, A.V. Zolotukhina // Russian Chemical Reviews. — 2023. — V. 92. — Article RCR5104.
4. Izmet'sev, E. S. Terpene-Functionalized Fluoroquinolones as Potential Antimicrobials: Synthesis and Properties / E.S. Izmet'sev, S.V. Pestova, A.I. Kolesnikova, D.R. Baidamshina, A.R. Kayumov, S.A. Rubtsova // ChemMedChem. — 2023. — V. 18. — № 24. — Article e202300358.
5. Gilfanov, I. R. Novel Fluoroquinolones with Pinane Moiety: Synthesis and Antimicrobial Activity / I.R. Gilfanov, A.I. Kolesnikova, R.S. Pavelyev, D.V. Sudarikov, P.V. Gribkov, E.S. Izmet'sev, S.A. Rubtsova, S.A. Lisovskaya, O.B. Babaeva, I.Z. Rakhmatullin, R.R. Davletshin, V.V. Klochkov, L.E. Nikitina, A.R. Kayumov, E.Y. Trizna // Chemistry and Biodiversity. — 2025. — V. 22. — № 5. — Article e202402601.

6. Гребенкина, О.Н. Новые полифункциональные *N*-терпенил-4-аминобензолсульфонамиды / О.Н. Гребенкина, П.А. Петрова, П.В. Грибков, Р.В. Румянцев, О.М. Лезина, Д.В. Судариков, С.А. Рубцова // Журнал общей химии. — 2024. — Т. 94. — № 3. — С. 395-409.
7. Antina, E. BODIPY Conjugates as Functional Compounds for Medical Diagnostics and Treatment / E. Antina, N. Bumagina, Y. Marfin, G. Guseva, L. Nikitina, D. Sbytov, F. Telegin // *Molecules*. — 2022. — V. 27. — № 4. — Article 1396.
8. Barattucci, A. BODIPY-Carbohydrate Systems: Synthesis and Bio-Applications / A. Barattucci, C.M.A. Gangemi, A. Santoro, S. Campagna, F. Puntoriero, P. Bonaccorsi // *Organic and Biomolecular Chemistry*. — 2022. — V. 20. — № 14. — P. 2742-2763.
9. Stanková, J. Terpenes and Terpenoids Conjugated with BODIPYs: An Overview of Biological and Chemical Properties / J. Stanková, M. Jurášek, M. Hajdúch, P. Džubák // *Journal of Natural Products*. — 2024. — V. 87. — № 4. — P. 1306-1319.
10. Nayak, L. Multifunctional S-Triazine-BODIPY Conjugates: Synthetic Strategies, Photophysical Insights, and Emerging Applications / L. Nayak, S. Acharya, S. Routray, S. Pattnaik, R. Satapathy // *RSC Advances*. — 2025. — V. 15. — P. 27951–27994.
11. Llano, R.S. Tailoring the Photophysical Signatures of BODIPY Dyes: Toward Fluorescence Standards across the Visible Spectral Region [Электронный ресурс] / R.S. Llano, E.A. Zaballa, J. Bañuelos, C.F.A.G. Durán, J.L.B. Vázquez, E.P. Cabrera, I.L. Arbeloa // *Photochemistry and Photophysics*. — 2018. — Режим доступа: <https://doi.org/10.5772/intechopen.74848>.
12. Chen, J. Functionalization of Boron Dipyrin (BODIPY) Dyes through Iridium and Rhodium Catalysis: A Complementary Approach to α - and β -Substituted BODIPYs / J. Chen, M. Mizumura, H. Shinokubo, A. Osuka // *Chemistry — A European Journal*. — 2009. — V. 15. — № 24. — P. 5942-5949.
13. Kowada, T. BODIPY-Based Probes for the Fluorescence Imaging of Biomolecules in Living Cells / T. Kowada, H. Maeda, K. Kikuchi // *Chemical Society Reviews Journal*. — 2015. — V. 44. — № 14. — P. 4953-4972.

14. Boldyrev, I.A. A Synthesis and Properties of New 4,4-Difluoro-3a,4a-Diaza-s-Indacene (BODIPY)-Labeled Lipids / I.A. Boldyrev, J.G. Molotkovsky // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. — 2006. — V. 32. — № 1. — P. 78-83.
15. Guseva, G.B. Meso-Substituted-BODIPY Based Fluorescent Biomarker: Spectral Characteristics, Photostability and Possibilities for Practical Application / G.B. Guseva, E.V. Antina, M.B. Berezin, R.S. Pavelyev, A.R. Kayumov, I.S. Sharafutdinov, S.A. Lisovskaya, O.A. Lodochnikova, D.R. Islamov, K.S. Usachev, S.V. Boichuk, L.E. Nikitina // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. — 2020. — V. 401. — Article 112783.
16. Guseva, G. Spectroscopic and In Vitro Investigations of Boron(III) Complex with Meso-4-Methoxycarbonylpropylsubstituted Dipyrromethene for Fluorescence Bioimaging Applications / G. Guseva, E. Antina, M. Berezin, S. Lisovskaya, R. Pavelyev, A. Kayumov, O. Lodochnikova, D. Islamov, K. Usachev, S. Boichuk, L. Nikitina // *Molecules*. — 2020. — V. 25. — № 19. — Article 4541.
17. Schäfer, C. Entropic Mixing Allows Monomeric-Like Absorption in Neat BODIPY Films / C. Schäfer, J. Mony, T. Olsson, K. Börjesson // *Chemistry — A European Journal*. — 2020. — V. 26. — № 63. — P. 14295-14299.
18. Kırpık, H. A New 3-Substituted BODIPY Dye: Synthesis, Crystal Structure, Photophysical, Non-Linear Optic and OLED Properties / H. Kırpık, S. Erkan, M. Kose // *Journal of Molecular Structure*. — 2022. — V. 1252. — Article 132090.
19. Ksenofontova, K.V. Insight into Spectral Properties and Solvatochromic Behavior of [b]-Fused BODIPYs: Experimental and Computational Study / K.V. Ksenofontova, A.Y. Shagurin, E.E. Molchanov, A.A. Ksenofontov, D.A. Sbytov, Y.E. Kalyamanova, E.A. Danilova, Y.S. Marfin // *ChemPhotoChem*. — 2024. — V. 8. — № 11. — Article e202400074.
20. Guseva, G.B. Carboxyl-BODIPY Based Fluorescent Biomarkers: Spectral Characteristics, Photostability and Possibilities for Practical Application / G.B. Guseva, M.M. Lukanov, A.A. Ksenofontov, E.V. Antina, S.A. Lisovskaya, L.E. Nikitina, A.R. Galembikova, S.V. Boichuk // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. — 2023. — V. 444. — Article 114926.

21. Guseva, G.B. Effect of Structural and Solvation Factors on Aggregation, pH Stability, Lipophilicity, and Antimicrobial Activity of Mono- and Diiodo-Substituted Boron(III) Dipyrrromethene Luminophores / G.B. Guseva, D.R. Baidamshina, U.D. Paramonova, E.Y. Trizna, A.R. Kayumov, S.A. Lisovskaya, I.R. Gilfanov, L.E. Nikitina, E.V. Antina // *Russian Chemical Bulletin*. — 2025. — V. 74. — № 4. — P. 956-964.
22. Dabrowski, J.M. Photodynamic Therapy (PDT) of Cancer: From Local to Systemic Treatment / Dabrowski, J.M.; Arnaut, L. G. // *Photochemical and Photobiological Sciences*. — 2015. — V. 14. — № 10. — P. 1765-1780.
23. Hrycay, E.G. Chapter Two — Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer / E.G. Hrycay, S.M. Bandiera // *Advances in Pharmacology*. Academic Press. — 2015. — V. 74. — P. 35-84.
24. Hu, W. Halogenated BODIPY Photosensitizers: Photophysical Processes for Generation of Excited Triplet State, Excited Singlet State and Singlet Oxygen / W. Hu, R. Zhang, Z.-F. Zhang, J. Liu, L. Luo // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. — 2022. — V. 272. — Article 120965.
25. Oleynik, P. Design and Synthesis of a BODIPY- α -Tocopherol Adduct for Use as an Off/On Fluorescent Antioxidant Indicator / P. Oleynik, Y. Ishihara, G. Cosa // *Journal of the American Chemical Society*. — 2007. — V. 129. — № 7. — P. 1842-1843.
26. Krumova, K. How Lipid Unsaturation, Peroxyl Radical Partitioning, and Chromanol Lipophilic Tail Affect the Antioxidant Activity of α -Tocopherol: Direct Visualization via High-Throughput Fluorescence Studies Conducted with Fluorogenic α -Tocopherol Analogues / K. Krumova, S. Friedland, G. Cosa // *Journal of the American Chemical Society*. — 2012. — V. 134. — № 24. — P. 10102-10113.
27. Wang, X. Ultrabright Green-Emitting Nanoemulsions Based on Natural Lipids-BODIPY Conjugates / X. Wang, S. Bou, A.S. Klymchenko, N. Anton, M. Collot // *Nanomaterials*. — 2021. — V. 11. — № 3. — Article 826.
28. West, R. Synthesis and characterization of BODIPY- α -tocopherol: A fluorescent form of vitamin E / R. West, C. Panagabko, J. Atkinson // *Journal of Organic Chemistry*. — 2010. — V. 75. — P. 2883-2892.

29. Krumova, K. Fluorogenic α -Tocopherol Analogue for Monitoring the Antioxidant Status within the Inner Mitochondrial Membrane of Live Cells / K. Krumova, L.E. Greene, G. Cosa // *J. Am. Chem. Soc.* — 2013. — V. 135. — № 45. — P. 17135-17143.
30. Greene, L.E. Fluorogenic Ubiquinone Analogue for Monitoring Chemical and Biological Redox Processes / L.E. Greene, R. Godin, G. Cosa // *Journal of the American Chemical Society.* — 2016. — V. 138. — № 35. — P. 11327-11334.
31. Belzile, M.-N. Monitoring Chemical and Biological Electron Transfer Reactions with a Fluorogenic Vitamin K Analogue Probe / M.-N. Belzile, R. Godin, A.M. Durantini, G. Cosa // *Journal of the American Chemical Society.* — 2016. — V. 138. — № 50. — P. 16388-16397.
32. Haghdoost, M.M. Cu-Catalyzed Click Conjugation of Cobalamin to a BODIPY-Based Fluorophore: A Versatile Tool to Explore the Cellular Biology of Vitamin B12 / M.M. Haghdoost, E. Sauvageau, P. Oguadinma, H.-V. Tran, S. Lefrancois, A. Castonguay // *Journal of Inorganic Biochemistry.* — 2020. — V. 210. — Article 111105.
33. Shi, W.-J. A Biotin-Conjugated Glutathione-Responsive FRET-Based Fluorescent Probe with a Ferrocenyl BODIPY as the Dark Quencher / W.-J. Shi, P.-C. Lo, S. Zhao, R.C.H. Wong, Q. Wang, W.-P. Fong, D.K.P. Ng // *Dalton Transactions.* — 2016. — V. 45. — № 44. — P. 17798-17806.
34. Paul, S. Ruthenium(II) Conjugates of Boron-Dipyrromethene and Biotin for Targeted Photodynamic Therapy in Red Light / S. Paul, P. Kundu, U. Bhattacharyya, A. Garai, R.C. Maji, P. Kondaiah, A.R. Chakravarty // *Inorganic Chemistry.* — 2020. — V. 59. — № 1. — P. 913-924.
35. Mora, A.K. Monitoring the Formation of Insulin Oligomers Using a NIR Emitting Glucose-Conjugated BODIPY Dye / A.K. Mora, S. Murudkar, N. Shivran, S. Mula, S. Chattopadhyay, S. Nath // *International Journal of Biological Macromolecules.* — 2021. — V. 166. — P. 1121-1130.
36. Biagiotti, G. Combining Cross-Coupling Reaction and Knoevenagel Condensation in the Synthesis of Glyco-BODIPY Probes for DC-SIGN Super-Resolution Bioimaging / G. Biagiotti, E. Purić, I. Urbančič, A. Krišelj, M. Weiss, J. Mravljak, C. Gellini, L. Lay,

F. Chiodo, M. Anderluh, S. Cicchi, B. Richichi // *Bioorganic Chemistry*. — 2021. — V. 109. — Article 104730.

37. Taki, S. Novel nanosized AS1411-chitosan-BODIPY conjugate for molecular fluorescent imaging / S. Taki, M.S. Ardestani // *International Journal of Nanomedicine*. — 2019. — V. 14. — P. 3543-3555.

38. Kaufman, N.E.M. Synthesis, Characterization, and Evaluation of Near-IR Boron Dipyrromethene Bioconjugates for Labeling of Adenocarcinomas by Selectively Targeting the Epidermal Growth Factor Receptor / N.E.M. Kaufman, Q. Meng, K.E. Griffin, S.S. Singh, A. Dahal, Z. Zhou, F.R. Fronczek, J.M. Mathis, S.D. Jois, M.G.H. Vicente // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2019. — V. 62. — № 7. — P. 3323-3335.

39. O'Connor, D. Linker Length in Fluorophore-Cholesterol Conjugates Directs Phase Selectivity and Cellular Localisation in GUVs and Live Cells / D. O'Connor, A. Byrne, T.E. Keyes // *RSC Advances*. — 2019. — V. 9. — № 40. — P. 22805-22816.

40. Li, Z. Synthesis and Spectral Properties of Cholesterol- and FTY720-Containing Boron Dipyrromethene Dyes / Z. Li, R. Bittman // *The Journal of Organic Chemistry*. — 2007. — V. 72. — № 22. — P. 8376-8382.

41. Cheng, M.H.Y. Stable J-Aggregation of an Aza-BODIPY-Lipid in a Liposome for Optical Cancer Imaging / M.H.Y. Cheng, K.M. Harmatys, D.M. Charron, J. Chen, G. Zheng // *Angewandte Chemie International Edition*. — 2019. — V. 58. — № 38. — P. 13394-13399.

42. Okamoto, M. Synthesis and Bioassay of a Boron-Dipyrromethene Derivative of Estradiol for Fluorescence Imaging in Vivo / M. Okamoto, S. Kobayashi, H. Ikeuchi, S. Yamada, K. Yamanouchi, K. Nagasawa, S. Maekawa, T. Kato, I. Shimizu // *Steroids*. — 2012. — V. 77. — № 8. — P. 845-849.

43. Faletrov, Y. Uptake and Metabolism of Fluorescent Steroids by Mycobacterial Cells / Y. Faletrov, A. Brzostek, R. Plocinska, J. Dziadek, E. Rudaya, I. Edimecheva, V. Shkumatov // *Steroids*. — 2017. — V. 117. — P. 29-37.

44. Kazan, H.H. Novel 17α -Etinylestradiol-Substituted BODIPY Dyes: Synthesis, Photophysical Properties and Fluorescence Imaging Studies in Breast Cancer Cell Lines

/ H.H. Kazan, E. Özcan, E.T. Eçik, B. Çoşut // *ChemistrySelect*. — 2018. — V. 3. — № 11. — P. 2962-2967.

45. Osati, S. BODIPY-17 α -Ethinylestradiol Conjugates: Synthesis, Fluorescence Properties and Receptor Binding Affinities / S. Osati, H. Ali, F. Marques, M. Paquette, S. Beaudoin, B. Guerin, J.V. Leyton, J.E. van Lier // *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. — 2017. — V. 27. — № 3. — P. 443-446.

46. Bhattacharyya, U. Curcumin «Drug» Stabilized in Oxidovanadium(IV)-BODIPY Conjugates for Mitochondria-Targeted Photocytotoxicity / U. Bhattacharyya, B. Kumar, A. Garai, A. Bhattacharyya, A. Kumar, S. Banerjee, P. Kondaiah, A.R. Chakravarty // *Inorganic Chemistry*. — 2017. — V. 56. — № 20. — P. 12457-12468.

47. Sampedro, A. Hierarchical Self-Assembly of BODIPY Dyes as a Tool to Improve the Antitumor Activity of Capsaicin in Prostate Cancer / A. Sampedro, Á. Ramos-Torres, C. Schwöppe, C. Mück-Lichtenfeld, I. Helmers, A. Bort, I. Díaz-Laviada, G. Fernández // *Angewandte Chemie International Edition*. — 2018. — V. 57. — № 52. — P. 17235-17239.

48. Zheng, K. A Ratiometric Fluorescent Probe Based on a Bodipy-Coumarin Conjugate for Sensing of Nitroxyl in Living Cells / K. Zheng, H. Chen, S. Fang, Y. Wang // *Sensors and Actuators B: Chemical*. — 2016. — V. 233. — P. 193-198.

49. Köksoy, B. Electron-Donating and Electron-Withdrawing Subunit Effects on Coumarin-BODIPY Dyads: Optical and Electrochemical Properties and Molecular Interactions / B. Köksoy, M. Özdemir, S. Altınışık, Y. Zorlu, B. Yalçın, M. Durmuş, S. Koyuncu // *ChemPhotoChem*. — 2023. — V. 7. — № 8. — Article e202300043.

50. Skytte, D.M. Elucidation of the Topography of the Thapsigargin Binding Site in the Sarco-Endoplasmic Calcium ATPase / D.M. Skytte, J.V. Møller, H. Liu, H. Ø. Nielsen, L.E. Svenningsen, C.M. Jensen, C.E. Olsen, S.B. Christensen // *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. — 2010. — V. 18. — № 15. — P. 5634-5646.

51. Sagara, Y. Characterization of the inhibition of intracellular Ca²⁺ transport ATPases by thapsigargin / Y. Sagara, F. Fernandez-Belda, L. de Meis, G. Inesi // *Journal of Biological Chemistry*. — 1992. — V. 267. — № 18. — P. 12606-12613.

52. Abrenica, B. Nucleoplasmic Ca^{2+} loading Is Regulated by Mobilization of Perinuclear Ca^{2+} / B. Abrenica, J.S.C. Gilchrist // *Cell Calcium*. — 2000. — V. 28. — № 2. — P. 127-136.
53. Vangheluwe, P. Ca^{2+} Transport ATPase Isoforms SERCA2a and SERCA2b Are Targeted to the Same Sites in the Murine Heart / P. Vangheluwe, W.E. Louch, M. Ver Heyen, K. Sipido, L. Raeymaekers, F. Wuytack // *Cell Calcium*. — 2003. — V. 34. — № 6. — P. 457-464.
54. Abrenica, B. Nucleoplasmic Calcium Regulation in Rabbit Aortic Vascular Smooth Muscle Cells / B. Abrenica, G.N. Pierce, J.S.C. Gilchrist // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. — 2003. — V. 81. — № 3. — P. 301-310.
55. Pérez-Gordones, M.C. Presence of a Thapsigargin-Sensitive Calcium Pump in *Trypanosoma Evansi*: Immunological, Physiological, Molecular and Structural Evidences / M.C. Pérez-Gordones, M.L. Serrano, H. Rojas, J.C. Martínez, G. Uzcanga, M. Mendoza // *Experimental Parasitology*. — 2015. — V. 159. — P. 107-117.
56. Jurášek, M. Tailor-Made Fluorescent Trilobolide to Study Its Biological Relevance / M. Jurášek, S. Rimpelová, E. Kmoníčková, P. Drašar, T. Ruml // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2014. — V. 57. — № 19. — P. 7947-7954.
57. Kellogg, E.H. Insights into the Distinct Mechanisms of Action of Taxane and Non-Taxane Microtubule Stabilizers from Cryo-EM Structures / E.H. Kellogg, N.M.A. Hejab, S. Howes, P. Northcote, J.H. Miller, J.F. Díaz, K.H. Downing, E. Nogales // *Journal of Molecular Biology*. — 2017. — V. 429. — № 5. — P. 633-646.
58. Dehelean, C.A. Plant-Derived Anticancer Compounds as New Perspectives in Drug Discovery and Alternative Therapy / C.A. Dehelean, I. Marcovici, C. Soica, M. Mioc, D. Coricovac, S. Iurciuc, O.M. Cretu, I. Pinzaru // *Molecules*. — 2021. — V. 26. — № 4. — Article 1109.
59. Zhang, T. Near-Infrared BODIPY-Paclitaxel Conjugates Assembling Organic Nanoparticles for Chemotherapy and Bioimaging / T. Zhang, W. Zhang, M. Zheng, Z. Xie // *Journal of Colloid and Interface Science*. — 2018. — V. 514. — P. 584-591.

60. Sun, T. Self-Assembly of Amphiphilic Drug-Dye Conjugates into Nanoparticles for Imaging and Chemotherapy / T. Sun, W. Lin, W. Zhang, Z. Xie // *Chemistry — An Asian Journal*. — 2016. — V. 11. — № 22. — P. 3174-3177.
61. Wijesooriya, C.S. A Photoactivatable BODIPY Probe for Localization-Based Super-Resolution Cellular Imaging / C.S. Wijesooriya, J.A. Peterson, P. Shrestha, E.J. Gehrman, A.H. Winter, E.A. Smith // *Angewandte Chemie International Edition*. — 2018. — V. 57. — № 39. — P. 12685-12689.
62. Vo, N.N.Q. Structure-Activity Relationships of Pentacyclic Triterpenoids as Inhibitors of Cyclooxygenase and Lipoxygenase Enzyme / N.N.Q. Vo, Y. Nomura, T. Muranaka, E.O. Fukushima // *Journal of Natural Products*. — 2019. — V. 82. — № 12. — P. 3311-3320.
63. Villarreal-Vicente, C. Natural Products and Analogs as Preventive Agents for Metabolic Syndrome via Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: An Overview / C. Villarreal-Vicente, S. Gutiérrez-Palomo, J. Ferri, D. Cortes, N. Cabedo, N. // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2021. — V. 221. — Article 113535.
64. Yang, H. Targeting Apoptosis Pathway with Natural Terpenoids: Implications for Treatment of Breast and Prostate Cancer / H. Yang, Q.P. Dou // *Current Drug Targets*. — 2010. — V. 11. — № 6. — P. 733-744.
65. Rybalkina, E.Y. Triterpenoids with Modified A-Ring as Modulators of P-Gp-Dependent Drug-Resistance in Cancer Cells / E.Y. Rybalkina, N.I. Moiseeva, A.F. Karamysheva, D.V. Eroshenko, A.V. Konyshcheva, A.V. Nazarov, V.V. Grishko // *Chemico-Biological Interactions*. — 2021. — V. 348. — Article 109645.
66. Fulda, S. Betulinic Acid Triggers CD95 (APO-1/Fas)- and P53-Independent Apoptosis via Activation of Caspases in Neuroectodermal Tumors / S. Fulda, C. Friesen, M. Los, C. Scaffidi, W. Mier, M. Benedict, G. Nuñez, P.H. Kramer, M.E. Peter, K.-M. Debatin // *Cancer Research*. — 1997. — V. 57. — № 21. — P. 4956-4964.
67. Xu, Y. Oleanolic Acid Induces Osteosarcoma Cell Apoptosis by Inhibition of Notch Signaling / Y. Xu, B. Shu, Y. Tian, G. Wang, Y. Wang, J. Wang, Y. Dong // *Molecular Carcinogenesis*. — 2018. — V. 57. — № 7. — P. 896-902.

68. Krajcovicova, S. A Synthetic Approach for the Rapid Preparation of BODIPY Conjugates and Their Use in Imaging of Cellular Drug Uptake and Distribution / S. Krajcovicova, J. Stankova, P. Dzubak, M. Hajduch, M. Soral, M. Urban // *Chemistry — A European Journal*. — 2018. — V. 24. — № 19. — P. 4957-4966.
69. Brandes, B. Design, Synthesis and Cytotoxicity of BODIPY FL Labelled Triterpenoids / B. Brandes, S. Hoenke, L. Fischer, R. Csuk // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2020. — V. 185. — Article 111858.
70. Kodr, D. Betulinic Acid Decorated with Polar Groups and Blue Emitting BODIPY Dye: Synthesis, Cytotoxicity, Cell-Cycle Analysis and Anti-HIV Profiling / D. Kodr, J. Stanková, M. Rumlová, P. Džubák, J. Řehulka, T. Zimmermann, I. Křížová, S. Gurská, M. Hajdúch, P.B. Drašar, M. Jurášek // *Biomedicines*. — 2021. — V. 9. — № 9. — Article 1104.
71. Whitmore, F.C. The Common Basis of Intramolecular Rearrangements. IV.1 A Correction: The Benzilic Acid Rearrangement / F.C. Whitmore // *Journal of the American Chemical Society*. — 1938. — V. 60. — № 8. — P. 2002-2003.
72. Thomas, C.L. Chemistry of Cracking Catalysts / C.L. Thomas // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. — 1949. — V. 41. — № 11. — P. 2564-2573.
73. Meerwein, H. Unter-Suchungen in Der Camphen-Reihe, I.: Über Den Reaktionsmechanismus Der Isoborneol \rightleftharpoons Camphen-Umlagerung / H. Meerwein, K. van Emster // *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*. — 1920. — V. 53. — № 9. — P. 1815-1829.
74. Племенков, В.В. Химия изопреноидов. Глава 5. Монотерпены / В.В. Племенков // *Химия растительного сырья*. — 2006. — № 3. — С. 55-72.
75. Roberts, J.D. Mechanisms of Racemization of Camphene-8-C141 / J.D. Roberts, J.A. Yancey // *Journal of the American Chemical Society*. — 1953. — V. 75. — № 13. — P. 3165-3168.
76. Агабеков, В.Е. Каталитическая изомеризация α -пинена / В.Е. Агабеков, Г.М. Сеньков // *Катализ в промышленности*. — 2007. — № 4. — С. 38-43.

77. Kharasch, M.S. Rearrangements in The Terpene Series. I. Isomerization and Esterification Of A-Pinene / M.S. Kharasch, W.B. Reynolds // *The Journal of Organic Chemistry*. — 1944. — V. 9. — № 2. — P. 148-154.
78. Рудаков, Г.А. О механизме гетерогенной каталитической изомеризации углеводов на кислых катализаторах. II. Механизм образования терпинолена и терпиненов при каталитической изомеризации пинена и лимонена на титановой кислоте / Г.А. Рудаков, М.М. Шестаева, А.Г. Марчевский, З.С. Хоменко // *Журнал органической химии*. — 1954. — Т. 24. — С.1452.
79. Бардышев, И.И. Превращение α -пинена под действием водных растворов серной кислоты / И.И. Бардышев, А.И. Седельников, Т.С. Тихонова // *Известия АН СССР*. — Серия химических наук. — 1975. — № 1. — С. 66-70.
80. Croteau, R. Biosynthesis and Catabolism of Monoterpenoids / R. Croteau // *Chem. Rev.* — 1987. — V. 87. — № 5. — P. 929-954.
81. Племенков, В.В. Введение в химию природных соединений: учебное пособие / В.В. Племенков. — Казань, 2001. — 376 с.
82. Zielińska-Błajet, M. Monoterpenes and Their Derivatives — Recent Development in Biological and Medical Applications / M. Zielińska-Błajet, J. Feder-Kubis // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2020. — V. 21. — № 19. — Article 7078.
83. Yannick Stéphane, F.F. Terpenoids as Important Bioactive Constituents of Essential Oils [Электронный ресурс] / F.F. Yannick Stéphane, B.K. Jean Jules // *In Essential Oils — Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*. — IntechOpen. — 2020. — Режим доступа: <https://doi.org/10.5772/intechopen.91426>.
84. Ninkuu, V. Biochemistry of Terpenes and Recent Advances in Plant Protection / V. Ninkuu, L. Zhang, J. Yan, Z. Fu, T. Yang, H. Zeng // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2021. — V. 22. — № 11. — Article 5710.
85. Masyita, A. Terpenes and Terpenoids as Main Bioactive Compounds of Essential Oils, Their Roles in Human Health and Potential Application as Natural Food Preservatives / A. Masyita, R. Mustika Sari, A. Dwi Astuti, B. Yasir, N. Rahma Rumata, T.B. Emran, F. Nainu, J. Simal-Gandara // *Food Chemistry: X*. — 2022. — V. 13. — Article 100217.

86. Belsito, D. A Toxicologic and Dermatologic Assessment of Cyclic and Non-Cyclic Terpene Alcohols When Used as Fragrance Ingredients / D. Belsito, D. Bickers, M. Bruze, P. Calow, H. Greim, J.M. Hanifin, A.E. Rogers, J.H. Saurat, I.G. Sipes, H. Tagami // *Food and Chemical Toxicology*. — 2008. — V. 46. — P. S1-S71.
87. Kiesgen de Richter, R. The (+)- and (-)-[2-(1,3-Dithianyl)]Myrtanylborane. Solid and Stable Monoalkylboranes for Asymmetric Hydroboration / R. Kiesgen de Richter, M. Bonato, M. Follet, J.M. Kamenka // *The Journal of Organic Chemistry*. — 1990. — V. 55. — № 9. — P. 2855-2860.
88. Liu, H.-X. Isolation and Synthesis of Two Hydroxychavicol Heterodimers from Piper Nudibaccatum / H.-X. Liu, H.-B. Tan, M.-T. He, L. Li, Y.-H. Wang, C.-L. Long // *Tetrahedron*. — 2015. — V. 71. — № 16. — P. 2369-2375.
89. Frolova, L.L. Synthesis and Antifungal Activity of Pinane Alcohols and Acids / L.L. Frolova, A.V. Popov, E.U. Ipatova, L.E. Nikitina, S.A. Lisovskaya, I.R. Gilfanov, A.V. Kutchin // *Chemistry of Natural Compounds*. — 2024. — V. 60. — № 5. — P. 835-842.
90. Mihelich, E.D. A One-Pot Conversion of Olefins to α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds. An Easy Synthesis of 2-Cyclopentenone and Related Compounds / E.D. Mihelich, D.J. Eickhoff // *Journal of Organic Chemistry*. — 1983. — V. 48. — P. 4135-4137.
91. Coxon, J.M. The Synthesis of Some 2,10-Epoxy-pinanes / J.M. Coxon, E. Dansted, M.P. Hartshorn, K.E. Richards // *Tetrahedron*. — 1968. — V. 24. — № 3. — P. 1193-1197.
92. Schmidt, H. Zur Raumisomerie in Der Pinanreihe, VII. 1-Hydroxy-Pinocamphon Und Die Beiden Diastereomeren α -Pinenglykole / H. Schmidt // *Chemische Berichte*. — 1960. — V. 93. — № 11. — P. 2485-2490.
93. Cooper, M.A. Stereochemistry of the Verbenols / M.A. Cooper, J.R. Salmon, D. Whittaker, U. Scheidegger // *Journal of the Chemical Society B: Physical Organic*. — 1967. — № 0. — 1259-1261.

94. Mori, K. Synthesis of Optically Pure (1S,4S,5S)-2-Pinen-4-Ol (Cis-Verbenol) and Its Antipode, the Pheromone of Ips Bark Beetles / K. Mori, N. Mizumachi, M. Matsui // *Agricultural and Biological Chemistry*. — 1976. — V. 40. — № 8. — P. 1611-1615.
95. Reece, C.A. Synthesis of the Principal Components of the Sex Attractant from Male Ips Confusus Frass: 2-Methyl-6-Methylene-7-Octen-4-Ol, 2-Methyl-6-Methylene-2,7-Octadien-4-Ol, and (+)-Cis-Verbenol / C.A. Reece, J.O. Rodin, R.G. Brownlee, W.G. Duncan, R.M. Silverstein // *Tetrahedron*. — 1968. — V. 24. — № 11. — P. 4249-4256.
96. Frolova, L.L. Favorable Effect of Ce(III) on the Stereoselectivity of Reduction of Verbenone to Cis-Verbenol / L.L. Frolova, I.V. Dreval, M.V. Panteleeva, E.U. Ipatova, I.N. Alekseev, A.V. Kutchin // *Russian Chemical Bulletin*. — 2003. — V. 52. — № 2. — P. 498-501.
97. Regan, A.F. The Preparation and Stereochemistry of the Verbanols and Verbanones / Regan, A.F // *Tetrahedron*. — 1969. — V. 25. — № 17. — P. 3801-3805.
98. Brown, H.C. Hydroboration. V. A Study of Convenient New Preparative Procedures for the Hydroboration of Olefins / H.C. Brown, K.J. Murray, L.J. Murray, J.A. Snover, G. Zweifel // *Journal of the American Chemical Society*. — 1960. — V. 82. — № 16. — P. 4233-4241.
99. Carlson, R.G. Synthesis and Stereochemistry of the Four Isomeric Pinane-2,3-Diols / R.G. Carlson, J.K. Pierce // *The Journal of Organic Chemistry*. — 1971. — V. 36. — № 16. — P. 2319-2324.
100. Nikitina, L.E. Biological Activity of Bicyclic Monoterpene Alcohols / L.E. Nikitina, S.A. Lisovskaya, V.A. Startseva, L.L. Frolova, A.V. Kutchin, O.G. Shevchenko, O.V. Ostolopovskaya, R.S. Pavelyev, M.A. Khelkhal, I.R. Gilfanov, I.V. Fedyunina, R.R. Khaliullin, R.F. Akhverdiev, A.V. Gerasimov, E.V. Abzaldinova, A.G. Izmailov // *BioNanoScience*. — 2021. — V. 11. — № 4. — P. 970-976.
101. Nikitina, L.E. Development of Novel Effective Agents Against Candida Albicans Biofilms / L.E. Nikitina, S.A. Lisovskaya, V.A. Startseva, R.S. Pavelyev, I.R. Gilfanov, I.V. Fedyunina, O.V. Ostolopovskaya, R.F. Akhverdiev // *BioNanoScience*. — 2019. — V. 9. — № 3. — P. 539-544.

102. Nikitina, L.E. Thioterpenoids of the Bornane Series with Potent Activity Against Opportunistic Micromycetes / L.E. Nikitina, S.A. Lisovskaya, I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, O.V. Ostolopovskaya, I.V. Fedyunina, S.V. Kiselev, Z.R. Azizova, S.V. Pestova, E.S. Izmet'ev, S.A. Rubtsova, R.F. Akhverdiev, A.V. Gerasimov, E.A. Sarbazyan, O.T. Shipina, S.V. Boichuk, A.G. Izmailov // *BioNanoScience*. — 2023. — V. 13. — № 1. — P. 26-35.

103. Nikitina, L.E. Structural Details on the Interaction of Biologically Active Sulfur-Containing Monoterpenoids with Lipid Membranes / L.E. Nikitina, R.S. Pavelyev, V.A. Startseva, S.V. Kiselev, L.F. Galiullina, O.V. Aganova, A.F. Timerova, S.V. Boichuk, Z.R. Azizova, V.V. Klochkov, D. Huster, I.A. Khodov, H.A. Scheidt // *Journal of Molecular Liquids*. — 2020. — V. 301. — Article 112366.

104. Ksenofontov, A.A. Thioterpenoids as Potential Antithrombotic Drugs: Molecular Docking, Antiaggregant, Anticoagulant and Antioxidant Activities / A.A. Ksenofontov, P.S. Bocharov, E.V. Antina, O.G. Shevchenko, A.V. Samorodov, I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, O.V. Ostolopovskaya, V.A. Startseva, I.V. Fedyunina, Z.R. Azizova, S.I. Gaysin, S. V. Pestova, E.S. Izmet'ev, S.A. Rubtsova, M.A. Khelkhal, L.E. Nikitina // *Biomolecules*. — 2022. — V. 12. — № 11. — Article 599.

105. Nikitina, L.E. Unraveling the Mechanism of Platelet Aggregation Suppression by Thioterpenoids: Molecular Docking and In Vivo Antiaggregant Activity / L.E. Nikitina, P.S. Bocharov, A.A. Ksenofontov, E.V. Antina, I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, O.V. Ostolopovskaya, I.V. Fedyunina, Z.R. Azizova, S.V. Pestova, E.S. Izmet'ev, S.A. Rubtsova, S.V. Boichuk, A.R. Galembikova, E.A. Smolyarchuk, I.G. Mustafin, A.R. Kayumov, A.V. Samorodov // *Biomimetics*. — 2023. — V. 8. — № 8. — Article 570.

106. НИКИТИНА, Л.Е. Новые аспекты использования биологически активных тиотерпеноидов пинанового ряда / Л.Е. Никитина, С.В. Киселев, В.А. Старцева, О.А. Лодочникова, А.А. Рахматуллина, И.В. Федюнина, И.Р. Гильфанов // *Известия Академии наук. Серия химическая*. — 2019. — № 5. — С. 1031-1035.

107. Gerasimova, D.P. Formation of A Symmetric Secondary Packing Motif as The Reason of The Crystallization of Enantiopure Menthanyl Sulfone with Two Independent Molecules / D.P. Gerasimova, I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, L.E. Nikitina, O.A.

Lodochnikova // Journal of Structural Chemistry. — 2023. — V. 64. — № 1. — P. 69-81.

108. Патент №049920 В1 Евразийское патентное ведомство, МПК А61К 31/10, А61Р 31/10, А61Р 7/02, С07С 323/13 Средство для лечения грибковых воспалительных заболеваний кожи и ее придатков или для лечения тромбозов и способ его получения : №202391140 : заяв. 05.12.2023 : опубл. 22.05.2025. / Л.Е. Никитина, С.А. Лисовская, Р.С. Павельев, О.В. Остолоповская, И.Р. Гильфанов, О.Г. Шевченко, Е.С. Измest'ев, С.В. Пестова, С.А. Рубцова, А.В. Самородов, И.В. Акулина, И.В. Федюнина, А.Р. Каюмов; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук»; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. — С. 14.

109. Никитина, Л.Е. Каталитическое электрофильное присоединение меркаптопроизводных к камфену / Л.Е. Никитина, О.А. Шкуро, В.В. Племенков // Журнал органической химии. — 1993. — Т. 29. — С. 1794-1797.

110. Pestova, S.V. Synthesis and Membrane Protective Activity of Bis-Sulfides Derived from Monoterpenoids and Monosaccharides / S.V. Pestova, E.S. Izmet'ev, O.G. Shevchenko, S.A. Rubtsova, A.V. Kuchin // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. — 2017. — V. 43. — № 3. — P. 302-310.

111. Lodochnikova, O.A. Isobornanyl Sulfoxides and Isobornanyl Sulfone: Physicochemical Characteristics and the Features of Crystal Structure / O.A. Lodochnikova, D.R. Islamov, D.P. Gerasimova, D.V. Zakharychev, A.F. Saifina, S.V. Pestova, E.S. Izmet'ev, S.A. Rubtsova, R.S. Pavelyev, I.Z. Rakhmatullin, V.V. Klochkov, O.V. Ostolopovskaya, L.E. Nikitina, P. Rollin // Journal of Molecular Structure. — 2021. — V. 1239. — Article 130491.

112. Blanco, J.M. Synthesis of Chiral Sulfinic Acids: Sodium(1S-Exo)-2-Bornanesulfinate / J.M. Blanco, O. Caamaño; A. Eirín; F. Fernández, L. Medina // Synthesis. — 2002. — V. 1990. — № 7. — P. 584-586.

113. Nikitina, L. E. Reaction of β -Pinene and Thiols in the Presence of Lewis Acids / L.E. Nikitina, V.A. Startseva, S.A. Dieva, I.A. Vakulenko, G.A. Shamov // *Chemistry of Natural Compounds*. — 2006. — V. 42. — № 2. — P. 178-181.
114. Vakulenko, I.A. Synthesis of Pinenylsulfides from *cis*-Verbenol / I.A. Vakulenko, V.A. Startseva, L.E. Nikitina, N.P. Artemova, L.L. Frolova, A.V. Kuchin // *Chemistry of Natural Compounds*. — 2005. — V. 41. — P. 686-688.
115. Appel, R. Tertiary Phosphane/Tetrachloromethane, a Versatile Reagent for Chlorination, Dehydration, and P–N Linkage. *Angewandte Chemie International Edition in English*. — 1975. — V. 14. — № 12. — P. 801-811.
116. Baguley, A.P. Reductive Free-Radical Alkylations and Cyclisations Mediated by 1-Alkylcyclohexa-2,5-Diene-1-Carboxylic Acids / A.P. Baguley, C.J. Walton // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. — 1998. — № 13. — P. 2073-2082.
117. Nikitina, L.E. Unraveling the Mechanism of Platelet Aggregation Suppression by Monoterpenoids / L.E. Nikitina, R.S. Pavelyev, I.R. Gilfanov, S.V. Kiselev, Z.R. Azizova, A.A. Ksenofontov, P.S. Bocharov, E.V. Antina, V.V. Klochkov, A.F. Timerova, I.Z. Rakhmatullin, O.V. Ostolopovskaya, M.A. Khelkhal, S.V. Boichuk, A.R. Galembikova, N.S. Andriutsa, L.L. Frolova, A.V. Kutchin, A.R. Kayumov // *Bioengineering*. — 2022. — V. 9. — № 1. — Article 24.
118. Гильфанов, И.Р. Синтез производных миртенола с фрагментами окси-, амино- и меркаптоэтанола и их противогрибковая активность / И.Р. Гильфанов, Р.С. Павельев, Л.Е. Никитина, С.А. Лисовская, В.А. Старцева, И.В. Федюнина, О.В. Остолоповская, Е.М. Колесникова, Ф.С. Шарифуллин, Р.Ф. Ахвердиев, А.В. Герасимов, Е.А. Сарбазян, А.В. Толмачева, А.Ю. Шарифуллина // *Вестник технологического университета*. — 2023. — Т. 26. — № 11. — С. 160-164.
119. Lee, S.-G. α -Pinene and Myrtenol: Complete ^1H NMR Assignment / S.-G. Lee // *Magnetic Resonance in Chemistry*. — 2002. — V. 40. — № 4. — P. 311-312.
120. Kim, K.-Y. Complete Assignment of ^1H and ^{13}C NMR Spectra of *Trans*- and *Cis*-Myrtanol / K.-Y. Kim, S.-G. Lee // *Magnetic Resonance in Chemistry*. — 1997. — V. 35. — № 7. — P. 451-454.

121. Киселев, С.В. Гемокоагуляционная активность серусодержащих терпеноидов пинанового ряда / С.В. Киселев, Л.Е. Никитина, В.А. Старцева, Н.П. Артемова, А.В. Бодров, С.В. Бойчук, М.М. Воронцова, А.А. Рахматуллина, Р.Г. Тураев, В.В. Ключков // Химико-фармацевтический журнал. — 2014. — Т. 51. — № 5. — С. 17-21.

122. Antina, L.A. The Influence of Alkylation on the Photophysical Properties of BODIPYs and Their Labeling in Blood Plasma Proteins / L.A. Antina, A.A. Ksenofontov, A.A. Kalyagin, P.S. Vocharov, N.V. Kharitonova, A.V. Kazak, E.V. Antina, M.B. Berezin // Journal of Molecular Liquids. — 2020. — V. 304. — Article 112717.

123. Kritskaya, A.Y. Synthesis and Photochemical Properties of 2,3;5,6-Bis(Cyclohexano)-BODIPY / A.Y. Kritskaya, N.A. Bumagina, E.V. Antina, A.A. Ksenofontov, M.B. Berezin, A.S. Semeikin // Journal of Fluorescence. — 2018. — V. 28. — № 1. — P. 393-407.

124. Nuraneeva, E.N. Influence of Structural Factors and Medium Properties on the Fluorescence of Alkyl and Halogen Substituted Zinc(II) Dipyrromethenates / E.N. Nuraneeva, G.B. Guseva, E.V. Antina, A.I. V'yugin // Journal of Molecular Liquids. — 2020. — V. 298. — Article 112026.

125. Neises, B. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids / B. Neises, W. Steglich // Angewandte Chemie International Edition in English. — 1978. — V. 17. — № 7. — P. 522-524.

126. Гильфанов, И.Р. Синтез конъюгатов с люминофорами BODIPY / И.Р. Гильфанов, Р.С. Павельев, Л.Е. Никитина, Е.М. Колесникова, Д.П. Герасимова, Л.В. Французова, О.Т. Шипина, А.А. Александров, Е.А. Сарбазян, А.В. Герасимов // Вестник технологического университета. — 2024. — Т. 27. — № 9. — С. 23-27.

127. Hermanson, G.T. Chapter 4 — Zero-Length Crosslinkers / G.T. Hermanson // Bioconjugate Techniques (Third Edition). — Academic Press: Boston, 2013. — P. 259-273.

128. Carpino, L.A. 1-Hydroxy-7-Azabenzotriazole. An Efficient Peptide Coupling Additive / Journal of the American Chemical Society. — 1993. — V. 115. — № 10. — P. 4397-4398.

129. Guseva, G.B. Design, Spectral Characteristics, and Possibilities for Practical Application of BODIPY FL-Labeled Monoterpenoid / G.B. Guseva, E.V. Antina, M.B. Berezin, R.S. Pavelyev, A.R. Kayumov, O.V. Ostolopovskaya, I.R. Gilfanov, L.L. Frolova, A.V. Kutchin, R.F. Akhverdiev, S.A. Lisovskaya, E.Y. Trizna, O.A. Lodochnikova, D.R. Islamov, S.V. Efimov, V.V. Klochkov, I.A. Khodov, S.V. Boichuk, L.E. Nikitina // *ACS Applied Bio Materials Journal*. — 2021. — V. 4. — № 8. — P. 6227-6235.

130. Lodochnikova, O.A. When Two Symmetrically Independent Molecules Must Be Different: «Crystallization-Induced Diastereomerization» of Chiral Pinanyl Sulfone / O.A. Lodochnikova, V.A. Startseva, L.E. Nikitina, A.V. Bodrov, A.E. Klimovitskii, E.N. Klimovitskii, I.A. Litvinov // *CrystEngComm*. — 2014. — V. 16. — № 20. — P. 4314-4321.

131. Frantsuzova, L.V. Pseudo-Symmetric Crystallization of Fluoroquinolone Derivatives with a Terpene Moiety / L.V. Frantsuzova, D.P. Gerasimova, I.R. Gilfanov, D.V. Sudarikov, L.E. Nikitina, O.A. Lodochnikova // *Journal of Structural Chemistry*. — 2024. — V. 65. — № 3. — P. 546-560.

132. Guseva, G.B. Conjugate of Meso-Carboxysubstituted-BODIPY with Thioterpenoid as an Effective Fluorescent Probe: Synthesis, Structure, Spectral Characteristics, and Molecular Docking / G.B. Guseva, E.V. Antina, M.B. Berezin, A.A. Ksenofontov, P.S. Bocharov, A.S. Smirnova, R.S. Pavelyev, I.R. Gilfanov, S.V. Pestova, E.S. Izmet'sev, S.A. Rubtsova, A.R. Kayumov, S.V. Kiselev, Z.R. Azizova, O.V. Ostolopovskaya, S.V. Efimov, V.V. Klochkov, I.A. Khodov, L.E. Nikitina // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. — 2022. — V. 268. — Article 120638.

133. Guseva, G.B. Design, Spectral Characteristics, Photostability, and Possibilities for Practical Application of BODIPY FL-Labeled Thioterpenoid / G.B. Guseva, E.V. Antina, M.B. Berezin, A.S. Smirnova, R.S. Pavelyev, I.R. Gilfanov, O.G. Shevchenko, S.V. Pestova, E.S. Izmet'sev, S.A. Rubtsova, O.V. Ostolopovskaya, S.V. Efimov, V.V. Klochkov, I.Z. Rakhmatullin, A.F. Timerova, I.A. Khodov, O.A. Lodochnikova, D.R.

Islamov, P.V. Dorovatovskii, L.E. Nikitina, S.V. Boichuk // *Bioengineering*. — 2022. — V. 9. — № 5. — Article 210.

134. Mahmoud, R.Y. Increasing the Efficacy of Treatment of Staphylococcus Aureus – Candida Albicans Mixed Infections with Myrtenol / R.Y. Mahmoud, E.Y. Trizna, R.K. Sulaiman, R.S. Pavelyev, I.R. Gilfanov, S.A. Lisovskaya, O.V. Ostolopovskaya, L.L. Frolova, A.V. Kutchin, G.B. Guseva, E.V. Antina, M.B. Berezin, L.E. Nikitina, A.R. Kayumov // *Antibiotics*. — 2022. — V. 11. — № 12. — Article 1743.

135. Carpino, L.A. The Uronium/Guanidinium Peptide Coupling Reagents: Finally the True Uronium Salts / L.A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F.J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B.M. Foxman, P. Henklein, C. Hanay, C. Mügge, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyermann, M. Bienert // *Angewandte Chemie International Edition*. — 2002. — V. 41. — № 3. — P. 441–445.

136. Guseva, G.B. BODIPY Conjugates with Monoterpenoids for Photodynamic Diagnostics and Therapy: Design, Spectral Properties, Photostability and Antifungal Activity / G.B. Guseva, Y.V. Eremeeva, E.Y. Belyakova, S.A. Lisovskaya, I.R. Gilfanov, L.E. Nikitina, E.V. Antina // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. — 2025. — V. 470. — Article 116611.

137. Murakami, T. One-Pot Synthesis of Aryl Sulfones from Alcohols / T. Murakami, F. Kiyotaka // *Synthesis*. — 2004. — V. 2002. — № 4. — P. 479-482.

138. Gilfanov, I.R. N-(((1S,5R)-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]Hept-2-En-2-Yl)Methyl)-3-(((1R,5S)-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]Hept-2-Ene/Ane-2-Carboxamido)-N,N-Dimethylpropan-1-Aminium Bromide / I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, L.E. Nikitina, L.L. Frolova, A.V. Popov, I.Z. Rakhmatullin, V.V. Klochkov, S.A. Lisovskaya, E.Y. Trizna, D.Y. Grishaev, A.R. Kayumov // *Molbank*. — 2023. — V. 2023. — № 1. — Article M1592.

139. Фролова, Л.Л. Синтез и противогрибковая активность производных миртан(ен)овых кислот / Л.Л. Фролова, И.Р. Гильфанов, С.А. Лисовская, Л.Е. Никитина // Тезисы докладов XII Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых «Химия и технология растительных веществ». — Киров. — 29 ноября – 02 декабря 2022 г. — С. 221.

140. Nikitina, L.E. N-(((1S,5R)-6,6-Dimethylbicyclo[3.1.1]Hept-2-En-2-Yl)Methyl)-3-Dodecan/Tetradecanamido-N,N-Dimethylpropan-1-Aminium Bromide / L.E. Nikitina, I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, S.A. Lisovskaya, E.Y. Trizna, I.Z. Rakhmatullin, V.V. Klochkov, R.R. Davletshin, O.B. Babaeva, A.I. Kolesnikova, O.V. Ostolopovskaya, L.L. Frolova, A.R. Kayumov // *Molbank*. — 2023. — V. 2023. — № 3. — Article M1704.

141. Guseva, G.B. Novel BODIPY Conjugates with Myrtenol: Design, Spectral Characteristics, and Possibilities for Practical Application / G.B. Guseva, E.V. Antina, M.B. Berezin, L.E. Nikitina, I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, S.A. Lisovskaya, L.L. Frolova, O.V. Ostolopovskaya, I.Z. Rakhmatullin, V.V. Klochkov, E.Y. Trizna, A.R. Kayumov // *Inorganics*. — 2023. — V. 11. — № 6. — Article 241.

142. Патент №2818914 С1 Российская Федерация, МПК С07С 233/36, С07С 323/41, А61Р 31/02 Четвертичные аммониевые соединения на основе терпенов, обладающие противомикробной активностью : №2023131984 : заявл. 05.12.2023 : опубл. 07.05.2024. / Л.Е. НИКИТИНА, Р.С. ПАВЕЛЬЕВ, И.Р. ГИЛЬФАНОВ, С.А. ЛИСОВСКАЯ, А.Р. КАЮМОВ, Е.Ю. ТРИЗНА, О.В. ОСТОЛОПОВСКАЯ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет». — С. 19.

143. Guseva, G.B. A Novel Terpene-BODIPY Conjugates Based Fluorescent Probes: Synthesis, Spectral Properties, Stability, Penetration Efficiency into Bacterial, Fungal and Mammalian Cells / G.B. Guseva, Y.V. Ereemeeva, A.A. Ksenofontov, E.V. Antina, I.R. Gilfanov, S.A. Lisovskaya, E.Y. Trizna, A.R. Kayumov, O.B. Babaeva, S.V. Boichuk, P.D. Dunaev, V.V. Klochkov, I.Z. Rakhmatullin, L.E. Nikitina // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. — 2025. — V. 327. — Article 125387.

144. Gomes, B.S. Anti-Inflammatory Effect of the Monoterpene Myrtenol Is Dependent on the Direct Modulation of Neutrophil Migration and Oxidative Stress / B.S. Gomes, B.P.S. Neto, E.M. Lopes, F.V.M. Cunha, A.R. Araújo, C.W.S. Wanderley, D.V.T. Wong, R.C.P.L. Júnior, R.A. Ribeiro, D.P. Sousa, J. Venes R. Medeiros, R.C.M. Oliveira, F.A. Oliveira // *Chemico-Biological Interactions*. — 2017. — V. 273. — P. 73-81.

145. Методические указания МУ 1.2.1105-02 «Общие вопросы. Гигиена, токсикология, санитарная оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств». — М., 2002.
146. Barrett, J. C. Mechanisms of multistep carcinogenesis and carcinogen risk assessment / J. C. Barrett // *Environ. Health Perspect.* — 1993. — V. 100. — P. 9-20.
147. Guseva, G.B. Effect of Meso-Substituents and Medium Properties on the Photo- and pH-Stability, Penetration Efficiency into Bacterial and Microscopic Fungi Cells of Terpene-BODIPY Conjugates / G.B. Guseva, Y.V. Eremeeva, E.V. Antina, I.R. Gilfanov, S.A. Lisovskaya, O.V. Ostolopovskaya, E.Y. Trizna, A.R. Kayumov, L.E. Nikitina // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* — 2024. — V. 308. — Article 123701.
148. Lisovskaya, S.A. The Repression of the Candida Albicans Growth and Pseudomycelium Formation by Thiomonoterpenoid / S.A. Lisovskaya, A.A. Ksenofontov, P.S. Bocharov, E.V. Antina, G.B. Guseva, M.B. Berezin, I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, M.O. Sabantsev, O.V. Ostolopovskaya, E.Y. Trizna, S.V. Pestova, E.S. Izmet'sev, S.A. Rubtsova, A.G. Izmailov, A.A. Rizvanov, L.E. Nikitina, A.R. Kayumov, A. R. // *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents.* — 2024. — V. 38. — № 5. — P. 3685-3698.
149. Nikitina, L. E. Unraveling the Mechanism of Platelet Aggregation Suppression by Thioterpenoids: Molecular Docking and In Vivo Antiaggregant Activity / L.E. Nikitina, P.S. Bocharov, A.A. Ksenofontov, E.V. Antina, I.R. Gilfanov, R.S. Pavelyev, O.V. Ostolopovskaya, I.V. Fedyunina, Z.R. Azizova, S.V. Pestova, E.S. Izmet'sev, S.A. Rubtsova, S.V. Boichuk, A.R. Galembikova, E.A. Smolyarchuk, I.G. Mustafin, A.R. Kayumov, A.V. Samorodov // *Biomimetics.* — 2023. — V. 8. — № 8. — Article 570.
150. Falanga, A. Membranotropic Cell Penetrating Peptides: The Outstanding Journey / A. Falanga, M. Galdiero, S. Galdiero // *International Journal of Molecular Sciences.* — 2015. — V. 16. — № 10. — P. 25323-25337.
151. Galdiero, S. gH625: A Milestone in Understanding the Many Roles of Membranotropic Peptides / S. Galdiero, A. Falanga, G. Morelli, M. Galdiero //

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Biomembranes. — 2015. — V. 1848. — № 1 (Part A). — P. 16-25.

152. Vitiello, G. Fusion of Raft-like Lipid Bilayers Operated by a Membrantropic Domain of the HSV-Type I Glycoprotein gH Occurs through a Cholesterol-Dependent Mechanism / G. Vitiello, A. Falanga, A. Petruk, A. Merlino, G. Fragneto, L. Paduano, S. Galdiero, G. D'Errico // *Soft Matter*. — 2015. — V. 11. — P. 3003-3016.

153. Belosludtsev, K. N. Comparative Study of Cytotoxic and Membrantropic Properties of Betulinic Acid-F16 Conjugate on Breast Adenocarcinoma Cells (MCF-7) and Primary Human Fibroblasts / K.N. Belosludtsev, A.I. Ilzorkina, N.V. Belosludtseva, V.A. Sharapov, N.V. Penkov, D.A. Serov, M.N. Karagyaur, D.A. Nedopekina, E.V. Davletshin, M.E. Solovieva, A.Y. Spivak, U.Sh. Kuzmina, Y.V. Vakhitova, V.S. Akatov, M.V. Dubinin // *Biomedicines*. — 2022. — V. 10. — № 11. — Article 2903.

154. Изместьев, Е.С. Синтез и мембранопротекторные свойства сульфанилиминов на основе неоментантиола и изоборнантиола / Е.С. Изместьев, Д.В. Сударикова, О.Г. Шевченко, С.А. Рубцова, А.В. Кучин // *Биоорганическая химия*. — 2015. — Т. 41. — № 1. — С. 90-96.

155. Пестова, С.В. Синтез и мембранопротекторные свойства новых дисульфидов с монотерпеновыми и углеводными фрагментами / С.В. Пестова, Е.С. Изместьев, О.Г. Шевченко, С.А. Рубцова, А.В. Кучин // *Известия Академии наук. Серия химическая*. — 2015. — № 3. — С. 723-731.

156. Пестова, С.В. Синтез и мембранопротекторные свойства серосодержащих монотерпеноидов с моносахаридными фрагментами / С.В. Пестова, Е.С. Изместьев, О.Г. Шевченко, С.А. Рубцова, Кучин А.В. // *Вестник Российского фонда фундаментальных исследований*. — 2015. — Т. 1. — № 89. — С. 13-17.