



**HAL**  
open science

# Design and synthesis of novel Bodipy-based fluorimetric dual-mode chemosensors for heavy metal cations and (bio)analytes

Sergei Gorbatov

► **To cite this version:**

Sergei Gorbatov. Design and synthesis of novel Bodipy-based fluorimetric dual-mode chemosensors for heavy metal cations and (bio)analytes. Cristallography. Université Bourgogne Franche-Comté; Institut N.D. Zelinsky de chimie organique de l'academie des sciences de Russie., 2020. English. NNT: 2020UBFCK051 . tel-03162198

**HAL Id: tel-03162198**

**<https://theses.hal.science/tel-03162198>**

Submitted on 8 Mar 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**THÈSE DE DOCTORAT**  
**CONVENTION DE COTUTELLE INTERNATIONALE DE THÈSE ENTRE**  
**L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE FRANCHE-COMTÉ ET**  
**L'INSTITUT N. D. ZELINSKY DE CHIMIE ORGANIQUE DE L'ACADÉMIE**  
**DES SCIENCES DE RUSSIE (ZIOC RAS)**

École Doctorale n°553  
École Doctorale Carnot-Pasteur  
Doctorat de Chimie Organique

*présentée par*

**Sergei A. GORBATOV**

---

**Conception et synthèse de nouvelles sondes**  
**fluorogéniques à cœur Bodipy pour la détection "dual"**  
**de cations de métaux lourds et de (bio)analytes**

---

Soutenance le 16 décembre 2020 devant la commission d'examen :

|                |                             |                       |
|----------------|-----------------------------|-----------------------|
| AVERIN Alexei  | Directeur de Recherche      | Rapporteur            |
| ULRICH Gilles  | Directeur de Recherche CNRS | Rapporteur            |
| ENAKIEVA Julia | Directrice de Recherche     | Examineur             |
| BODIO Ewen     | Professeur (UBFC)           | Examineur             |
| ZAVARZIN Igor  | Directeur de Recherche      | Co-directeur de thèse |
| ROMIEU Anthony | Professeur (UBFC)           | Directeur de thèse    |

**THESE EN COTUTELLE ENTRE L'UNIVERSITE DE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE  
ET L'INSTITUT N. D. ZELINSKY DE CHIMIE ORGANIQUE DE L'ACADEMIE DES  
SCIENCES DE RUSSIE (ZIOC RAS)**

---

*Manuscrit certifié original*



**GORBATOV  
SERGEI ALEKSANDROVICH**

**Conception et synthèse de nouvelles sondes fluorogéniques à coeur Bodipy pour la  
détection "dual" de cations de métaux lourds et de (bio)analytes**

Doctorat de Chimie Organique

Ecole Doctorale Carnot-Pasteur (ED n°553)

**Résumé du manuscrit de thèse pour l'obtention du titre de docteur en chimie**

Dijon & Moscou - 2020

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire des Composés Stéroïdes (No. 22)  
de l'Institut N. D. Zelinski de Chimie Organique  
de l'Académie des Sciences de Russie (ZIOC RAS) et l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université  
de Bourgogne, Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France.

DIRECTEUR DE THESE:

**Igor Viktorovich Zavarzin**

Docteur en Sciences Chimiques, Responsable du  
Laboratoire des Composés Stéroïdes (No. 22) de  
l'Institut N. D. Zelinski de Chimie Organique de  
l'Académie des Sciences de Russie (ZIOC RAS)

CO-DIRECTEUR DE THESE:

**Anthony Romieu**

Professeur à l'Université de Bourgogne

RAPPORTEURS (POUR LA THESE DE LA  
FEDERATION DE RUSSIE) :

**Khidmed Safarovich Shikhaliev**

Docteur en Sciences Chimiques, Professeur au  
Département de Chimie Organique de  
l'Université d'Etat de Voronej (VSU)

**Oleg Arkadievich Raitman**

Docteur en Chimie, Directeur de Recherche au  
Laboratoire de Chimie Physique des Systèmes  
Supramoléculaires de l'Institut A. N. Frumkin de  
Chimie Physique et d'Electrochimie de  
l'Académie des Sciences de Russie (IPCE RAS)

ORGANISME DELIVRANT LE DIPLOME  
(POUR LA THESE DE LA FEDERATION DE  
RUSSIE) :

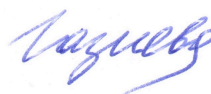
A. N. Nesmeyanov Institut des Composés  
Organiques de l'Académie des Sciences de Russie  
(INEOS RAS)

Date, heure et lieu de la soutenance : 16 Décembre 2020, à 12h30 à la salle des thèses D 002.222.01 au  
sein de l'Institut N. D. Zelinsky de Chimie Organique de l'Académie des Sciences de Russie, située au  
47 Leninsky prosp., 119991, Moscou.

Les exemplaires de la thèse seront disponibles à la bibliothèque de l'Institut N. D. Zelinsky de Chimie  
Organique de l'Académie des Sciences de Russie et sur le site <http://zioc.ru>.

Le résumé de la thèse a été envoyé le 27 Octobre 2020.

Envoyez votre rapport sur le manuscrit de thèse (en deux exemplaires), par courrier timbré, au Secrétariat  
Scientifique du Bureau des Thèses du ZIOC RAS, situé au 47 Leninsky prosp., 119991 Moscou.



**Pertinence du projet de recherche.** Le développement de nouvelles stratégies pour la conception de senseurs fluorescents ciblant des cations métalliques, des anions organiques ou inorganiques ou des molécules organiques est une problématique d'actualité et un champ de recherche interdisciplinaire faisant appel à des compétences et des travaux en chimie organique, chimie analytique, chimie de coordination, biologie et médecine. Les méthodes de détection fondée sur la mesure d'un signal de fluorescence sont attractives car elles présentent plusieurs avantages par rapport aux méthodes colorimétriques ou électrochimiques (*e.g.*, des limites de détection plus basses, une plus grande sélectivité et une fiabilité accrue des résultats de détection).

Les senseurs fluorescents de type "dual" conçus à partir de fluorophores organiques fonctionnalisés par deux unités de reconnaissance différentes, font l'objet d'une attention toute particulière depuis quelques années. En effet, l'interaction (et/ou éventuellement la réaction) simultanée et sélective d'une paire d'analytes avec de tels senseurs peut se traduire dans certains cas par une suppression totale du "quenching" et une augmentation spectaculaire de l'intensité de fluorescence (réponse fluorogénique de type "off-on"). Ces senseurs fluorescents de type "dual" agissent comme des portes logiques de type booléen. La possibilité de pouvoir détecter deux analytes différents en solution (*e.g.*, deux cations métalliques, un cation métallique et un anion ou une biomolécule, ...) font de ces sondes des outils prometteurs pour le suivi de processus biologiques complexes, le diagnostic de certaines pathologies multifactorielles, ...

Un nombre significatif de fluorophores et de motifs de reconnaissance (dans le cas des cations et des anions, on parle souvent de récepteurs) ont déjà été utilisés avec succès dans la conception de senseurs fluorescents de type "dual". Des dérivés de naphthalène et de quinoléine sont les fluorophores les plus populaires dans ce contexte, et des agents chélatants de type éther couronne sont fréquemment utilisés pour la reconnaissance des analytes ciblés.

Dans le même temps, les fluorophores à coeur 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacène (*BODIPY*) ont fait l'objet de moins d'attention pour ce type d'applications car leur synthèse est souvent plus complexe. Cependant, les *BODIPYs* présentent des caractéristiques spectrales intéressantes comme de bons coefficients d'extinction molaire dans certaines régions du spectre visible, des spectres d'émission de fluorescence caractérisés par des bandes relativement fines, de bons rendements quantiques et une stabilité (photo)chimique tout à fait satisfaisante.

Par ailleurs, le coeur *BODIPY* est une plateforme prometteuse pour le développement de senseurs de type "dual", car ses propriétés de fluorescence peuvent être aisément modulées par introduction de motifs de reconnaissance sur les positions 3 et 8. Ainsi, la synthèse de colorants de type *BODIPY* fonctionnalisés par deux récepteurs différents et l'étude de leur comportement photophysique devraient permettre de réaliser des avancées significatives dans le domaine des senseurs fluorescents de type "dual". Le choix des motifs de reconnaissance (en lien avec les analytes ciblés) a été réalisé en tenant compte des critères suivants : accessibilité synthétique, sélectivité et stabilité chimique.

**Objectifs du projet de recherche.** (1) La conception et la synthèse de senseurs fluorescents de type "dual" à coeur *BODIPY*, qui pourront permettre la détection en solution de deux cations métalliques différents. (2) L'exploration de sondes fluorescentes de type "dual", également à coeur *BODIPY*, pour la détection en solution d'un analyte réactif (anion hydrogénosulfure ( $\text{HS}^-$ ) ou une espèce réactive de l'oxygène) et d'un cation métallique.

**Nouveauté scientifique.** Un large éventail de colorants *BODIPY* fonctionnalisés par des motifs de reconnaissance de type éther couronne, sont déjà connus dans la littérature. Dans notre cas, l'introduction du groupement 2-((2-(2-acétoxyéthoxy)éthyl)amino)éthylacétate sur le substituant phényle de la position *meso* du coeur *BODIPY* a montré son efficacité pour la conception d'un senseur fluorescent de type "off-on", ciblant les cations  $\text{Al}^{3+}$ . La fonctionnalisation de cette même position par le motif 2,2'-bis(amino)éthan-1-ol a permis l'obtention d'un senseur fluorescent de type "off-on" sélectifs des cations  $\text{Cu}^{2+}$ . Il a également été démontré pour la première fois qu'un dérivé dipicolylamine de *BODIPY* pouvait être utilisé pour la détection sélective des cations  $\text{Zn}^{2+}$  en milieu aqueux, et pour la visualisation de la distribution de ce cation d'intérêt au sein de tissus végétaux. L'introduction combinée des deux motifs éther couronne et dipicolylamine ont permis la conception d'un senseur de type "dual" pour la détection simultanée des cations  $\text{Al}^{3+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$ . Nous avons également développé de nouvelles stratégies de synthèse afin d'accéder à des dérivés fluorogéniques de *BODIPY* réactifs vis-à-vis d'enzymes surexprimés au sein des tumeurs cancéreuses hypoxiques (*i.e.*, nitroréductases) ou de paires d'analytes incluant un nucléophile soufré ou une espèce réactive de l'oxygène et les cations  $\text{Hg}^{2+}$ . Parmi nos différentes réalisations, on peut mentionner un senseur fluorescent "off-on" de type "dual", conçu à partir d'un *BODIPY* bis-phénolique dont les deux groupements hydroxyle sont protégés par les motifs vinyle et 2,4-dinitrobenzènesulfonyle spécifiques de  $\text{Hg}^{2+}$  et  $\text{HS}^-$  respectivement.

**Importance théorique et pratique de ce travail.** Le rationnel entre la structure des senseurs de type *BODIPY* (ceux fonctionnalisés par des motifs chélatants) et leur sélectivité vis-à-vis d'un cation métallique donné a été établi à l'aide d'études photophysiques détaillées mettant en jeu la spectroscopie

d'absorption UV-visible et des mesures de fluorescence. Un certain nombre de validations analytiques ont également été réalisées avec les plateformes fluorogéniques dérivés des *BODIPYs* phénoliques. Des nouveaux senseurs fluorescents de type "off-on" ciblant un unique analyte (*i.e.*,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , and  $\text{SO}_3^{2-}$ ), fonctionnant à pH physiologique, ont également été proposés. Des résultats probants de détection "dual" ont été obtenus avec les senseurs permettant la détection simultanée des cations  $\text{Al}^{3+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  ou séquentielle de  $\text{Hg}^{2+}$  et  $\text{HS}^-$ .

**Contribution personnelle de l'auteur.** L'auteur a réalisé une analyse systématique des données de la littérature, il a réalisé les synthèses et caractérisé les produits issus de ces réactions à l'aide de différentes techniques (RMN, spectroscopie IR et spectrométrie de masse). Il a également interprété les données expérimentales, rédigé les parties expérimentales et les fichiers "Supporting Information" des publications et présenté ses résultats lors de différentes conférences.

**Fiabilité et validation des résultats de recherche.** Les résultats présentés peuvent être considérés comme fiables car les études expérimentales et les validations analytiques ont été réalisées sur des équipements et des instruments certifiés et validés pour fournir des données précises. Les structures des composés synthétisés lors de ce travail ont été confirmée par des analyses RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  et  $^{11}\text{B}$ , IR et de masse haute résolution. La composition des échantillons a été confirmée à l'aide d'analyses élémentaires. Les bases de données scientifiques (Reaxys (Elsevier), SciFinder (ACS) et Web of Science (Clarivate Analytics)), les publications et des ouvrages ont été quotidiennement utilisés pour réaliser l'ensemble de ces travaux et analyser/interpréter les résultats obtenus.

Les principaux résultats issus de ces travaux ont été présentés lors de congrès/conférences Russes ou Internationales: International Scientific Youth Forum "Lomonosov-2017", Innovations in Chemistry/Organic Chemistry (Moscou, Russie, 2017), Russian National School-Conference for Young Scientists "Advances in Synthesis and Complexing" (Moscou, Russie, 2017), International Conference "Organic & Hybrid Functional Materials and Additive Technologies" (Moscou, Russie, 2018), Winter School on Organic Chemistry WSOC-2019 (Moscou, Russie, 2019), 5<sup>th</sup> International Scientific Conference "Advances in Synthesis and Complexing" (Moscou, Russie, 2019), et 8<sup>th</sup> Youth Conference of ZIOC RAS (Moscou, Russie, 2019).

**Publications issues de ce travail de thèse.** Les principaux résultats issus de ces travaux de thèse ont fait l'objet de trois articles publiés dans des journaux à comité de lecture. Ces journaux font partie de la

liste établie par la Commission Supérieure d'Accréditation de la Fédération de Russie. Ces travaux ont également fait l'objet de huit présentations dans des conférences Russes et Internationales.

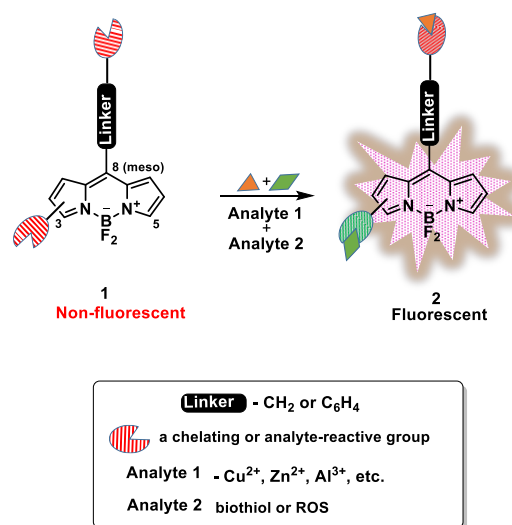
**Structuration du manuscrit.** Ce document est constitué d'une introduction dédiée aux portes logiques moléculaires à coeur *BODIPY*, puis d'une discussion des principaux résultats obtenus. On trouve ensuite la partie expérimentale, les conclusions et les listes des abréviations/acronymes et des références bibliographiques. Il s'agit d'un document de 185 pages qui inclue également 2 tableaux, 94 figures et 5 schémas. La section "Bibliographie" est constituée de 164 références.

**Remerciements.** Je souhaiterais exprimer ma sincère gratitude à ma co-encadrante de thèse le Dr. Yulia Alekseevna Volkova pour son encadrement, son aide quotidienne, ses précieux conseils et son soutien tout au long de la thèse. Je remercie également le Dr. Natalya Georgievna Kolotyrkina pour l'enregistrement des spectres de masse haute résolution, les Drs. Ilya Evgenievich Zlobin et Aleksei Mikhailovich Shcherbakov pour les expériences biologiques, Tatyana Andreevna Tikhonova pour l'enregistrement des spectres RMN et Mikhail Aleksandrovich Kozlov pour ses précieux conseils tout au long de la thèse. Enfin, je souhaiterais également remercier le Dr. Irina Vasilievna Vesela, responsable de l'Ecole Doctorale, pour son aide et ses conseils.



## Principaux résultats de ce travail de thèse

Le but de ce travail était de concevoir des senseurs de type "dual" à coeur *BODIPY*. La combinaison d'un fluorophore *BODIPY* et de deux motifs de reconnaissance (également appelés récepteurs) conduit à l'extinction de la fluorescence ("quenching" de fluorescence). L'interaction (et éventuellement la réaction) de ce type de sondes avec deux espèces différentes (analytes) que l'on souhaite détecter doit conduire à une suppression efficace de ce "quenching" et à une augmentation spectaculaire du signal de fluorescence (réponse fluorogénique de type "off-on"). Les analytes choisis pour valider ce concept ont été des cations métalliques, des espèces réactives (thiols biologiques et espèces réactives de l'oxygène (ROS)) et des enzymes.



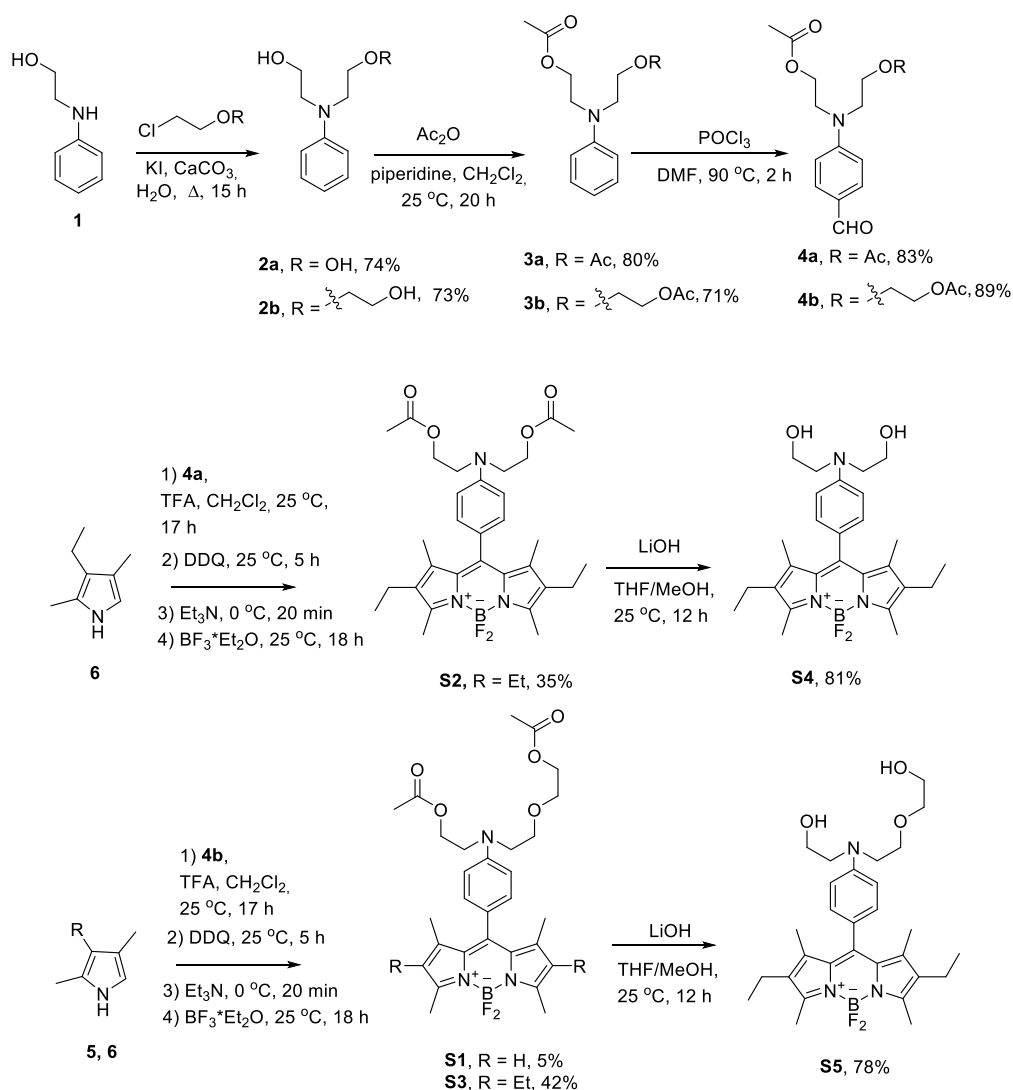
**Figure 1.** Principe des senseurs fluorescents de type "dual" à coeur *BODIPY*.

### 1. Développement de senseurs fluorescents pour la détection de cations de métaux lourds

#### 1.1. Développement d'un senseur de type "off-on" pour la détection des cations Al<sup>3+</sup>

Nous avons réalisé la synthèse multi-étapes des colorants *BODIPY* **S1-S5** fonctionnalisés sur leur position *meso* par des motifs de type éther couronne azoté (Schéma 1), et connus dans la littérature pour présenter une sélectivité vis-à-vis des cations Al<sup>3+</sup>.

Dans un premier temps, les benzaldéhydes substitués **4a** et **4b** ont été synthétisés et utilisés comme réactifs clés pour l'introduction sur la position *meso* des *BODIPYs* des motifs chélatants : [(2-(2-acétoxyéthoxy)éthyl)(2-acétoxyéthyl)]amino et bis(2-acétoxyéthyl)amino. Les diols **2a** et **2b** ont été préparés *via* une réaction de substitution S<sub>N</sub>2 entre la *N*-(2-hydroxyéthyl)aniline et le 2-(2-chloroéthoxy)éthanol. Les groupes protecteurs acétate (Ac) ont été introduits sur les extrémités alcool primaire des composés **2a** et **2b** par réaction avec l'anhydride acétique dans la pyridine. Finalement, la réaction de formylation de Vilsmeier-Haack mise en jeu sur les composés **3a** et **3b** a permis d'obtenir les aldéhydes **4a** et **4b** avec des rendements respectifs de 83% et 89%.

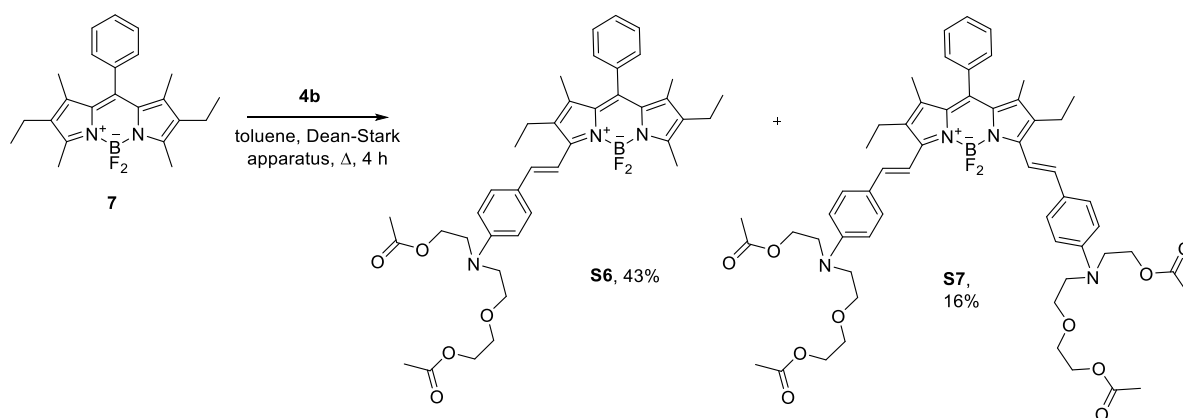


**Schéma 1.** Synthèse des composés **S1-S5**.

Les composés **S1-S3** ont été synthétisés selon un protocole de condensation "one-pot" des aldéhydes **4a** et **4b** avec les pyrroles **5** et **6** dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhydre, par traitement successif par l'acide trifluoroacétique (TFA), le 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ), la triéthylamine et le  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ . La saponification des groupements acétate des composés **S2** et **S3** a été réalisée en présence de LiOH et les *BODIPYs* **S4** et **S5** ont ainsi été obtenus avec des rendements de 81% et 78%.

Parallèlement, afin de pouvoir établir une relation structure-propriétés de chélation, nous avons également synthétisé les composés **S6** et **S7** pour lesquels le récepteur est introduit sur les positions 3 et 5 *via* des bras styryles (Schéma 2). En effet, en jouant sur la position du motif chélatant et la nature du "linker" permettant son accrochage au coeur *BODIPY*, on peut espérer moduler le mécanisme de "quenching" (PeT, ICT, ...) et ainsi obtenir des propriétés photophysiques et des sélectivités différentes pour les cations métalliques.

Ainsi, les dérivés mono-styryl **S6** et di-styryl **S7** ont été synthétisés *via* une réaction de Knoevenagel entre l'aldéhyde **4b** et le *BODIPY* **7**.



**Schéma 2.** Synthèse des composés **S6** et **S7**.

## 1.2. Etude des propriétés photophysiques des composés **S1**, **S3**, **S5**, **S6** et **S7** et leur capacité à détecter les cations $\text{Al}^{3+}$

Les propriétés photophysiques des composés **S1-S7** ont été évaluées dans l'acétonitrile (MeCN). Les résultats sont résumés dans le Tableau 1.

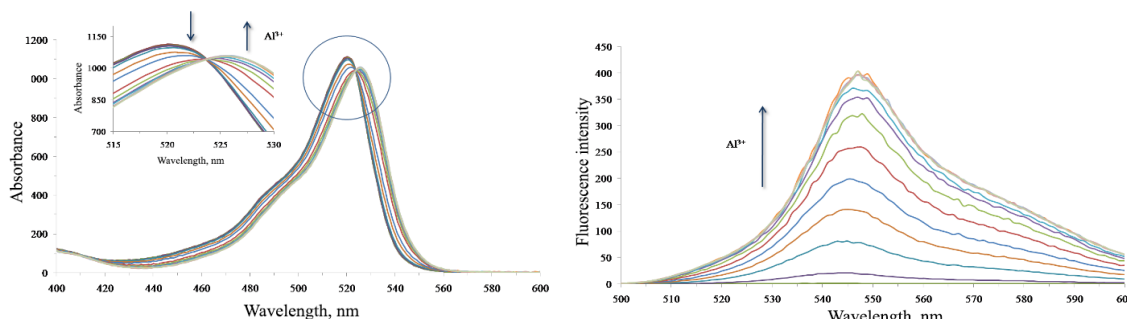
Les propriétés photophysiques des composés **S1**, **S3**, **S5**, **S6** et **S7** ont été étudiées en présence des cations métalliques. Il a été montré que **S1** et **S5** n'étaient pas efficaces pour détecter sélectivement les cations  $\text{Al}^{3+}$ . En effet, une réponse fluorogénique est observée en présence d'autres cations comme  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  et  $\text{Cr}^{3+}$ . A l'inverse, le composé **S3** apparaît comme le capteur le plus prometteur pour la détection de  $\text{Al}^{3+}$  en solution (Tableau 1). Les composés **S6** et **S7** conduisent à une exaltation de fluorescence plus modérée que celle observée avec **S3**.

**Tableau 1.** Propriétés photophysiques des composés **S1**, **S3**, **S5**, **S6** et **S7**.<sup>a,b</sup>

| Senseur   | $\lambda_{\text{abs}}$<br>[nm] | $\epsilon$ [ $\text{M}^{-1}$<br>$\text{cm}^{-1}$ ] | $\lambda_{\text{em}}$<br>[nm] | $\Phi$ <sup>[b]</sup><br>[%] | Déplacement<br>de Stokes<br>[ $\text{cm}^{-1}$ ] |
|-----------|--------------------------------|--|-------------------------------|------------------------------|--|
| <b>S1</b> | 498                            | 81129  | 514                           | <0.1                         | 625  |
| <b>S3</b> | 517                            | 93199  | 547                           | <0.1                         | 1061   |
| <b>S5</b> | 521                            | 100000   | 544                           | <0.1                         | 811  |
| <b>S6</b> | 613                            | 70031  | 688                           | 9.5                          | 1779   |
| <b>S7</b> | 706                            | 32999  | 762                           | 3.6                          | 1047   |

<sup>[a]</sup> Les spectres ont été enregistrés dans MeCN à 298 K. <sup>[b]</sup> Le sulfate de quinine a été utilisé comme référence,  $\Phi = 55\%$  dans aq.  $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 310 \text{ nm}$ . Toutes les valeurs de  $\Phi_{\text{em}}$  ont été corrigées en tenant compte des indices de réfraction des différents solvants.

L'intensité du maximum d'absorption diminue régulièrement lors de l'ajout de cations  $Al^{3+}$  dans la solution de **S3** préparée dans MeCN ; on observe également l'apparition d'une nouvelle bande d'absorption (déplacée vers le rouge) centrée à 527 nm. Un point isobestique est également observé à 524 nm (Figure 2a)



**Figure 2.** Spectres d'absorption (a) et d'émission (b) d'une solution à 15  $\mu$ M de **S3** dans MeCN en présence de cations  $Al^{3+}$  (4,5-15,0  $\mu$ M), ( $\lambda_{ex}$  = 504 nm).

L'ajout de  $Al^{3+}$  se traduit également par une exaltation de l'émission de fluorescence caractéristique de la chélation de ce cation par le ligand de type pseudo éther couronne présent au sein de la structure de **S3** (Figure 2b). Cette émission est centrée à 547 nm. Il est visualisable à l'oeil nu et le rendement quantique de fluorescence du complexe a été déterminé ( $\Phi_F$  = 18%). La courbe de titration de type Job confirme la formation d'un complexe 1:1. La constante d'association ( $K_s$ ) a été déterminée :  $3,2 \cdot 10^3 M^{-1}$ . La limite de détection de  $Al^{3+}$  avec le senseur **S3** est égale à 3.8  $\mu$ M, ce qui indique une bonne sensibilité de ce dernier.

La réponse fluorogénique de **S3** a également été étudiée en, présence de différents cations métalliques afin d'étudier la sélectivité de ce composé pour  $Al^{3+}$ . Des changements dans les propriétés spectrales de **S3** ne sont réellement observés qu'avec  $Al^{3+}$ . Ainsi, l'ajout de  $Al^{3+}$  provoque une augmentation de fluorescence d'un facteur 1200, de seulement 90 pour  $Cr^{3+}$  et négligeable pour tous les autres cations testés :  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ag^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  et  $Ba^{2+}$ .

Ainsi, nous avons réussi à synthétiser et caractériser cinq nouveaux senseurs fluorescents "off-on" à coeur *BODIPY* et fonctionnalisés par un motif de type pseudo éther couronne. Nos investigations ont montré que le composé **S3** (dérivé d'un 2,6-Et-*BODIPY*) était un senseur "off-on" efficace et sélectif des cations  $Al^{3+}$ .

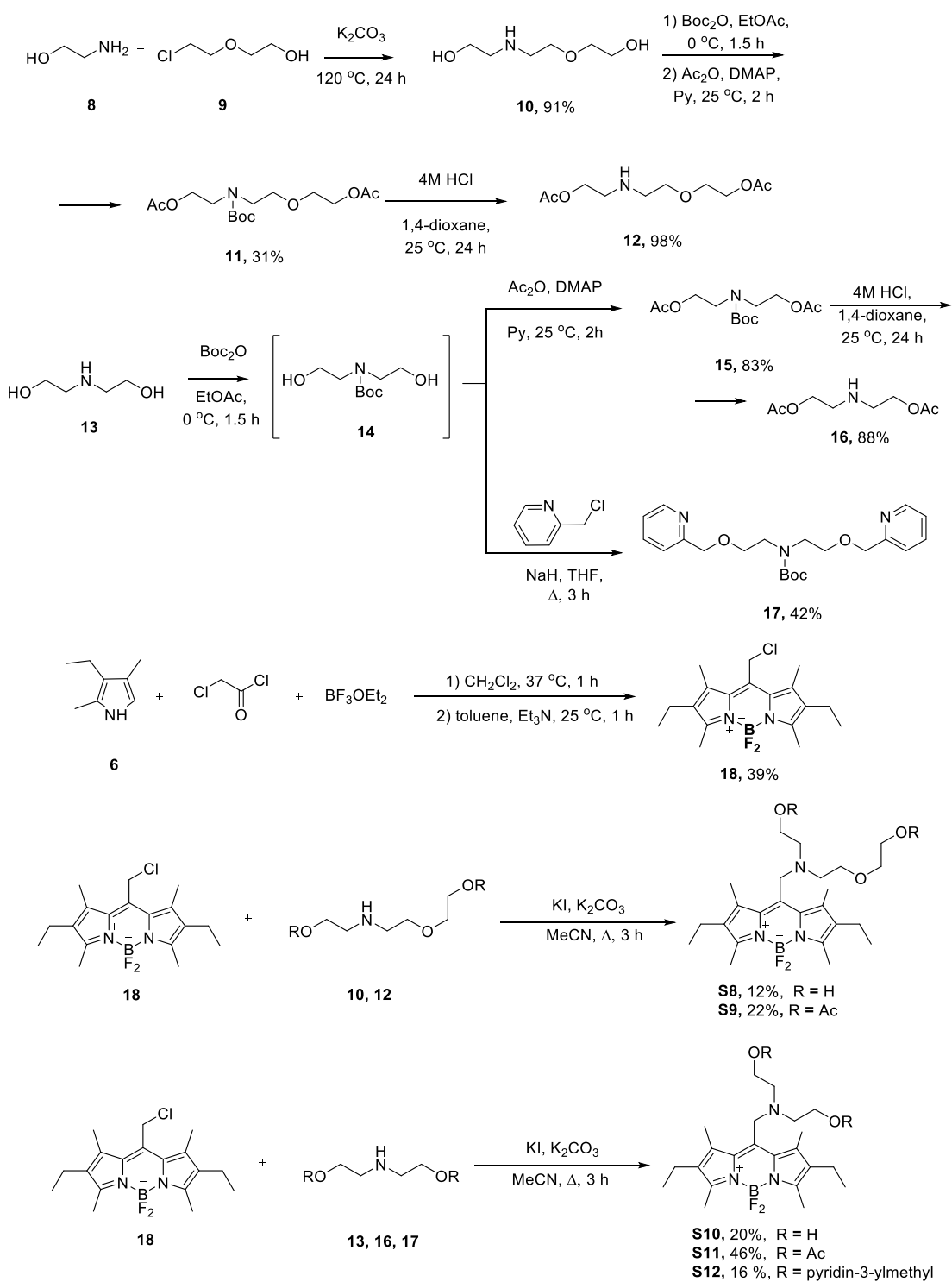
### 1.3. Développement d'un senseur fluorescent de type "off-on" pour la détection des cations $Cu^{2+}$

Nous avons ensuite poursuivi l'exploration des senseurs fluorescents à coeur *BODIPY* et à motif pseudo éther couronne, en introduisant ce dernier en position *meso* via une "linker" de type méthylène.

L'objectif étant de modifier la sélectivité du senseur en augmentant l'encombrement stérique de son ligand chélatant situé cette fois à proximité du coeur fluorescent *BODIPY*.

Ainsi, nous avons réalisé la synthèse des dérivés *BODIPY* **S8**, **S9**, **S10**, **S11** et **S12** (Schéma 3). La réaction de substitution nucléophile entre l'éthanolamine **8** et le 2,2-chloroéthoxyéthane **9** a conduit au diol **10**. Ce composé est ensuite protégé au niveau de son amine secondaire par un groupement Boc (*tert*-butyloxycarbonyle) et au niveau de ses alcools primaires par des acétates. Un traitement par une solution de HCl dans le 1,4-dioxane permet ensuite de déprotéger l'amine. Ainsi, on a obtenu le motif chélatant **12** en 3 étapes et avec un rendement global de 27%.

Deux autres ligands (à structure symétrique) **16** et **17** ont également été synthétisés. Ainsi le composé **16** est obtenu à partir du diol **13** selon une stratégie similaire à celle mise en oeuvre pour **12** et impliquant notamment une protection transitoire de l'amine secondaire par le groupement Boc. L'intermédiaire **14** a également été engagé dans une réaction avec la 2-(chlorométhyl)pyridine, au reflux du THF, pour conduire au ligand **17**, connu dans la littérature pour être sélectif des cations  $\text{Hg}^{2+}$ .



**Schéma 3.** Synthèse des composés **S8-S12**.

Le dérivé 8-chlorométhyl *BODIPY* **18** requis pour la synthèse des senseurs **S8-S12** a été synthétisé dans des conditions classiques à partir du kryptopyrrole **6** et du chlorure de chloroacétyle. Une fois obtenu, il est engagé dans des réactions de substitution nucléophile avec les ligands **10**, **12**, **13**, **16** et **17** et les senseurs **S8-S12** sont obtenus avec des rendements compris entre 16% et 46%.

#### 1.4. Etude des propriétés photophysiques des composés S8-S12 et leur capacité à détecter les cations Cu<sup>2+</sup>

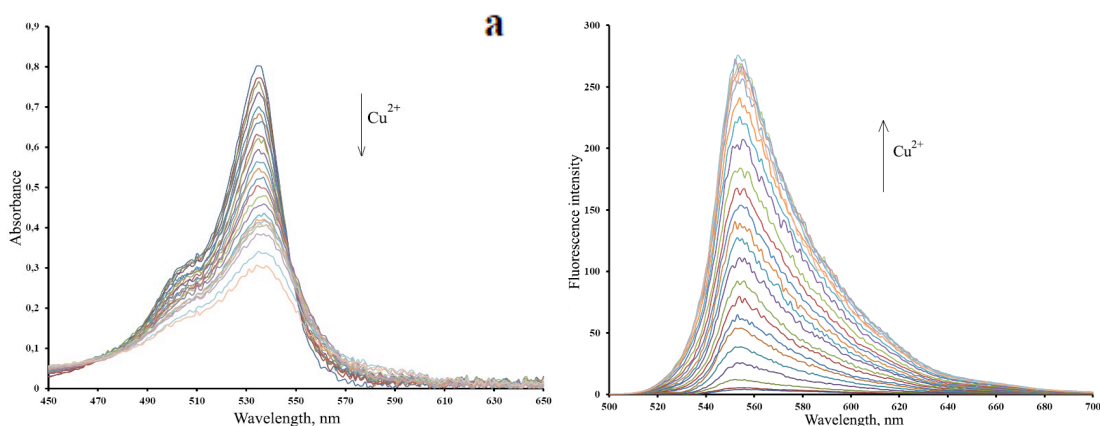
Les spectres d'absorption et d'émission des composés **S8-S12** ont été enregistrés dans MeCN (contenant moins de 5% d'eau) à température ambiante. Les données photophysiques sont rassemblées dans le Tableau 2.

**Table 2.** Propriétés photophysiques des composés **S8-S12**.<sup>a,b</sup>

| Senseur    | $\lambda_{\text{abs}}$<br>[nm] | $\epsilon$ [M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ] | $\lambda_{\text{em}}$<br>[nm] | $\Phi$ [b]<br>[%] | Déplacement<br>de Stokes<br>[cm <sup>-1</sup> ] |
|------------|--------------------------------|--|-------------------------------|-------------------|---|
| <b>S8</b>  | 535                            | 61925  | 556                           | 1.2               | 708   |
| <b>S9</b>  | 537                            | 74533  | 557                           | 0.6               | 668   |
| <b>S10</b> | 534                            | 53566  | 556                           | 1.1               | 741   |
| <b>S11</b> | 537                            | 73792  | 555                           | 2.9               | 663   |
| <b>S12</b> | 534                            | 60613  | 555                           | 1.2               | 708   |

<sup>[a]</sup> Les spectres ont été enregistrés dans MeCN à 298 K. <sup>[b]</sup> Le sulfate de quinine a été utilisé comme référence,  $\Phi = 55\%$  dans aq. 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  $\lambda_{\text{ex}} = 310$  nm. Toutes les valeurs de  $\Phi_{\text{em}}$  ont été corrigées en tenant compte des indices de refraction des différents solvants.

L'effet de différents cations métalliques sur les propriétés photophysiques des sondes **S8-S12** a ensuite été étudié. Il a été montré que les composés **S8**, **S9** et **S11** n'étaient pas sélectifs du cation Cu<sup>2+</sup> en présence de Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup> et Cr<sup>3+</sup>. A l'inverse, le composé **S10**, possédant le ligand 2,2'-bis(amino)éthanol-1-ol, a montré une bonne sélectivité pour ce cation. En effet, le spectre d'absorption UV-visible de cette sonde (en solution dans MeCN, 15  $\mu$ M) reste inchangé après ajout de Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup> et Ba<sup>2+</sup>. En revanche, l'addition de Cu<sup>2+</sup> provoque une diminution de son intensité d'absorbance, et un déplacement bathochrome de la bande qui se retrouve avec un maximum centré à 547 nm (Figure 3). Une diminution significative du coefficient d'extinction molaire est également obtenue ; on passe de 53 000 to 26 000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.



**Figure 3.** Spectres d'absorption (a) et d'émission (b) d'une solution à 15  $\mu\text{M}$  de **S10** dans MeCN, en présence de cations  $\text{Cu}^{2+}$  (0-2,0 équiv.), ( $\lambda_{\text{ex}} = 515 \text{ nm}$ ).

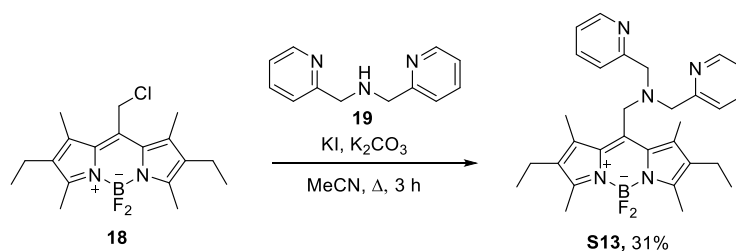
Les propriétés de fluorescence de la solution de **S10** sont également influencées par l'ajout de  $\text{Cu}^{2+}$  (Figure 3b). L'ajout d'un équivalent de  $\text{Cu}^{2+}$  provoque une augmentation de rendement quantique de fluorescence qui passe de 1.1% à 14%. L'ajout d'autres cations métalliques ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  et  $\text{Ba}^{2+}$ ) ne provoque pas d'exaltation de fluorescence même si un excès de 10 équiv. est ajouté.

Ainsi, ces résultats démontrent que la nature du "linker" entre le coeur fluorescent *BODIPY* et le ligand chélatant a un effet significatif sur la sélectivité de complexation des cations métalliques. Nous avons pu identifier un nouveau senseur fluorescent de type "off-on" pour la détection des cations  $\text{Cu}^{2+}$ .

### 1.5. Développement d'un senseur fluorescent de type "off-on" pour la détection des cations $\text{Zn}^{2+}$

Les senseurs fluorescents possédant un ligand de type di(2-picoly)amine (DPA) sont connus pour être sélectifs des cations  $\text{Zn}^{2+}$ . Ainsi, nous avons synthétisé le composé **S13** qui dérive du coeur fluorescent 2,6-Et-*BODIPY*, par la fixation du ligand DPA *via* un linker méthylène (Schéma 4).

Ce composé **S13** a été synthétisé à partir du *meso*- $\text{CH}_2\text{-Cl}$ -*BODIPY* **18** en réalisant une réaction de substitution nucléophile avec la dipicolylamine **19**. Après purification par chromatographie sur colonne de silice, le produit **S13** a été obtenu avec un rendement de 31%.

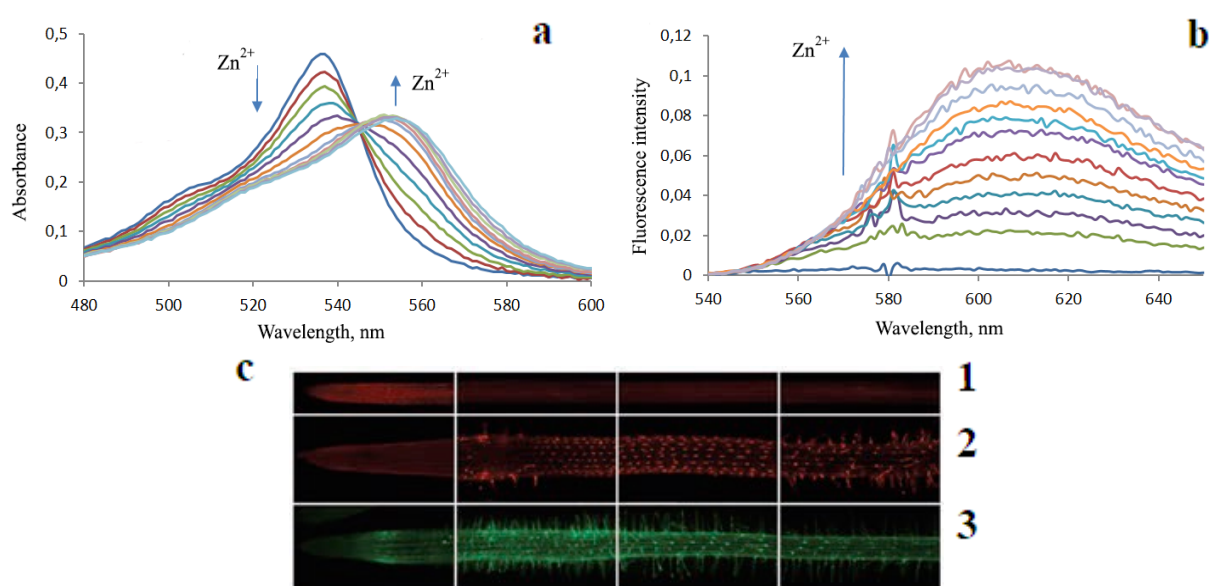


**Schéma 4.** Synthèse du composé **S13**.



Les spectres d'absorption et d'émission de ce composé ont été enregistrés dans le MeCN anhydre. Il est caractérisé par une bande d'absorption relativement large présentant deux maxima à 538 nm et 506 nm ( $\epsilon = 22\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$  à 538 nm). Le rendement quantique de fluorescence, déterminé dans un mélange H<sub>2</sub>O-MeCN (3 : 1, v/v) est de 6% et cette valeur faible confirme un mécanisme de "quenching" de type PeT.

L'ajout de cations Zn<sup>2+</sup> conduit à une modification des spectres d'absorption et d'émission (Figure 4). Après complexation, le maximum d'absorption est déplacé à 556 nm. L'ajout de 1 équiv. de Zn<sup>2+</sup> provoque une augmentation d'un facteur 21 de l'émission de fluorescence à 610 nm (Figure 4).



**Figure 4.** Spectres d'absorption (a) et d'émission (b) d'une solution à 10  $\mu\text{M}$  de **S13** dans MeCN après ajouts de différentes concentrations de Zn<sup>2+</sup> (0-1,1 équiv.), ( $\lambda_{\text{ex}} = 580\text{ nm}$ ). (c) Clichés du marquage de racines de *Brassica napus* L. traitées par (1) **S13** (contrôle), (2) **S13** et Zn<sup>2+</sup>, (3) le marqueur de référence Newport Green<sup>TM</sup> DCF et Zn<sup>2+</sup>.

L'ajout d'autres cations métalliques Li<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> et Mn<sup>2+</sup> ne provoque pas de variations de l'intensité de fluorescence. Seuls les cations de métaux de transition Fe<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> et Cd<sup>2+</sup> ont conduit à une exaltation de fluorescence de **S13** alors que les cations Ni<sup>2+</sup> et Cu<sup>2+</sup> conduisent à une extinction complète de **S13**.

La capacité du senseur **S13** à se lier sélectivement aux ions Zn<sup>2+</sup> dans un contexte *in vivo* a été démontré au travers d'études utilisant des racines de *Brassica napus* (Figure 4c). Les racines sont mises en croissance dans une solution aqueuse d'ion zinc (250  $\mu\text{M}$ ) pendant trois jours puis traité avec le senseur **S13**. On obtient un marquage brillant avec une accumulation préférentielle dans le cytoplasme. Un marquage de ces racines avec une sonde commerciale de référence Newport Green<sup>TM</sup> met en lumière

les possibles avantages de **S13**. Un bruit de fond moins important et une meilleure photostabilité. Ainsi, **S13** peut être utilisé pour détecter spécifiquement un excès de zinc au sein des racines de plantes.

### 1.6. Développement d'un senseur "off-on" de type "dual" pour la détection simultanée des cations $\text{Al}^{3+}$ et $\text{Zn}^{2+}$

Afin d'accéder rapidement à des senseurs fluorescents de type "dual" pour la détection d'une paire de cations métalliques, nous avons envisagé dans un premier temps, la fonctionnalisation de la position 3 des senseurs mono-analyte **S10** et **S13** mais cette stratégie a échoué en raison de la fragilité des molécules. Ainsi, nous nous sommes orientés vers la synthèse de **S14** (Schéma 5) en mettant en oeuvre une réaction de condensation de Knoevenagel entre **S3** et l'aldéhyde **22**. Après une purification par chromatographie sur colonne de silice, le composé **S14** a été isolé avec un rendement de 3%.

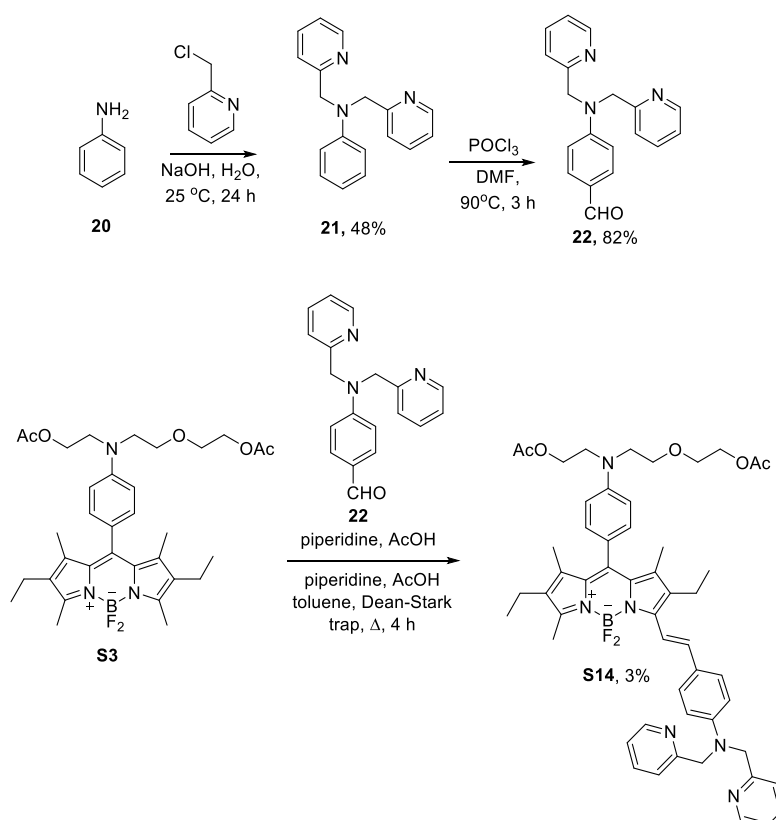
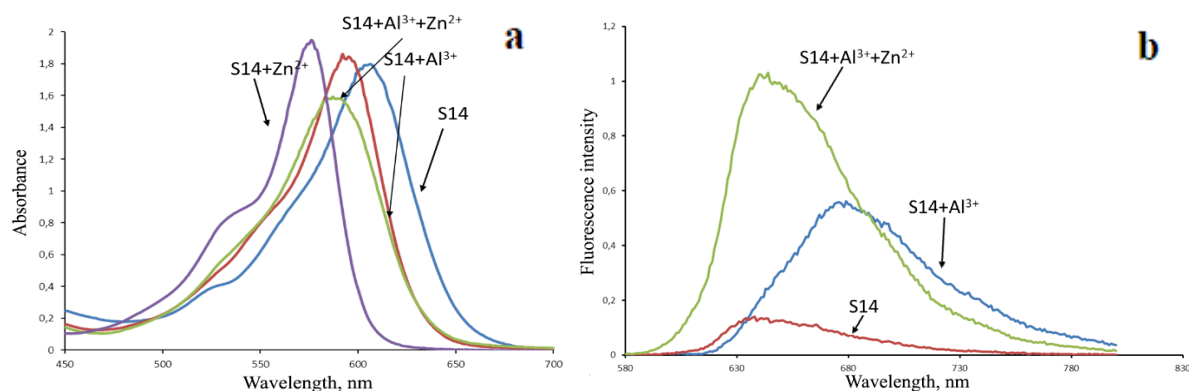


Schéma 5. Synthèse du composé **S14**.

### 1.7. Etude des propriétés photophysiques du composé **S14**

Le composé **S14** est caractérisé par un coefficient d'extinction molaire élevé ( $\epsilon = 94\,000\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ ). Son spectre d'émission de fluorescence présente une bande large, peu intense et centrée à 678 nm. Le rendement quantique de fluorescence est  $\leq 0.15\%$ . L'ajout de 1 équiv. de  $\text{Al}^{3+}$  et de 1 équiv. de  $\text{Zn}^{2+}$  à une solution de **S14** dans MeCN ( $15\ \mu\text{M}$ ) provoque une modification significative du profil d'absorption avec l'apparition de deux nouveaux maxima à 575 nm et 595 nm (Figure 5a).

L'aptitude du composé **S14** à détecter  $Zn^{2+}$  et  $Al^{3+}$  par des mesures de fluorescence a ensuite été étudiée (Figure 5b). De façon inattendue, l'ajout d'un équivalent de  $Zn^{2+}$  provoque un "quenching" complet de la sonde. L'ajout d'un équivalent de  $Al^{3+}$  permet de mettre fin à cette extinction de fluorescence. Une émission intense et centrée à 650 nm est observée. Ainsi, l'exaltation de fluorescence est observée uniquement en présence de deux cations métalliques. Cela confirme la fonctionnalité "dual" de cette sonde.



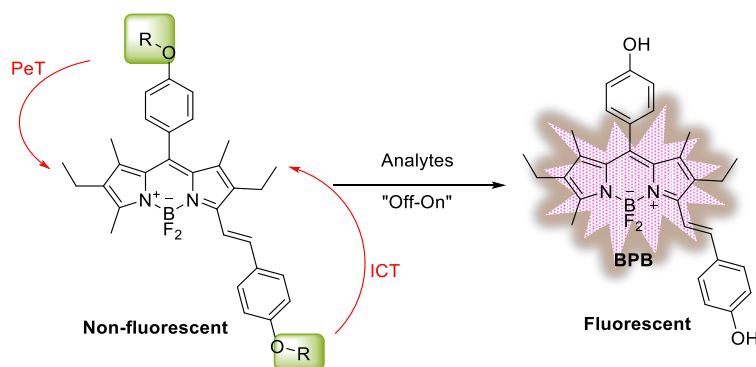
**Figure 5.** Spectres d'absorption (a) et d'émission (b) d'une solution à 15  $\mu$ M de **S14** dans MeCN, en présence de 1 équiv. de  $Zn^{2+}$ , de 1 équiv. de  $Al^{3+}$  ou du mélange des deux cations (1 équiv. de chaque).

Ainsi, nous avons réussi à concevoir un senseur fluorescent "off-on" de type "dual" à coeur *BODIPY*, pour la détection simultanée des cations  $Zn^{2+}$  and  $Al^{3+}$ .

## 2. Développement de senseurs fluorescent dérivés de *BODIPYs* polyphénoliques.

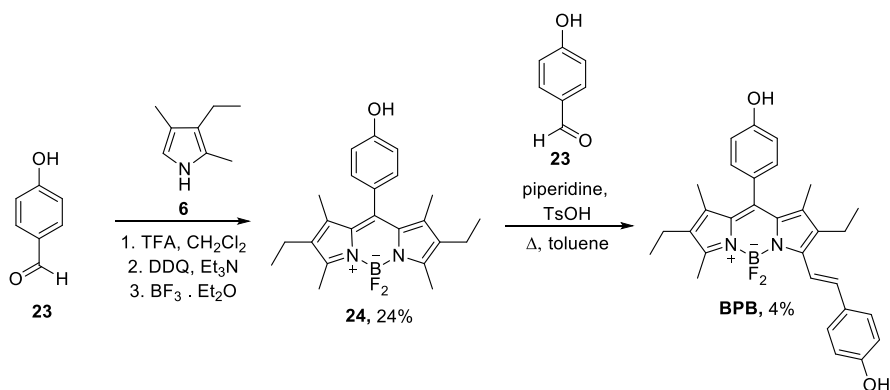
En complément des senseurs fluorescents destinés à la détection des cations métalliques, nous avons également exploré des sondes fluorescentes ciblant des bioanalytes réactifs comme les thiols biologiques, les ROS ou des enzymes associées au phénomène d'hypoxie. Ainsi, nous avons pensé utiliser un *BODIPY* bis-phénolique **BPB** ((*E*)-4-(2-(2,8-diéthyl-5,5-difluoro-10-(4-hydroxyphényl))-2,6-diéthyl-4,4-difluoro-1,7-diméthyl-4-phényl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacène) comme plateforme fluorescente en protégeant ces deux groupements hydroxyle par deux motifs de reconnaissance distincts qui seront capables d'éteindre la fluorescence *via* des mécanismes complémentaires (ICT et PeT), (Figure 6).

Le composé **BPB** est caractérisé par une fluorescence intense avec un maximum d'émission centré à 600 nm ( $\Phi_F = 100\%$  dans un mélange tampon phosphate (PB)-EtOH, 1:1, v/v, pH 7.5). Son spectre d'absorption présente deux maxima à 335 nm et 583 nm avec des coefficients d'extinction molaire de 22 300 et 66 250  $M^{-1} cm^{-1}$ .



**Figure 6.** Principe d'un senseur fluorescent de type "dual" à coeur bis-phénolique.

La synthèse de **BPB** est décrite dans le Schéma 6. La première étape correspond à la préparation du fluorophore *BODIPY* **24** à partir du kryptopyrrole **6** et du *para*-hydroxybenzaldéhyde **23**, dans des conditions similaires à celles déjà décrites pour les autres *BODIPYs* de ce manuscrit. Le second motif phénolique a été introduit *via* un bras styryle et une condensation de Knoevenagel.

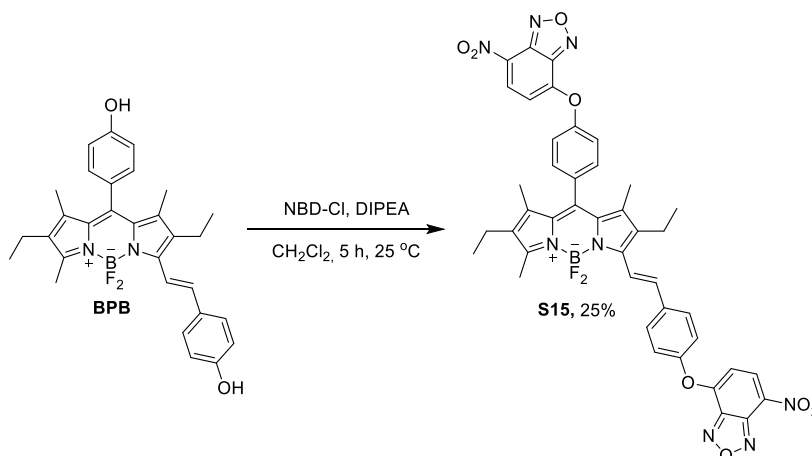


**Schéma 6.** Synthèse du fluorophore **BPB**.

## 2.1. Développement d'une sonde fluorescente de type "off-on" pour la détection de l'anion sulfite

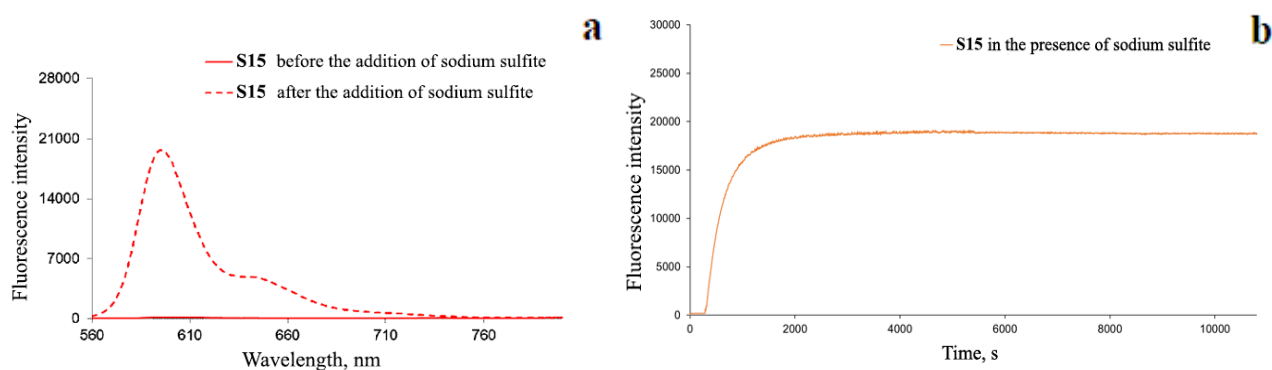
Dans un premier temps, nous avons validé le caractère fluorogénique des phénols de **BPB** en préparant une sonde mono-analyte réactive vis-à-vis de l'anion sulfite. Ainsi le composé **S15** a été obtenu en protégeant les deux groupements hydroxyles de **BPB** sous forme d'éthers de NBD (7-nitro-1,2,3-benzoxazole).

Sur le plan pratique, **S15** a été synthétisé en faisant réagir le bis-phénol **BPB** avec un excès de chlorure de NBD (NBD-Cl) dans MeCN anhydre et en présence de DIPEA (Schéma 7).



### Schéma 7. Synthèse du composé **S15**.

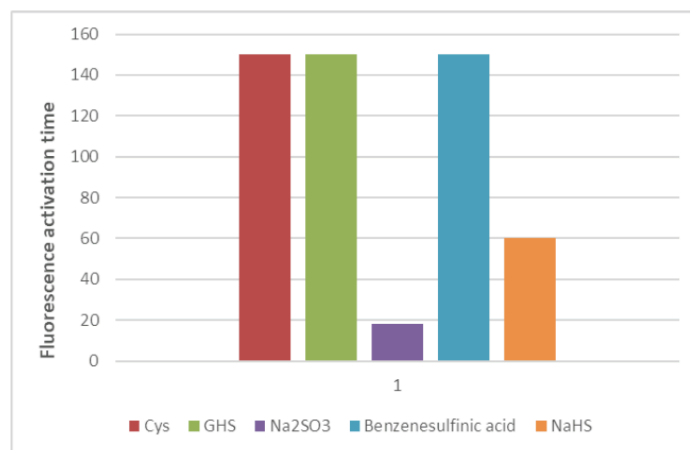
Comme attendu, le composé **S15** n'est pas fluorescent en raison de la présence des deux unités NBD. Il présente un maximum d'absorption centré à 590 nm (10 mM PB + 50% EtOH, 25°C),  $\epsilon = 31\ 800\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ . Comme les motifs de type éther de NBD sont connus pour réagir efficacement avec de nombreux nucléophiles soufrés selon un mécanisme de type  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  (addition-élimination), nous avons évalué la réponse fluorogénique de **S15** vis-à-vis de diverses espèces. Il est ressorti de ces investigations que l'anion sulfite (source :  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) donnait les meilleurs résultats (Figure 7). Ainsi, on peut observer une augmentation spectaculaire de l'intensité d'émission de fluorescence lorsque **S15** est incubé avec 5 équiv. de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  comme illustré par le spectre d'émission de fluorescence (excitation à 540 nm) enregistré avant et après incubation avec cet analyte (Figure 7a). La réaction fluorogénique est complète en moins de 18 minutes comme le montre la plateau atteint lors des mesures de fluorescence réalisées en mode cinétique (Figure 7b, augmentation de l'intensité de fluorescence d'un facteur 25). Ainsi, le senseur **S15** peut être utilisé pour la détection des ions sulfite selon un mode "off-on".



**Figure 7.** (a) Spectre d'émission d'une solution de **S15** (0,25  $\mu\text{M}$ ) dans un mélange PB + 50% EtOH avant et après incubation avec  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5 équiv.) ( $\lambda_{\text{ex}} = 540\ \text{nm}$ ). (b) Evolution temporelle de l'émission

de fluorescence d'une solution de **S15** (0,25  $\mu$ M) dans un mélange PB + 50% EtOH après ajout  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5 équiv.), ( $\lambda_{\text{ex}} = 540 \text{ nm}$ ).

La sélectivité de la sonde **S15** vis-à-vis d'autres nucléophiles soufrés a ensuite été étudiée. Ainsi, l'anion hydrogésosulfure ( $\text{HS}^-$ ), la L-cystéine (L-Cys), la glutathion (GSH) et l'acide benzènesulfonique ont été mis à réagir avec **S15** dans les mêmes conditions que celles décrites ci-dessus. Les augmentations d'intensité de fluorescence sont moindres que celle obtenue avec l'anion sulfite (facteur 15-20) et la cinétique de la réaction est plus lente (environ 2 h) (Figure 8).

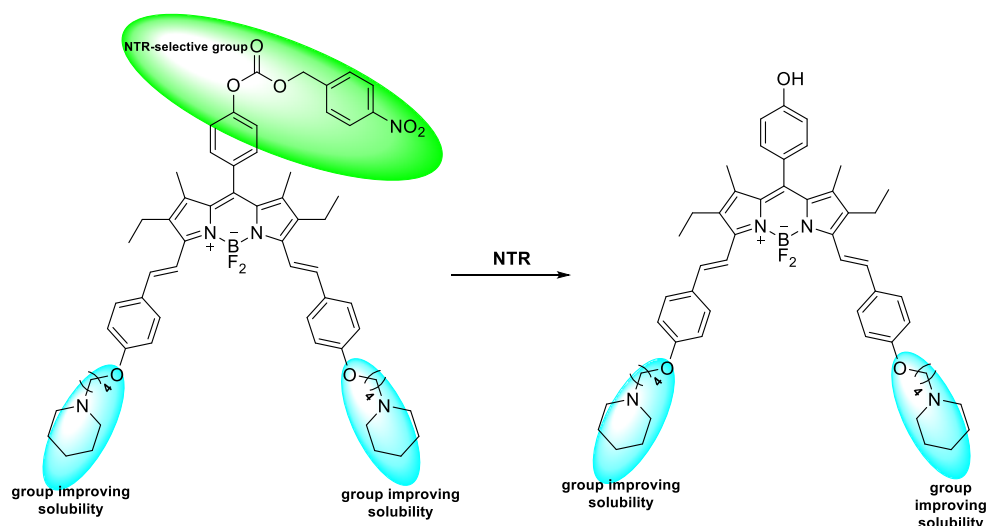


**Figure 8.** Temps requis pour l'activation de la sonde **S15** ( $\lambda_{\text{ex}} = 540$ ) par différents analytes soufrés dans un mélange PB + 50% EtOH at 25 °C.

Ainsi, l'ensemble de ces résultats montrent clairement le potentiel du dérivé fluorogénique bis-phénol **BPB** dans la conception de senseurs fluorescents pour la détection optimale d'analytes soufrés. Une limite de détection pour  $\text{SO}_3^{2-}$  de  $1.4 \times 10^{-9} \text{ M}$  a été déterminée, ce qui illustre la grande sensibilité de **S15**.

## 2.2. Développement d'une sonde fluorescente pour la détection de cellules cancéreuses hypoxiques

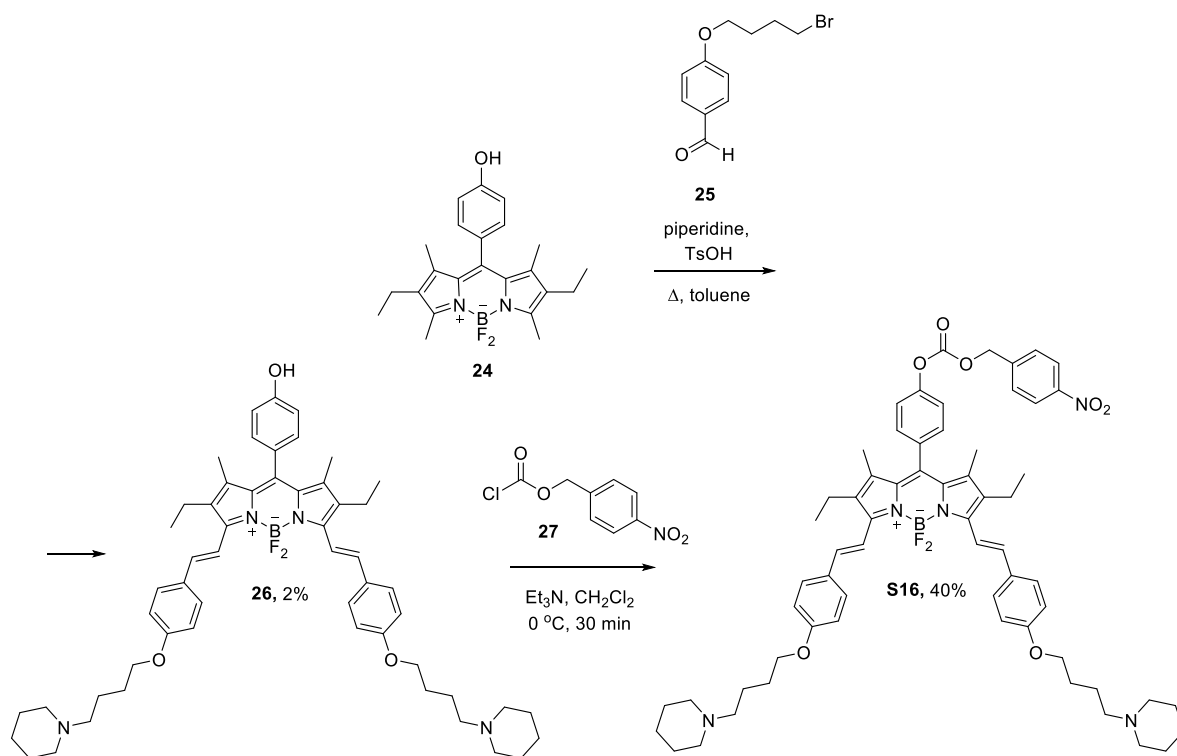
Nous avons souhaité utiliser un dérivé *BODIPY* tris-phénol comme plateforme pour la préparation de cette sonde. Ce choix a été guidé par les considérations suivantes : (1), le phénol en position *meso* va permettre la modulation des propriétés de fluorescence du *BODIPY* via sa substitution par un motif de reconnaissance des nitroréductases (NTR), une famille d'enzymes surexprimées au sein des cellules hypoxiques, (2) les deux autres phénols vont permettre une fonctionnalisation orthogonale du coeur *BODIPY*, et ainsi introduire des groupements permettant d'augmenter la solubilité dans l'eau de la sonde (Figure 9).



**Figure 9.** Mécanisme envisagé pour l'activation de la sonde **S16**.

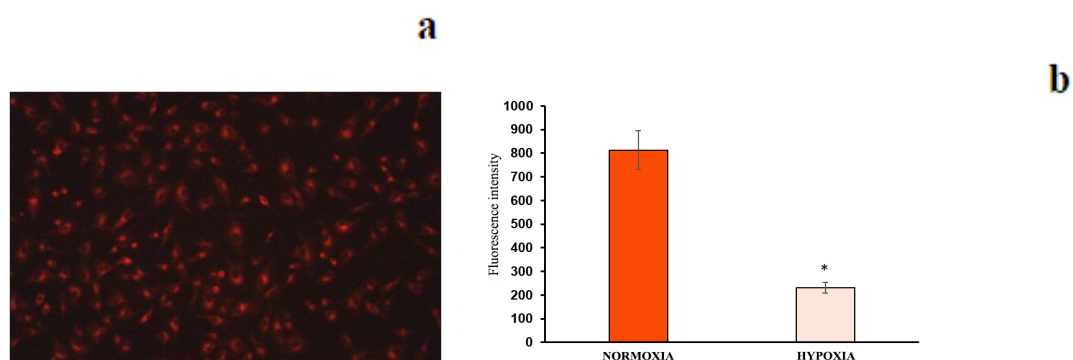
Le composé **S16** a été préparé selon la stratégie présentée Schéma 8. Ainsi, le *BODIPY 24* a fait l'objet d'une réaction de condensation de Knoevenagel avec un excès de benzaldéhyde **25** (5 équiv.), préalablement substitué sur son groupement hydroxyle par un motif 4-bromobutyle, dans des conditions classiques : pipéridine, acide *para*-toluènesulfonique (*p*-TsOH) au reflux du toluène initialement anhydre. Le BODIPY di-styryl **26** a été isolé par chromatographie sur colonne de silice puis engagé dans une réaction de O-acylation de son phénol par traitement avec le chloroformiate de *para*-nitrobenzyle. La sonde **S16** est purifiée par chromatographie sur colonne de silice (rendement de 40%).

Les propriétés photophysiques de **S16** ont ensuite été déterminées dans l'eau contenant 10% de DMSO, et ce afin de limiter la formation des agrégats non fluorescents de type H. Le spectre d'absorption UV-visible est caractérisé par une bande intense centrée à 659 nm ( $\epsilon = 19\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ). Le maximum d'émission est à 686 nm. Curieusement, l'effet de "quenching" attendu et induit par le motif *para*-nitrobenzyle est loin d'être aussi efficace que prévu ; le rendement quantique de fluorescence de **S16** est ainsi de 15%.



**Schéma 8.** Synthèse de la sonde **S16**.

Cette sonde a ensuite fait l'objet de validations biologiques. En collaboration avec le N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, la sonde **S16** a été évaluée pour imager l'hypoxie de cellules du carcinome pulmonaire (ligné cellulaire A549, Figure 10). Elle présente un comportement non usuel car elle donne une réponse "on-off" sous hypoxie.

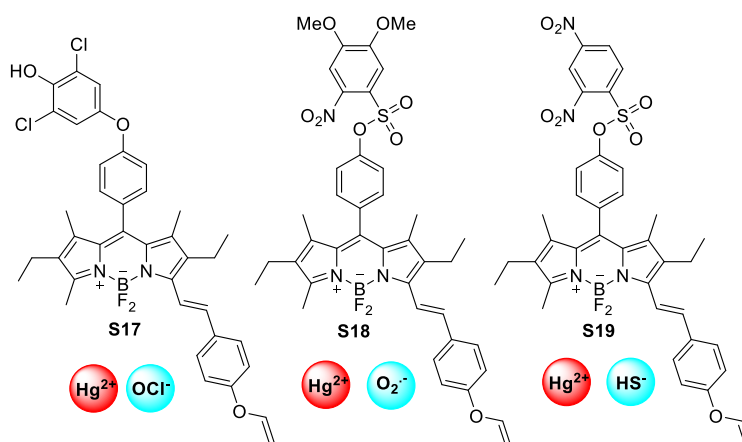


**Figure 10.** (a) Image de fluorescence de cellules A549 incubées avec la sonde **S16** (20  $\mu\text{M}$ ) durant 60 min,  $\lambda_{\text{ex}} = 530\text{-}585\text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 615\text{ nm}$ . (b) L'intensité de fluorescence de cellules A549 normoxiques et hypoxiques traitées avec **S16** ( $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 610/680\text{ nm}$ ).

### 2.3. Développement de senseurs fluorescents "off-on" de type "dual", à coeur BPB

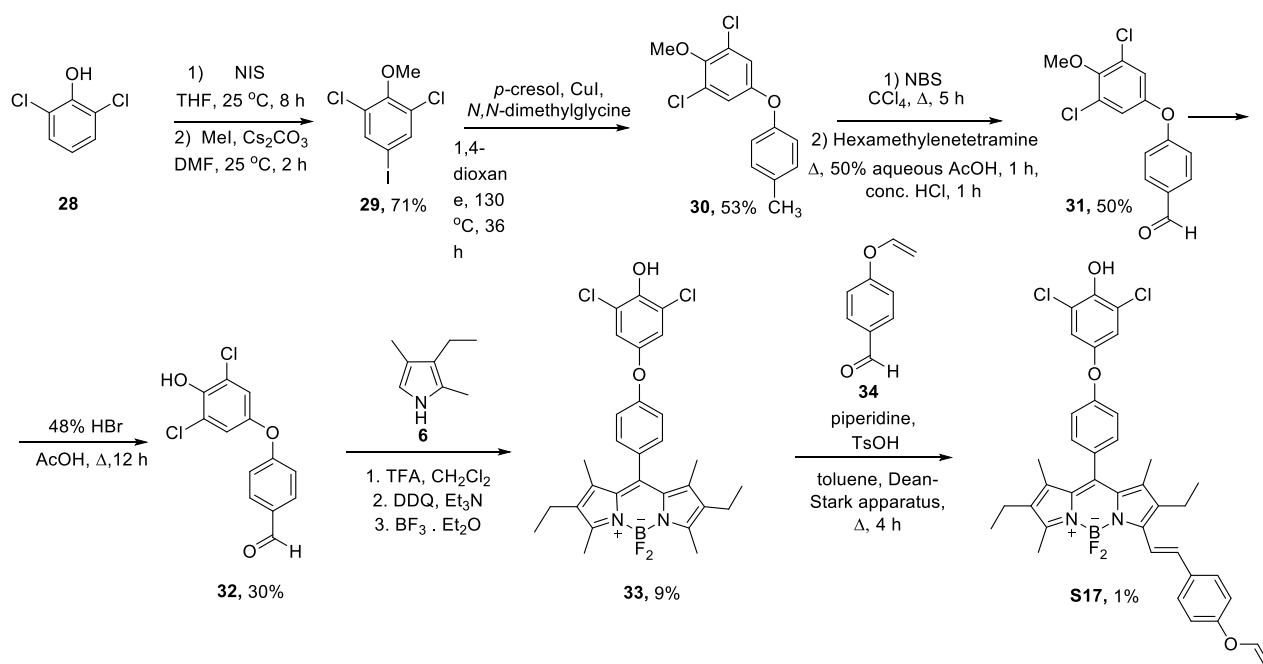


Nous avons conçu et synthétisé les composés **S17-S19** afin qu'ils soient réactifs vis-à-vis des cations  $\text{Hg}^{2+}$  et un ROS (radical anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) et l'anion hypochlorite ( $\text{ClO}^-$ ) ou l'anion  $\text{HS}^-$  (Figure 11).



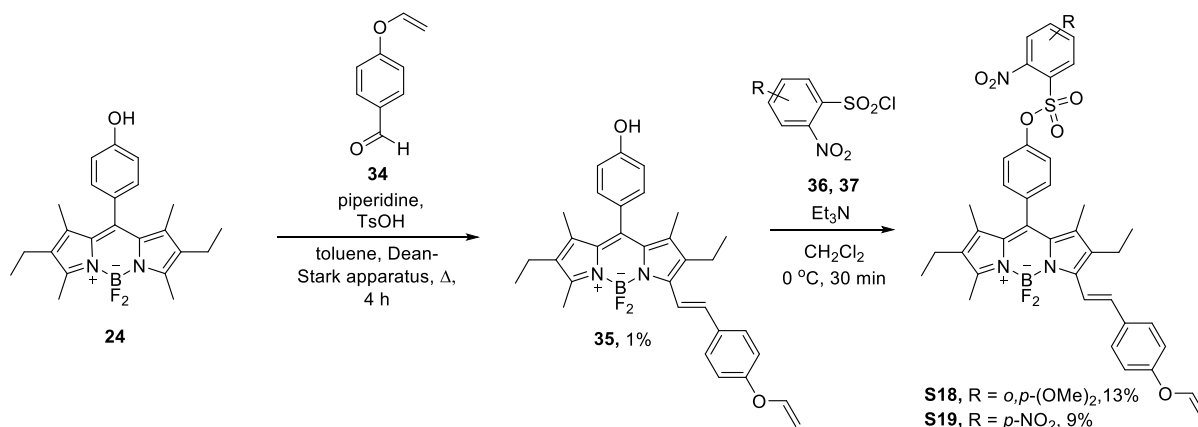
**Figure 11.** Structures des composés **S17-S19**.

Comme il est connu que les cations  $\text{Hg}^{2+}$  sont connus pour faciliter l'hydrolyse des éthers de vinyle (en conditions physiologiques), nous avons réalisé l'alkylation du phénol du bras styryle avec ce motif de type alcène. Le second phénol (en position *meso*) est utilisé pour introduire le motif de reconnaissance du second analyte ciblé (le ROS ou l'anion  $\text{HS}^-$ ). La synthèse des composés **S17-S19** est décrite dans les schémas 9 et 10. La sonde **S17** a été préparée en huit étapes à partir du 2,6-dichlorophénol **28**. L'étape clé a été une nouvelle fois la condensation de Knoevenagel mettant en jeu le *BODIPY* **33** et l'aldéhyde **34**, au reflux du toluène anhydre et en utilisant un appareil de Dean-Stark.



**Schéma 9.** Synthèse du composé **S17**.

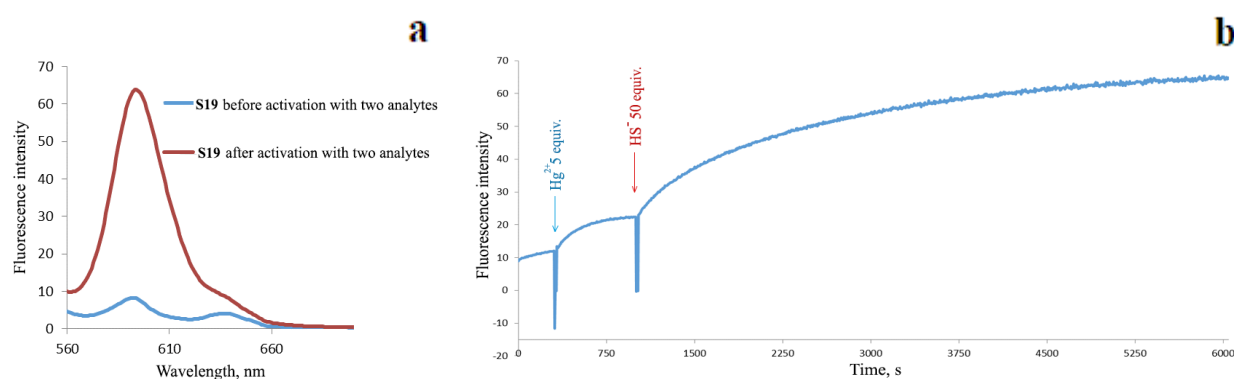
Les composés **S18** et **S19** ont été synthétisés à partir du *BODIPY* phénolique **24**. La réaction de Knoevenagel a été mise en oeuvre avec le 4-(vinylloxy)benzaldéhyde **34** pour conduire au dérivé monostyryl **35**. L'estérification de son phénol par le chlorure de 4,5-diméthoxy-2-nitrobenzènesulfonyl **36** ou de 2,4-dinitrobenzènesulfonyl a conduit aux composés **S18** et **S19** (Schéma 10).



**Schéma 10.** Synthèse des composés **S18** et **S19**.

Une analyse des propriétés spectrales de **S17-S19** a permis de montrer que seul le composé **S19** pouvait fonctionner comme un senseur fluorescent de type "dual". En effet, en absence des deux analytes ciblés, **S19** n'est pratiquement pas fluorescent (il n'a pas été possible de déterminer son rendement quantique de fluorescence résiduelle du fait de l'absence de linéarité entre la fluorescence et l'absorbance

mesurées pour une excitation à 540 nm). Ce composé présente un maximum d'absorption centré à 599 nm (dans le PB contenant 10% de MeCN, 25°C),  $\epsilon = 41\,200\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ . La réactivité fluorogénique de **S19** vis-à-vis du cation  $\text{Hg}^{2+}$  et de l'anion  $\text{HS}^-$  (forme prédominante du gazotransmetteur à pH physiologique, NaHS a été utilisé comme source d'anions hydrogénosulfures). Des mesures de variation d'intensité de fluorescence (en fonction du temps) du senseur en présence de deux analytes ont été réalisées. Nous avons pu obtenir un résultat significatif suite à une addition séquentielle de  $\text{Hg}^{2+}$  (5 équiv., 10 min d'incubation) puis des anions  $\text{HS}^-$  (50 équiv., environ 85 min d'incubation) car une augmentation modérée de l'intensité de fluorescence à 595 nm est observée (Figure 12). Un plateau est atteint au bout de 60 minutes. Comme  $\text{Hg}^{2+}$  et  $\text{HS}^-$  sont connus pour réagir ensemble pour former un précipité de  $\text{HgS}$ , l'activation de **S19** par ajout simultanée des deux analytes n'a pas été envisagée.



**Figure 12.** (a) Spectres d'émission d'une solution de **S19** (1,7  $\mu\text{M}$ ) dans un mélange PB + 10% MeCN avant et après activation avec  $\text{Hg}^{2+}$  et  $\text{HS}^-$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 540\text{ nm}$ ). (b) Evolution temporelle de l'émission de fluorescence ( $\lambda_{\text{ex}} = 540\text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 595\text{ nm}$ ) d'une solution de **S19** (1,7  $\mu\text{M}$ ) dans un mélange PB + 10% MeCN à 25°C.  $\text{HgCl}_2$  (5 équiv.) a été ajouté après 5 minutes d'incubation de la sonde dans le tampon ; après 10 minutes, NaHS (50 équiv.) est ajouté.

En conclusion, lors de la première partie de ce travail de thèse, nous avons développé de nouvelles méthodes pour la synthèse de dérivés *BODIPY* fonctionnalisés par des motifs de type pseudo éther couronne. La relation entre la structure et les propriétés spectrales de ces agents chélatants pro-fluorescents a été étudiée pour la première fois. La nature du "linker" entre le coeur fluorescent et le motif chélatant influence fortement la sélectivité de la sonde pour un cation métallique donné. Il a été démontré qu'un dérivé dipicolylamine de *BODIPY* pouvait être utilisé avec succès pour imager les cations  $\text{Zn}^{2+}$  accumulés au sein de tissus végétaux. La fonctionnalisation d'un coeur *BODIPY* par deux motifs chélatants distincts a permis d'obtenir une sonde de type "dual" permettant la détection simultanée des cations  $\text{Al}^{3+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$  en solution. Dans la seconde partie de ce travail, le potentiel de dérivés poly-phénoliques de *BODIPY* dans la conception de sondes fluorescentes de type "dual" a été évalué pour la première fois. A la lumière des résultats obtenus, on peut préciser que la conception de sondes de type

"dual" à coeur *BODIPY* n'est pas une tâche triviale. Un choix judicieux des motifs de reconnaissance et une optimisation de la structure du coeur fluorescent doivent être faits. Il est en outre compliqué de prévoir le comportement spectral des composés. Nous avons néanmoins réussi à développer deux sondes fluorescentes distinctes qui permettent respectivement la détection simultanée de la paire  $\text{Al}^{3+}/\text{Zn}^{2+}$  dans MeCN et la détection séquentielle de  $\text{Hg}^{2+}$  et  $\text{HS}^-$  en milieu physiologique simulé.

## Conclusions

1. Des méthodes ont été développées pour la synthèse de dérivés BODIPY fonctionnalisés par des motifs chélatants de type pseudo éther couronne. La nature du "linker" entre le coeur fluorescent et le motif chélatant influence fortement la sélectivité de la sonde pour un cation métallique donné. Des senseurs "off-on" pour la détection sélective des cations  $Al^{3+}$  et  $Cu^{2+}$  ont été identifiés.
2. Il a été montré pour la première fois qu'un dérivé BODIPY fonctionnalisé par un motif dipicolylamine sur sa position meso via un "linker" de type méthylène pouvait être utilisé pour la détection sélective des cations  $Zn^{2+}$  en milieu aqueux, et pour imager la distribution de ce cation au sein de tissus végétaux.
3. Une méthode pour la synthèse d'un senseur "off-on" de type "dual", à coeur BODIPY, contenant deux motifs chélatants de type pseudo éther couronne et dipicolylamine a été développée. Il a été montré que cette sonde était efficace pour la détection simultanée des cations  $Al^{3+}$  et  $Zn^{2+}$  en solution.
4. Le potentiel de dérivés poly-phénoliques de BODIPY dans la conception de sondes fluorescentes de type "dual" a été évalué pour la première fois. Des méthodes de synthèse ont été développées pour accéder aisément à des dérivés BODIPY fonctionnalisés par des motifs chélatants et/ou des groupes réactifs vis-à-vis de nucléophiles soufrés, d'espèces réactives de l'oxygène, des cations  $Hg^{2+}$  et/ou de réductases surexprimées dans les cellules cancéreuses en hypoxie.
5. Il a été montré qu'un chémodosimètre fluorescent de type "off-on" pour la détection efficace et sensible de l'anion sulfite pouvait être facilement obtenu par introduction de deux motifs 7-nitro-1,2,3-benzoxadiazole sur les phénols d'un BODIPY. La fonctionnalisation du phénol en meso d'un autre BODIPY par le motif 4-nitrobenzyloxybarbonyl a permis d'obtenir une sonde "off-on" pour l'imagerie des cellules hypoxiques du cancer du poumon.
6. Un senseur "off-on" de type dual a été conçu à partir d'un dérivé BODIPY bis-phénolique via l'introduction des motifs vinyle et 2,4-dinitrobenzènesulfonyl sur ses groupements hydroxyles. Il a été utilisé avec succès pour la détection fluorogénique séquentielle de  $Hg^{2+}$  et  $HS^-$  en milieu physiologique simulé.

**La majeure partie des travaux sont résumés dans les publications suivantes :**

1. Sergey A.Gorbatov. Mikhail A. Kozlov Ilya E. Zlobin Alexander V. Kartashov Igor V. Zavarzin Yulia A.Volkova. Highly selective BODIPY-based fluorescent probe for  $Zn^{2+}$  imaging in plant roots // *Mendeleev Commun.*, **2018**, Volume 28, Pages 615-617.
2. Mikhail A. Kozlov, Denis Y. Uvarov, Sergey A. Gorbatov, Natalya G. Kolotrikina, Alexey D. Averin, Kachala V. Vadim, Lyssenko Konstantin, Zavarzin V. Igor, Volkova Yulia. Pseudo-crown ethers as a novel scaffold for the development of  $Al^{3+}$ - selective fluorescent probes // *Eur. J. Org. Chem.*, **2019**, Volume 2019, Pages 4196-4206.
3. Sergey A. Gorbatov, Denis Y. Uvarov, Alexander M. Scherbakov, Igor V. Zavarzin, Yulia A. Volkova and Anthony Romieu. A novel water-soluble BODIPY dye as red fluorescent probe for imaging hypoxic status of human cancer cells // *Mendeleev Commun.*, **2020**, Volume 30, Pages 687-820.
4. Горбатов С., Волкова Ю., Заварзин И., Ромье А. Бисфенольный краситель БОДИПИИ как платформа для разработки флуоресцентных «Off-On» проб для нескольких аналитов // *Научная конференция «Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней»*, Красновидово, **2019**, С. 162.
5. Gorbatov S.A., Volkova Y.A. Zavarzin I.V., Romieu A. Dual Hg(II)/  $O_2^{\circ-}$  - fluorogenic "Off-On" probe based on a fluorogenic bis-phenolic Bodipy dye // *Ломоносов-2019*, Москва, **2019**, С. 142.
6. Gorbatov S.A., Volkova Y.A., Zavarzin I.V., Romieu A. Dual Hg(II)/ $ClO^-$  - fluorogenic "Off-On" probe based on a fluorogenic bis-phenolic Bodipy dye // *The Fifth International Scientific Conference "Advances in Synthesis and Complexing" Moscow*, **2019**, С. 146.
7. Gorbatov S.A., Volkova Y.A. Zavarzin I.V., Romieu A. A novel  $Al^{3+}$ -selective fluorescent "Off-On" probe based on bodipy dye // *ICCOS 2019*, Moscow, **2019**, С. 129.
8. Gorbatov S.A., Volkova Y.A. Zavarzin I.V., Romieu A. Nitroreductase-sensitive fluorescent probes based on a fluorogenic bis-phenolic Bodipy dye // *International Conference "Organic & Hybrid Functional Materials and Additive Technologies"*, Moscow, **2018**, С. 60.
9. Горбатов С., Волкова Ю., Заварзин И., Ромье А. Новый бимодальный хемосенсор Bodipy на катионы ртути (II) и гидросульфид-анионы // *VII Молодежная конференция ИОХ РАН*, Москва, **2017**, С. 78.
10. Gorbatov S.A., Volkova Y.A. Zavarzin I.V., Romieu A. Design and synthesis of novel Bodipy-based fluorimetric dual-mode chemosensor for mercury (II) cations and  $HS^-$  anion // *The Fourth International Scientific Conference "Advances in Synthesis and Complexing"*, Москва, **2017**, С. 129.

*As a manuscript*



**GORBATOV  
SERGEI ALEKSANDROVICH**

**Design and synthesis of novel BODIPY-based fluorimetric dual-mode chemosensors for  
heavy metal cations and (bio)analytes**

02.00.03 – Organic chemistry

**Summary of the PhD Thesis for the degree of PhD in chemistry**

Moscow – 2020

The work was performed at the Laboratory of Steroid Compounds (No. 22)  
of the N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry  
of the Russian Academy of Sciences (ZIOC RAS) and at Institut de Chimie Moléculaire de  
l'Université de Bourgogne, Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France.

SUPERVISOR:

**Igor Viktorovich Zavarzin**

Doctor of Chemical Sciences, Head of the  
Laboratory of Steroid Compounds (No. 22) of the  
N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry of  
the Russian Academy of Sciences (ZIOC RAS)

CO-SUPERVISOR:

**Romieu Anthony**

Professor at the University of Burgundy

OFFICIAL OPPONENTS:

**Khidmed Safarovich Shikhaliev**

Doctor of Chemical Sciences, Professor at the  
Department of Organic Chemistry of the  
Voronezh State University (VSU)

**Oleg Arkadievich Raitman**

PhD (Chemistry), Senior Researcher at the  
Laboratory of Physical Chemistry of  
Supramolecular Systems of the A. N. Frumkin  
Institute of Physical Chemistry and  
Electrochemistry of the Russian Academy of  
Sciences (IPCE RAS)

LEADING ORGANIZATION:

A. N. Nesmeyanov Institute of Organoelement  
Compounds of the Russian Academy of Sciences  
(INEOS RAS)

Notification of the date, time, and place of the thesis defense: December 16, 2020, at 12-30 at the  
meeting of the Dissertation Council D 002.222.01 in the N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry  
of the Russian Academy of Sciences located at 47 Leninsky prosp., 119991, Moscow.

The PhD Thesis are available in the Library of the N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry of the  
Russian Academy of Sciences and at the website <http://zioc.ru>.

The summary of the PhD Thesis was sent out on 27 October 2020.

Send your review of the PhD Thesis (in duplicate), stamped by the official seal, to the Scientific  
Secretary of the Dissertation Council of the ZIOC RAS at 47 Leninsky prosp., 119991 Moscow.

Scientific Secretary



of the Dissertation Council  
D 002.222.01 ZIOC RAS  
Doctor of Chemical Sciences

G. A. Gazieva

**Relevance of the research.** The development of methods for the design of fluorescent sensors for metal cations, inorganic and organic anions, and organic molecules is a topical issue of interdisciplinary research integrating the efforts of researchers in organic, analytical, and coordination chemistry and related areas, such as biology and medicine. Fluorescence methods are attractive due to their advantages over colorimetric or electrochemical methods, such as significantly lower limits of detection, higher selectivity, and reliability of the detection results.

Dual-mode fluorescent sensors based on fluorophores modified with two different receptor groups have attracted considerable attention in recent years. The simultaneous selective interaction of two analytes with such sensors is accompanied by the elimination of fluorescence quenching and, as a consequence, leads to a significant increase in the fluorescence intensity (the off-on principle). Dual fluorescent sensors are often considered as molecular logic gates and are classified according to Boolean logic gates. Due to the ability to detect the simultaneous presence of two types of analytes in solution, for example, of two different kinds of heavy metal cations, metal cations and anions or bioanalytes, these sensors are considered as promising tools for monitoring complex biological processes, pathological states in humans, and environmental impacts.

A rather large number of fluorophore and receptor groups were shown to be efficient as components of dual-mode fluorescent sensors. Naphthalene, quinoline, and their derivatives are most commonly used as fluorophores, and crown-based chelating agents are generally used as receptor groups. Meanwhile, functionalized 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (*BODIPY*) derivatives are poorly characterized because they are difficult to synthesize. The *BODIPY* exhibits unique spectral characteristics, in particular, high extinction coefficients in the UV region, sharp lines in fluorescence spectra, relatively high quantum yields, stability at physiological pH values, and chemical inertness. Besides, *BODIPY* is a promising platform for the development of dual-mode sensors, because the fluorescence properties of the dye can be controlled by the introduction of receptor groups at the structurally important positions 3 and 8 of the fluorescent scaffold. Hence, the development of methods for the synthesis of *BODIPY*-based dyes containing two different receptor groups and investigation of their spectral properties would provide better understanding of the principles of operation and application of dual-mode fluorescent sensors. The synthetic accessibility, high selectivity, and chemical stability are key criteria for the selection of receptor groups.

**Research objectives.** (1) The development and accomplishment of the synthesis of *BODIPY*-based dual-mode sensors, which are of interest for the detection of the simultaneous presence of two different

kinds of metal cations in solution. (2) The investigation of the possibility of designing *BODIPY*-based dual-mode sensors for the detection of two different bioanalytes, in particular hydrosulfide anions, reactive oxygen species, and heavy metal cations, in solution.

**Scientific novelty.** A wide range of previously unknown *BODIPY*-based dyes containing pseudo-crown moieties were synthesized. The introduction of the 2-((2-(2-acetoxyethoxy)ethyl)amino)ethylacetate group at the *meso* position of the *BODIPY* core through a phenyl linker proved to be efficient for the design of an off-on fluorescent sensor for  $\text{Al}^{3+}$  cations, whereas the functionalization of this position with the 2,2'-bis(amino)ethan-1-ol moiety through a methylene linker gave an off-on sensor for  $\text{Cu}^{2+}$  cations. It was demonstrated for the first time that the dipicolylamine derivative of *BODIPY* can be used for the selective detection of  $\text{Zn}^{2+}$  in aqueous media and for the visualization of the  $\text{Zn}^{2+}$  distribution in plant tissues. The previously unknown off-on dual *BODIPY*-based sensor efficient for the detection of the simultaneous presence of  $\text{Al}^{3+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  in solution was synthesized using pseudo-crown and dipicolylamine chelating groups. Methods were developed for the synthesis of previously unknown *BODIPY* derivatives bearing chelating and/or reactive groups sensitive for cancer cell hypoxia and reactive towards different bioanalytes, including S-nucleophiles, reactive oxygen species, and  $\text{Hg}^{2+}$ . A off-on dual-mode sensor was designed by the introduction of vinyl and 2,4-dinitrobenzenesulfonyl substituents at the terminal OH groups of bis-phenol-*BODIPY*. This sensor allows the monitoring of the successive appearance of  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{HS}^-$  in solution.

**Theoretical and practical significance of the work.** The relationship between the structure of *BODIPY*-based dyes containing pseudo-crown moieties and their selectivity for metal cations was systematically studied for the first time by UV and fluorescence spectroscopy. Polyphenol-substituted *BODIPY*-based dyes were shown to be a promising universal platform for the development of fluorescent sensors for different bioanalytes. New off-on single-mode fluorescent sensors selective for  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , and  $\text{SO}_3^{2-}$ , in particular under physiological conditions, were proposed. Dual *BODIPY*-based sensors were designed, capable of detecting the simultaneous presence of  $\text{Al}^{3+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  in solution and the successive appearance of  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{HS}^-$  in solution.

**Personal contribution of the author.** The author performed a systematic analysis of the literature data, accomplished the syntheses, analyzed the compositions of the reaction mixtures and structures of the reaction products (by NMR and IR spectroscopy and mass spectrometry), interpreted the experimental data, prepared materials for publication, and presented results at conferences.

**Reliability and approbation of the research results.** The research results can be considered as reliable because experimental studies and analytical investigations were performed using modern and

certified equipment and instruments providing highly accurate data. The compositions and structures of the compounds considered in the work were confirmed by  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ , and  $^{11}\text{B}$  NMR spectroscopy, elemental analysis, high-resolution mass spectrometry (HRMS), and IR spectroscopy. Modern systems for the collection and processing of scientific and technical information, such as the on-line databases Reaxys (Elsevier), SciFinder (CAS), and Web of Science (Thomson Reuters), were used and full texts of papers and books were analyzed.

The main results of the work were presented at Russian and international conferences and congresses: the International Scientific Youth Forum “Lomonosov-2017”, Innovations in Chemistry/Organic Chemistry (Moscow, Russia, 2017), the I Russian National School-Conference for Young Scientists “Advances in Synthesis and Complexing” (Moscow, Russia, 2017), the International Conference "Organic & Hybrid Functional Materials and Additive Technologies" (Moscow, Russia, 2018), the Winter School on Organic Chemistry WSOC-2019 (Moscow, Russia, 2019), the Fifth International Scientific Conference “Advances in Synthesis and Complexing” (Moscow, Russia, 2019), and the VIII Youth Conference of ZIOC RAS (Moscow, Russia, 2019).

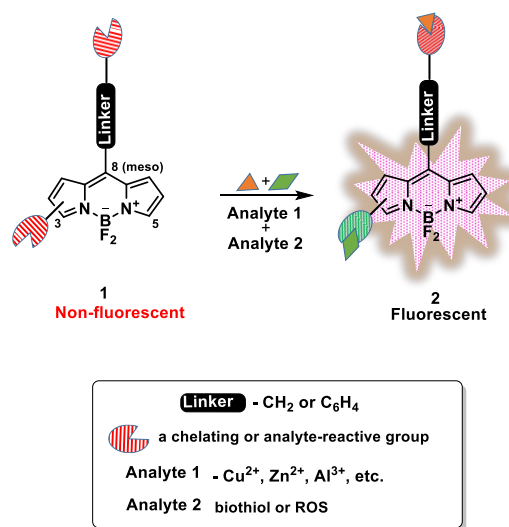
**Publications on the thesis topic.** The main results of the works were reported in 3 papers in peer-reviewed journals included in the list of the Higher Attestation Commission of the Russian Federation and in 8 presentations at Russian and international conferences.

**Thesis structure and volume.** The work consists of the introduction, the literature review devoted to *BODIPY*-based molecular-logic gates, the discussion of results, the experimental section, conclusions, the list of designations and abbreviations, and references. The PhD thesis is 185 typewritten pages long and includes 2 tables, 94 figures, and 5 schemes. The bibliography includes 164 references.

**Acknowledgements.** I would like to express my sincere gratitude to my co-supervisors PhD Yulia Alekseevna Volkova for her collaborative efforts, valuable advice, recommendations on this dissertation, guidance, and consistent support, PhD Natalya Georgievna Kolotyrkina for recording high-resolution mass spectra (HRMS), PhD Ilya Evgenievich Zlobin for performing biological assays, PhD Aleksei Mikhailovich Shcherbakov for performing biological assays, Tatyana Andreevna Tikhonova for recording NMR spectra, and Mikhail Aleksandrovich Kozlov for valuable advice and recommendations during the running of this project. Finally, I would like to thank the Head of the PhD Department, PhD Irina Vasilievna Vesela for help, advice, and support.

## Main content of the work

The goal of the work was to develop *BODIPY*-based dual-mode sensors. A combination of the *BODIPY* fluorophore and two receptor groups inducing fluorescence quenching of the *BODIPY* core in the free state, *i.e.*, in the state unbound to the analyte species, in one molecule is a general principle for the development of such sensors. The simultaneous selective interaction of such sensors with two different detectable species (analytes) could be accompanied by the complete elimination of fluorescence quenching and, as a consequence, lead to a significant increase in the fluorescence intensity (the off-on principle). It was of interest to study heavy metal cations and various bioanalytes (biothiols, reactive oxygen species (ROS), and enzymes) as analytes.



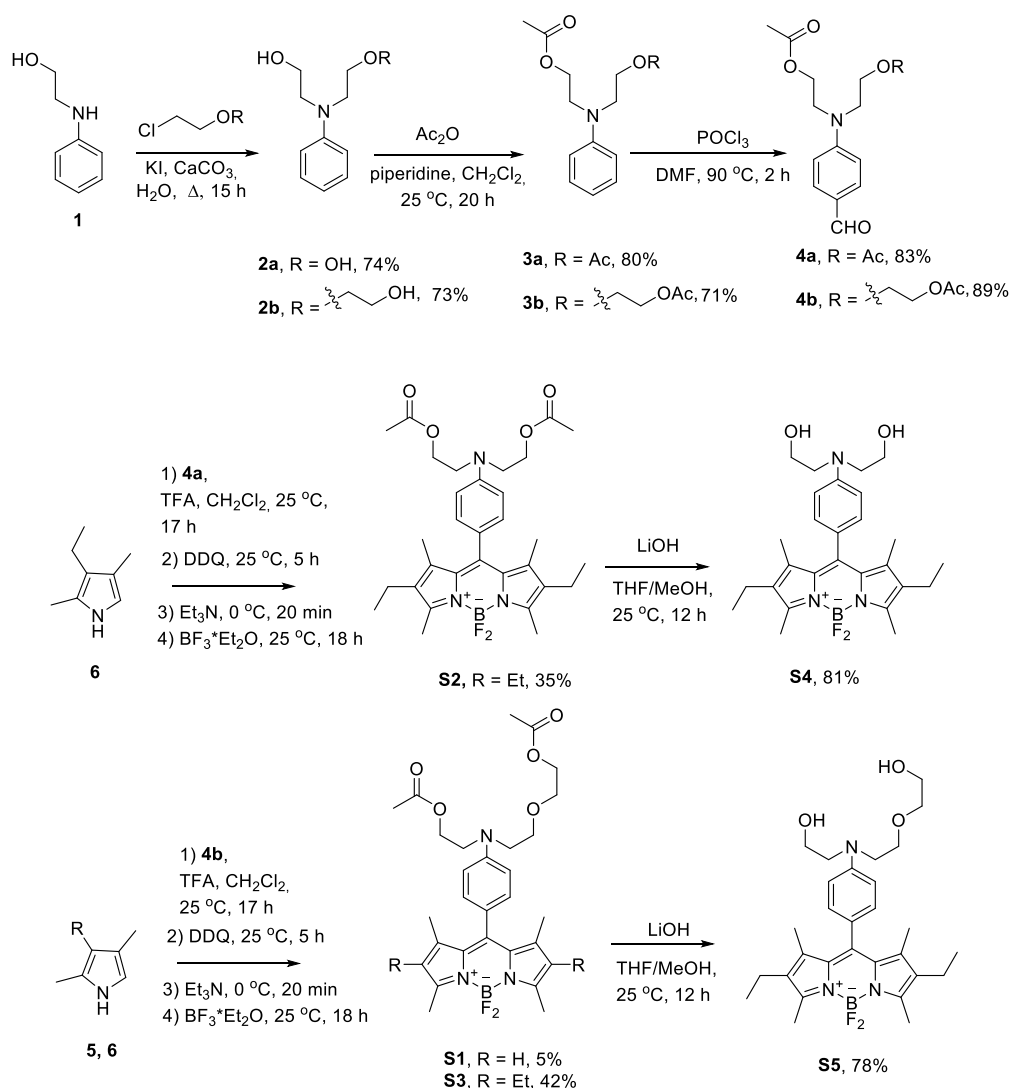
**Figure 1.** Design of a *BODIPY*-based dual-mode sensor.

### 1. Development of sensors for the detection of heavy metal cations

#### 1.1. Development of an off-on single-mode fluorescent sensor for Al<sup>3+</sup> cations

We performed a multistep synthesis of previously unknown compounds **S1**, **S2**, **S3**, **S4**, and **S5**, which exhibit selectivity for Al<sup>3+</sup> and act as *BODIPY* dyes modified at the *meso* position of the scaffold with pseudo-crown moieties (Scheme 1).

In the first step, substituted benzaldehydes **4a** and **4b** were synthesized as the main reagents for the introduction of the pseudo-crown moieties, such as [(2-(2-acetoxyethoxy)ethyl)(2-acetoxyethyl)]amino and bis(2-acetoxyethyl)amino groups, into the *BODIPY* fluorophore. Diols **2a** and **2b** were synthesized by the S<sub>N</sub><sup>2</sup> substitution reaction of *N*-(2-hydroxyethyl)aniline with 2-(2-chloroethoxy)ethanol. Acetate protecting groups were introduced at the terminal OH groups of compounds **2a** and **2b** by the reaction with acetic anhydride in pyridine. The Vilsmeier–Haack formylation at the *para* position of compounds **3a** and **3b** afforded target aldehydes **4a** and **4b** in 83% and 89% yields, respectively.

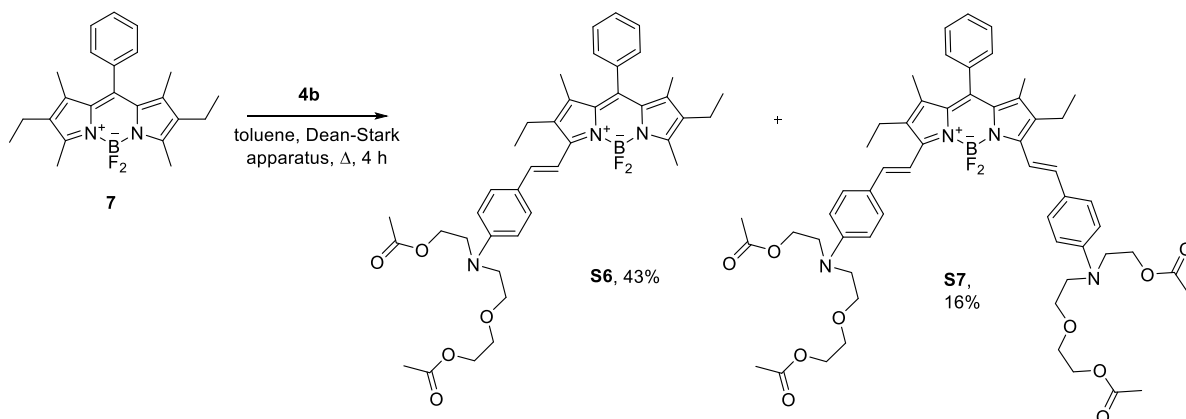


**Scheme 1.** Synthesis of compounds **S1**–**S5**.

Compounds **S1**, **S2**, and **S3** were synthesized by the one-pot condensation of aldehydes **4a** and **4b** with pyrroles **5** and **6** in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  using the sequential treatment with trifluoroacetic acid (TFA), 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ), trimethylamine, and boron trifluoride etherate. The hydrolysis of acetate groups of compounds **S2** and **S3** in the presence of LiOH gave products **S4** and **S5** bearing free terminal hydroxy groups in 81% and 78% yields, respectively.

In the next step, in order to study the structure–chelating property relationship, we synthesized compounds **S6** and **S7**, in which the pseudo-crown [(2-(2-acetoxyethoxy)ethyl)(2-acetoxythyl)]amino group was introduced at the positions 3 and 5 of the *BODIPY* core through a styrene linker (Scheme 2). It was expected that the change in the position of the chelating group and the nature of the linker would change the quenching mechanism of the fluorophore (from PET to ICT), which, in turn, would lead to a change in the photophysical properties and selectivity of the sensor for metal cations.

Hence, 3-substituted derivative **S6** and 3,5-disubstituted derivative **S7** were synthesized as the major and minor products in 43% and 16% yields, respectively, by the Knoevenagel condensation of aldehyde **4b** with *BODIPY* **7**.



**Scheme 2.** Synthesis of compounds **S6** and **S7**.

## 1.2. Study of photophysical properties of compounds **S1**, **S3**, **S5**, **S6**, and **S7** and their ability to detect $\text{Al}^{3+}$ cations

Photophysical properties of compounds **S1–S7** were evaluated in MeCN. The results are summarized in Table 1.

Photophysical properties of compounds **S1**, **S3**, **S5**, **S6**, and **S7** were studied in the presence of metal cations. It was shown that compound **S1** containing the 2,6-*H-BODIPY* core and compound **S5**, which does not contain acetyl groups in the chelating moiety, are inefficient in the detection of  $\text{Al}^{3+}$ . These compounds were not selective for  $\text{Al}^{3+}$  in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , and  $\text{Cr}^{3+}$  cations and showed moderate fluorescence response. Compound **S3** proved to be the most promising sensor for the detection of  $\text{Al}^{3+}$  in solution (Table 1). Compounds **S6** and **S7** showed weaker enhancement of the fluorescence intensity compared to **S3**.

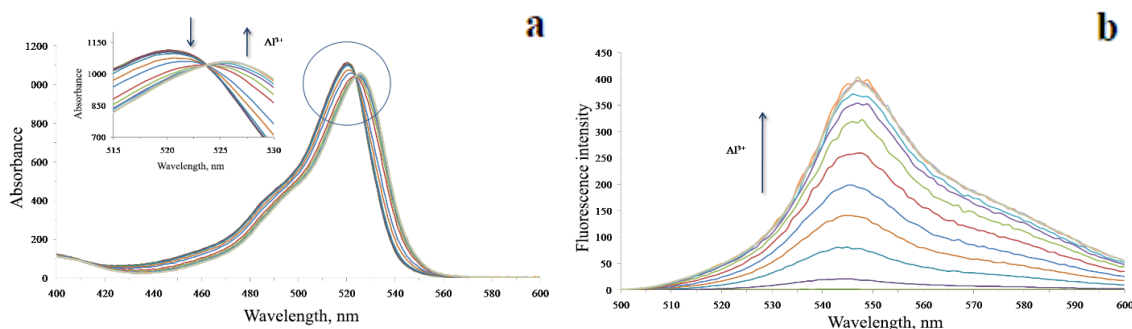
**Table 1.** Photophysical properties of compounds **S1–S7**.<sup>a,b</sup>

| Sensor    | $\lambda_{\text{abs}}$<br>[nm] | $\epsilon$ [ $\text{M}^{-1}$<br>$\text{cm}^{-1}$ ] | $\lambda_{\text{em}}$<br>[nm] | $\Phi$ <sup>[b]</sup><br>[%] | Stokes<br>shift<br>[ $\text{cm}^{-1}$ ] |
|-----------|--------------------------------|--|-------------------------------|------------------------------|---|
| <b>S1</b> | 498                            | 81200  | 514                           | <0.1                         | 625                                     |
| <b>S3</b> | 517                            | 93200  | 547                           | <0.1                         | 1061                                    |
| <b>S5</b> | 521                            | 100000   | 544                           | <0.1                         | 801                                     |
| <b>S6</b> | 613                            | 70000  | 688                           | 9.5                          | 1779                                    |
| <b>S7</b> | 706                            | 33000  | 762                           | 3.6                          | 1047                                    |

<sup>[a]</sup> The spectra were recorded in  $\text{CH}_3\text{CN}$  at 298 K. <sup>[b]</sup> Quinine

sulfate was used as the reference,  $\Phi = 0.55$  in 0.1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 310$  nm. All  $\Phi_{\text{em}}$  values were corrected taking into account the changes in the refractive index.

The intensity of the absorption maximum gradually decreased with the addition of  $\text{Al}^{3+}$  to a 15  $\mu\text{M}$  **S3** solution in MeCN accompanied by the formation of a new bathochromically shifted band at 527 nm. An isobestic point was observed at 524 nm (Figure 2a).



**Figure 2.** Absorption spectra (a) and emission spectra (b) of a 15  $\mu\text{M}$  **S3** solution in MeCN at different  $\text{Al}^{3+}$  (4.5–15.0  $\mu\text{M}$ ), ( $\lambda_{\text{ex}} = 504$  nm).

The addition of  $\text{Al}^{3+}$  to a 15  $\mu\text{M}$  **S3** solution in MeCN ( $\lambda_{\text{ex}} = 504$  nm) led to the elimination of fluorescence quenching due to coordination of  $\text{Al}^{3+}$  with an pseudo-crown group, and the **S3** solution exhibited intense fluorescence (Figure 2b). The fluorescence emission maximum of the complex of **S3** with  $\text{Al}^{3+}$  appeared at 547 nm. The fluorescence enhancement was observed by the naked eye. The quantum yield  $\Phi$  of the complex was 0.18. The Job's plot experiment confirmed the formation of a 1 : 1 complex between compound **S3** and  $\text{Al}^{3+}$ . The association constant ( $K_s$ ), which was determined by titration experiments of **S3** with an  $\text{Al}^{3+}$  solution, was  $3.2 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$ . The limit of detection for  $\text{Al}^{3+}$  using **S3** was 3.8  $\mu\text{M}$ , which is indicative of a high sensitivity of the sensor.

The fluorescence response of **S3** was studied in the presence of different metal cations in order to evaluate the selectivity of this compound for  $\text{Al}^{3+}$ . Significant spectral changes for sensor **S3** were observed only with  $\text{Al}^{3+}$ . Thus, the addition of  $\text{Al}^{3+}$  to sensor **S3** caused a 1200-fold increase in the fluorescence intensity. Under the same conditions, the addition of  $\text{Cr}^{3+}$  led to only a 90-fold fluorescence enhancement. Other cations, such as  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ , and  $\text{Ba}^{2+}$ , had no effect on the emission spectra of compound **S3**.

Therefore, we synthesized and characterized five new *BODIPY*-based off-on sensors substituted with pseudo-crown groups. Investigations showed that dye **S3** with the 2,6-Et-*BODIPY* core can be considered as an off-on fluorescent sensor selective for  $\text{Al}^{3+}$  cations.

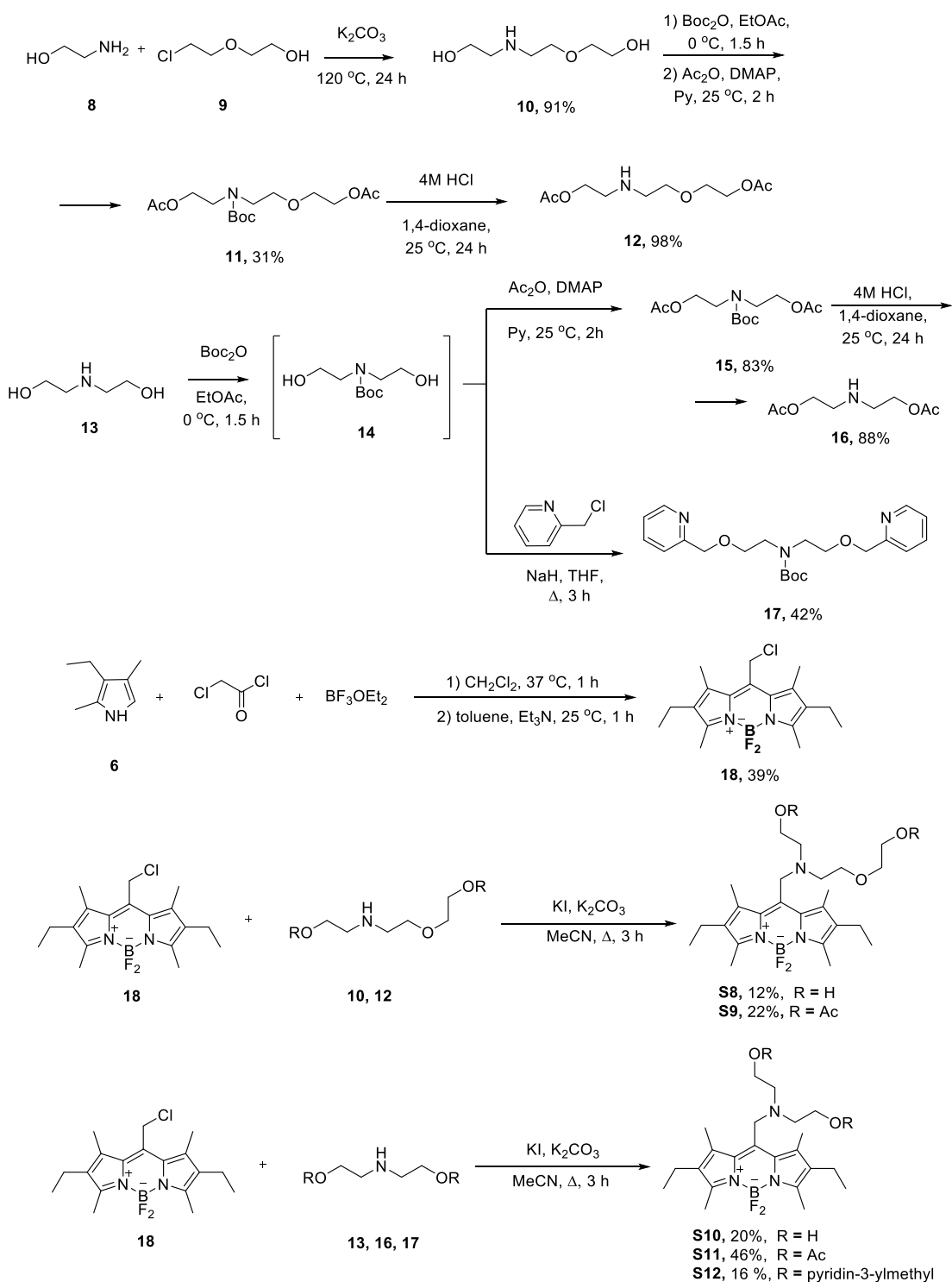
### 1.3. Development of an off-on fluorescence sensor for Cu<sup>2+</sup> cations

In the next step of the work, efforts were focused on designing compounds, in which a pseudo-crown group was introduced at the *meso* position of the *BODIPY* core through a methylene linker. It was expected that the selectivity of the sensors could be significantly changed with a decrease in the linker length due to steric hindrance to the coordination of metal ions with a receptor group caused by the fluorescent core.

We performed a multistep synthesis of previously unknown compounds **S8**, **S9**, **S10**, **S11**, and **S12**, serving as *BODIPY* dyes modified at the *meso* position of the scaffold with pseudo-azacrown groups through a CH<sub>2</sub> linker (Scheme 3). The condensation of ethanolamine (**8**) with 2,2-chloroethoxyethane (**9**) afforded diol **10**. Then compound **10** was successively treated with di-*tert*-butyl carbonate and acetic anhydride, resulting in the Boc protection of the nitrogen atom and the acetate protection of the hydroxy group. The Boc protection of compound **11** was removed by the treatment with hydrochloric acid in 1,4-dioxane at room temperature. This synthesis gave chelating agent **12** in 27% overall yield over three steps.

Then symmetric chelating groups **16** and **17** were synthesized. The treatment of diol **13** with di-*tert*-butyl carbonate in ethyl acetate afforded compound **14**. The latter compound was reacted *in situ* with acetic anhydride giving product **15** in 83% yield. Compound **15** was Boc-deprotected by the treatment with hydrochloric acid in dioxane at room temperature, resulting in the formation of chelating agent **16** in 88% yield. The heating of diol **14** with 2-(chloromethyl)pyridine in tetrahydrofuran at reflux produced chelating group **17** known in the literature as selective for Hg<sup>2+</sup> ions.





**Scheme 3.** Synthesis of target compounds **S8–S12**.

8-Chloromethyl *BODIPY* **18** required for the synthesis was prepared in 39% yield by the sequential condensation of cryptopyrrole (**6**) with chloroacetyl chloride and the complexation of the resulting dipyrromethene with boron trifluoride etherate. The nucleophilic substitution between Cl-*BODIPY* **18** and chelating agents **10**, **12**, **13**, **16**, and **17** gave compounds **S8–S12** in 16–46% yields.

#### 1.4. Study of photophysical properties of compounds **S8–S12** and their ability to detect $\text{Cu}^{2+}$

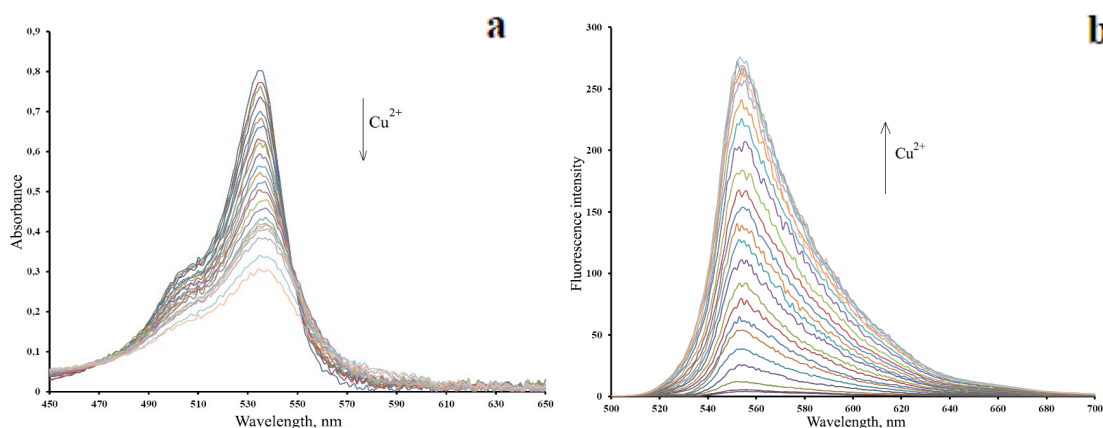
The absorption and emission spectra of compounds **S8–S12** were recorded in dry MeCN (water content less than 5%) at room temperature. The photophysical data are given in Table 2.

**Table 2.** Photophysical properties of compounds **S8–S12**.<sup>a,b</sup>

| Sensor     | $\lambda_{\text{abs}}$<br>[nm] | $\epsilon$ [ $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ] | $\lambda_{\text{em}}$<br>[nm] | $\Phi$ [ $\%$ ] <sup>[b]</sup> | Stokes<br>shift<br>[ $\text{cm}^{-1}$ ] |
|------------|--------------------------------|---|-------------------------------|--------------------------------|---|
| <b>S8</b>  | 535                            | 61900   | 556                           | 1.2                            | 708                                     |
| <b>S9</b>  | 537                            | 74500   | 557                           | 0.6                            | 668                                     |
| <b>S10</b> | 534                            | 53600   | 556                           | 1.1                            | 741                                     |
| <b>S11</b> | 537                            | 73800   | 555                           | 2.9                            | 663                                     |
| <b>S12</b> | 534                            | 60600   | 555                           | 1.2                            | 708                                     |

<sup>[a]</sup> The spectra were recorded in  $\text{CH}_3\text{CN}$  at 298 K. <sup>[b]</sup> Quinine sulfate was used as the reference,  $\Phi = 0.55$  in 0.1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 310$  nm. All  $\Phi_{\text{em}}$  values were corrected taking into account the changes in the refractive index.

The effect of different metals on the photophysical properties of the synthesized dyes **S8–S12** was studied. The investigation of compounds **S8**, **S9**, and **S11** demonstrated that they were not selective for  $\text{Cu}^{2+}$  in the presence of  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , and  $\text{Cr}^{3+}$ . On the contrary, compound **S10**, which was synthesized using 2,2'-bis(amino)ethan-1-ol, as the chelating group, showed promise for the selective detection of  $\text{Cu}^{2+}$  due to fluorescence enhancement. The absorption spectrum of a **S10** solution remained unchanged with the addition of  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ , and  $\text{Ba}^{2+}$ . Upon the addition of  $\text{Cu}^{2+}$  to a 15  $\mu\text{M}$  **S10** solution in MeCN, the intensity of the absorption maximum gradually decreased, and the bathochromically shifted band with a maximum at 547 nm appeared (Figure 3). Upon the binding of  $\text{Cu}^{2+}$ , the molar absorption coefficient changed from 53 000 to 26 000  $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ .



**Figure 3.** Absorption spectra (a) and emission spectra (b) of a 15  $\mu\text{M}$  **S10** solution in MeCN at different  $\text{Cu}^{2+}$  (0–2.0 equiv.), ( $\lambda_{\text{ex}} = 515$  nm).

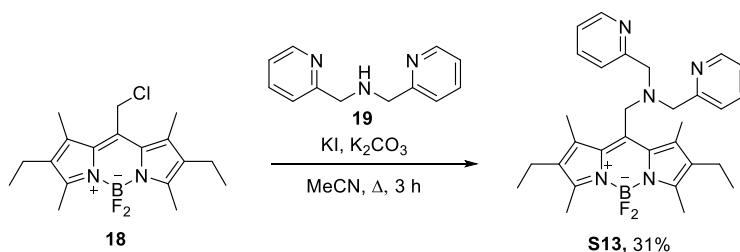
The fluorescence properties of a solution of sensor **S10** significantly changed in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ . The addition of one equivalent of  $\text{Cu}^{2+}$  was found to enhance the fluorescence intensity of **S10** (Figure 3b) (from  $\Phi = 1.1\%$  for **S10** to  $\Phi = 14\%$  for the complex of **S10** with  $\text{Cu}^{2+}$  ions). The addition of other metal cations ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ , and  $\text{Ba}^{2+}$ ) did not cause changes in the emission intensity even when used in a 10-fold excess.

Therefore, it was shown that the nature of the linker between the *BODIPY* fluorophore core and chelating groups has a significant effect on the selectivity of complexation with metal cations. In particular, a 2,2'-bis(amino)ethan-1-ol-based off-on fluorescent sensor for  $\text{Cu}^{2+}$  was proposed.

### 1.5. Development of an off-on fluorescent sensor for $\text{Zn}^{2+}$ cations

Fluorescent sensors based on di(2-picoly)amine derivatives (DPA) show high potential for the detection of  $\text{Zn}^{2+}$ . Hence, we synthesized the previously unknown compound **S13** with the 2,6-ethyl-*BODIPY* scaffold, which was modified with DPA at the *meso* position using a methylene linker (Scheme 4).

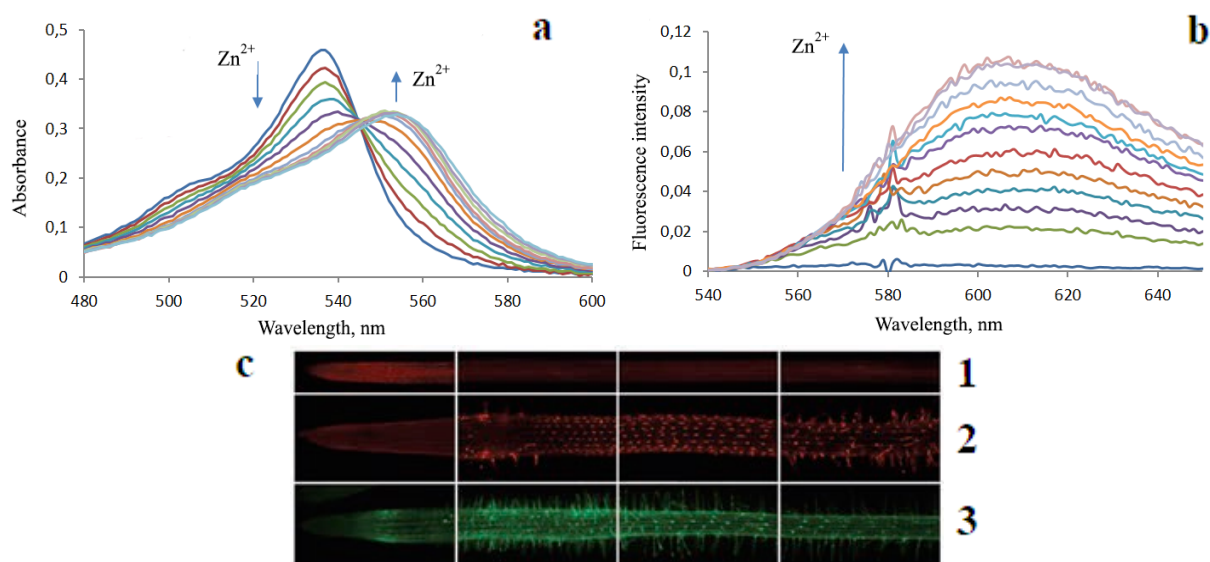
Compound **S13** was synthesized from *meso*- $\text{CH}_2\text{-Cl}$ -*BODIPY* **18** by the condensation with dipicolylamine (**19**). After the purification by column chromatography, product **S13** was obtained in 31% yield.



**Scheme 4.** Synthesis of compound **S13**.

The emission and absorption spectra of compound **S13** were recorded in dry MeCN. The free sensor was characterized by the main absorption maximum at 538 nm and an additional maximum at 506 nm. Compound **S13** was shown to have a high extinction coefficient ( $\epsilon = 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). The quantum yield of free sensor **S13** was 0.06 (MeCN/ $\text{H}_2\text{O}$ , 1 : 3), which is indicative of efficient fluorescence quenching *via* the PET mechanism involving the lone pair of the amine nitrogen atom.

The addition of  $\text{Zn}^{2+}$  to a **S13** solution led to significant changes in the absorption and fluorescence spectra. The absorption maximum of the complex of **S13** with  $\text{Zn}^{2+}$  was shifted to longer wavelengths up to 556 nm. The addition of one equiv. of  $\text{Zn}^{2+}$  to the solution caused a 21-fold fluorescence enhancement at 610 nm (Figure 4).



**Figure 4.** Absorption spectra (a) and emission spectra (b) of a 10 μM **S13** solution in MeCN at different Zn<sup>2+</sup> (0–1.1 equiv.), ( $\lambda_{\text{ex}} = 580 \text{ nm}$ ). (c) The staining of roots of *Brassica napus L.* treated with (1) **S13** (control), (2) **S13** and Zn<sup>2+</sup>, (3) and the sensor Newport Green™ DCF and Zn<sup>2+</sup>.

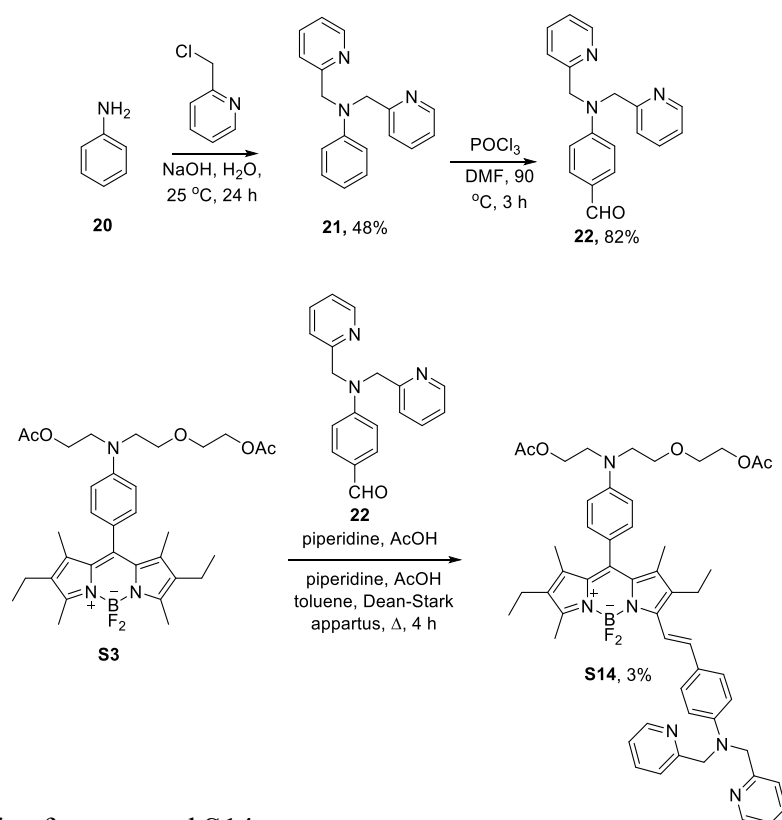
The addition of Li<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> cations to a solution of sensor **S13** in MeCN did not cause changes in the fluorescence intensity. When bound to **S13**, transition metal cations, such as Fe<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup>, showed insignificant fluorescence enhancement. The Ni<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> ions caused complete fluorescence quenching.

The ability of sensor **S13** to selectively bind zinc ions *in vivo* was demonstrated in studies using roots of *Brassica napus* (Figure 4c). The sensor showed significant diffuse staining of the root cells. The treatment of the roots, which were grown within three days in the presence of excess Zn<sup>2+</sup> (250 μM), with a sensor solution resulted in bright staining accompanied by the clearly visible cytoplasmic accumulation of the metal. A comparison of the root staining with sensor **S13** and the commercial probe Newport Green™ revealed advantages of **S13**. Thus, sensor **S13** produced lower background staining of tissues and had higher photostability. Therefore, **S13** can be used to detect zinc excess in plant roots with high specificity.

### 1.6. Development of an off-on dual-mode fluorescent sensor for Al<sup>3+</sup> and Zn<sup>2+</sup> cations

In order to prepare dual-mode sensors for metal cations, we studied the possibility of modifying single-mode sensors **S10** and **S13** at the position 3 of the *BODIPY* molecule with a chelating group. Due to their lability, attempts to synthesize dual-mode sensors based on compounds **S10** and **S13** failed. Meanwhile, we synthesized dual-mode sensor **S14** (Scheme 5) containing the dipicolylamine moiety at the position 3 in three steps starting from compound **S3** and aniline (**20**). The treatment of

aniline **20** with chloromethylpyridine afforded derivative **21**. The Vilsmeier–Haack formylation of the latter gave aldehyde **22**. The condensation of **22** with compound **S3** at reflux in dry toluene using a Dean-Stark apparatus was accompanied by the formation of target **S14**. After column chromatography, compound **S14** was isolated in 3% yield.



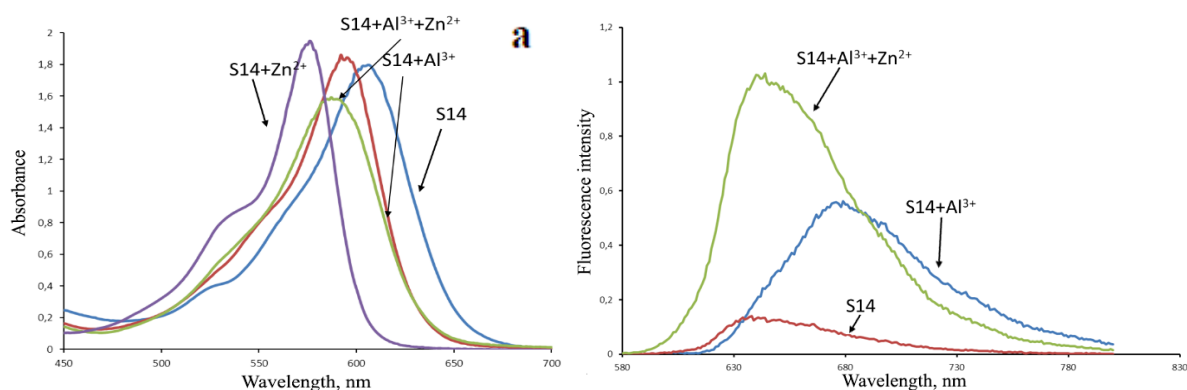
**Scheme 5.** Synthesis of compound **S14**.

### 1.7. Study of photophysical properties of compound **S14**

Compound **S14** had a high molar extinction coefficient ( $\epsilon = 94000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). The fluorescence spectrum of **S14** showed a broad emission band with low intensity at 678 nm. The quantum yield of the free sensor, calculated in MeCN, was  $\Phi \leq 0.15\%$ . The addition of one equiv. of  $\text{Zn}^{2+}$  and one equiv. of  $\text{Al}^{3+}$  to a  $15 \mu\text{M}$  **S14** solution in MeCN was accompanied by the formation of new absorption bands shifted to 575 and 595 nm, respectively (Figure 5a). In the simultaneous presence of  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  in a solution of **S14**, an absorption band appeared at 586 nm, which is indicative of the simultaneous binding of compound **S14** to one equiv. of  $\text{Zn}^{2+}$  and one equiv. of  $\text{Al}^{3+}$ .

The ability of compound **S14** to detect  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  by fluorescence response was studied at an excitation wavelength of 580 nm (Figure 5b). Unexpectedly, the addition of one equiv. of  $\text{Zn}^{2+}$  to a 15

$\mu\text{M}$  **S14** solution in MeCN led to complete fluorescence quenching. The addition of one equiv. of  $\text{Al}^{3+}$  to a  $15 \mu\text{M}$  **S14** solution in MeCN resulted in the elimination of fluorescence quenching due to coordination of  $\text{Al}^{3+}$  with an amino group, and the **S14** solution exhibited red fluorescence. The fluorescence band of  $\text{Al}^{3+}$ -bound sensor **S14** was shifted to shorter wavelengths ( $\lambda_{\text{em}} = 650 \text{ nm}$ ) with respect to the free sensor. The maximum fluorescence enhancement of the solution of sensor **S14** was observed only in the simultaneous presence of one equiv. of  $\text{Zn}^{2+}$  and one equiv. of  $\text{Al}^{3+}$ . This fact confirms the simultaneous coordination of  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  with different chelating groups of compound **S14**.



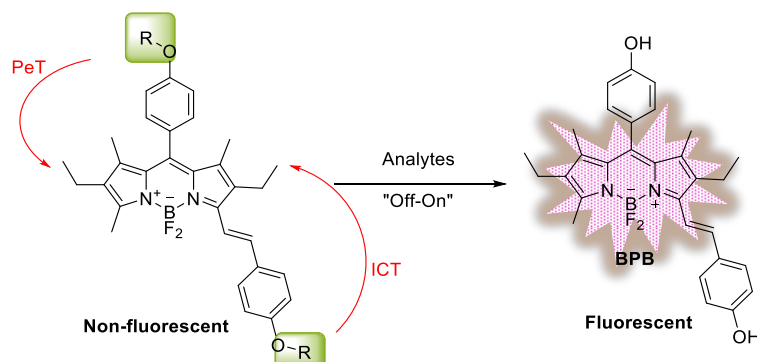
**Figure 5.** Absorption spectra (a) and emission spectra (b) of a  $15 \mu\text{M}$  **S14** solution in MeCN in the presence of  $\text{Zn}^{2+}$  (1 equiv.) and  $\text{Al}^{3+}$  (1 equiv.) ions and in the simultaneous presence of  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  (1 equiv.).

Hence, we designed a new *BODIPY*-based off-on dual-mode sensor efficient for the detection of the simultaneous presence of  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  in solution.

## 2. Development of polyphenol-substituted *BODIPY*-based sensors

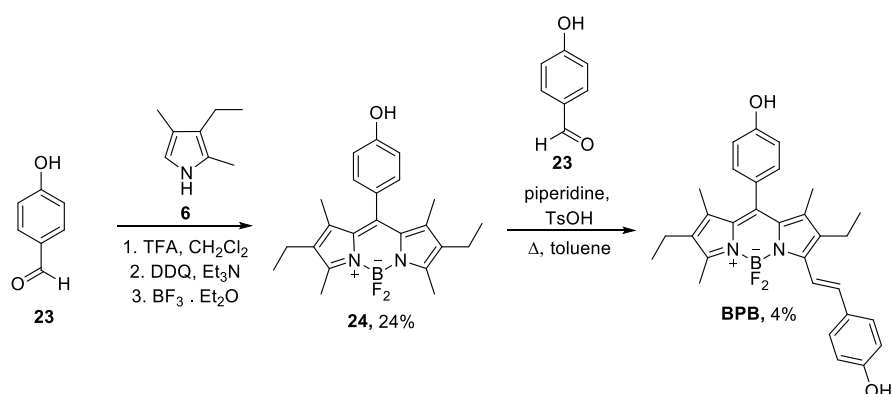
Another important line of research in organic chemistry is the development of fluorescent sensors for the selective simultaneous detection of a number of important bioanalytes, such as biothiols, reactive oxygen species (ROS), and enzymes associated with the hypoxic state of cells. We suggested that (*E*)-4-(2-(2,8-diethyl-5,5-difluoro-10-(4-hydroxyphenyl))-2,6-diethyl-4,4-difluoro-1,7-dimethyl-4-phenyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (**BPB**) can be used as a universal platform for the development of chemosensors for detection of bioanalytes. This compound **BPB** is characterized by a fluorescence quantum yield  $\Phi$  close to 100% with an emission maximum at 600 nm [in phosphate buffer (PB) + 50% EtOH]. The absorption maxima of **BPB** appear at 335 and 583 nm and have extinction coefficients  $\epsilon$  of 22 300 and 66 250  $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ , respectively. Two different fluorescence

quenching mechanisms (ICT and PET) can be implemented in the design of **BPB**-based dual-mode sensors due to the presence of two terminal hydroxy groups at the positions 8 and 3 of the fluorescent core. The introduction of reactive sensor groups at phenolic oxygen atoms can lead to fluorescence quenching of the core. Hence, the oxygen atoms can be used as targeted modification sites (Figure 6).



**Figure 6.** Scheme of operation of a **BPB**-based dual-mode sensor.

The synthesis of **BPB** is presented in Scheme 6. In the first step, *BODIPY* fluorophore **24** was synthesized by the condensation of *para*-hydroxybenzaldehyde (**23**) and cryptopyrrole (**6**) followed by the treatment with DDQ and  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , respectively. Free bis-phenol **BPB** fluorophore was synthesized by the Knoevenagel condensation with *para*-hydroxybenzaldehyde (**23**).

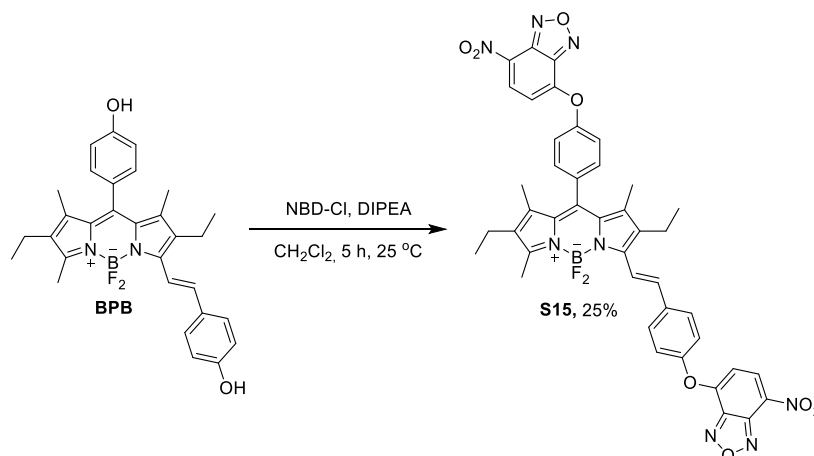


**Scheme 6.** Synthesis of **BPB** fluorophore.

## 2.1. Development of a **BPB**-based off-on single-mode fluorescent sensor for the detection of $\text{SO}_3^{2-}$

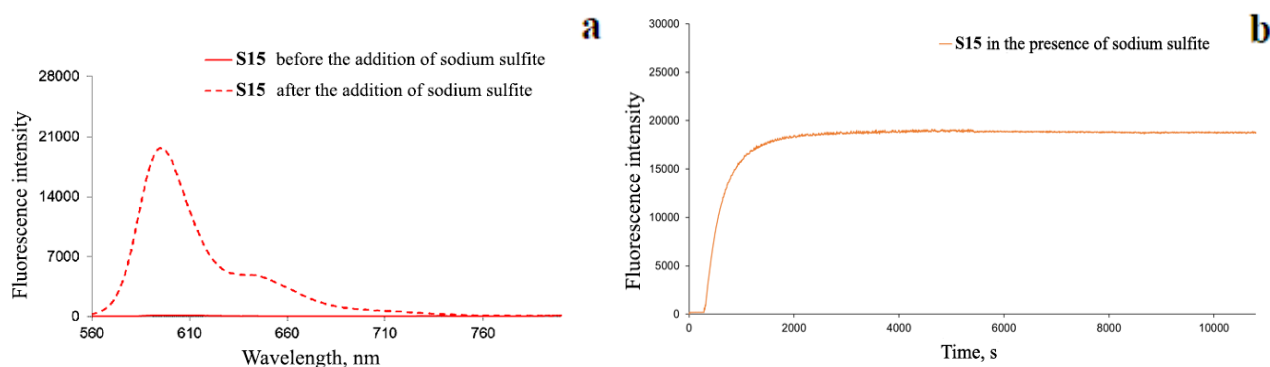
First, we evaluated the potential of fluorogenic **BPB** for the development of fluorescent sensors promising for the detection of one analyte. To prove this concept, we studied the spectral properties and fluorogenic reactivity of compound **S15** bearing two NBD moieties (7-nitro-1,2,3-benzoxazole groups reactive towards S-nucleophiles, in particular  $\text{SO}_3^{2-}$ ).

Sensor **S15** was synthesized by the O-arylation of bis-phenol **BPB** with NBD chloride (NBD-Cl). The reaction was performed in dry  $\text{CH}_3\text{CN}$  in the presence of DIPEA (Scheme 7).



**Scheme 7.** Synthesis of compound **S15**.

As expected, compound **S15** bearing two NBD moieties was non-fluorescent. Compound **S15** gave an absorption maximum at 590 nm (10 mM PB + 50 % EtOH, 25 °C),  $\epsilon = 31800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . The highest fluorescence enhancement was observed after the activation of chemosensor **S15** with  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . Figure 7a shows the superposition of the emission spectra (the excitation wavelength was 540 nm) of a **S15** solution before and after the activation with  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5 equiv., incubation for 3 h in PB + 50% EtOH at 25°C). The addition of  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  led to a *ca.* 25-fold increase in the fluorescence intensity of **S15** at 600 nm (fluorescence activation was completed within 18 min, see Figure 7b), which indicates that sensor **S15** can be used for the off-on detection of sulfite.



**Figure 7.** (a) Emission spectra of solution **S15** (0.25  $\mu\text{M}$ ) in PB + 50% EtOH before and after the incubation with  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5 equiv.) ( $\lambda_{\text{ex}} = 540 \text{ nm}$ ). (b) The time dependence of the fluorescence intensity of solution **S15** (0.25  $\mu\text{M}$ ) in PB + 50% EtOH after the addition of  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5 equiv.), ( $\lambda_{\text{ex}} = 540 \text{ nm}$ ).



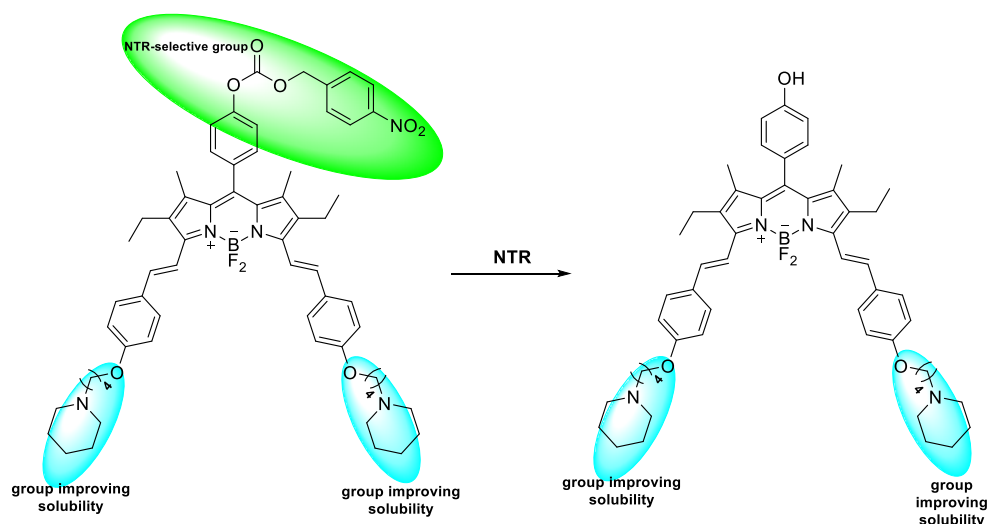
The selectivity and the dependence of the activation time of sensor **S15** for different S-nucleophiles were investigated. Analytes, including HS<sup>-</sup>, cysteine (Cys), glutathione (GSH), and benzenesulfinic acid, were added in an amount of one equivalent to a solution of sensor **S15** in PB + 50% EtOH. The most significant changes in the emission spectrum of the sensor were observed after the addition of SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. The addition of HS, Cys, and GSH led to a 15–20-fold increase in the fluorescence intensity, but the reaction was much slower (*ca.* 2 h) (Figure 8).

**Figure 8.** Dependence of the activation time of sensor **S15** ( $\lambda_{\text{ex}} = 540$ ) with different sulfur-containing compounds in PB + 50% EtOH at 25 °C.

Therefore, sensor **S15** clearly demonstrated the potential of the bis-phenol fluorogenic **BPB** scaffold for the design of fluorescent sensors for the low-background detection of S-nucleophiles. The limit of detection for SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> was  $1.4 \times 10^{-9}$  M, which is indicative of high sensitivity of the sensor.

## **2.2. Development of a water-soluble tris-phenol-*BODIPY*-based fluorescent sensor for the detection of cancer cell hypoxia**

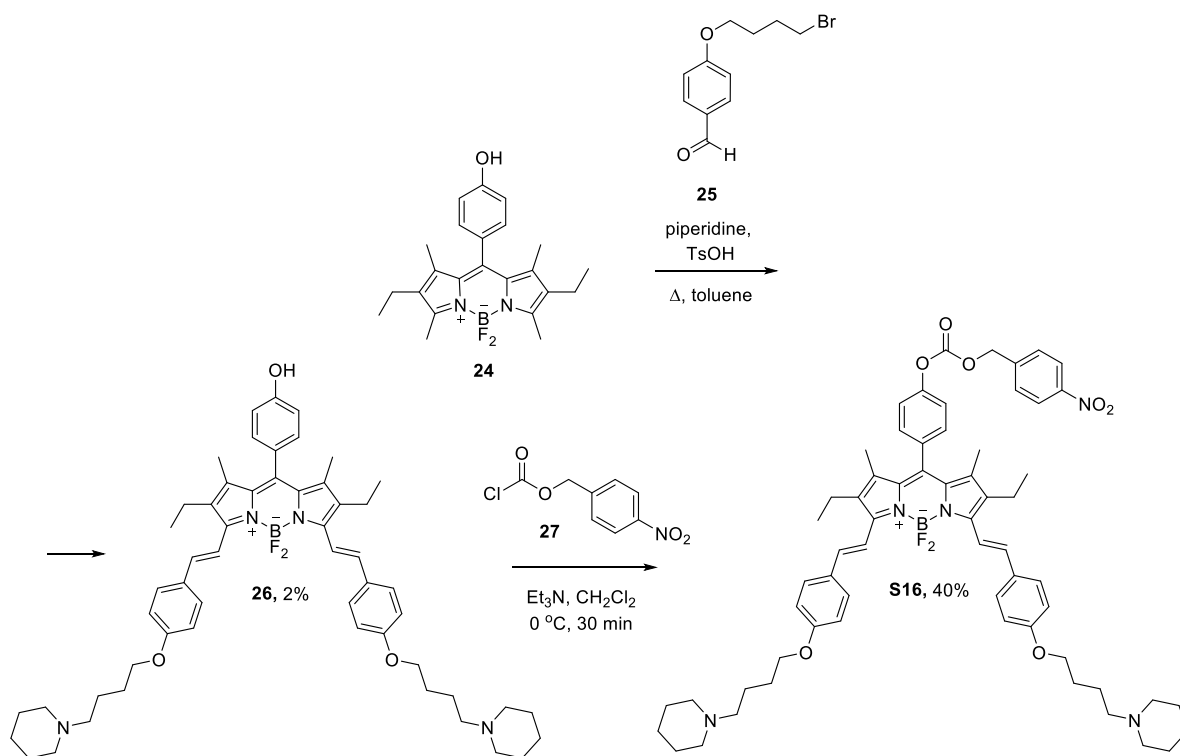
We used tris-phenol-*BODIPY* as a platform for the design of fluorescent sensors and prepared a water-soluble far-red fluorescent sensor for the detection of hypoxic status in cancer cells. The design of the sensor was driven by the following considerations: (1) the *meso*-phenolic moiety of the sensor molecule controls the fluorescence of the *BODIPY* core after the removal of the protecting group, selective for nitroreductase (NTR), which is one of the key enzymes of hypoxia-sensing pathways in cells and (2) two other phenolic moieties were used for the orthogonal functionalization of molecule **S16** with water-soluble groups (Figure 9).



**Figure 9.** Proposed mechanism of activation of sensor **S16**.

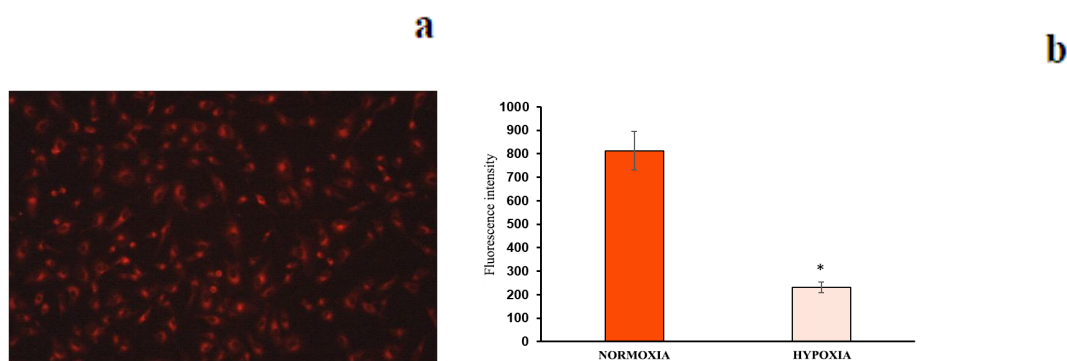
Compound **S16** was prepared from commercially available reagents in four steps according to synthetic Scheme 8. First, benzaldehyde derivative **25** bearing a 4-bromobutoxy group was synthesized followed by the Knoevenagel condensation of compound **24** with excess benzaldehyde **25** (5 equiv.) in the presence of piperidine and *para*-toluenesulfonic acid (TsOH) in refluxing dry toluene. Under these conditions, we succeeded in preparing compound **26**. The O-acylation of the phenolic group with *para*-nitrobenzyl chloroformate in the presence of Et<sub>3</sub>N afforded compound **S16**, which was isolated in the pure form by silica gel column chromatography in 40% yield.

Photophysical properties of sensor **S16** were studied in water containing 10% DMSO to diminish the formation of non-fluorescent H-type aggregates. The absorption spectrum of **S16** shows an intense band with a maximum at 659 nm ( $\epsilon = 19000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). The fluorescence emission spectrum of **S16** has a broad emission band with a maximum at 686 nm. Interestingly, the quenching with the *para*-nitrobenzyl moiety was less efficient than expected. The relative fluorescence quantum yield of **S16** was  $\Phi = 0.15$ .



**Scheme 8.** Synthesis of fluorescent sensor **S16**.

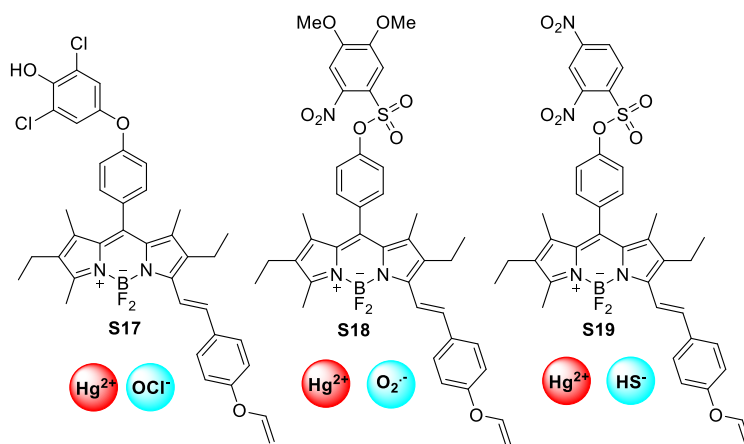
In the next step, we evaluated the potential of **S16** using an *in vitro* biological model of hypoxia. In collaboration with the N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, sensor **S16** was used for the imaging of hypoxia in living cells (A549 lung carcinoma cell line) (Figure 10). It was demonstrated that compound **S16** can be employed for the imaging of hypoxic status in lung carcinoma cells. The hypoxic samples have lower fluorescence compared to the normoxic samples (Figure 10b).



**Figure 10.** (a) Fluorescence image of the A549 cancer cell line incubated with sensor **S16** (20  $\mu$ M) for 60 min,  $\lambda_{\text{ex}} = 530\text{--}585$  nm,  $\lambda_{\text{em}} = 615$  nm. (b) The fluorescence intensity of normoxic and hypoxic A549 cells treated with **S16** ( $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 610/680$  nm).

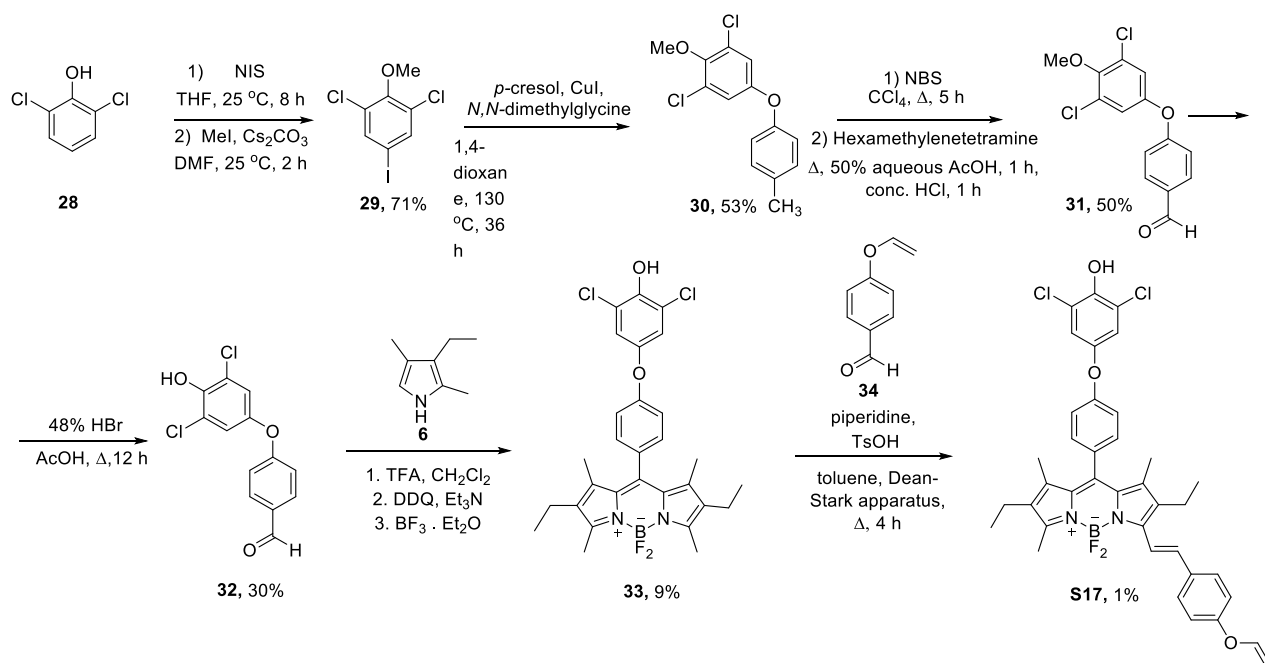
### 2.3. Development of BPB-based off-on dual-mode fluorescent sensors

We expected that **BPB**-based compounds **S17–S19** (Figure 11) can be sensitive for  $\text{Hg}^{2+}$  coupled with ROS (such as the superoxide anion radical ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) or the hypochlorite anion ( $\text{OCl}^-$ )) or  $\text{HS}^-$ .



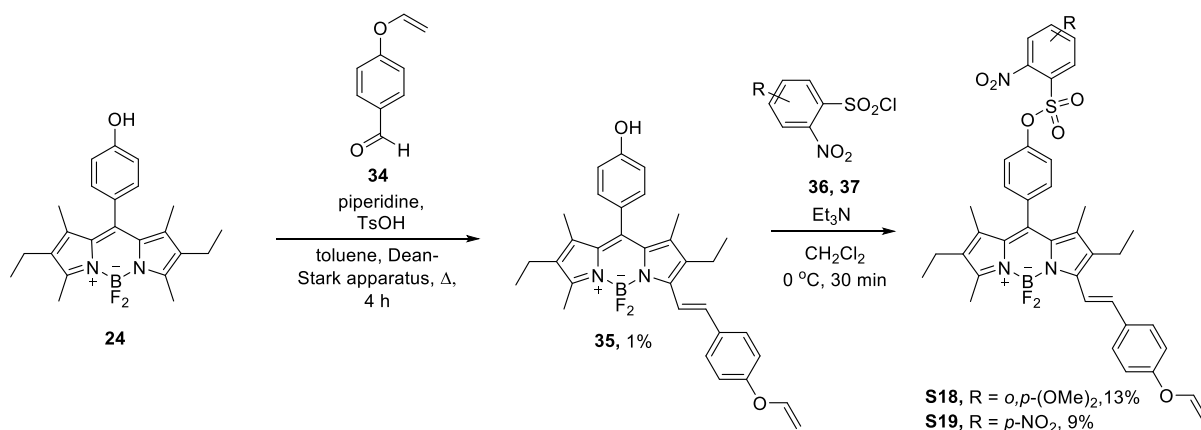
**Figure 11.** Structures of compounds **S17–S19**.

Since it is known that  $\text{Hg}^{2+}$  facilitates the hydrolysis of the vinyl ether group (under physiological conditions), we modified the hydroxy group at styryl phenol with this alkene moiety. The hydrogen atom of the second phenolic group (at the *meso*-aryl position) was replaced by the ROS/ $\text{HS}^-$ -selective group. The synthesis of dyes **S17–S19** is presented in Schemes 9 and 10. Sensor **S17** was synthesized in eight steps starting from 2,6-dichlorophenol **28**. The key step was the condensation of *BODIPY* **33** with aldehyde **34** at reflux in dry toluene using a Dean-Stark apparatus.



**Scheme 9.** Synthesis of compound **S17**.

Compounds **S18** and **S19** were synthesized from **BODIPY 24** containing a *para*-hydroxyphenyl group as a *meso*-aryl substituent. The Knoevenagel reaction with vinyl oxaldehyde **34** gave compound **35**. The replacement of phenolic hydroxide in the latter by 4,5-dimethoxy-2-nitrobenzenesulfonyl (**36**) and 2,4-dinitrobenzenesulfonyl (**37**) gave compounds **S18** and **S19** (Scheme 10).

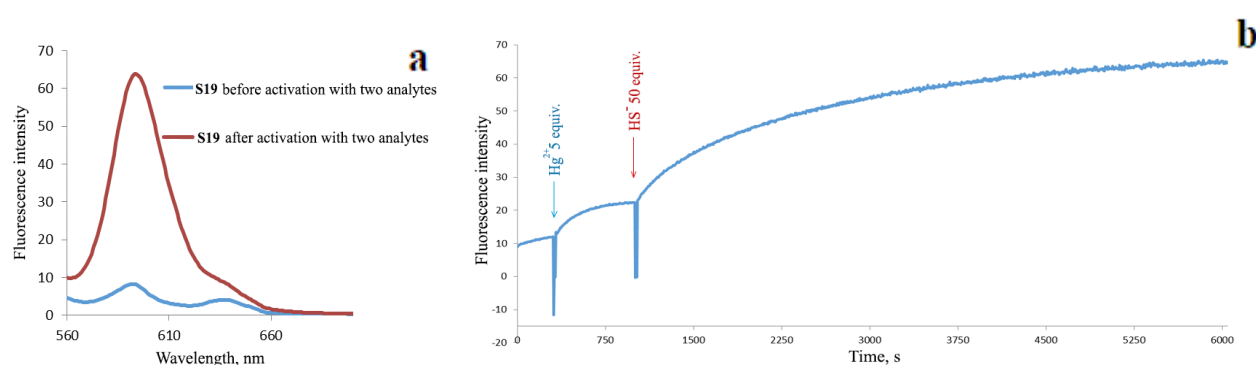


**Scheme 10.** Synthesis of **S18** and **S19**.

An analysis of the spectral characteristic of **S17–S19** demonstrated that only compound **S19** can be considered as a dual-mode fluorescent sensor promising for the dual-mode detection. Compound **S19** appeared to be almost non-fluorescent (it was impossible to determine the residual fluorescence quantum yield because of the absence of a linear relationship between fluorescence and absorption at

an excitation wavelength of 540 nm). The spectrum of a solution of compound **S19** had an absorption maximum at 599 nm (PB + 10% MeCN, 25 °C),  $\epsilon = 41200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Then we studied the fluorogenic reactivity of **S19** towards  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{HS}^-$  (the predominant form of  $\text{H}_2\text{S}$  at physiological pH, NaHS was used as a source of hydrosulfide anions). Time-dependent changes in the fluorescence intensity of a solution of the sensor in the presence of two analytes were investigated. The results are presented in Figure 12. The sequential addition of  $\text{Hg}^{2+}$  (5 equiv., 10 min incubation) and  $\text{HS}^-$  anions (50 equiv., about 85 min incubation) to a solution of **S19** led to a gradual and moderate increase in the fluorescence intensity at 595 nm. The plateau was reached within 60 min. Since  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{HS}^-$  analytes can together to form a precipitate of  $\text{HgS}$ , the activation of **S19** upon the simultaneous incubation with this pair of analytes was not considered.



**Figure 12.** (a) Emission spectra of a  $1.7 \mu\text{M}$  **S19** solution in PB + 10%  $\text{CH}_3\text{CN}$  before and after the activation with  $\text{HS}^-$  and  $\text{Hg}^{2+}$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 540 \text{ nm}$ ). (b) Time-dependent changes in the fluorescence intensity ( $\lambda_{\text{ex}} = 540 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 595 \text{ nm}$ ) of solution **S19** ( $1.7 \mu\text{M}$ ) in PB + 10%  $\text{CH}_3\text{CN}$  at 25 °C.  $\text{HgCl}_2$  (5 equiv.) was added after 5 min incubation of the sensor in the buffer; after 10 min incubation, NaHS (50 equiv.) was added.

Therefore, during the running of the first part of the research work, we developed methods for the synthesis of *BODIPY* derivatives modified with pseudo-crown ethers groups, which are synthetically accessible analogs of crown chelating groups. The structure–spectral property relationships for pseudo-crown-substituted *BODIPY* derivatives were systematically studied for the first time. The nature of the linker between the fluorophore and the chelating group was shown to have a significant effect on the selectivity of the binding of the dyes to metal cations. It was demonstrated that the dipicolylamine derivative of *BODIPY* can be employed for the selective imaging of  $\text{Zn}^{2+}$  accumulation in plant tissues. The simultaneous modification of the *BODIPY* scaffold with the pseudo-crown group and the dipicolylamine moiety allowed the preparation of a dual-mode probe suitable for the detection of the simultaneous presence of  $\text{Al}^{3+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  in solution. Within the framework of the second part of the research work, the potential of polyphenol-substituted *BODIPY* derivatives was examined for the first time as a universal platform for the design of off-on fluorescent chemosensors

for different bioanalytes. Summarizing the results of the study, it can be mentioned that the design of *BODIPY*-based dual-mode probes is a non-trivial problem, which requires the accurate selection of receptor groups and the optimization of the structure of the fluorescent core. High molecular complexity of *BODIPY* functionalized by two different receptor groups and their synthetic inaccessibility interfere with the accumulation and prediction of the properties of such compounds. Nevertheless, we succeeded in developing two previously unknown *BODIPY*-based dual-mode probes for the detection of the simultaneous presence of  $\text{Al}^{3+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  in acetonitrile solutions and the successive appearance of  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{HS}^-$  in physiological media.

## Conclusions

1. *Methods were developed for the synthesis of previously unknown pseudo-crown-containing boron dipyrromethene complexes (BODIPY). The linker between the fluorescent core and the pseudo-crown chelating group was shown to have a significant effect on the selectivity of binding of dyes to heavy metal cations. Off-on sensors selective for  $Al^{3+}$  and  $Cu^{2+}$  were found based on investigation of the spectral properties of a series of the synthesized compounds.*
2. *It was shown for the first time that a BODIPY derivative functionalized by the dipicolylamine moiety at the meso position through a methylene linker can be used for the selective detection of  $Zn^{2+}$  in aqueous media and for the imaging of  $Zn^{2+}$  distribution in plant tissues.*
3. *A method for the synthesis of a previously unknown BODIPY-based off-on dual sensor containing pseudo-crown and dipicolylamine chelating groups was developed and applied. This sensor was shown to be efficient for the detection of the simultaneous presence of  $Al^{3+}$  and  $Zn^{2+}$  in solution.*
4. *Prospects of the use of BODIPY-based polyphenol-substituted dyes as a universal platform for the design of fluorescent sensors for different bioanalytes were systematically examined for the first time. Facile methods were developed for the synthesis of BODIPY derivatives containing chelating and/or reactive groups active towards S-nucleophiles, reactive oxygen species, and  $Hg^{2+}$  and sensitive to cancer cell hypoxia.*
5. *It was shown that off-on chemosensors selective for  $SO_3^{2-}$  and efficient in aqueous media can be prepared by the introduction of reactive 7-nitro-1,2,3-benzoxadiazole groups into 3,8-bis-phenol-containing BODIPY. The functionalization with 4-nitrophenylacetate allowed the preparation of an off-on sensor for the imaging of hypoxic lung cancer cells.*
6. *An off-on dual sensor was designed based on 3,8-bis-phenol-containing BODIPY via the introduction of vinyl and 2,4-dinitrobenzenesulfonyl substituents at the terminal OH groups. This sensor can be employed to monitor the successive appearance of  $Hg^{2+}$  and HS in physiological media.*



**Main content of the work is reflected in the following publications:**

1. Sergey A.Gorbatov. Mikhail A. Kozlov Ilya E. Zlobin Alexander V. Kartashov Igor V. Zavarzin Yulia A.Volkova. Highly selective BODIPY-based fluorescent probe for  $Zn^{2+}$  imaging in plant roots // *Mendeleev Commun.* – **2018.** – Т. 28, № 6. – С. 615-617.
2. Mikhail A. Kozlov, Denis Y. Uvarov, Sergey A. Gorbatov, Natalya G. Kolotrikina, Alexey D. Averin, Kachala V. Vadim, Lyssenko Konstantin, Zavarzin V. Igor, Volkova Yulia. Pseudo-crown ethers as a novel scaffold for the development of  $Al^{3+}$ - selective fluorescent probes // *Eur. J. Org. Chem.* – **2019.** – Т. 26, - С. 4196-4206.
3. Sergey A. Gorbatov, Denis Y. Uvarov, Alexander M. Scherbakov, Igor V. Zavarzin, Yulia A. Volkova and Anthony Romieu. A novel water-soluble BODIPY dye as red fluorescent probe for imaging hypoxic status of human cancer cells // *Mendeleev Commun.*,- **2020.**- Т. 30 – С. 750–752.
4. Горбатов С., Волкова Ю., Заварзин И., Ромье А. Бисфенольный краситель БОДИПИИ как платформа для разработки флуоресцентных «Off-On» проб для нескольких аналитов // *Научная конференция «Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней»*, Красновидово, **2019**, С. 162.
5. Gorbatov S.A., Volkova Y.A. Zavarzin I.V., Romieu A. Dual Hg(II)/  $O_2^{\circ}$  - fluorogenic "Off-On" probe based on a fluorogenic bis-phenolic Bodipy dye // *Ломоносов-2019*, Москва, **2019**, С. 142.
6. Gorbatov S.A., Volkova Y.A., Zavarzin I.V., Romieu A. Dual Hg(II)/ $ClO^-$  - fluorogenic "Off-On" probe based on a fluorogenic bis-phenolic Bodipy dye // *The Fifth International Scientific Conference "Advances in Synthesis and Complexing" Moscow*, **2019**, С. 146.
7. Gorbatov S.A., Volkova Y.A. Zavarzin I.V., Romieu A. A novel  $Al^{3+}$ -selective fluorescent "Off-On" probe based on bodipy dye // *ICCOs 2019*, Moscow, **2019**, С. 129.
8. Gorbatov S.A., Volkova Y.A.1 Zavarzin I.V., Romieu A. Nitroreductase-sensitive fluorescent probes based on a fluorogenic bis-phenolic Bodipy dye // *International Conference "Organic & Hybrid Functional Materials and Additive Technologies"*, Moscow, **2018**, С. 60.
9. Горбатов С., Волкова Ю., Заварзин И., Ромье А. Новый бимодальный хемосенсор Bodipy на катионы ртути (II) и гидросульфид-анионы // *VII Молодежная конференция ИОХ РАН*, Москва, **2017**, С. 78.
10. Gorbatov S.A., Volkova Y.A. Zavarzin I.V., Romieu A. Design and synthesis of novel Bodipy-based fluorimetric dual-mode chemosensor for mercury (II) cations and  $HS^-$  anion // *The Fourth International Scientific Conference "Advances in Synthesis and Complexing"*, Москва, **2017**, С. 129.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ им. Н.Д. ЗЕЛИНСКОГО  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИОХ РАН)**

---

*На правах рукописи*

**ГОРБАТОВ  
СЕРГЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**Дизайн и синтез новых двумодальных флуоресцентных хемосенсоров на основе  
борфторидных комплексов дипирролилметенов для детектирования катионов  
тяжелых металлов и (био)аналитов**

02.00.03 – Органическая химия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

д.х.н. И. В. Заварзин

Москва – 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|  |     |
|--|-----|
| I. ВВЕДЕНИЕ .....  | 4   |
| II. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....  | 8   |
| II.1. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для детектирования<br>металлических катионов.....                                    | 17  |
| II.2. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для детектирования анионов ...   | 42  |
| II.3. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для обнаружения боевых<br>отравляющих и взрывчатых веществ.....                      | 46  |
| II.4. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для обнаружения тиолов, оксидов<br>азота и активных форм кислорода .....             | 49  |
| II.5. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для генерации синглетного<br>кислорода .....   | 72  |
| III. Обсуждение результатов .....  | 83  |
| III.1. Разработка сенсоров для детектирования катионов тяжелых металлов .....  | 86  |
| III.1.2. Разработка мономодального флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы $Al^{3+}$ .....   | 86  |
| III.1.3 Исследование фотофизических свойств соединений S1, S3, S5, S6, S7 и их способности<br>детектировать $Al^{3+}$ .....                  | 89  |
| III.1.4. Разработка флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы $Cu^{2+}$ .....  | 97  |
| III.1.5 Исследование фотофизических свойств соединений S8 - S12 и их способности<br>детектировать $Cu^{2+}$ .....                            | 99  |
| III.1.6. Разработка флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы $Zn^{2+}$ .....  | 102 |
| III.1.7 Разработка бимодального флуоресцентного “Off- On” сенсора на $Al^{3+}$ и $Zn^{2+}$ .....   | 106 |
| III.1.8. Исследование фотофизических свойств соединения S14 .....  | 108 |
| III.2. Разработка сенсоров на основе полифенол-замещенного БОДИПИ.....   | 112 |
| III.2.2. Разработка водорастворимого флуоресцентного сенсора на основе трисфенол-БОДИПИ<br>для детектирования гипоксии клеток .....          | 120 |
| III.2.4. Разработка бимодального флуоресцентного «Off – On» сенсора на катионы $Hg^{2+}$ и<br>гипохлорит анион $ClO^-$ .....                 | 126 |
| III.2.5. Разработка бимодального флуоресцентного «Off – On» сенсора на катионы $Hg^{2+}$ и<br>супероксид анион-радикал $O_2^{\cdot -}$ ..... | 129 |
| III.2.6. Разработка бимодального флуоресцентного «Off – On» сенсора на катионы $Hg^{2+}$ и<br>$HS^-$ .....                                   | 131 |
| V. Экспериментальная часть .....   | 137 |

|   |        |
|---|--------|
| V.1. Синтез соединений перспективных для детектирования катионов металлов. .... | 139    |
| V.2. Разработка сенсоров на основе полифенол-замещенного БОДИПИ.....            | 154    |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....   | 170    |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....   | 172    |
| Приложение.....   | S1-S13 |

## I. ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Развитие методологий создания флуоресцентных сенсоров на катионы металлов, неорганические и органические анионы, а также на органические молекулы является актуальным направлением междисциплинарных исследований, объединяющим усилия специалистов в области органической, аналитической, координационной химии и в смежных сферах других наук, таких как биология и медицина. Привлекательность флуоресцентных методов заключается в том, что по сравнению с колориметрическими или электрохимическими методами они дают возможность значительно снизить порог чувствительности и характеризуются большей селективностью и надежностью обнаружения.

В последние годы существенное развитие получили двумодальные флуоресцентные сенсоры, представляющие собой флуорофор, модифицированный двумя различными рецепторными группами, обладающими, как правило, свойствами PET- или ICT-гасителей. Одновременное селективное взаимодействие двух детектируемых частиц с подобными сенсорами, сопровождается снятием гашения флуоресценции и приводит, как следствие, к значительному увеличению её интенсивности (принцип «Off-On»). Двумодальные флуоресцентные сенсоры часто рассматриваются с точки зрения молекулярной логики, как молекулярно-логические элементы и сортируются согласно элементам булевой логики. Способные обеспечить детектирование одновременного присутствия в растворе двух типов анализируемых частиц, например, двух различных видов катионов тяжелых металлов, катионов металлов и анионов или биоаналитов, подобные сенсоры рассматриваются как перспективные инструменты для мониторинга сложных биологических процессов, патологических состояний человека и экологического состояния окружающей среды.

На сегодняшний день эффективность в качестве составных частей двумодальных флуоресцентных сенсоров показана для достаточно большого количества флуорофорных и рецепторных групп. Среди флуорофоров наибольшее распространение получили нафталин, хинолин и их производные, а среди рецепторных групп - хелаторы на основе краун-эфиров. В тоже время, практически неизученными с этой точки зрения в силу синтетической труднодоступности являются функционализированные производные 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацена (БОДИПИ). БОДИПИ обладает уникальным набором спектральных характеристик, включая высокие значения коэффициентов поглощения в УФ-диапазоне, острая форма линий в спектрах флуоресценции, относительно высокие значения квантовых выходов, устойчивость при физиологических значениях pH и химическая инертность. Важным фактором, определяющим перспективность использования БОДИПИ в качестве основы для разработки двумодальных сенсоров, является возможность контроля над флуоресцентными свойствами

красителя за счет введения рецепторных групп в структурно значимые 3-е и 8-е положения флуоресцентного каркаса. В связи с чем, разработка синтетических подходов и исследование спектральных свойств красителей ряда БОДИПИ, содержащих две различные рецепторные группы, могли бы внести существенный вклад в развитие понимания принципов работы и применения двумодальных флуоресцентных сенсоров. При этом основными критериями отбора рецепторных групп являются их синтетическая доступность, высокая селективность и химическая стабильность.

**Цели работы.** 1) Предложить и реализовать синтез двумодальных сенсоров ряда БОДИПИ представляющих интерес для детектирования одновременного присутствия в растворе двух различных катионов металлов. 2) Изучить возможность создания двумодальных сенсоров ряда БОДИПИ для детектирования в растворах двух различных биоаналитов, включая гидросульфид анион, активные формы кислорода и катионы тяжелых металлов.

**Научная новизна работы.** Синтезирована широкая серия ранее неизвестных красителей ряда БОДИПИ, содержащих «псевдо-краун» эфирные остатки. Показано, что введение 2-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)амино)этилацетатной группы в *мезо*-положение ядра БОДИПИ через фенильный линкер эффективно для создания флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы  $Al^{3+}$ , в то время как функционализация по этому же положению 2,2'-бис(этан-1-ол)аминовым остатком через метиленовый линкер привела к «Off-On» сенсору на катионы  $Cu^{2+}$ . Впервые продемонстрировано, что дипиколиламиновое производное БОДИПИ может быть использовано для селективного детектирования  $Zn^{2+}$  в водных средах, а также визуализации распределения  $Zn^{2+}$  в тканях растений. С использованием «псевдо-краун» эфирных и дипиколиламиновой хелатирующих групп реализован синтез ранее неизвестного двумодального «Off-On» сенсора ряда БОДИПИ эффективного для детектирования одновременного присутствия в растворе  $Al^{3+}$  и  $Zn^{2+}$ . Отработаны методы синтеза ранее неизвестных производных БОДИПИ с хелатирующими и/или реакционно-способными группами чувствительными к гипоксии раковых клеток и активными в отношении различных биоаналитов, включая S-нуклеофилы, активные формы кислорода,  $Hg^{2+}$ , а также за счет введения по концевым ОН-группам бисфенол-БОДИПИ винилового и 2,4-динитробензолсульфонильного заместителей разработан двумодальный «Off-On» сенсор, позволяющий осуществлять мониторинг последовательного поступления  $Hg^{2+}$  и  $HS^-$ .

**Теоретическая и практическая значимость** работы состоит в том, что впервые методами УФ-спектроскопии и флуоресценции для красителей ряда БОДИПИ, содержащих «псевдо-краун» эфирные остатки, систематически была изучена взаимосвязь структура-селективность в отношении катионов металлов. Впервые показана перспективность использования полифенол-

замещенных красителей ряда БОДИПИ в качестве универсальной платформы для создания флуоресцентных сенсоров на различные биоаналиты. Предложены новые мономодальные флуоресцентные «Off-On» сенсоры селективные в отношении  $Al^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  и  $SO_3^{2-}$ , в том числе и при физиологических условиях. Разработаны двумодальные сенсоры ряда БОДИПИ способные детектировать одновременное присутствие в растворе  $Al^{3+}$  и  $Zn^{2+}$ , а также последовательное поступление в раствор  $Hg^{2+}$  и  $HS^-$ .

**Личный вклад автора.** состоял в систематизации литературных данных, проведении синтезов, анализе составов реакционных смесей и строения продуктов реакций (по данным спектров ЯМР, ИК и МАСС), интерпретации экспериментальных данных, подготовке материалов к публикации и представлении полученных результатов на конференциях.

**Степень достоверности и апробация работы.** Достоверность полученных результатов обеспечивается тем, что экспериментальные работы и аналитические исследования выполнены на современном сертифицированном оборудовании, обеспечивающем получение надежных данных. Состав и структура соединений, обсуждаемых в диссертационной работе, подтверждены данными  $^1H$ ,  $^{13}C$ ,  $^{19}F$  и  $^{11}B$  ЯМР-спектроскопии, элементных анализов, масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS) и ИК-спектроскопии. Использованы современные системы сбора и обработки научно-технической информации: электронные базы данных Reaxys (Elsevier), SciFinder (CAS), Web of Science (Thomson Reuters), а также полные тексты статей и книг.

Основные результаты работы были представлены на российских и международных конференциях и конгрессах: Международный молодежный научный форум «Ломоносов» 2017, Инновации в химии/Органическая химия (Россия, Москва, 2017), I Всероссийская молодёжная школа-конференция “Успехи синтеза и комплексообразования” (Россия, Москва, 2017), International Conference "Organic & Hybrid Functional Materials and Additive Technologies" (Москва, 2018) Зимняя конференция молодых ученых по органической химии WSOC-2019 (Россия, Москва, 2019), The Fifth International Scientific Conference “Advances in Synthesis and Complexing” (Россия, Москва, 2019), VIII Молодежная конференция ИОХ РАН (Россия, Москва, 2019).

**Публикации по теме работы.** По теме диссертации опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах, отвечающих требованиям ВАК, и 8 тезисов докладов российских и международных конференций.

**Структура и объем диссертации.** Работа состоит из введения, обзора литературы, посвященного молекулярно-логическим элементам на основе БОДИПИ, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка сокращений и условных обозначений,

списка литературы. Материал диссертации изложен на 185 страницах машинописного текста, включает 2 таблицы, 94 рисунка и 5 схем. Библиография насчитывает 164 ссылки.

**Благодарности.** Глубокую благодарность и признательность автор выражает соруководителям данной диссертационной работы к.х.н. Волковой Юлие Алексеевне и Энтони Ромье за совместно выполненные исследования, ценные научные замечания, предоставленные рекомендации и всестороннюю поддержку, к.х.н. Колотыркиной Наталье Георгиевне за регистрацию масс-спектров высокого разрешения (HRMS), к.х.н. Злобину Илье Евгеньевичу за проведение биологических испытаний, к.х.н. Щербакову Алексею Михайловичу за проведение биологических испытаний, Тихоновой Татьяне Андреевне за регистрацию спектров ЯМР, Козлову Михаилу Александровичу за ценные советы и предложения по ходу выполнения работы. Отдельные слова благодарности заведующей аспирантурой к.х.н. Веселе Ирине Васильевне за помощь, советы и поддержку.



## II. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Молекулярная логика - это междисциплинарная область, в рамках которой разрабатывают молекулярные логические элементы (МЛЭ) [1]. Изучение МЛЭ в органической химии началось 25 лет назад с публикации работы Де Сильва в журнале *Nature* [2]. К самым простейшим МЛЭ относятся флуоресцентные сенсоры, которые при взаимодействии с аналитом меняют характеристики флуоресценции. За последние годы появилось большое количество работ, посвященных различным флуоресцентным сенсорам, заложивших фундамент для дальнейшего изучения МЛЭ.

Сегодня существует два основных направления развития МЛЭ [3]. Первое - это реализация сложных логических операций в молекулярных строительных блоках с целью имитировать функции, необходимые для полупроводникового вычисления. [4] В основе лежит идея, что молекулярные логические элементы обеспечивают большую плотность транзисторных матриц по сравнению с их обычными электронными аналогами и в некоторых случаях проявляют дополнительные свойства, такие как конфигурируемость и параллельное вычисление. Однако, большинство существующих МЛЭ работают в жидких средах, поэтому необходима принципиальная адаптация оборудования [5]. Помимо этого, существует ряд других ограничений такого применения МЛЭ (в том числе однородность ввода-вывода сигналов). В связи с чем, применение МЛЭ требует дальнейших исследований и все еще далеко от практического применения.

Второе направление развития МЛЭ связано с биомедицинской сферой. Биологические процессы (включая патологические), которые протекают в биологическом “бульоне реакционных смесей” с определенной степенью компартиментализации являются идеальной мишенью для МЛЭ. Целью таких МЛЭ может быть управление этими процессами или диагностика стадий заболевания. Кроме того, МЛЭ могут использоваться в высвобождении лекарственного средства в клетке при соблюдении определенных условий [6].

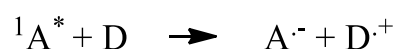
Для разработки МЛЭ на основе флуоресцентных сенсоров используются различные фотофизические механизмы, три основных из которых это фотоиндуцированный перенос электрона (**PET**) [7], межмолекулярный перенос заряда (**ICT**) [8, 9] и резонансная передача энергии (**RET**) [10-12].

Флуоресцентный сенсор, основанный на **PET**-механизме состоит из рецептора, который селективно и обратимо связывается с аналитом, и флуорофора, который обеспечивает оптические свойства молекулы, а также линкера, который соединяет оба фрагмента вместе и обеспечивает электронную коммуникацию между рецептором и флуорофором. Флуоресцентные сенсоры, основанные на **PET**, могут быть селективными по отношению к

различным химическим и физическим анализам, а именно протонам, катионам металлов, анионам, нейтральным органическим молекулам и даже наночастицам [11].

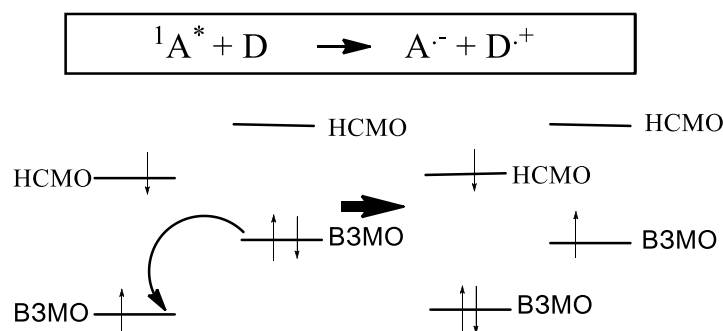
В самом простом случае изменение распределения заряда в **РЕТ**-сенсоре происходит в результате перераспределения электронов внутри системы за счет взаимодействия между рецепторной группой и анализом. Если в качестве анализа выступает ион переходного металла, то эффект гашения/разгорание флуоресценции флуорофора достигается за счет взаимодействия электронов хелатора с *d*-орбиталью катиона [11].

Существует два типа **РЕТ**, используемых для создания флуоресцентных сенсоров: восстановительный **РЕТ** и окислительный **РЕТ**. Восстановительный **РЕТ** согласно уравнению, схематично представлен на рисунке 1.



**Рисунок 1.** Общее уравнение восстановительного **РЕТ**.

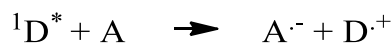
К восстановительному **РЕТ** относится механизм, в котором флуорофор восстанавливается, в то время как хелатор окисляется. При этом флуорофор работает как акцептор электронов, и ВЗМО флуорофора должна быть ниже, чем ВЗМО хелатора, чтобы электрон мог перейти на флуорофор и заполнить его наполовину занятую ВЗМО (Рисунок 2).



**Рисунок 2.** Восстановительный **РЕТ**, где А-акцептор электронов, D-донор электронов.

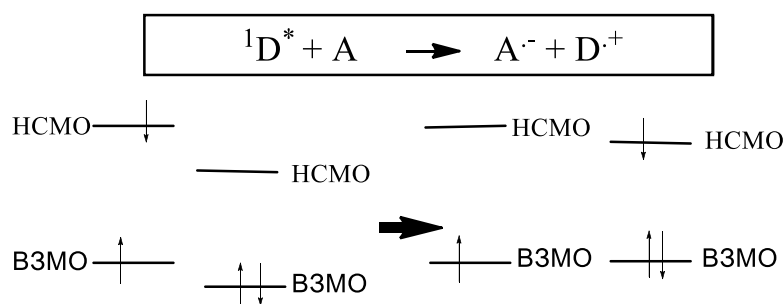
**РЕТ** делает возможным безизлучательное гашение флуоресценции флуорофора и сенсор становится либо не флуоресцирующим, либо слабо флуоресцирующим. Координация анализа с хелатором понижает ВЗМО хелатора и, таким образом, понижается скорость перехода электрона от хелатора на флуорофор, что приводит к разгоранию флуоресценции, так называемому эффекту «Off- On» [13].

Окислительный **РЕТ** согласно уравнению, схематично представлен на рисунке 3.



**Рисунок 3.** Общее уравнение окислительного PET.

Если энергетические уровни таковы, что синглетное возбужденное состояние НСМО молекулы может отдавать электроны на НСМО хелатора, тогда можно говорить об окислительном **PET** (флуорофор окисляется, тогда как хелатор восстанавливается) (Рисунок 4). Для того, чтобы был возможен переход электронов с НСМО флуорофора на НСМО хелатора, НСМО флуорофора должна быть выше, чем НСМО хелатора. Окислительный **PET** реже используется для создания флуоресцентных сенсоров.



**Рисунок 4.** Окислительный PET, где А-акцептор электронов, D-донор электронов.

Другой фотофизический эффект, используемый при создании флуоресцентных сенсоров, основан на использовании процесса молекулярного переноса заряда **ICT**. Он возможен при условии, что флуорофор имеет электронодонорную группу (амино, метокси и т.д.) сопряженную с электроноакцепторной группой. При возбуждении такой молекулы светом, происходит внутримолекулярное перераспределение заряда, приводящее к перераспределению электронной плотности от донора к акцептору и увеличение дипольного момента. Возбужденное состояние молекулы достигается посредством фотовозбуждения при условии, когда молекула флуорофора не находится в термодинамическом равновесии с окружающими полярными молекулами растворителя. Релаксация за счет растворителя вызывает батохромный сдвиг полосы испускания флуорофора, положение которого зависит от возрастающей полярности растворителя. Обычно, спектр поглощения сенсоров с **ICT** довольно узкий, а спектр испускания флуоресценции зависит от полярности растворителя. В полярных растворителях квантовый выход флуоресценции таких сенсоров низкий, и наоборот - высокий выход сенсоров в неполярных растворителях. При связывании рецептора с катионом происходит уменьшение/увеличение энергии, необходимой для переноса электронной плотности, что выражается в гипсохромном/батохромном смещении полос поглощения флуорофора и в соответствующем изменении его флуоресцентных характеристик.

Наиболее важным отличием **РЕТ**-сенсоров от **ІСТ**-сенсоров является их различие в флуоресцентных свойствах при обнаружении аналита. Сенсоры на основе **РЕТ** показывают разгорание флуоресценции или ее гашение без каких-либо смещений спектральных полос поглощения и испускания [11]. Сенсоры на основе **ІСТ** обычно показывают гипсохромное/батохромное смещение полос поглощения флуорофора и соответствующее изменение его флуоресцентных характеристик при связывании с аналитом [11].

Еще один механизм, используемый при создании МЛЭ, на основе флуоресцентных сенсоров, – резонансная передача энергии (**RET**). Он основан на безызлучательном переносе энергии между двумя фрагментами молекулы и происходит в том случае, когда два флуорофора соединены в одну структуру. Один из них (донор) должен собирать излучение на длине волны возбуждения и передавать эту энергию второму флуоресцентному фрагменту (акцептору), который излучает ее на более длинной волне. Процесс передачи энергии происходит при условии, когда спектр испускания флуоресценции донора перекрывает спектр поглощения акцептора, что означает, что несколько вибронных переходов в доноре имеют почти ту же энергию, что и соответствующие переходы в акцепторе. Для таких переходов принято говорить, что они находятся в резонансе. Молекулы, в которых действует **RET**, обычно используются для искусственного усиления сдвига Стокса [4].

Таким образом, в зависимости от конкретной ситуации, оптический результат (выход) является функцией различных входных параметров, таких как концентрация или длина волны возбуждения (ввод). После преобразования в двоичный код, эти шаблоны ввода-вывода можно интерпретировать в соответствии с булевой логикой. Для описания сложных МЛЭ используются такие операции булевой логики, как отрицание (инверсия) - операция «НЕ», конъюнкция (логическое умножение) - операция «И», дизъюнкция (логическое сложение), инверсия функции конъюнкции, инверсия функции дизъюнкции и др [4, 10].

Булева логика используется как главное средство классификации МЛЭ. Было показано, что комбинация МЛЭ может использоваться как молекулярный компьютер, способный производить элементарные математические операции, такие как сложение и вычитание [4, 10].

МЛЭ с одним входом относятся к типам YES или NOT и включают в себя все простые одноканальные сенсоры, в то время как двух- и более канальные сенсоры относятся к МЛЭ типа AND, OR, NOR, NAND, INHIBIT, XOR. Так же существуют более сложные МЛЭ, такие как полусумматоры и полувычитатели, которые находят своё применение в мультисканальных сенсорах.

### МЛЭ типа YES

Флуоресцентные сенсоры “Off- On”, у которых один аналит вызывает разгорание флуоресценции, можно рассматривать как логические элементы типа YES. МЛЭ типа YES представляет собой устройство с одним входом и поэтому является одним из простейших логических элементов.

### МЛЭ типа NOT

Флуоресцентные сенсоры “On- Off”, у которых один аналит вызывает гашение флуоресценции, можно рассматривать как МЛЭ типа NOT. МЛЭ типа NOT является инверсией МЛЭ типа YES.


### МЛЭ типа AND

МЛЭ типа AND производит выходной сигнал только тогда, когда на него приходит одновременно два воздействия. С точки зрения химии данные воздействия могут быть отдельными частицами или могут быть частями одной молекулы.

| Ввод     |   | Выход   |
|----------|---|---|
| A        | B |   |
| 0        | 0 | 0   |
| 0        | 1 | 0   |
| 1        | 0 | 0   |
| 1        | 1 | 1   |
| Название |   | AND   |
| Символ   |   |  |

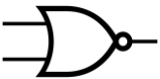
### МЛЭ типа OR

МЛЭ типа OR производит выходной сигнал только в том случае, когда на него приходит сигнал одного из двух воздействий. Тем не менее, неизбирательное поведение МЛЭ типа OR в отношении нескольких разных частиц позволяет их использовать при разработке МЛЭ с двумя ВХОДАМИ и одним ВЫХОДОМ.

| Ввод     |   | Выход   |
|----------|---|---|
| A        | B |   |
| 0        | 0 | 0   |
| 0        | 1 | 1   |
| 1        | 0 | 1   |
| 1        | 1 | 1   |
| Название |   | OR  |
| Символ   |   |  |


### МЛЭ типа NOR

МЛЭ типа NOR представляют собой интеграцию элементов OR и NOT. Они используются для разработки сложных логических функций в рамках одной молекулярной структуры. МЛЭ типа NOT гасит флуоресценцию, когда взаимодействует с соответствующей частицей. МЛЭ типа OR с двумя ВХОДАМИ неизбирательно «включает» флуоресценцию. Таким образом, логический элемент NOR отключает флуоресценцию, когда появляется один из двух анализируемых компонентов.

| Ввод     |   | Выход   |
|----------|---|---|
| A        | B |   |
| 0        | 0 | 1   |
| 0        | 1 | 0   |
| 1        | 0 | 0   |
| 1        | 1 | 0   |
| Название |   | NOR   |
| Символ   |   |  |


### МЛЭ типа NAND

МЛЭ типа NAND можно понимать, как объединение МЛЭ типа NOT и AND, когда ВЫХОД логического элемента AND становится ВХОДОМ для МЛЭ NOT.

| Ввод     |   | Выход   |
|----------|---|---|
| A        | B |   |
| 0        | 0 | 1   |
| 0        | 1 | 1   |
| 1        | 0 | 1   |
| 1        | 1 | 0   |
| Название |   | NAND  |
| Символ   |   |  |


### МЛЭ типа INHIBIT

МЛЭ типа INHIBIT можно рассматривать как интеграцию МЛЭ типа NOT и AND, хотя и в отличном от NAND виде. Операция NOT применяется только к ВХОДУ В. Таким образом, ВХОД В – отключает ВЫХОД независимо от состояния ВХОДА.

| Ввод     |   | Выход   |
|----------|---|---|
| A        | B |   |
| 0        | 0 | 0   |
| 0        | 1 | 0   |
| 1        | 0 | 1   |
| 1        | 1 | 0   |
| Название |   | INHIBIT   |
| Символ   |   |  |

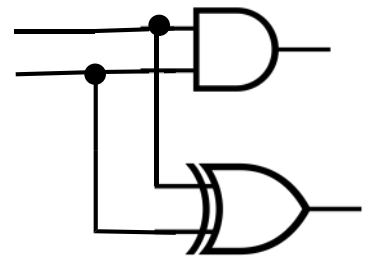
### МЛЭ типа XOR

Данная операция применяется в том случае, когда из двух ВХОДНЫХ сигналов истинен только один.

| Ввод     |   | Выход   |
|----------|---|---|
| A        | B |   |
| 0        | 0 | 0   |
| 0        | 1 | 1   |
| 1        | 0 | 1   |
| 1        | 1 | 0   |
| Название |   | XOR   |
| Символ   |   |  |

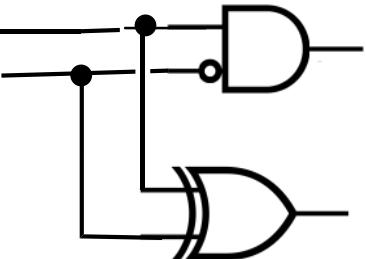
### МЛЭ типа Полусумматоры

Логическая схема половинного сумматора имеет два ВХОДА и два ВЫХОДА, что является основой обработки чисел в большинстве электронных компьютеров. Для суммирования необходимо добавление AND, для операции переноса и логический элемент XOR для операции суммы.

| Ввод     |   | Выход   |     |
|----------|---|---|-----|
| A        | B | Carry   | Sum |
| 0        | 0 | 0   | 0   |
| 0        | 1 | 0   | 1   |
| 1        | 0 | 0   | 1   |
| 1        | 1 | 1   | 0   |
| Название |   | Half-adder  |     |
| Символ   |   |  |     |

### МЛЭ типа Полувычитатели

Соединение в одной молекуле МЛЭ XOR и INHIBIT приводит к половинному вычитателю.

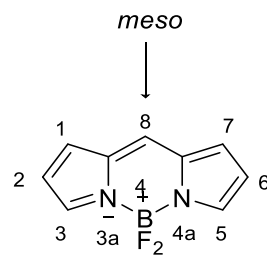
| Ввод     |   | Выход   |           |
|----------|---|---|-----------|
| A        | B | Borrow  | Diffrence |
| 0        | 0 | 0   | 0         |
| 0        | 1 | 1   | 1         |
| 1        | 0 | 0   | 1         |
| 1        | 1 | 0   | 0         |
| Название |   | Half-subtractor   |           |
| Символ   |   |  |           |

Среди многочисленных классов флуоресцентных красителей особое место занимают набирающие популярность производные 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацена [14, 15] более известные как БОДИПИ (Рисунок 5). Первое упоминание о данном классе соединений встречается в 1968 году в публикации Трейбса и Кройцера [16]. Однако, лишь в середине 1990-х годов была показана перспективность использования красителей ряда БОДИПИ в электролюминесцентных устройствах, а также при создании биологических меток. Большой



интерес к БОДИПИ можно объяснить характерным для них уникальным сочетанием спектральных свойств. Устойчивость к свету и химическим веществам, высокие молярные коэффициенты поглощения  $\varepsilon(\lambda)$  и квантовые выходы флуоресценции  $\Phi$ , узкие полосы поглощения, хорошая растворимость, устойчивость к самоагрегации в растворе - все это способствует востребованности данного класса красителей в мировом научном сообществе. Кроме того, спектроскопические и фотофизические свойства БОДИПИ легко контролируются направленным введением вспомогательных остатков в ключевые положения дифторборонового дипирролилметенового ядра. Разнообразие синтетических путей для создания структурно-различных производных БОДИПИ позволяет добиваться идеального соответствия между структурой красителя и его желаемыми спектроскопическими характеристиками.

С тех пор количество исследовательских работ и патентов, посвященных использованию красителей ряда БОДИПИ, ежегодно значительно увеличивается, в том числе накопилось значительное количество примеров БОДИПИ в разработке МЛЭ.



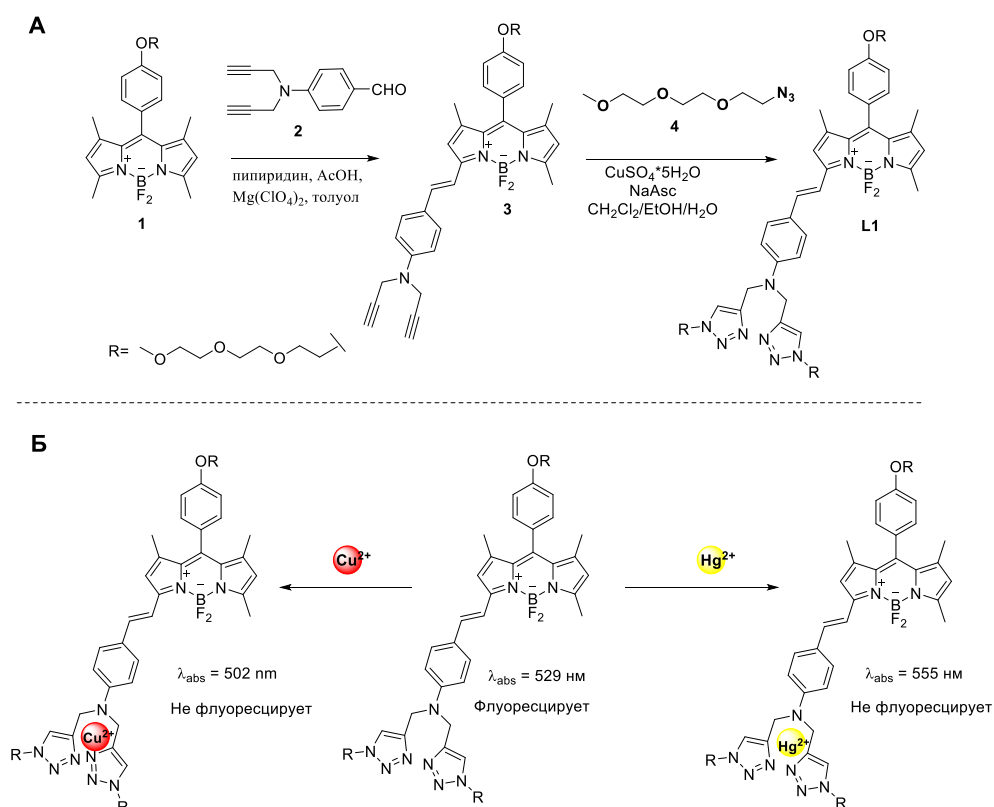
**Рисунок 5.** 4,4-Дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацен (БОДИПИ).

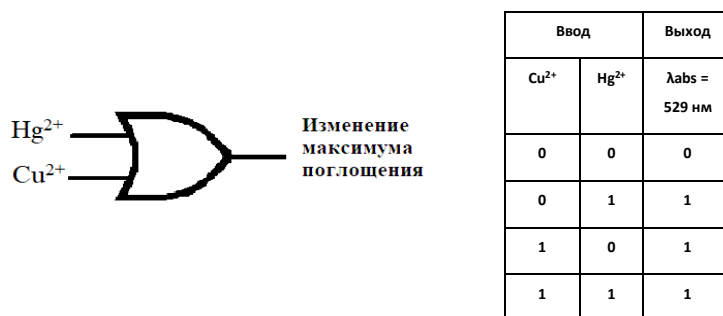
В настоящем обзоре впервые систематизированы работы по разработке МЛЭ на основе БОДИПИ. Данный анализ охватывает литературу за последние 15 лет. Стоит отметить, что в последние годы было опубликовано несколько прекрасных обзоров, посвященных флуоресцентным сенсорам в качестве МЛЭ [4, 10, 17, 18]. Однако, в силу того, что в публикациях по сенсорам БОДИПИ они редко рассматриваются в рамках булевой логики, обзора литературы по МЛЭ ряда БОДИПИ до настоящего времени не было.

## II.1. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для детектирования металлических катионов

Ионы металлов играют важную роль в различных промышленных и биохимических процессах [19]. Некоторые из них, такие как медь, магний, никель и цинк необходимы для поддержания гомеостаза в организмах людей, животных и растений [20]. Однако некоторые ионы металлов токсичны и, следовательно, вызывают серьезные нарушения здоровья и окружающей среды [21], в связи с чем их обнаружение имеет большое значение в современном мире. В этой части обзора, мы систематизировали различные МЛЭ на основе БОДИПИ для обнаружения катионов металлов, которые были разработаны в последние годы.

В работе [22] был разработан новый калориметрический флуоресцентный сенсор ряда БОДИПИ **L1** типа OR, для детектирования катионов  $\text{Hg}^{2+}$  или  $\text{Cu}^{2+}$ . Моностирил-замещенный БОДИПИ **3** синтезирован по реакции Кневенагеля конденсацией БОДИПИ **1** с производным бензальдегида **2**. Далее полученное соединение вводилось в клик-реакцию с триэтиленгликоль-замещенным азидом **4**, в результате чего в качестве продукта был получен сенсор **L1** (Рисунок 6).

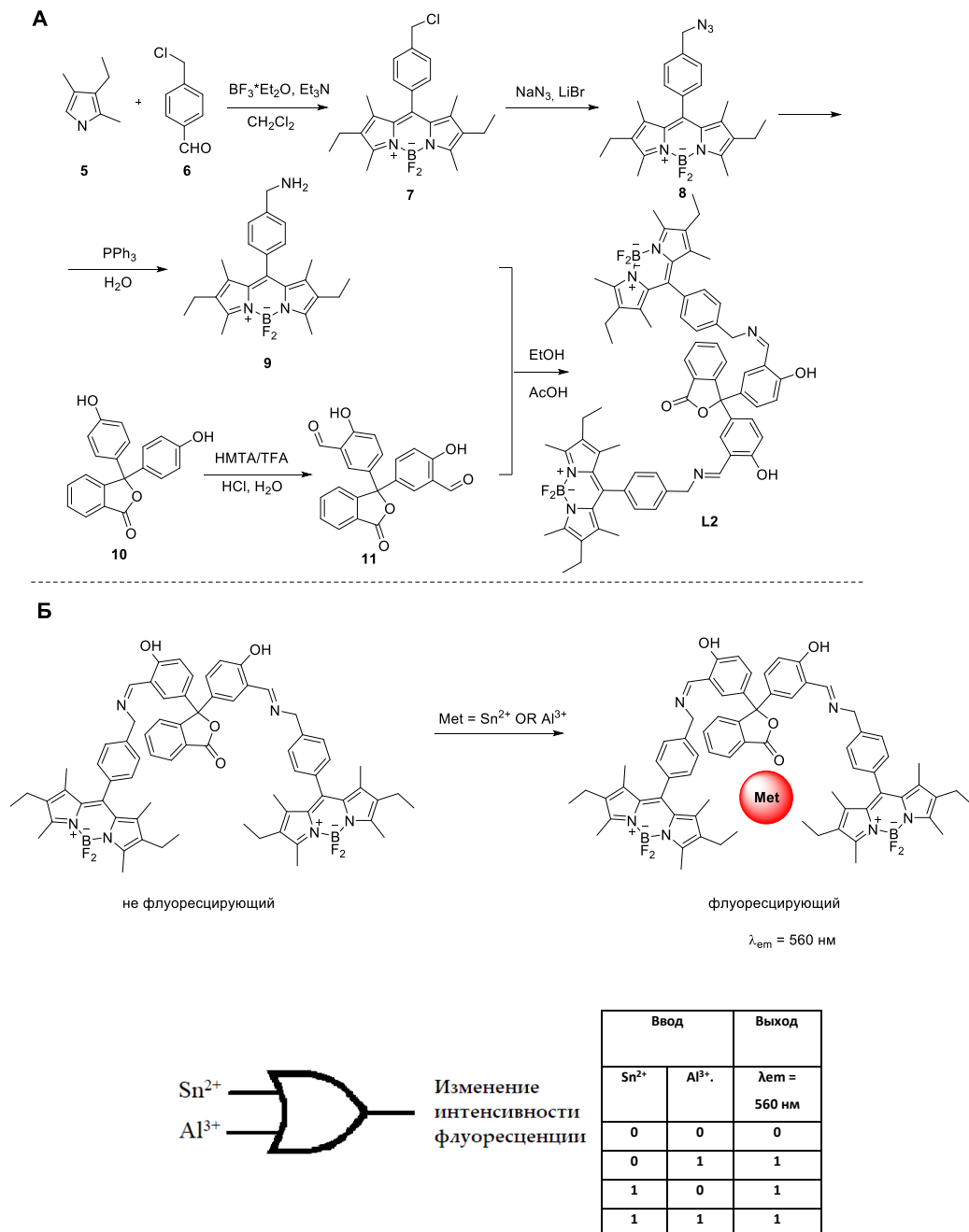




**Рисунок 6.** А) Схема синтеза соединения **L1**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L1**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Hg}^{2+}$ . Выходной сигнал сдвиг максимума поглощения. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления  $\text{Cu}^{2+}$  или  $\text{Hg}^{2+}$  ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Авторы работы показали, что добавление катионов  $\text{Hg}^{2+}$  к раствору **L1** в  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (5:1) сопровождалось гипсохромным сдвигом максимума поглощения с 592 до 555 нм или до 502 нм в случае добавления раствора катионов  $\text{Cu}^{2+}$ . При этом происходило отчетливое изменение цвета с синего на фиолетовый при добавлении катионов  $\text{Hg}^{2+}$  или на желтый в случае добавления катионов  $\text{Cu}^{2+}$ . Так же наблюдалось смещение максимумов испускания флуоресценции в случае добавления катионов  $\text{Hg}^{2+}$  (с 690 до 602 нм) и гашение интенсивности флуоресценции в случае добавления катионов  $\text{Cu}^{2+}$ . Механизм работы сенсора регулируется эффектом ICT. Авторы изучили поведение **L1** в клетках линии Hela рака молочной железы, и, показали, что он способен различать  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  посредством двухканальной визуализации. Согласно приведенным выше результатам, данный сенсор может быть отнесен к МЛЭ типа OR.

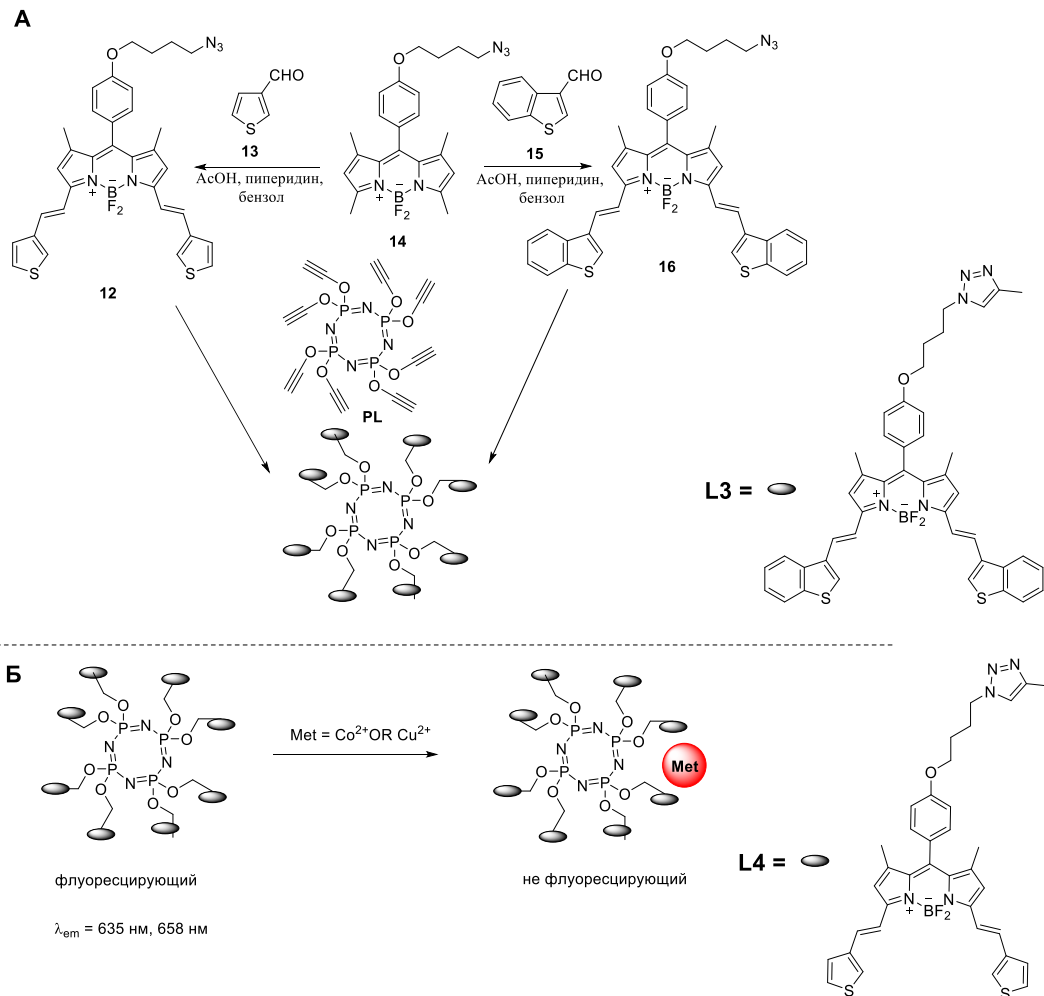
В группе Ильмаза [23] был разработан “Off-On” флуоресцентный сенсор **L2**, основанный на **RET** для обнаружения катионов  $\text{Sn}^{2+}$  и  $\text{Al}^{3+}$  в водной среде (Рисунок 7). Сенсор **L2** представляет собой молекулу БОДИПИ, связанную с фенолфталеином. Фенолфталеин-диальдегидное производное **11** было получено с помощью реакции Даффа, описанной в работе [24]. Производное БОДИПИ, полученное в три стадии из пиролла **5** и альдегида **6**, вводилось в реакцию с фенолфталеин-диальдегидным производным **11**, конденсацией в абсолютном этаноле, в результате чего был получен сенсор **L2**. Флуоресцентные свойства сенсора **L2** исследовали в присутствии различных катионов металлов в системе ацетон/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1). Измерения интенсивности флуоресценции были выполнены при фиксированной длине волны возбуждения в 370 нм. Было показано, что в присутствии катионов  $\text{Sn}^{2+}$  или  $\text{Al}^{3+}$  в растворе сенсора **L2** происходит увеличение интенсивности флуоресценции при 560 нм. Что позволяет рассматривать **L2** как МЛЭ типа OR.



**Рисунок 7.** А) Схема синтеза соединения **L2**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L2**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Sn}^{2+}$  и  $\text{Al}^{3+}$ . Выходной сигнал - это увеличение интенсивности флуоресценции при 560 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления  $\text{Sn}^{2+}$  или  $\text{Al}^{3+}$  ведет к молекулярному логическому элементу OR.

В работе [25] для “On- Off” детектирования катионов  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  были предложены БОДИПИ-циклотетрафосфазен производные **L3** и **L4**, которые являются МЛЭ типа OR. Синтез соединений **L3** и **L4** начинался с получения функционализированного производного БОДИПИ **14** в соответствии со стандартной процедурой. Затем были синтезированы новые производные дистирил-замещенных БОДИПИ **12** и **16** по реакции с ароматическими альдегидами. В качестве

носителя была использована циклотетрафосфазеновая платформа. Клик-реакцией из БОДИПИ 12 и 16 были получены соединения **L3** и **L4** (Рисунок 8).



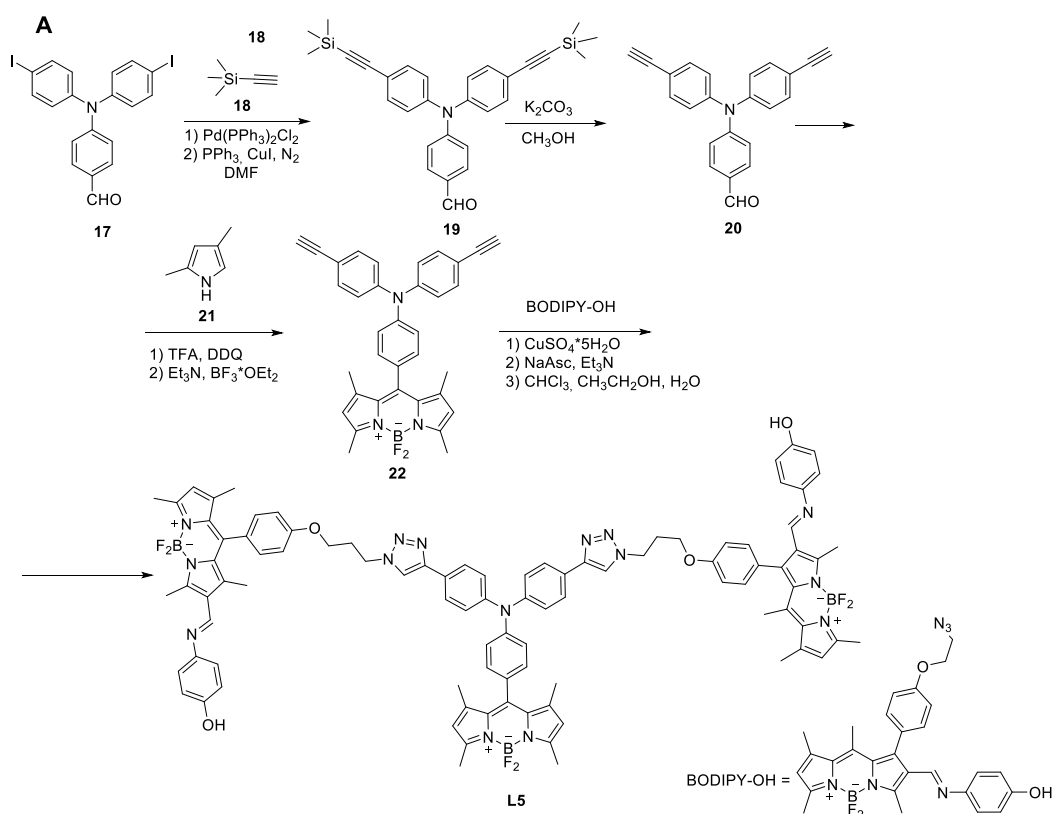
Измeнение интенсивности флуоресценции

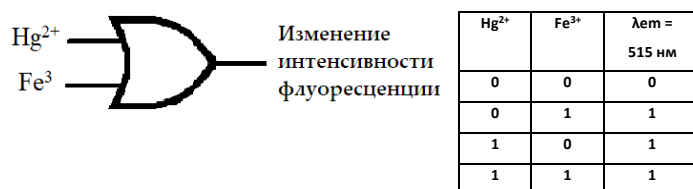
| Ввод             |                  | Выход  |
|------------------|------------------|--|
| $\text{Co}^{2+}$ | $\text{Cu}^{2+}$ | $\lambda_{em} = 635 \text{ нм}$ (для <b>L3</b> )<br>и $\lambda_{em} = 658 \text{ нм}$ (для <b>L4</b> ) |
| 0                | 0                | 0  |
| 0                | 1                | 1  |
| 1                | 0                | 1  |
| 1                | 1                | 1  |

**Рисунок 8.** А) Схема синтеза соединений **L3** и **L4**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсоров **L3** и **L4**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$ . Выходной сигнал - уменьшение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления  $\text{Co}^{2+}$  или  $\text{Cu}^{2+}$  ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Однако, при добавлении катионов  $\text{Co}^{2+}$  или  $\text{Cu}^{2+}$  к раствору сенсоров **L3** и **L4** в смеси ТГФ/ $\text{H}_2\text{O}$  (20:1) происходило полное гашение интенсивности флуоресценции при 635 нм (для **L3**) и 658 нм (для **L4**) ( $\lambda_{\text{ex}}$  для **L3** = 590 нм;  $\lambda_{\text{ex}}$  для **L4** = 610 нм) соответственно.

Полученный в работе [26] “Off-On” **L5** на основе БОДИПИ показал высокую селективность к катионам  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ . Синтез соединения был реализован в 4 стадии из функционализированного бензальдегида **20**. Флуорофор БОДИПИ **22** был получен путем конденсации в условиях кислого катализа альдегида **20** и 2,4-диметилпиррола **21**. Как один из наиболее важных методов, при синтезе целевого соединения на последней стадии использовалось азид-алкиновое циклоприсоединение, катализируемое медью (CuAAC). Сенсор **L5** в свободном состоянии обладал низкой интенсивностью флуоресценции при 515 нм, что связано с быстрой цис-транс изомеризацией иминиевой связи (Рисунок 9).

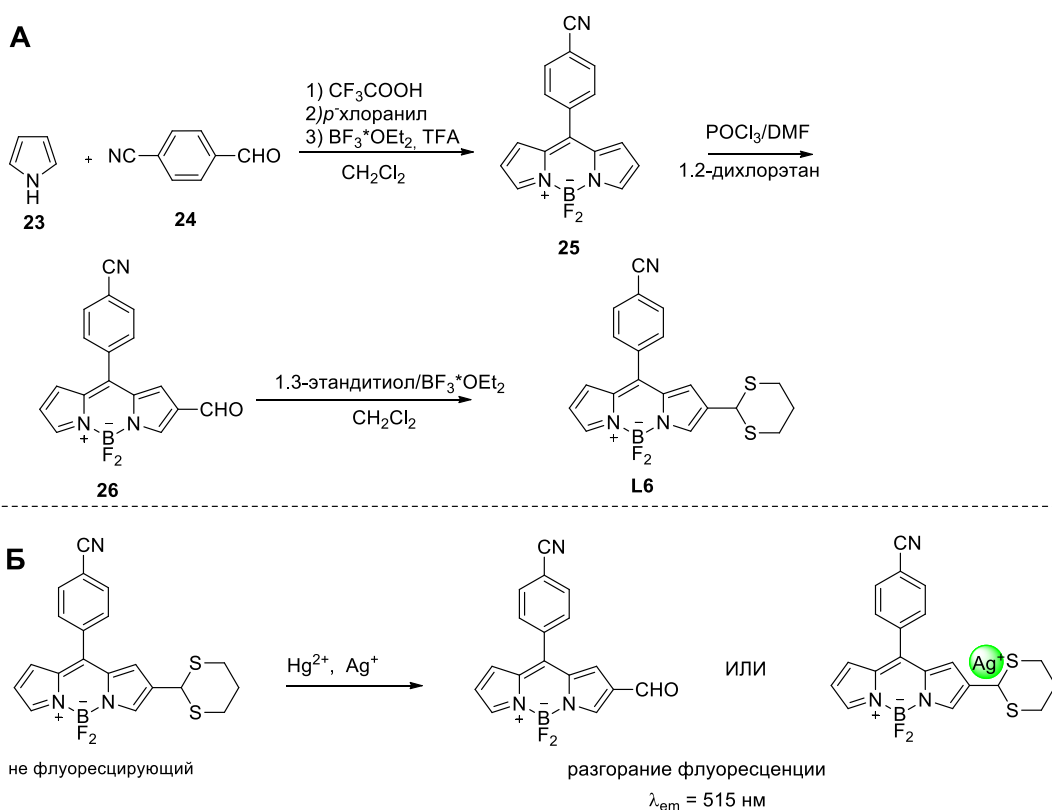


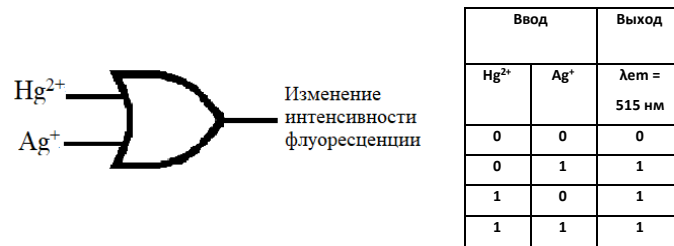


**Рисунок 9.** А) Схема синтеза соединения **L5**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L5**. Двумя входными сигналами являются Hg<sup>2+</sup> и Fe<sup>3+</sup>. Выходной сигнал - увеличение интенсивности флуоресценции при 515 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления Hg<sup>2+</sup> или Fe<sup>3+</sup> ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Добавление катионов Hg<sup>2+</sup> или Fe<sup>3+</sup> к раствору сенсора **L5** в H<sub>2</sub>O/ТГФ (1/1) приводило к гидролизу связи C=N, что сопровождалось двойным увеличением интенсивности флуоресценции ядра БОДИПИ при 515 нм.

В работе [27] предложен хемосенсор **L6** на основе БОДИПИ селективный к катионам Hg<sup>2+</sup> и Ag<sup>+</sup>. Он был получен в три стадии из пиррола и *n*-цианобензальдегида **24** с помощью стандартного протокола для синтеза БОДИПИ. Формилирование **25** по Вильсмайеру-Хааку с использованием ДМФА – POCl<sub>3</sub> позволило получить соединение **26**. Реакция соединения **26** с 1,3-дителипропаном в присутствии BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> приводит к **L6** (Рисунок 10).





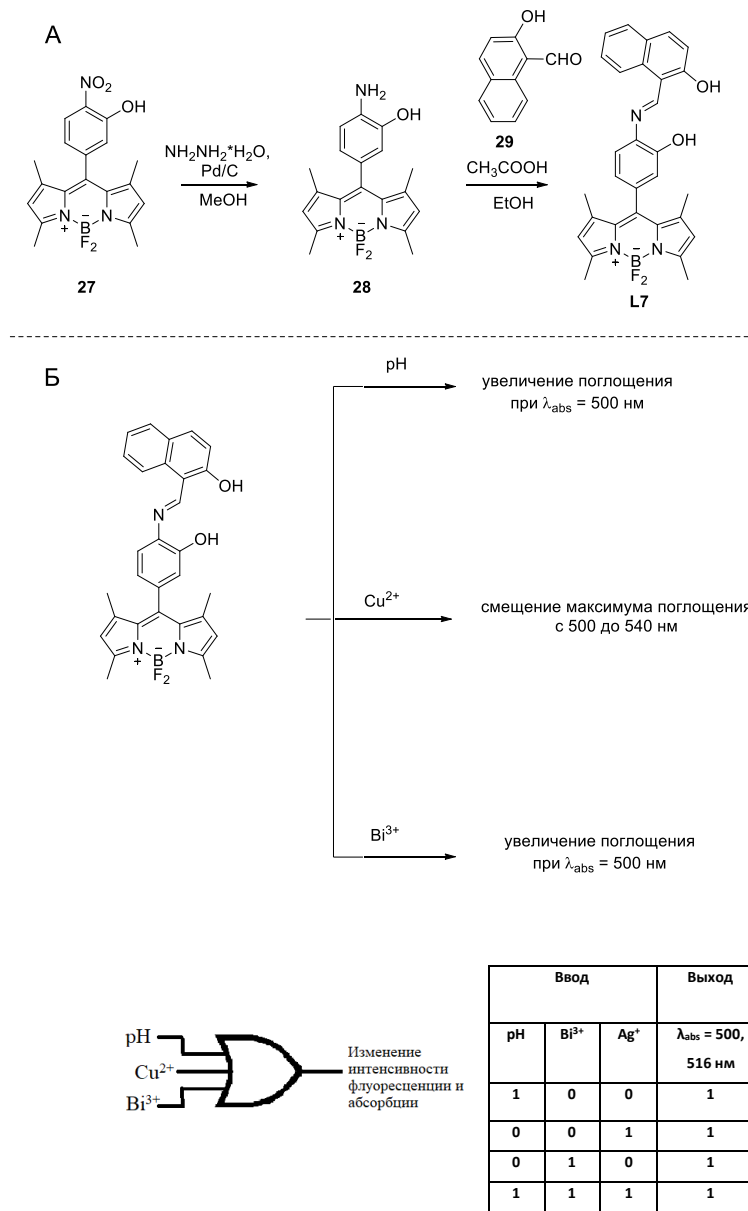
**Рисунок 10.** А) Схема синтеза соединения **L6**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L6**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Ag}^+$ . Выходной сигнал - изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления  $\text{Hg}^{2+}$  или  $\text{Ag}^+$  ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Было показано, что при добавлении катионов  $\text{Hg}^{2+}$  к раствору сенсора **L6** в системе ТГФ/ $\text{H}_2\text{O}$  (85/15) приводит к сдвигу максимума поглощения с 548 до 532 нм и увеличению интенсивности испускани при 515 нм. Изменение в спектрах поглощение было связано с промотируемым  $\text{Hg}^{2+}$  снятием тиацетальной защиты альдегидной группы во 2-ом полодении ядра БОДИПИ. Сенсор **L6** в присутствии  $\text{Ag}^+$  показал увеличение интенсивности флуоресценции без смещения максимума поглощения. Авторы предполагали, что катионы  $\text{Ag}^+$  могут координироваться с атомами серы тиацетальной части сенсора. Этот процесс ингибирует РЕТ-гашение флуоресценции и приводит к разгоранию флуоресценции. Мониторинг добавления  $\text{Hg}^{2+}$  или  $\text{Ag}^+$  ведет к молекулярному логическому элементу OR

В группе [28] был разработан сенсор **L7**, содержащий гидроксизамещенную нафтильную рецепторную группу связанную через иминовый фрагмент с мезо-фенил содержащим флуорофором БОДИПИ. Сенсор был получен из исходного БОДИПИ **27** Pd-каиализируемым восстановлением его  $\text{NO}_2$  группы гидразин гидразингидратом и конденсацией полученного продукта **28** с 2-гидрокси-1-нафталальдегидом в присутствии ледяной уксусной кислотой в EtOH (Рисунок 11).

При изменении pH раствора сенсора в смеси ДМСО/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:4), происходила кето-енол-таутомеризация в орто-гидроксиафталин-азометиновом фрагменте сенсора, в результате чего появлялись изменения в спектрах поглощения. При изменении pH с 7.14 до 4.12 происходило увеличение максимума поглощения при 500 нм. При изменении pH с 7.14 до 12.35 происходило увеличение поглощения при 516 нм. В спектрах испускания при изменении pH с 7.14 до 1.82 происходило 193-кратное увеличения интенсивности при 516 нм. Было показано, что **L7** может избирательно окрашивать лизосомы и, следовательно, обнаруживать изменение pH в живых клетках.



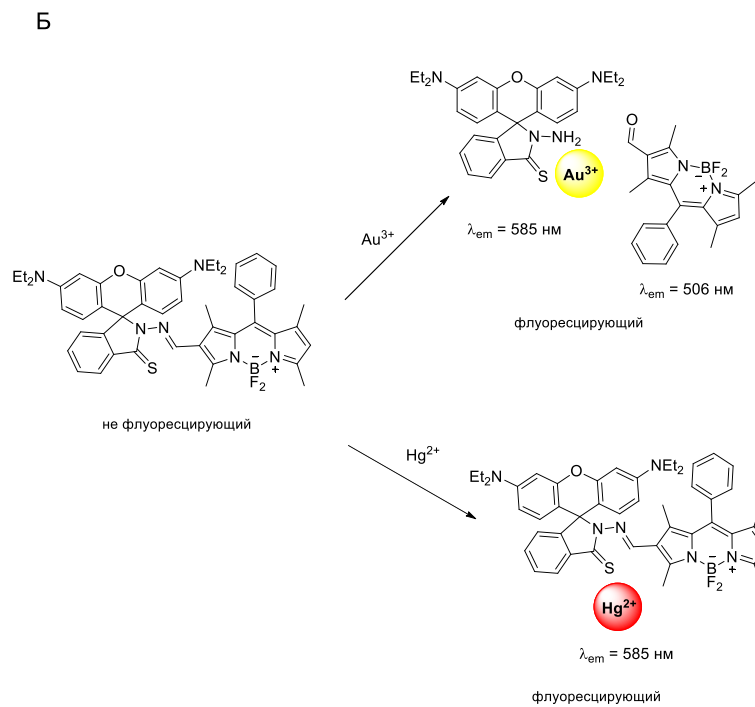
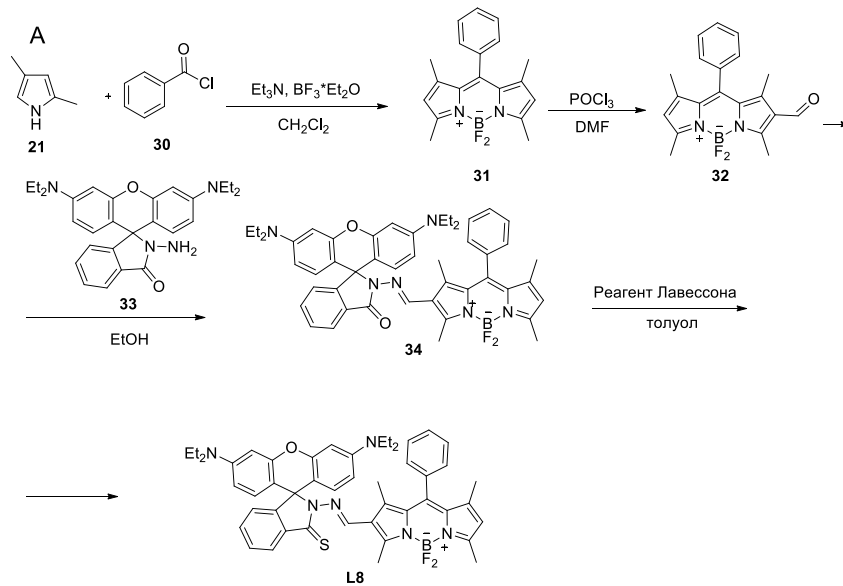


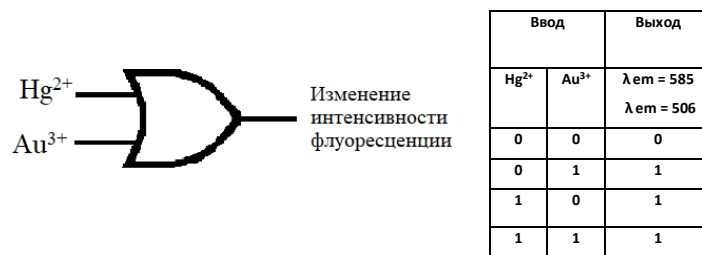
**Рисунок 11.** А) Схема синтеза соединения **L7**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L7**. Тремя входными сигналами являются pH, Bi<sup>3+</sup> и Cu<sup>2+</sup>. Выходной сигнал - это изменение максимумов поглощения. Анализ таблицы истинности, ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Кроме того, добавление катионов Cu<sup>2+</sup> к раствору сенсора **L7** приводило к изменению максимума поглощения с 500 до 540 нм, что можно было наблюдать невооруженным глазом за счет смены цвета раствора. Добавление катионов Bi<sup>3+</sup> к раствору сенсора **L7** вызывало исчезновение максимума поглощения при 516 нм и увеличение при 500 нм.

В работе [29] был описан новый МЛЭ типа OR на основе флуоресцентного сенсора **L8**, который позволял определить присутствие в растворе катионов Hg<sup>2+</sup> и Au<sup>3+</sup>. Он был получен за счет объединения в одной молекуле фрагментов флуорофоров родамина **33** и БОДИПИ **32**. Синтез был реализован в 4 стадии, ключевыми из которых явились конденсация флуорофоров

$\text{NH}_2$ -замещенного родамина **33** с формил-БОДИПИ **32** и последующие тиолирование соединения **34** реагентом Лавессона. УФ-спектр свободного сенсора **L8** в растворе  $\text{CH}_3\text{CN}$  /  $\text{HEPES}$  (1:1, pH 7.0) обладал одной полосой поглощения с максимумом при 527 нм, которая принадлежала ядру БОДИПИ. Поскольку ядро родамина находится в циклической изомерной форме, авторы не обнаружили полос поглощения, характерных для родамина. Добавление катионов  $\text{Au}^+$  (1 экв.) к раствору **L8** приводило к появлению новой полосы поглощения при 554 нм, которая соответствует раскрытому изомеру родамина (Рисунок 12).

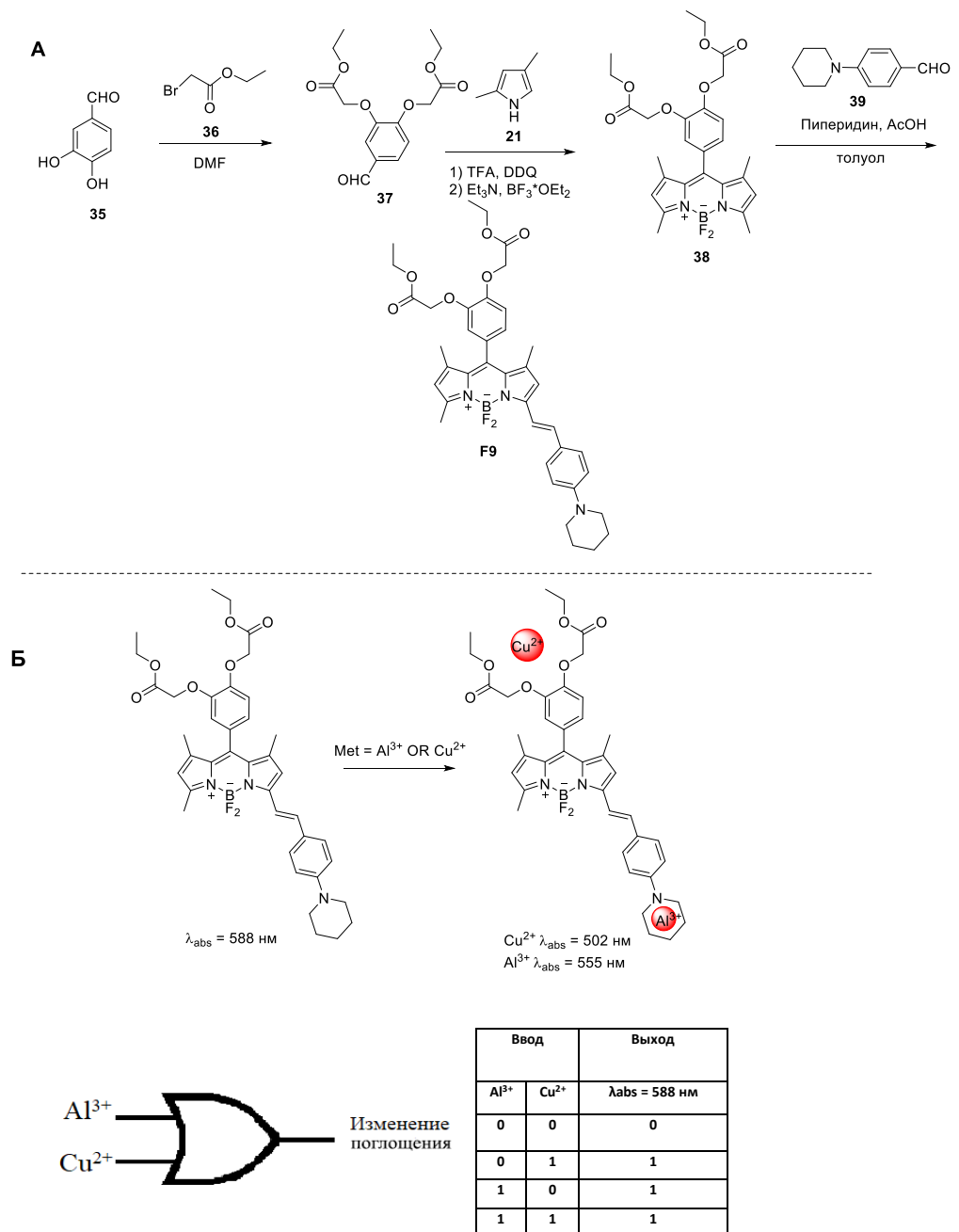




**Рисунок 12.** А) Схема синтеза соединения **L8**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L8**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Au}^{3+}$ . Выходной сигнал - это изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления  $\text{Hg}^{2+}$  или  $\text{Au}^{3+}$  ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Спектры флуоресценции **L8** показали аналогичное поведение в отношении добавления  $\text{Hg}^{2+}$ . При возбуждении волной света в 525 нм, сенсор был не флуоресцирующим, однако при добавлении катионов  $\text{Hg}^{2+}$ , появлялась новая полоса испускания с максимумом при 585 нм и интенсивность этой полосы постепенно увеличивалась с увеличением концентрации  $\text{Hg}^{2+}$ . Как и ожидалось, в присутствии катионов  $\text{Hg}^{2+}$  **L8** обладал оптическими свойствами родамина. В процессе добавления  $\text{Hg}^{2+}$  не было замечено никаких других сопутствующих полос, которые могли бы принадлежать красителю БОДИПИ, это указывает на то, что краситель БОДИПИ был все еще в выключенной “Off” форме. После добавления  $\text{Au}^{3+}$ , не флуоресцентный раствор сенсора становился флуоресцентным. Зеленая флуоресценция была явным доказательством существования испускающего производного БОДИПИ. С другой стороны, тот же раствор сенсора (**L8** /  $\text{Au}^{3+}$ ) при возбуждении при 525 нм обладал испусканием при 585 нм, которое происходило за счет открытого изомера родамина. Добавление  $\text{Hg}^{2+}$  к **L8** запускало реакцию раскрытия спиро-кольца и приводило к образованию флуоресцентного производного родамина. При добавлении  $\text{Hg}^{2+}$  к **L8**, ядро БОДИПИ продолжало быть не флуоресцентным, потому что фрагмент  $\text{C}=\text{N}$  в молекуле все еще сохранялся.

В работе [30] предложен сенсор **L9**, который потенциально может применяться для калориметрического обнаружения катионов  $\text{Al}^{3+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$ . Он представляет собой молекулу БОДИПИ, имеющую “псевдо-краун эфирную” хелатирующую группу в *мезо*-положении и *пара*-пиперидинстирильный заместитель в 3-м положении, связанный через стироловый линкер. Синтетическая схема получения сенсора **L9** показана на рисунке 13. 3,4-Дигидроксibenзальдегид **35** на первой стадии вводили в реакцию с этилбромацетатом **36**. Полученный альдегид **37** затем конденсировали с 2,4-диметилпирролом **21** с образованием БОДИПИ **38**. Конденсация по Кневенагелю БОДИПИ **38** с 4- пиперидинобензальдегидом **39** в толуоле в присутствии уксусной кислоты и пиперидина позволила получить соединение **L9**.

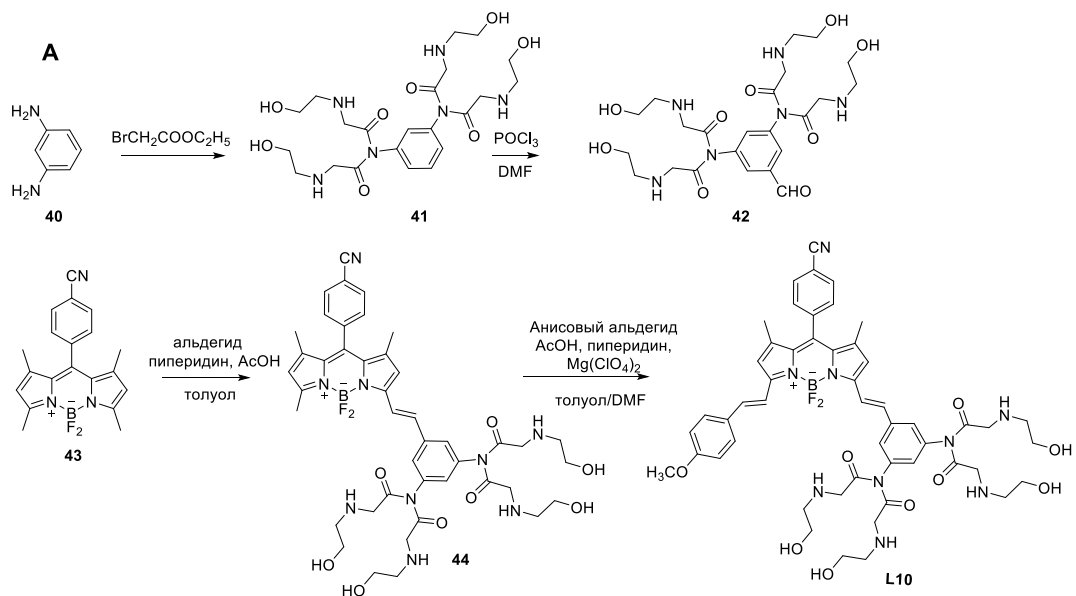


**Рисунок 13.** А) Схема синтеза соединения **L9**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L9**. Двумя входными сигналами являются Al<sup>3+</sup> и Cu<sup>2+</sup>. Выходной сигнал - это изменение максимума поглощения. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления Al<sup>3+</sup> или Cu<sup>2+</sup> ведет к молекулярному логическому элементу OR.

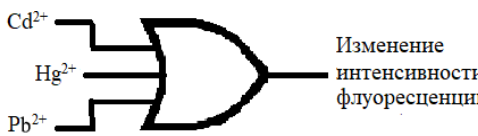
Авторы предположили, что Al<sup>3+</sup> и Cu<sup>2+</sup> способны взаимодействовать с атомом азота пиперидиновой группы, тем самым регулируя ИСТ-эффект данного заместителя. Так же предполагалось, что группа в *мезо*-положении БОДИПИ может модулировать РЕТ-гашение, которое регулируется связыванием Cu<sup>2+</sup> с четырьмя атомами кислорода хелатирующей группы. Подтверждая данное предположение, в эксперименте было найдено, что раствор, содержащий

соединение **L9** обладает сильным поглощением с максимумом при 588 нм. Спектры поглощения оставались неизменными при добавлении многочисленных ионов щелочных, щелочноземельных и переходных металлов. При добавлении  $\text{Cu}^{2+}$  или  $\text{Al}^{3+}$  к раствору сенсора спектры поглощения, а также цвет растворов резко изменялись. По мере увеличения концентрации  $\text{Al}^{3+}$  максимум поглощения смещался в 555 нм. С другой стороны, добавление  $\text{Cu}^{2+}$  приводило к уменьшению максимума поглощения при 588 нм, при этом происходило увеличение максимума при 502 нм.

Авторы [31] разработали флуоресцентный сенсор **L10** на основе флуорофора БОДИПИ, чья селективность к  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  может быть модулирована в зависимости от выбора водных буферных растворов. Синтез сенсора **L10** включал в себя 4 стадии, ключевой из которых являлась стадия конденсации альдегида **42**, функционализированного, хелаторной группой и флуорофора БОДИПИ **43**. Изменение спектральных свойств сенсора показало, что в буферном растворе MOPS наблюдалось усиление интенсивности флуоресценции сенсора **L10** в присутствии  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  или  $\text{Pb}^{2+}$  (Рисунок 14)  $\lambda_{\text{em}}=685$ . Молекулярно-логические элементы OR могут быть построены на основе буферов MOPS и HEPES. В первом случае входными сигналами являются  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , а во втором  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ . В то время как в буферном растворе HEPES наблюдалось усиление интенсивности флуоресценции раствора сенсора в присутствии катионов  $\text{Cd}^{2+}$  или  $\text{Pb}^{2+}$ . Так же **L10** показал возможность избирательно обнаруживать  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Hg}^{2+}$  в трис-НСI и в цитрат-фосфатном буферных растворах.



Б

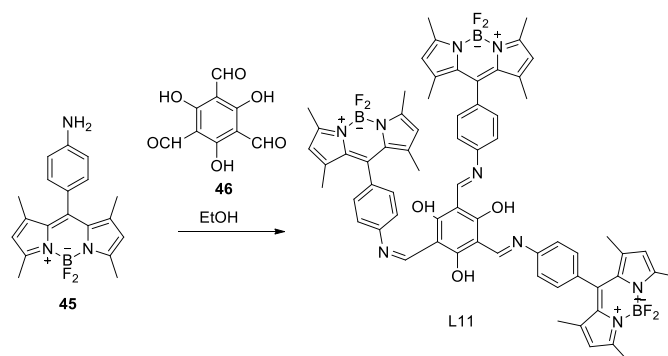


| Ввод 1: катионы металлов:<br>$\lambda_{em} = 588 \text{ нм}$ | $\text{Cd}^{2+}$ | $\text{Hg}^{2+}$ | $\text{Pb}^{2+}$ | $\text{Hg}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ | $\text{Pb}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ | $\text{Hg}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ | $\text{Hg}^{2+}/\text{Pb}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ |
|--|------------------|------------------|------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--|
|  | Ввод 2: буфер    |                  |                  |                                 |                                 |                                 |  |
| MOPS   | 1                | 1                | 1                | 1                               | 1                               | 1                               | 1  |
| HEPES  | 1                | 0                | 1                | 1                               | 1                               | 1                               | 1  |
| Трис-НСI   | 1                | 0                | 0                | 1                               | 1                               | 0                               | 1  |
| Цитрат-фосфатный буфер                                       | 0                | 1                | 0                | 1                               | 0                               | 1                               | 1  |

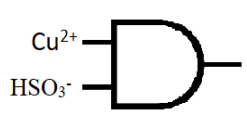
Рисунок 14. А) Схема синтеза соединения **L10**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L10**.

В исследовании [32] был синтезирован сенсор **L11** для определения  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{HSO}_3^-$ . Сенсор был получен конденсацией 2,4,6-тригидроксибензол-1,3,5-трикарбальдегида **46** с аминоксменным БОДИПИ **45**. После добавления  $\text{Cu}^{2+}$  к раствору сенсора, сенсор показал гашение флуоресценции “On-Off” при 520 нм с эффективностью выше 90% (Рисунок 15)  $\lambda_{em} = 570 \text{ нм}$ .

А



Б

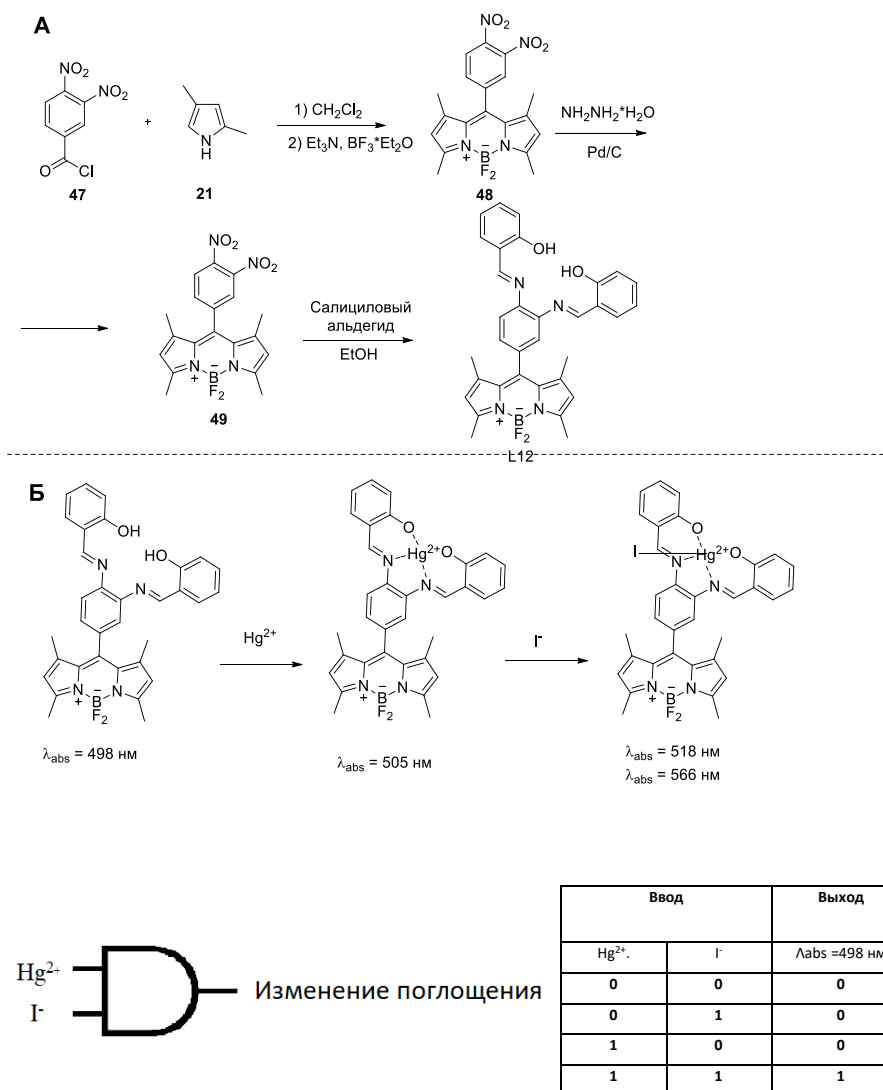


| Ввод             |                  | Выход                           |
|------------------|------------------|---------------------------------|
| $\text{Cu}^{2+}$ | $\text{HSO}_3^-$ | $\lambda_{em} = 520 \text{ нм}$ |
| 0                | 0                | 0                               |
| 0                | 1                | 0                               |
| 1                | 0                | 0                               |
| 1                | 1                | 1                               |

**Рисунок 15.** А) Схема синтеза соединения **L11**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L11**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{HSO}_3^-$ . Выходной сигнал – это увеличение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

Затем образовавшийся комплекс с  $\text{Cu}^{2+}$  был использован для определения  $\text{HSO}_3^-$ . В присутствии  $\text{HSO}_3^-$  происходило восстановление 70% прежней интенсивности флуоресценции. Пределы обнаружения для  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{HSO}_3^-$  были рассчитаны 0.36 мМ и 1.4 мМ соответственно.

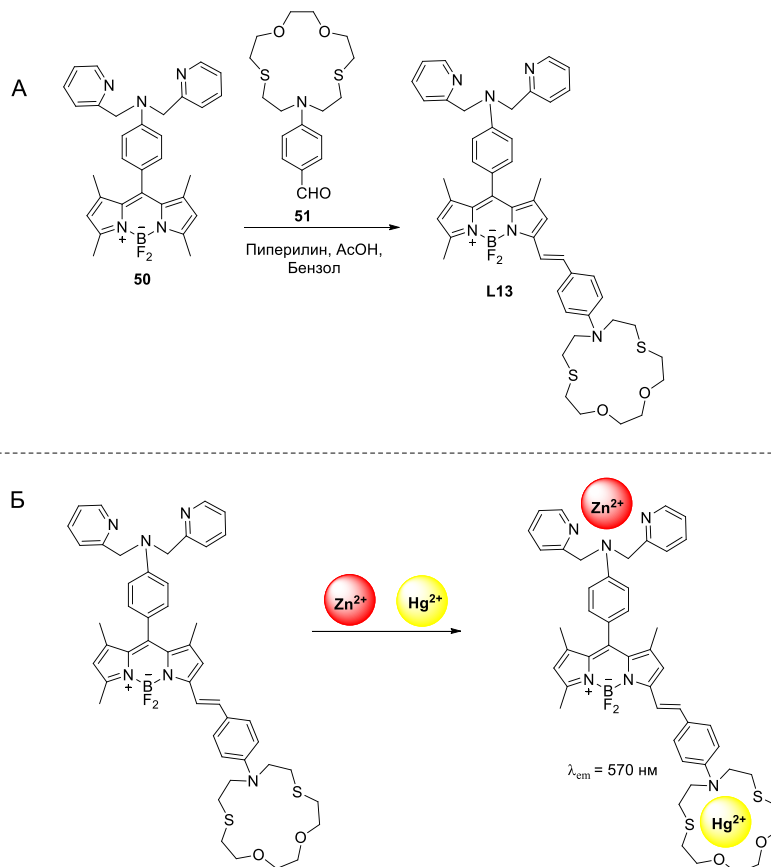
В работе [41] был разработан и синтезирован сенсор **L12**, который способен колориметрически различать присутствие  $\text{Hg}^{2+}$ . А также получающийся при это комплекс **L12**- $\text{Hg}^{2+}$  продемонстрировал высокую селективность в отношении  $\text{I}^-$ , благодаря способности образовывать трехкомпонентный комплекс. Синтез сенсора был реализован в 3 стадии, ключевой из которых является стадия нитроальдольной конденсации Анри между салициловым ангидридом и нитрогруппами фенильного фрагмента БОДИПИИ **48**. Работа сенсора регулируется эффектами PET и ICT (Рисунок 16).



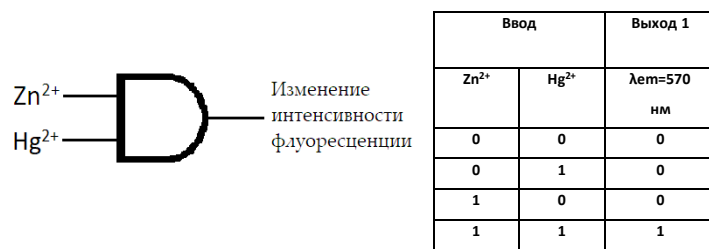
**Рисунок 16.** А) Схема синтеза соединения **L12**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L12**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\Gamma$ . Выходной сигнал - изменение максимума поглощения. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

На первом этапе при добавлении  $\text{Hg}^{2+}$  к раствору сенсора происходило образование комплекса **L12**- $\text{Hg}^{2+}$  и в спектре поглощения наблюдался батохромный сдвиг максимума с 498 нм на 505 нм. На втором этапе после добавления  $\Gamma$  полоса поглощения при 505 нм, уменьшилась, тогда как максимумы поглощения при 518 и 566 нм соответственно увеличились.

В публикации [33] Аккая показал три МЛЭ на основе стирил-БОДИПИ (**L13**, **L14**, **L15**). Все они были получены по конденсации Кневенагеля из соответствующих функционализированных альдегидов **51**, **53**. Сенсор **L13** был получен конденсацией БОДИПИ **50** несущего дипикалиаминовую группу и тиокраун-альдегида **51**. Данный сенсор представляет собой флуорофор БОДИПИ, имеющий в мезоположении дипиколиламиновый фрагмент – РЕТ - модулятор, селективный к  $\text{Zn}^{2+}$ , а к 3-позиции, через стирильный линкер к нему присоединен тиоазакраун - ICT – модулятор, селективный к  $\text{Hg}^{2+}$  (Рисунок 17).



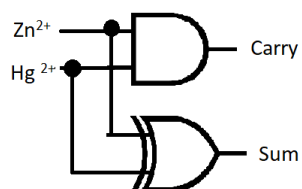
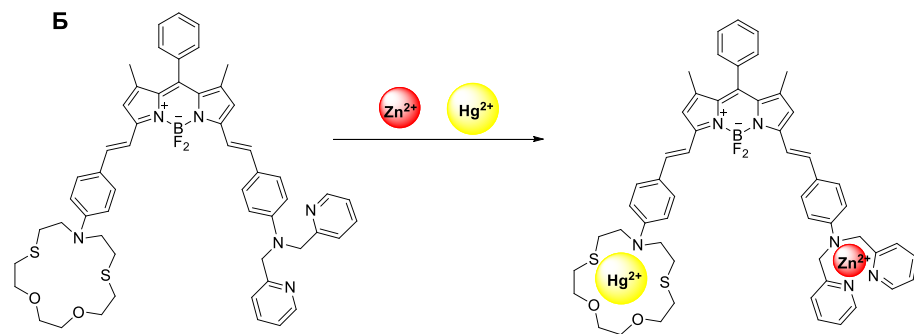
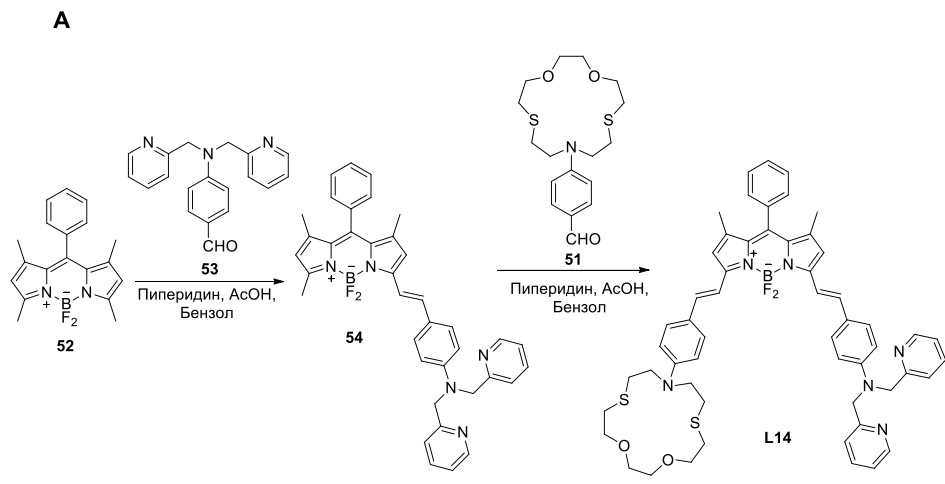




**Рисунок 17 А)** Схема синтеза соединения **L13**. **Б)** Принципиальная схема механизма работы сенсора **L13**. Двумя входными сигналами являются  $Zn^{2+}$  и  $Hg^{2+}$ . Выходной сигнал – это увеличение интенсивности флуоресценции при 570 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

Спектр испускания флуоресценции сенсора имел широкий максимум при 679 нм. Интересно отметить, что добавление  $Zn^{2+}$  оказало минимальное влияние как на интенсивность испускания, так и на положение максимума испускания. С другой стороны, добавление  $Hg^{2+}$  приводило к смещению максимума флуоресценции на 109 нм, но интенсивность флуоресценции по-прежнему оставалась низкой. При добавлении и  $Zn^{2+}$  и  $Hg^{2+}$  происходило смещение максимума на 109 нм и увеличение интенсивности флуоресценции при 570 нм. Полученный результат согласовался с теоретической моделью МЛЭ типа AND на основе БОДИПИ с активными PET и ICT группами.

Следующее соединение, описанное в статье, представляет собой дистирильное соединение **L14**, функционализированное двумя разными лигандами, являющимися модуляторами ICT. Спектральные изменения являются прямым следствием относительного сродства этих лигандов к  $Hg^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ . Раствор БОДИПИ **L14** в  $CH_3CN$  имеет максимум поглощения при 698 нм. При добавлении  $Zn^{2+}$ , наблюдался небольшой сдвиг максимума поглощения в синюю область спектра до 675 нм. Похожий сдвиг происходил, при добавлении только  $Hg^{2+}$  (Рисунок 18).



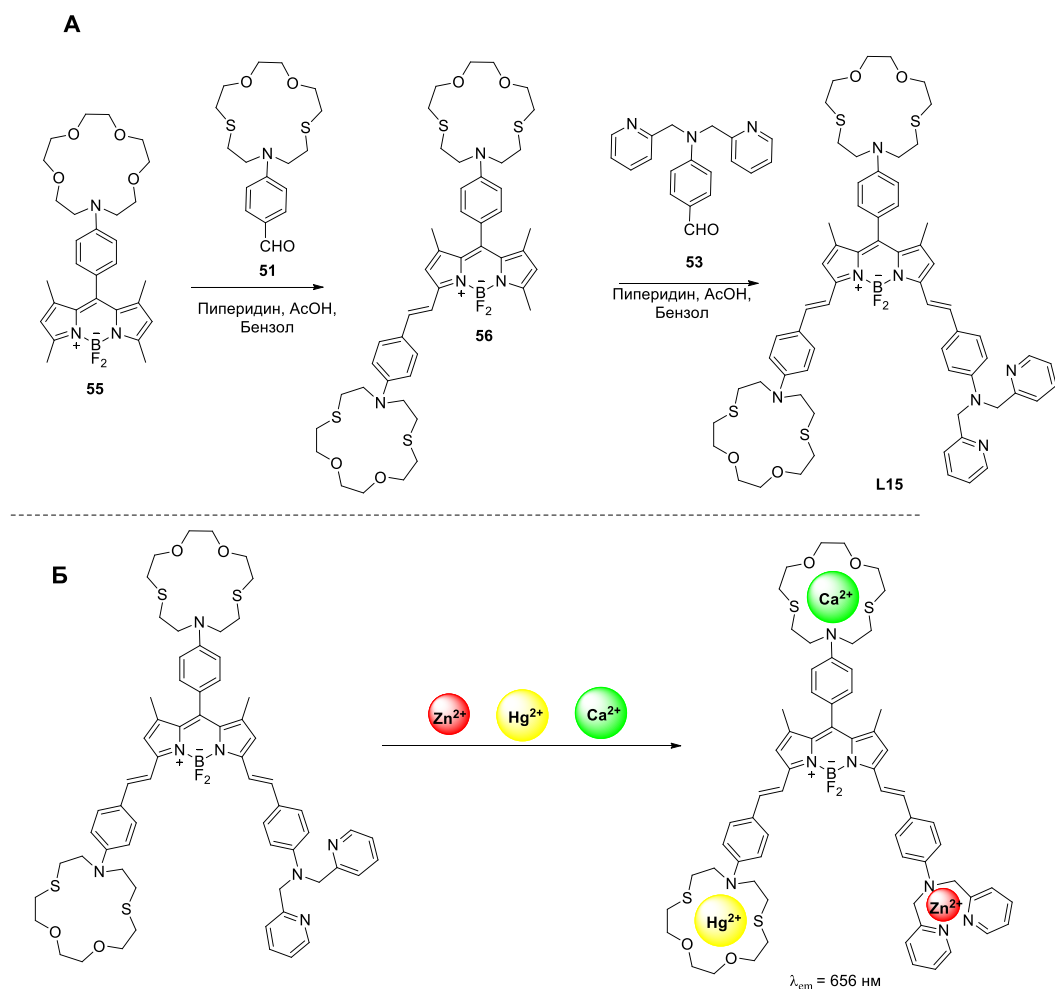
| Половинный сумматор |                  |          |          |
|---------------------|------------------|----------|----------|
| Ввод                |                  | Выход 1  | Выход 2  |
| Hg <sup>2+</sup>    | Zn <sup>2+</sup> | AND      | XOR      |
|                     |                  | λabs=623 | λabs=663 |
|                     |                  | нм       | нм       |
| 0                   | 0                | 0        | 0        |
| 0                   | 1                | 0        | 1        |
| 1                   | 0                | 0        | 1        |
| 1                   | 1                | 1        | 0        |

**Рисунок 18.** А) Схема синтеза соединения **L14**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L14**. Два входными сигналами являются  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ . Выходные сигналы - это выход 1 (регистрация поглощения при 623 нм) и выход 2 (регистрация поглощения при 663 нм). Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу **Половинный сумматор**.

При добавлении  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ , максимум поглощения смещался в сторону более коротких волн. Образовавшийся металлический комплекс имел максимум поглощения при 630 нм.

Анализ данных о поглощении раствора сенсора при длине волны в 623 нм позволил говорить о том, что этот сенсор является МЛЭ типа AND, а данные собранные вблизи максимума с большей длиной волны в 663 нм позволяют отнести данный МЛЭ к типу XOR. Когда эти два МЛЭ работают параллельно, получается **полусумматор** в режиме поглощения. Соответствующая таблица истинности для двух логических элементов показана на рисунке 18.

В структуре сенсора **L15** содержится три хелатирующие группы, а именно, азокраун эфир в мезо-положении ядра БОДИПИИ (селективный к  $\text{Ca}^{2+}$ ), дипикалиламиновая (селективная к  $\text{Zn}^{2+}$ ) и тиокраун эфир (селективный к  $\text{Hg}^{2+}$ ), связанные с ядром БОДИПИИ через стироловый фрагмент. При добавлении  $\text{Ca}^{2+}$  в концентрации 1.0 мМ происходит незначительное смещение максимумов поглощения на 25 нм в синюю область спектра. Добавление  $\text{Hg}^{2+}$  дает гипсохромный сдвиг максимума поглощения на 70 нм. Добавление  $\text{Zn}^{2+}$  дает гипсохромный сдвиг максимума поглощения на 25 нм. Тем не менее, изменение поглощения, при добавлении смеси трех катионов, оказалось слишком сложным, чтобы его можно было использовать в разработке логических элементов. Однако при изучении флуоресцентных свойств сенсора было показано, что при добавлении смеси трех катионов  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  испускание флуоресценции значительно усилилось. Таким образом, присутствие в растворе всех трех катионов одновременно необходимо для увеличения интенсивности испускания флуоресценции при 656 нм, что попадает под условие, соответствующее логическому элементу AND. Три катиона отдельно или в других бинарных комбинациях, не вызывают усиление интенсивности флуоресценции.



$\text{Zn}^{2+}$   
 $\text{Hg}^{2+}$   
 $\text{Ca}^{2+}$

Изменение интенсивности флуоресценции

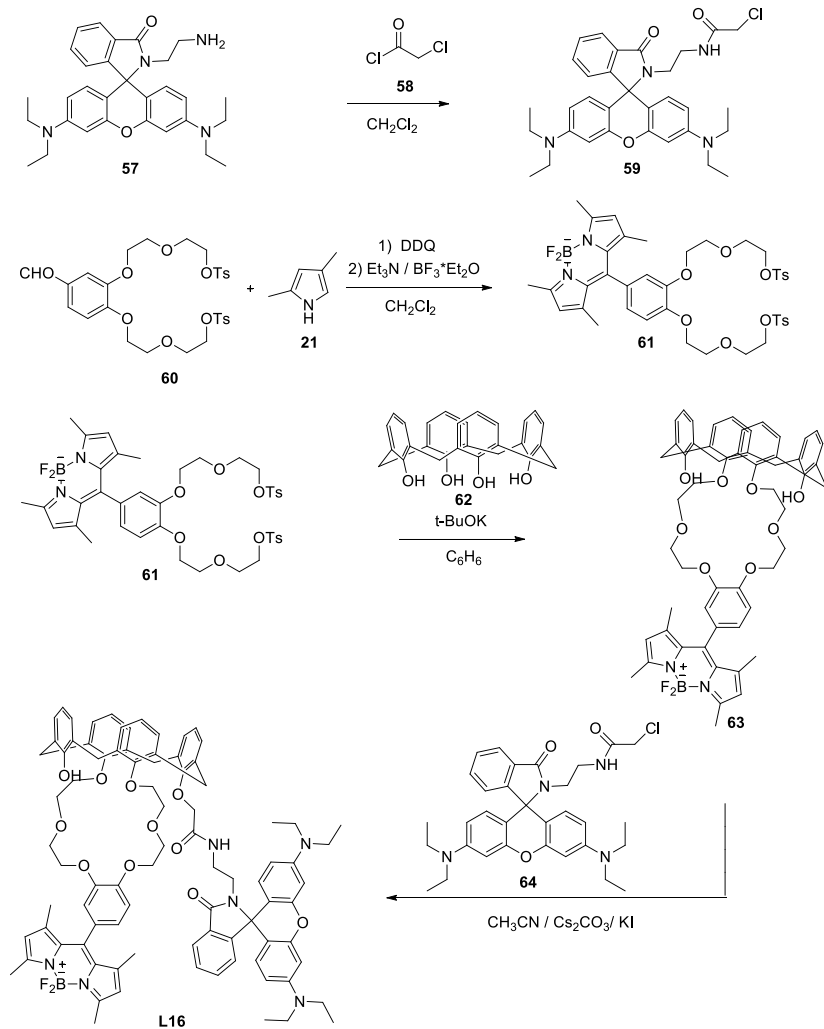
| Ввод             |                  |                  | Выход                                |
|------------------|------------------|------------------|--------------------------------------|
| $\text{Hg}^{2+}$ | $\text{Zn}^{2+}$ | $\text{Ca}^{2+}$ | AND<br>$\lambda_{em}=656 \text{ nm}$ |
| 0                | 0                | 0                | 0                                    |
| 0                | 0                | 1                | 0                                    |
| 0                | 1                | 0                | 0                                    |
| 0                | 1                | 1                | 0                                    |
| 1                | 0                | 0                | 0                                    |
| 1                | 0                | 1                | 0                                    |
| 1                | 1                | 0                | 0                                    |
| 1                | 1                | 1                | 1                                    |

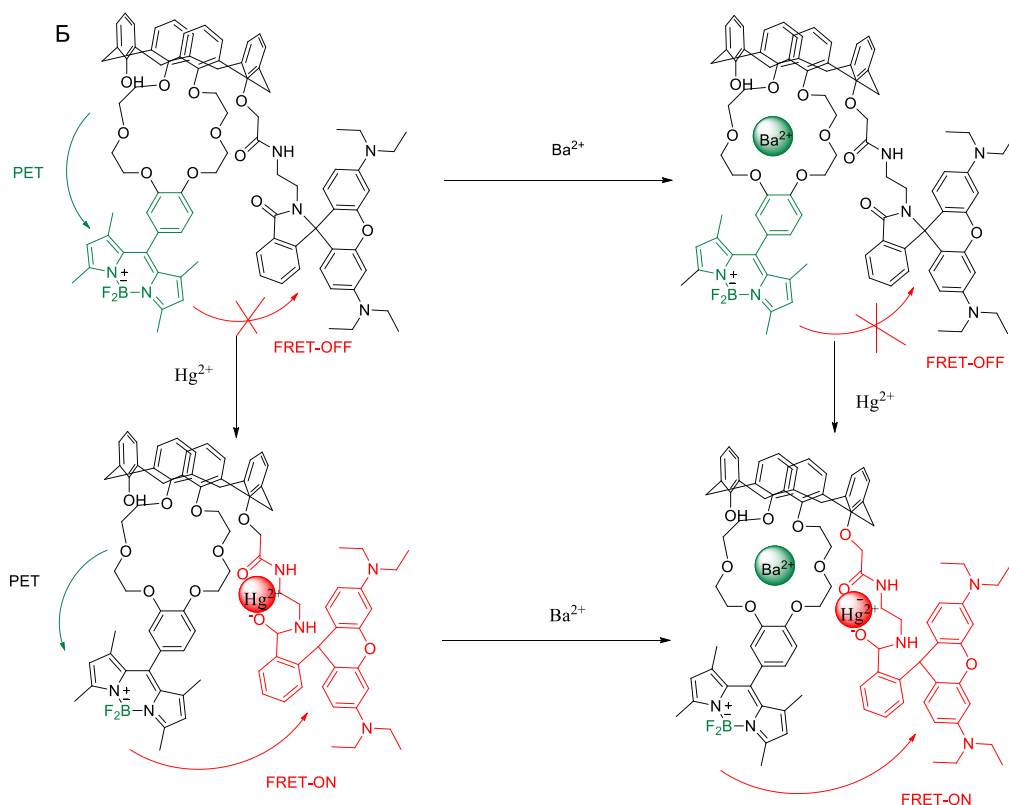
**Рисунок 18.** А) Схема синтеза соединения **L15**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L15**. Три входными сигналами являются  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$ . Выходной сигнал – это увеличение интенсивности флуоресценции при 656 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

В работе [34] был представлен флуоресцентный сенсор содержащий фрагменты БОДИПИ и родамина для селективного обнаружения  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Ba}^{2+}$ .

Синтез сенсора **L16** осуществлялся в 4 стадии, ключевой из которых являлась конденсация *N*-(родамин-В)лактам-этил-2-хлорацетида **64** с соединением **63** в присутствии  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  в качестве основания и каталитических количеств KI (Рисунок 19). Для спектральных исследований был выбран раствор **L16** в ацетонитриле.

A





$Ba^{2+}$  —  — Изменение интенсивности флуоресценции  
 $Hg^{2+}$  —  — Изменение интенсивности флуоресценции

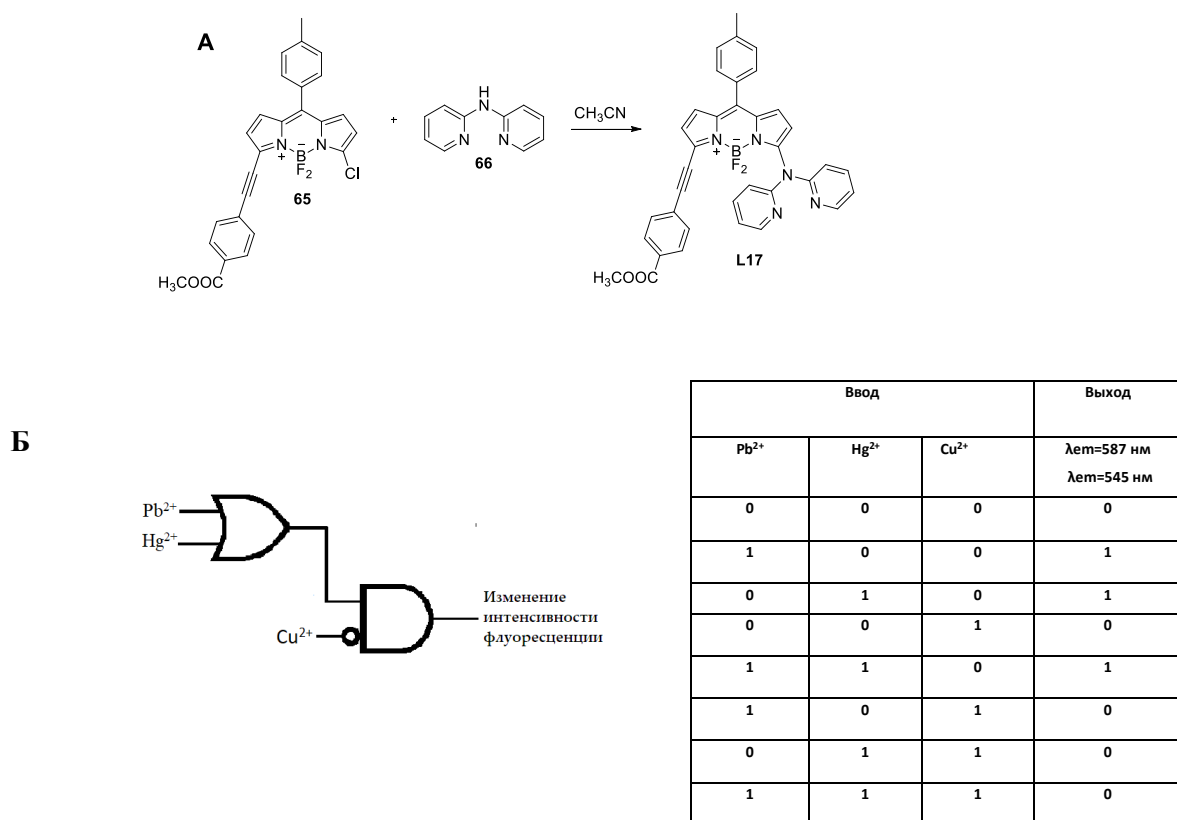
| Ввод      |           | Выход                         |
|-----------|-----------|-------------------------------|
| $Ba^{2+}$ | $Hg^{2+}$ | $\lambda_{em}=505 \text{ nm}$ |
| 0         | 0         | 0                             |
| 1         | 0         | 1                             |
| 0         | 1         | 0                             |
| 1         | 1         | 0                             |

**Рисунок 19 А)** Схема синтеза соединения **L16**. **Б)** Принципиальная схема механизма работы сенсора **L16**. Двумя входными сигналами являются  $Ba^{2+}$  и  $Hg^{2+}$ . Выходной сигнал - это увеличение интенсивности флуоресценции при 505 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу INHIBIT.

Спектры испускания были получены при возбуждении светом при длине волны 490 нм. После добавления  $Hg^{2+}$ , интенсивность максимума испускания при 505 нм постепенно уменьшалась и наблюдалось формирование нового максимума при 585 нм, а также появлялась изобестическая точка при 541 нм. Связывание  $Hg^{2+}$  вызывало формирование новой полосы испускания, что доказывает эффективный процесс FRET-переноса от донорной (БОДИПИ) группы к акцепторной (Родамин) группе. Интересно, что соединение **L16** демонстрировало 15-кратное усиление интенсивности флуоресценции при максимуме 505 нм в присутствии 20 экв.  $Ba^{2+}$ . Повышение интенсивности флуоресценции могло быть связано с комплексообразованием

$\text{Ba}^{2+}$  с рецепторной группой, что приводило к снижению электронодонорной способности кислорода к БОДИПИ. Таким образом, процесс РЕТ частично подавлялся и вызывал увеличение интенсивности испускания. Результаты показали, что соединение **L16** проявляет высокую селективность по отношению к  $\text{Ba}^{2+}$  по сравнению с другими металлами. Следовательно, соединение **L16** также может служить в качестве  $\text{Ba}^{2+}$ -селективного флуоресцентного сенсора, давая 15-кратный флуоресцентный отклик в  $\text{CH}_3\text{CN}$ . При добавлении  $\text{Ba}^{2+}$  и  $\text{Hg}^{2+}$  происходила блокировка РЕТ-процесса и включение FRET-процесса. Зеленая флуоресценция все еще эффективно гасилась, а красная флуоресценция становилась сильнее, флуоресцентное поведение сенсора было проанализировано с помощью комбинационной логики.

В работе [35] был показан флуоресцентный хемосенсор **L17** на основе БОДИПИ, имеющий в структуре рецепторный дипиридинаминовый фрагмент. Сенсор был получен реакцией замещения атома хлора в БОДИПИ **65** дипикалиамином **66**. Его спектральные свойства управляются механизмом ICT. Сенсор обладал очень слабым испусканием флуоресценции при 630 нм при возбуждении светом длиной волны в 510 нм (Рисунок 20).

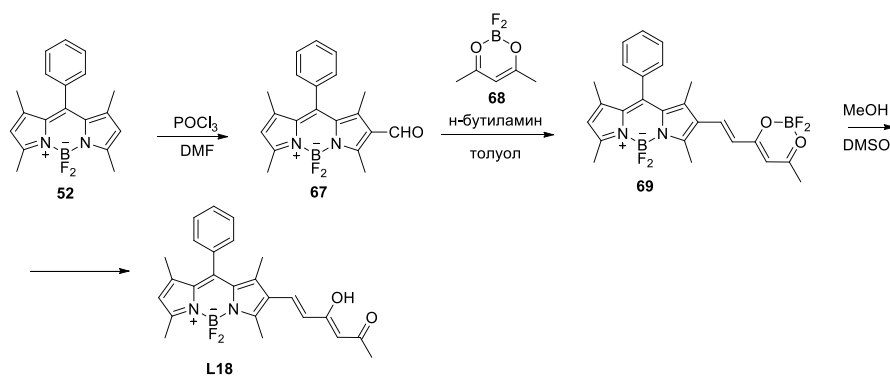


**Рисунок 20.** А) Схема синтеза соединения **L17**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L17**.

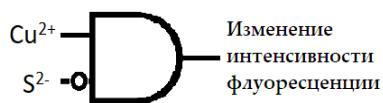
После добавления  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  к раствору сенсора, интенсивность флуоресценции увеличивалась с появлением новых максимумов испускания при 587 нм для  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  и при 545 нм для ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . На основе комбинационной логики была построена схема с использованием трех различных ионов металлов ( $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$ ) в качестве входных данных и интенсивности флуоресценции при 587 нм в качестве выходного сигнала. За единицу был принят ВЫХОД в виде интенсивности флуоресценции выше, чем 150 о.е. Изучение данной схемы позволило сделать вывод, что сенсор является МЛЭ комбинированного типа, сочетающим в себе логические элементы OR и INHIBIT. Индуцированный  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  хромогенный процесс может быть изменен путем добавления ЭДТА, но индуцированный  $\text{Cu}^{2+}$  процесс необратим.

В работе [36] был синтезирован флуоресцентный сенсор типа “On-Off”, содержащий фрагмент ацетилацетона с высокой селективностью по отношению к катионам  $\text{Cu}^{2+}$  (Рисунок 21).

А



Б



| Ввод             |                 | Выход 1                       |
|------------------|-----------------|-------------------------------|
| $\text{Cu}^{2+}$ | $\text{S}^{2-}$ | $\lambda_{em}=570 \text{ нм}$ |
| 0                | 0               | 0                             |
| 0                | 1               | 0                             |
| 1                | 0               | 1                             |
| 1                | 1               | 0                             |

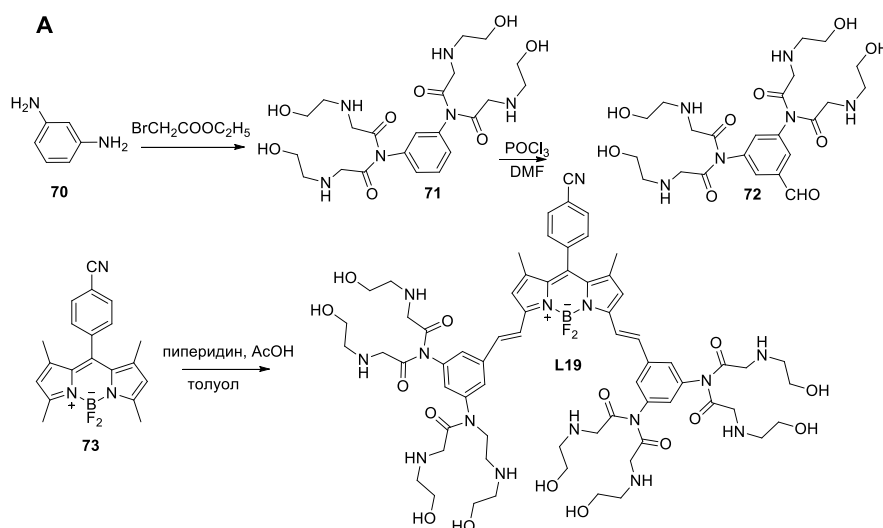
**Рисунок 21.** А) Схема синтеза соединения **L18**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L18**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{S}^{2-}$ . Выходной сигнал - это изменение интенсивности флуоресценции при 570 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу INHIBIT.

Синтез **L18** был получен в 3 стадии, ключевой из которых являлась конденсация Кневенагеля между фармилным производным БОДИПИ **67** и ацетилацетондифторбаридным комплексом **68**.



После комплексообразования с катионами  $\text{Cu}^{2+}$ , полученный комплекс показал высокую специфичность к  $\text{S}^{2-}$  с восстановлением интенсивности флуоресценции на основе механизма вытеснения  $\text{Cu}^{2+}$ . При добавлении 1 экв.  $\text{Cu}^{2+}$  происходило максимальное гашение флуоресценции (88%) с максимумом в 570 нм при длине волны возбуждения в 525 нм. При последующем добавлении 20 экв.  $\text{S}^{2-}$  к комплексу происходила регенерация флуоресценции, что свидетельствовало о высвобождении свободного флуорофора.

Сенсор БОДИПИ **L19** [37] содержит полиамидный рецептор, который избирательно связывается с  $\text{Cd}^{2+}$ . Комплекс сенсора **L19** с  $\text{Cd}^{2+}$  проявляет селективность по отношению к пирофосфату (PPI). Сенсор был получен в результате конденсации альдегида **72**, функционализированного рецепторной группой, и БОДИПИ **73**. Свободный сенсор имел максимум поглощения при 665 нм и обладал слабой флуоресценцией при возбуждении волной в 620 нм. Гашение флуоресценции происходило по РЕТ-механизму двумя диаминобензольными фрагментами (Рисунок 22).

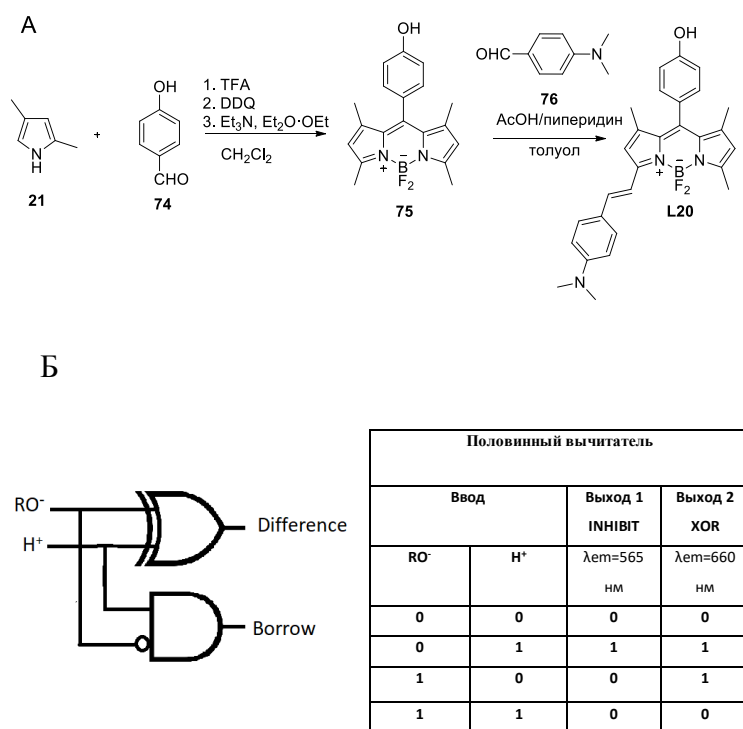


| Ввод             |     | Выход                           |
|------------------|-----|---------------------------------|
| $\text{Cd}^{2+}$ | PPI | $\lambda_{\text{em}}=638$<br>нм |
| 0                | 0   | 0                               |
| 0                | 1   | 0                               |
| 1                | 0   | 1                               |
| 1                | 1   | 0                               |

**Рисунок 22.** А) Схема синтеза соединения **L19**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L19**. Входными сигналами являются  $\text{Cd}^{2+}$  и PPI. Выходной сигнал - увеличение интенсивности флуоресценции при 638 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу INHIBIT.

После добавления  $\text{Cd}^{2+}$  к раствору сенсора в буфере трис- $\text{HCl}$  (20 мМ) + 10% ДМСО, гашение флуоресценции снималось, и интенсивность испускания при 638 нм значительно увеличивалась. При добавлении  $\text{PPI}$  к раствору образовавшегося комплекса происходило смещение максимума поглощения в красную область, а интенсивность флуоресценции при 637 нм уменьшалась.

В работе Аккая [38] был описан сенсор **L20** на основе БОДИПИ, функционирующий как МЛЭ типа **полувычитатель**. Сенсор был получен в 2 стадии по стандартной для БОДИПИ методологии. Он представляет собой молекулу, содержащую 8-(4-гидроксифенил)-БОДИПИ и диметилбензенамин, связанные через стирильный фрагмент. Было показано, что 8-(4-гидроксифенил)-БОДИПИ в депротонированной форме является не флуоресцирующим веществом, потому что реализуется гашение флуоресценции по РЕТ-механизму, а диметилбензенамин, связанный с БОДИПИ через стирильный фрагмент, является ИСТ-модулятором. Изучение спектральных свойств соединения производилось в ТГФ (Рисунок 23).



**Рисунок 23.** А) Схема синтеза соединения **L20**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L20**. Двумя входными сигналами являются  $\text{RO}^-$  и  $\text{H}^+$ . Выходные сигналы - это выход 1 (регистрация флуоресценции при 565 нм) и выход 2 (регистрация флуоресценции при 660 нм). Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу **Полувычитатель**.

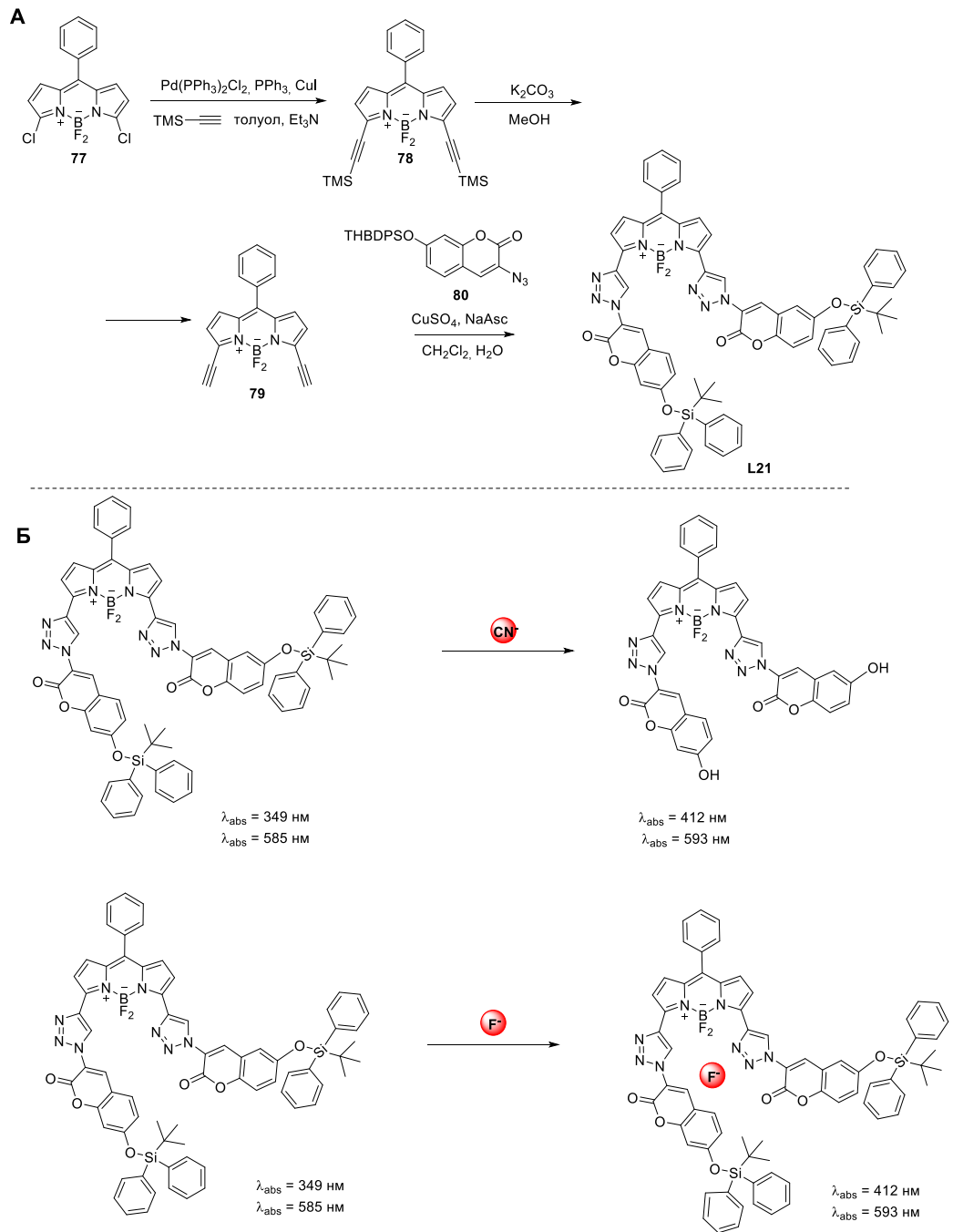
При добавлении раствора кислоты к раствору сенсора происходил значительный гипохромный сдвиг на 40 нм в спектре поглощения и гипохромный сдвиг на 100 нм в спектре

флуоресценции. Добавление сильного основания (третбутоксид калия) депротонировало фенольную гидроксильную группу, что привело к гашению интенсивности флуоресценции без какого-либо сдвига в спектрах поглощения или испускания. Изменение флуоресценции исследовалось при длинах волн максимумов испускания в 565 и 660 нм. Изменение испускания флуоресценции при 565 нм коррелирует с МЛЭ типа INHIBIT, а изменение флуоресценции при 660 нм коррелирует с МЛЭ типа XOR. Соединение этих двух МЛЭ инструментами булевой логики дает МЛЭ типа полувычитатель.

## **II.2. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для детектирования анионов**

Определение анионов в растворах играет важную роль как в биологических, так и промышленных процессах, также необходимо создание новых методов обнаружения анионных загрязнителей в окружающей среде. Однако, область исследования анион-селективных хемосенсоров менее развита, чем катион-селективных хемосенсоров. Это объясняется сильной гидратацией анионов в растворах, затрудняющей их определение.

В работе [39] был описан флуоресцентный сенсор **L21** на основе кумарин-БОДИПИ для детектирования  $\text{CN}^-$  и  $\text{F}^-$ . Синтез сенсора **L21** показан на рисунке 24. Каркас БОДИПИ был получен из пиррола и *n*-цианобензальдегида по стандартной для БОДИПИ методике (Рисунок 24). После формилирования по Вейсмееру-Хааку и постановки тиоацетальной защиты с использованием 1,3-дителиопропана в присутствии  $\text{VF}_3\text{OEt}_2$  был получен сенсор **L21**. Фотофизические исследования были проведены в смеси ацетонитрила и трис-НСl (95:1, pH 7.5). Изменение флуоресценции основано на ICT-механизме. Сенсор обладает двумя максимумами поглощения при 349 и 585 нм и максимумом испускания флуоресценции при 604 нм ( $\lambda_{\text{ex}}=387$  нм). Добавление  $\text{F}^-$  к раствору сенсора приводило к сдвигу максимумов поглощения в красную область с 349 до 412 нм и с 585 до 593 нм, а также к снижению интенсивности флуоресценции при 604 нм. Механизм гашения основан на том, что добавление  $\text{F}^-$  вызывает гидролиз трет-бутилдифенилсилила и приводит к образованию фенолята. Добавление  $\text{CN}^-$  приводило к исчезновению максимумов поглощения при 349 нм и 585 нм и возникновению новых максимумов при 421 нм и 593 нм, а также к появлению максимума испускания при 492 нм.

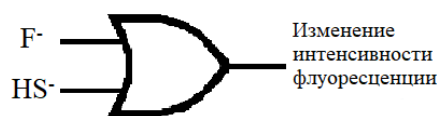
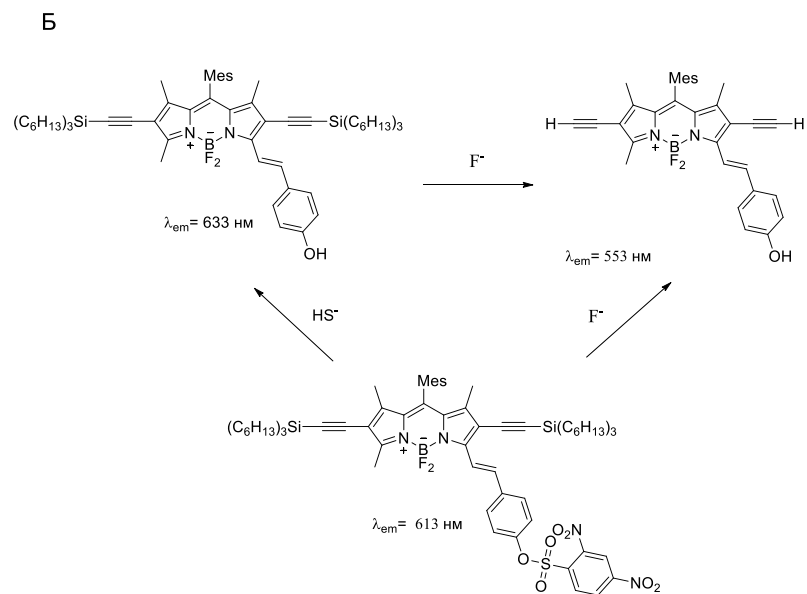
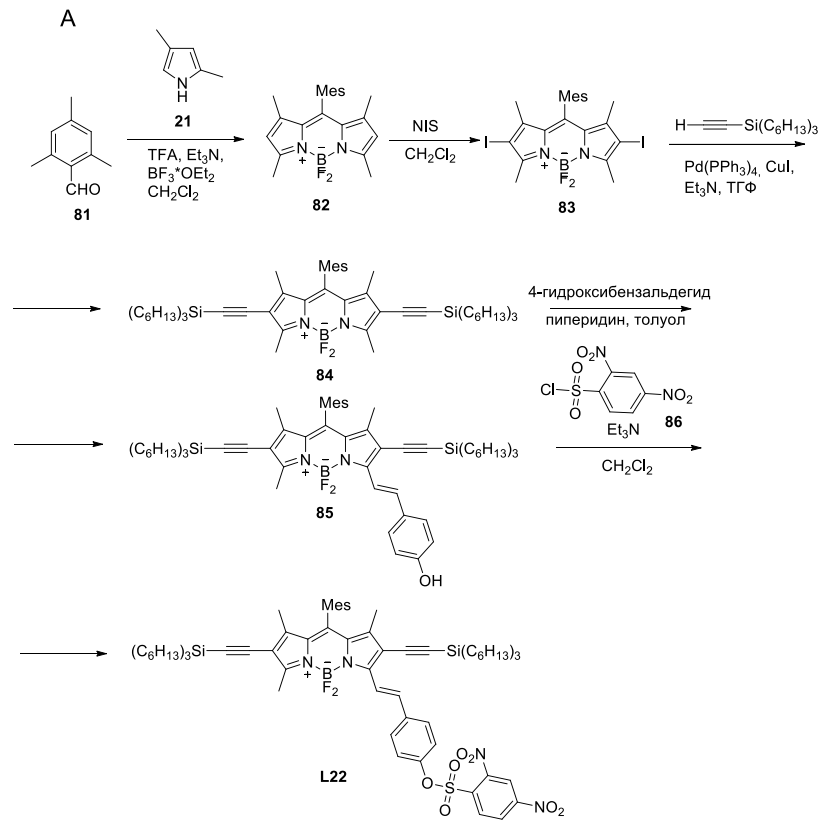


| Ввод            |                | Выход  |
|-----------------|----------------|--|
| CN <sup>-</sup> | F <sup>-</sup> | $\lambda_{\text{abs}} = 349 \text{ nm}$<br>$\lambda_{\text{abs}} = 585 \text{ nm}$ |
| 0               | 0              | 0  |
| 0               | 1              | 1  |
| 1               | 0              | 1  |
| 1               | 1              | 1  |

**Рисунок 24.** А) Схема синтеза соединения **L21**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L21**. Двумя входными сигналами являются  $\text{CN}^-$  и  $\text{F}^-$ . Выходной сигнал – это изменение

максимумов поглощения и интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления  $\text{CN}^-$  или  $\text{F}^-$  ведет к молекулярному логическому элементу OR.

В работе [40] был описан сенсор **L22** на основе стирил-БОДИПИ, содержащий 2,4-динитробензосульфонильную группу и тригексилсилилацетиленовые остатки для определения  $\text{HS}^-$  и  $\text{F}^-$  соответственно. Синтез сенсора был проведен в 3 стадии. Ключевыми из которых являлись - включение стирилового мостика в 3-ю позицию БОДИПИ **84**, посредством конденсации Кневенагеля и затем замещение атома водорода ОН-группы полученного соединения **85** DNBS-Cl (Рисунок 25). После добавления NaHS к раствору, содержащему сенсор, динитробензосульфонильная группа селективно отщепилась, что привело к увеличению интенсивности флуоресценции  $\lambda_{\text{em}}=613$ . В присутствии  $\text{F}^-$  динитробензосульфонильная группа и тригексилсилилацетиленовые остатки гидролизовались, что сопровождалось увеличением интенсивности флуоресценции  $\lambda_{\text{em}}=553$  и гипсохромным смещением максимума испускания на 60 нм. Флуоресценция сенсора была стабильна и не зависела от pH в физиологическом диапазоне. Сенсор был успешно использован для визуализации наличия сероводорода в живых клетках.



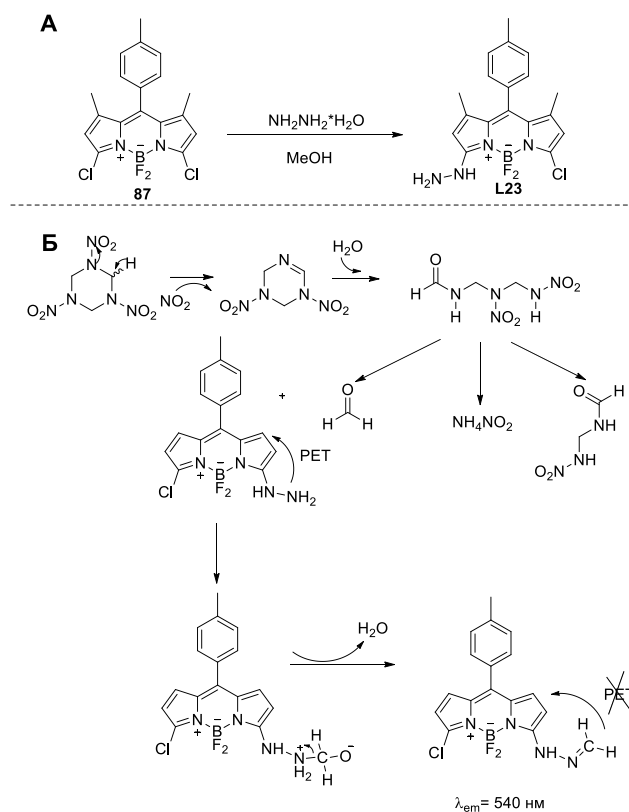
| Ввод          |              | Выход  |
|---------------|--------------|--|
| $\text{HS}^-$ | $\text{F}^-$ | $\lambda_{\text{em}} = 553 \text{ nm}$<br>$\lambda_{\text{em}} = 613 \text{ nm}$ |
| 0             | 0            | 0  |
| 0             | 1            | 1  |
| 1             | 0            | 1  |
| 1             | 1            | 1  |

**Рисунок 25.** А) Схема синтеза соединения **L22**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L22**. Двумя входными сигналами являются  $\text{HS}^-$  и  $\text{F}^-$ . Выходной сигнал - это изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления  $\text{HS}^-$  или  $\text{F}^-$  ведет к молекулярному логическому элементу OR.

### II.3. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для обнаружения боевых отравляющих и взрывчатых веществ

Химические взрывчатые вещества, такие как 1,3,5-тринитропергидро-1,3,5-триазин (RDX), пикриновая кислота (PA) и 2,4,6-тринитротолуол (TNT), а также боевые отравляющие вещества представляют угрозу для здоровья и безопасности населения. Поэтому флуоресцентные хемосенсоры для быстрого и селективного обнаружения химических взрывчатых и боевых отравляющих веществ в следовых количествах имеют большое значение.

В работе [41] был исследован флуоресцентный сенсор **L23**, используемый для выявления гексогена и пикриновой кислоты на основе гидразинзамещенного-БОДИПИ. Сенсор был получен в одну стадию путем замещения атомов хлора БОДИПИ **87** гидразин-гидратом. Гидразиновая группа по PET-механизму гасит флуоресценцию сенсора в свободном состоянии (Рисунок 26).





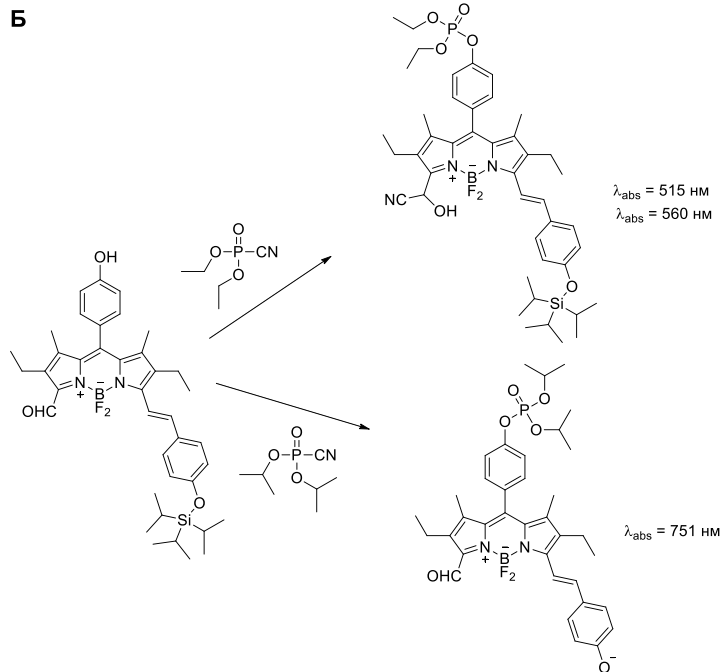
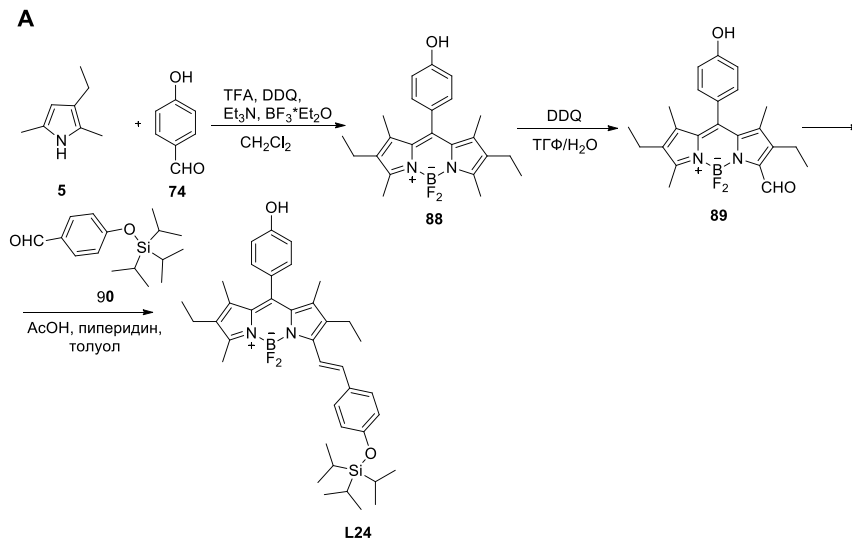
| Ввод |          | Выход        |
|------|----------|--------------|
| ПК   | гексоген | лет = 540 нм |
| 0    | 0        | 0            |
| 0    | 1        | 1            |
| 1    | 0        | 1            |
| 1    | 1        | 1            |

**Рисунок 26.** А) Схема синтеза соединения **L23**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L23**. Таким образом, был разработан МЛЭ OR для распознавания гексогена и пикриновой кислоты на основе флуорометрических данных. Гексоген и пикриновая кислота считаются входными сигналами, тогда как интенсивность флуоресценции сенсора представляет выходной сигнал.

Механизм детектирования заключается в том, что формальдегид, который является основным продуктом разложения гексогена, взаимодействует с концевой  $\text{NH}_2$  – группой и приводит к образованию гидрофона. В результате гашение по РЕТ-механизму снимается, и интенсивность флуоресценции сенсора **L23** существенно увеличивается.

В работе [42] авторы разработали сенсор **L24** на основе БОДИПИ, который способен различать присутствие различных нервно-паралитических отравляющих веществ, таких как табун, зарин и зоман. Сенсор **L24** был получен по стандартной для БОДИПИ методике посредством конденсации Кневенагеля. Исследование проводилось на аналоге табуна – DCNP и аналоге зарина и зомана – DFP. Было обнаружено что, сенсор **L24** в присутствии DCNP или DFP подвергался фосфорилированию фенокси группы, с последующим выделением фтора (для DFP) или цианид-аниона (для DCNP). В присутствии DCNP происходит нуклеофильное присоединение его цианидной группы к карбонильной группе сенсора, что приводило к образованию продукта, имеющего гипсохромный сдвиг полосы поглощения, сопровождающийся изменением цвета от розового до оранжевого. На спектре УФ-поглощения наблюдалось исчезновение максимума поглощения при 591 нм и появление максимумов поглощения при 515 и 560 нм. В присутствии DFP, фторид-анион гидролизует триизопропилсилильную группу сенсора, и при этом образуется окрашенный феноксидный анион с полосой поглощения в ИК-области с максимумом поглощения в 715 нм (Рисунок 27).





DCNP  
DFP

Изменение поглощения

| Ввод |     | Выход                                   |
|------|-----|---|
| DCNP | DFP | $\lambda_{\text{abs}} = 591 \text{ нм}$ |
| 0    | 0   | 0                                       |
| 0    | 1   | 1                                       |
| 1    | 0   | 1                                       |
| 1    | 1   | 1                                       |

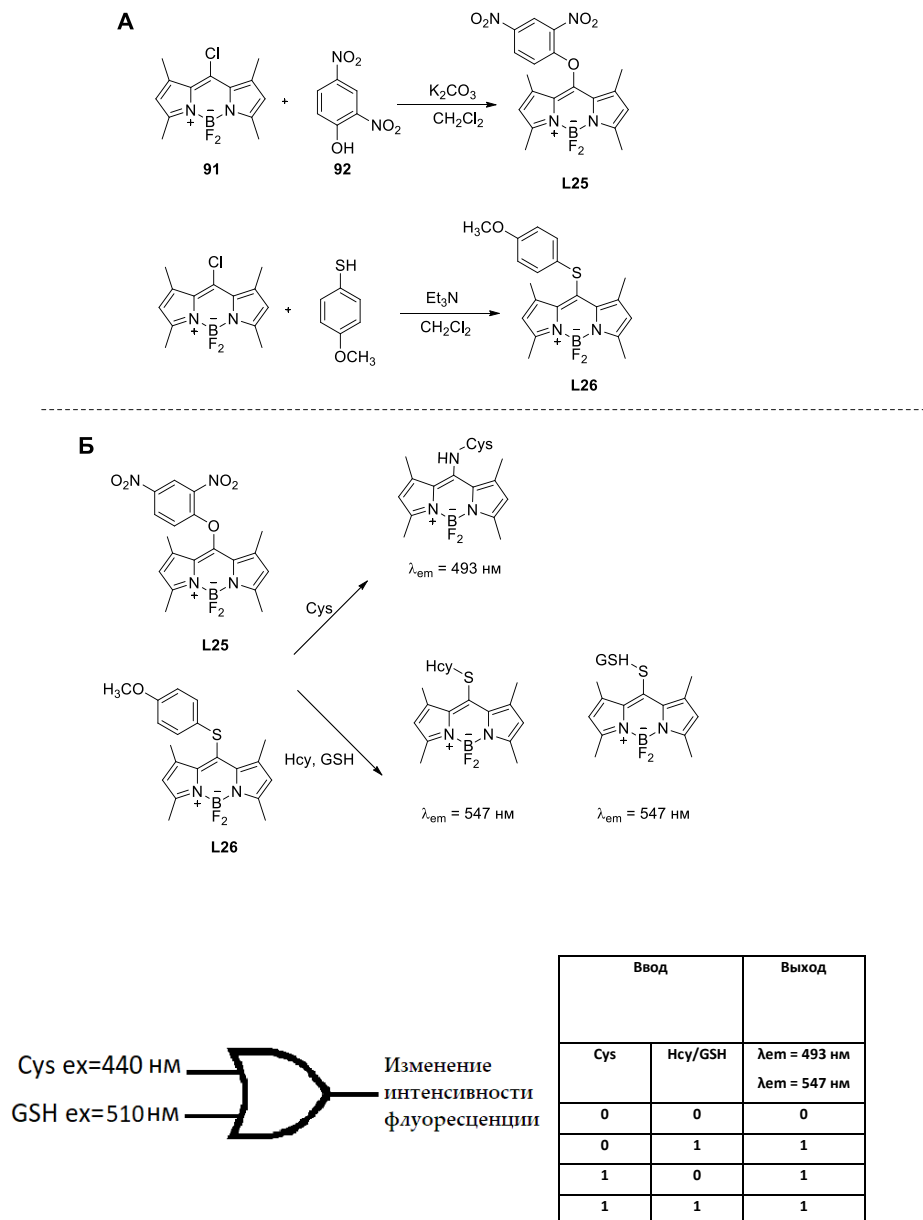
**Рисунок 27.** А) Схема синтеза соединения L24 Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора L24. Двумя входными сигналами являются DCNP и DFP. Выходной сигнал – это

изменение максимумов поглощения. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления DCNP или DFP ведет к молекулярному логическому элементу OR.

#### **II.4. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для обнаружения тиолов, оксидов азота и активных форм кислорода**

Внутриклеточные тиолы, такие как цистеин (Cys), гомоцистеин (Hcy) и глутатион (GSH) играют ключевую роль в биологических системах. Ряд заболеваний, таких как поражение печени, псориаз, рак и СПИД, сопровождаются изменением концентрации этих соединений. В связи с чем, сейчас важно иметь возможность для обнаружения данных тиолосодержащих биомолекул в биологических образцах.

В работе [43] были описаны два “ Off- On” флуоресцентных сенсора **L25** и **L26** на основе БОДИПИ, содержащие связанные через атомы O-, S- арильные заместители в 8 положении ядра БОДИПИ. Они были получены замещением хлора у мезо-хлор- БОДИПИ **91** 2,4-динитрофенолом **92** или 4-метокситиофенолом. Данные сенсоры позволяют осуществлять одновременное обнаружение цистеина Cys и гомоцистеина/глутатиона Hcy/GSH. В буфере CH<sub>3</sub>CN/PBS (3:7, 10 mM, pH 7.4) при 25 °C **L26** имел максимум поглощения при 528 нм, а **L25** максимум поглощения при 493 нм. При добавлении 10 экв. Hcy или GSH к раствору сенсора **L26** по отдельности, максимумы поглощения слегка смещались гипохромно с небольшим приростом интенсивности в течение 30 мин. Однако, при добавлении 10 экв. Cys к раствору **L25** происходило резкое уменьшение максимума при 52 нм и образование новой полосы поглощения при 440 нм в течение 30 мин (Рисунок 28).



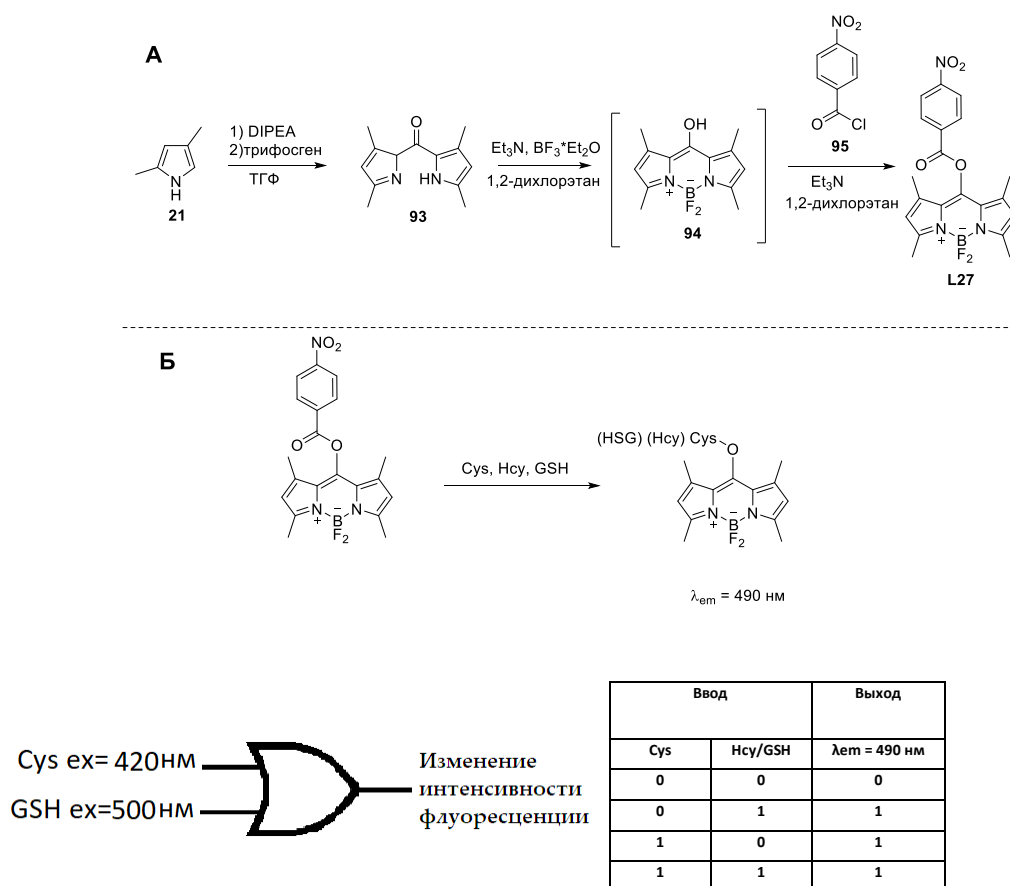
**Рисунок 28.** А) Схема синтеза соединений **L25** и **L26**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L25** и **L26**. Двумя входными сигналами являются Cys и Hcy/GSH. Выходной сигналы - изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления Cys или Hcy/GSH. ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Исследование спектральных свойств сенсора **L26** показало, что в свободном состоянии сенсор практически не флуоресцирует. После обработки сенсора растворами Hcy, GSH и Cys в течение 30 минут происходило 20-кратное усиление интенсивности флуоресценции для Hcy при 543 нм и 80-кратное для GSH при 547 нм и без явного флуоресцентного ответа для Cys при 540 нм (волна возбуждения света 510 нм). При условии, когда длина волны возбуждения составляла 440 нм, только в случае Cys происходило 300-кратное усиление флуоресценции при

493 нм, в отличие от Hcy или GSH, для которых наблюдалась только небольшая полоса испускания флуоресценции при 550 нм.

Такая же картина изменения флуоресцентных свойств и поглощения наблюдалась для **L25**. При добавлении Cys к раствору сенсора происходило увеличение интенсивности флуоресценции в 280 раз. Принцип работы сенсора основан на арильном нуклеофильном замещении в ядре БОДИПИИ прд действием Cys, Hcy или GSH. При этом образовавшиеся amino- и тиол-БОДИПИИ обладают различными фотофизическими свойствами.

Похожий МЛЭ типа OR **L27** на основе БОДИПИИ для одновременного и избирательного обнаружения Cys и Hcy/GSH был показан в работе [44]. Ключевой стадией в синтезе сенсора была реакция БОДИПИИ **94** с 4-нитробензоил хлоридом **95**, которая привела к получению сенсора. Сенсор **L27** имел максимум поглощения при 493 нм, и при возбуждении волнами длиной в 420 нм или 500 нм не флуоресцировал (Рисунок 29).

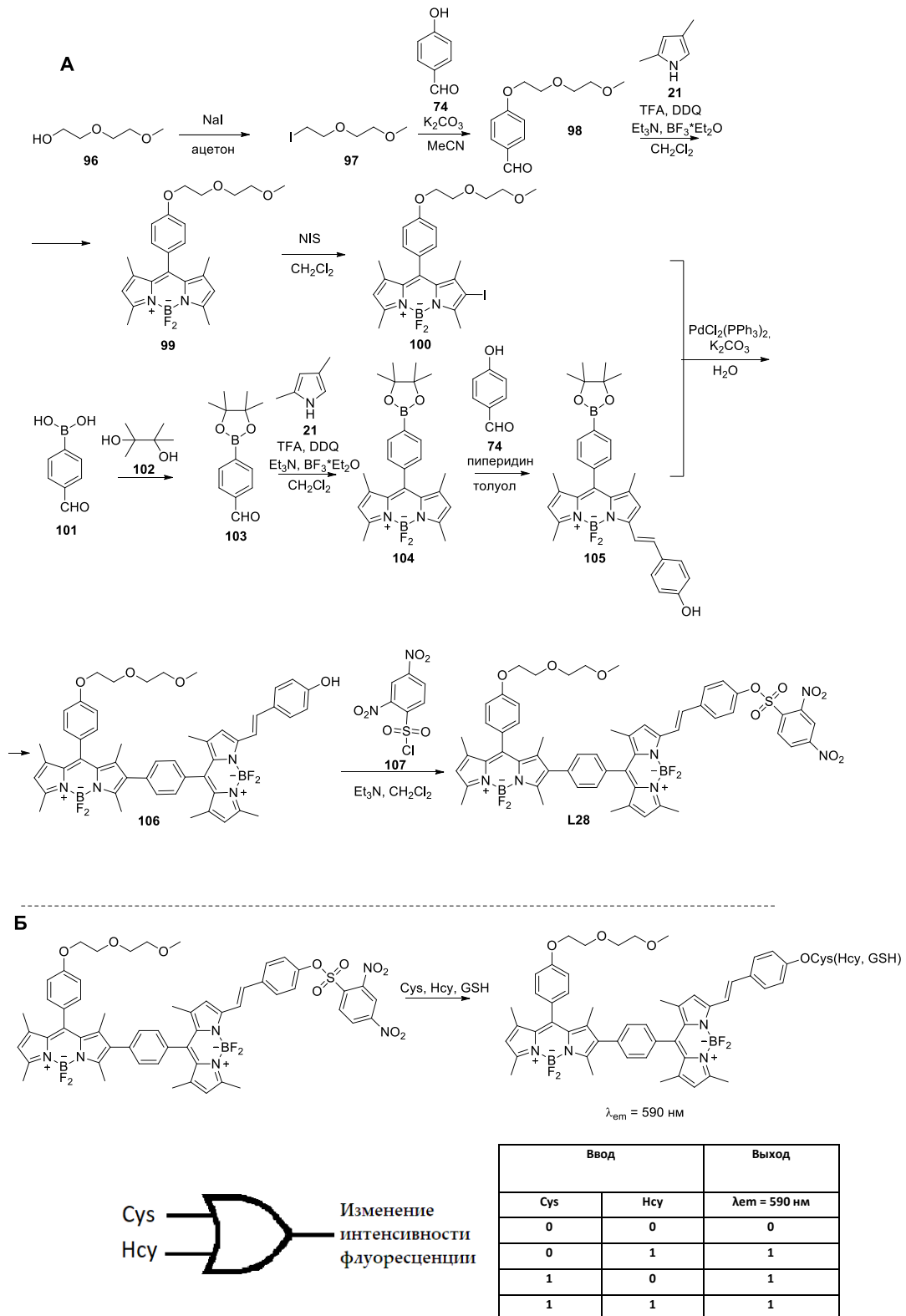


**Рисунок 29.** А) Схема синтеза соединения **L27**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L27**. Двамя входными сигналами являются Cys и Hcy/GSH. Выходной сигнал — изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления Cys или Hcy/GSH. ведет к молекулярному логическому элементу OR.

После обработки сенсора **L27** раствором Cys (20 экв.) максимум поглощения сместился с 493 нм на 439 нм. При возбуждении светом с длиной волны в 420 нм происходило значительное

усиление интенсивности флуоресценции в 350 раз при 490 нм. После добавления GSH (20 экв.) к раствору сенсора **L27**, максимум поглощения при 493 нм уменьшился с одновременным увеличением максимума поглощения при 524 нм. При длине волны возбуждения в 500 нм и добавления 20 экв. Hcy/GSH к раствору сенсора **L27**, наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции в 30 раз для Hcy и в 90 раз для GSH при 544 нм. И напротив, добавление Cys не вызывало каких-либо существенных изменений интенсивности флуоресценции. Таким образом, сенсор был применен для различения Cys от GSH или Hcy.

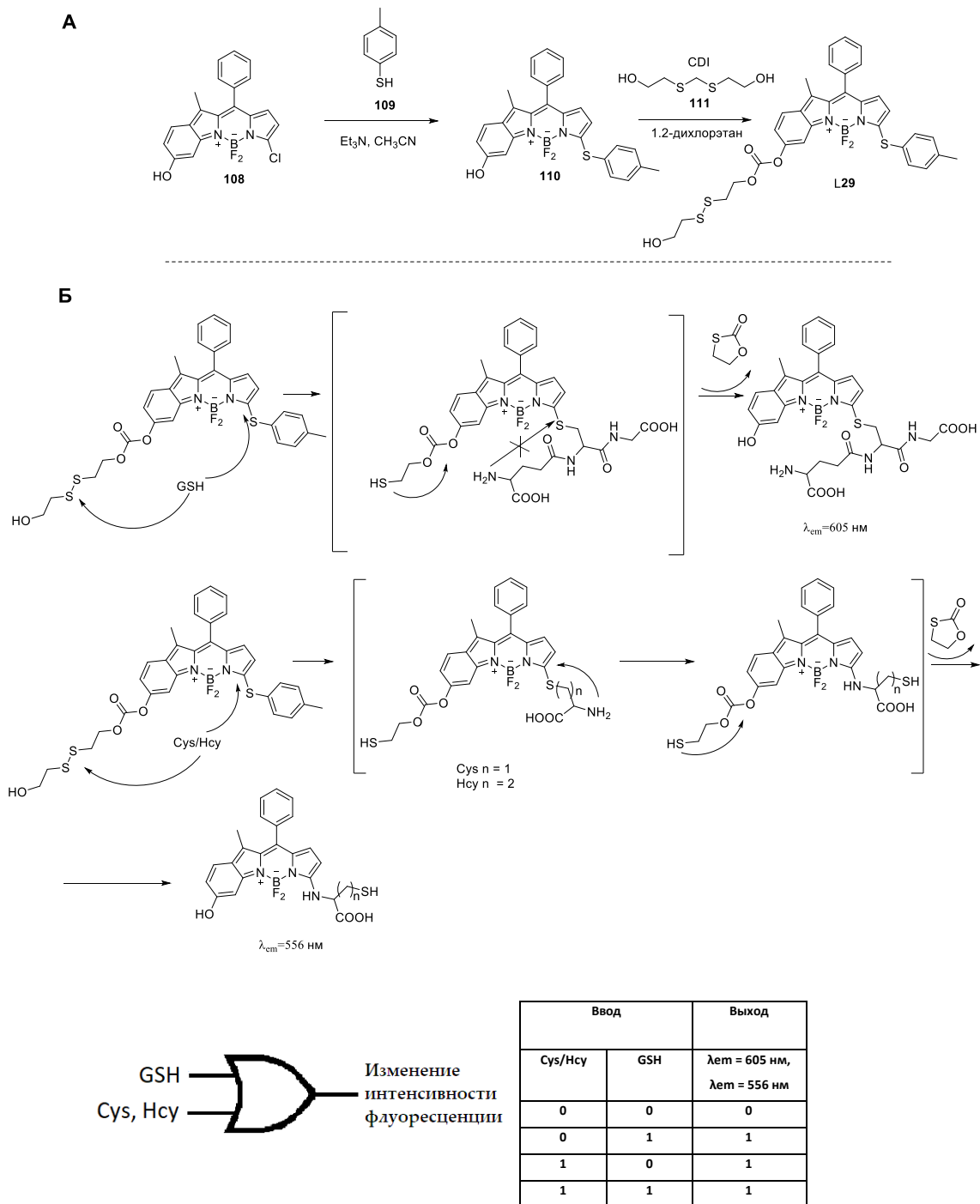
В работе [45] был показан “Off-On” флуоресцентный сенсор, основанный на RET-механизме для селективного обнаружения Cys и Hcy. Донором для RET являлся фрагмент БОДИПИ, а акцептором энергии - фрагмент 4-гидроксилстирил-БОДИПИ. Синтез сенсора был осуществлен в 9 стадий, ключевой из которых была установка C–C-связи между донором и акцептором с помощью реакции Сузуки. В целях улучшения растворимости сенсора в воде, в его структуру был введен фрагмент полиэтиленгликоля. Также произошло гашение флуоресценции ядра флуорофора через стироловый фрагмент в связи с тем, что 2,4-динитробензосульфонильный фрагмент, селективный к S-нуклеофилам, является мощным акцептором электронов. Его отщепление привело к восстановлению испускательной способности сенсора. Хотя сам сенсор **L28** не флуоресцентный, в присутствии цистеина или гомоцистеина появилась флуоресценция в красной области при 590 нм (возбуждение светом длиной волны в 505 нм), и появился псевдостоксовый сдвиг до 77 нм. Возбуждение донорного флуорофора при 505 нм привело к передаче энергии от донора к акцептору и испусканию флуоресценции в красной области от акцептора при 590 нм (передача энергии по RET-механизму). Сенсор использовали для флуоресцентной визуализации клеточных тиолов *in vivo* (Рисунок 30).



**Рисунок 30.** А) Схема синтеза соединения **L28**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L28**. Два входными сигналами являются Cys и Hcy. Выходной сигнал - это изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления Cys или Hcy ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Эффективность сенсора оценивали с использованием биологически важных аналитов, таких как гомоцистеин, глутатион и несколько различных аминокислот, а также с перекисью водорода, которая может содержаться в цитоплазме. Значительные флуоресцентные отклики наблюдались только для Cys и Hcy, при этом не наблюдалось усиление флуоресценции для других аналитов, таких как глицин, пролин и т. д. Таким образом, сенсор является высокоселективным в отношении цистеина и гомоцистеина.

В работе [46] был показан флуоресцентный сенсор **L29** на основе БОДИПИ для селективного определения GSH в смеси с Cys и Hcy. Для достижения этой цели использовалось объединение в одной молекуле БОДИПИ двух реакционных центров, а именно дисульфидного линкера и тиоэфирной группы. Сенсор был получен в 3 стадии. На первой было проведено ароматическое нуклеофильное замещение Cl в БОДИПИ **108**, функционализированным гидроксигруппой и хлором, на *n*-тиокрезол **109**, затем его гидроксильная группа была активирована CDI и введена в реакцию с 2,2'-дитиодизтанолом **111**, что привело к получению продукта (Рисунок 31). Механизм обнаружения аналитов заключается в том, что дисульфидная связь в молекуле БОДИПИ расщепляется под действием тиольной группы, содержащейся во всех аналитах, что приводит к получению промежуточных соединений. На втором этапе происходит реакция тиоэфира с нуклеофильным тиолатом, которая сопровождается образованием сульфенил-БОДИПИ. Последующее внутримолекулярное замещение происходит только под действием аминокислот Cys или Hcy, дающими аминокислотозамещенный БОДИПИ. Таким образом, Cys и Hcy приводят к сульфенил- и аминокислотозамещенному БОДИПИ. Следует отметить, что на втором этапе кинетически благоприятное циклическое переходное состояние является критическим для различия GSH от Cys и Hcy. Громоздкость GSH значительно препятствует внутримолекулярной перестройке, давая только сульфенил-БОДИПИ. Учитывая разные фотофизические свойства сульфенил-БОДИПИ и сульфенил- и аминокислотозамещенного БОДИПИ, сенсор позволяет различать GSH от Cys и Hcy.



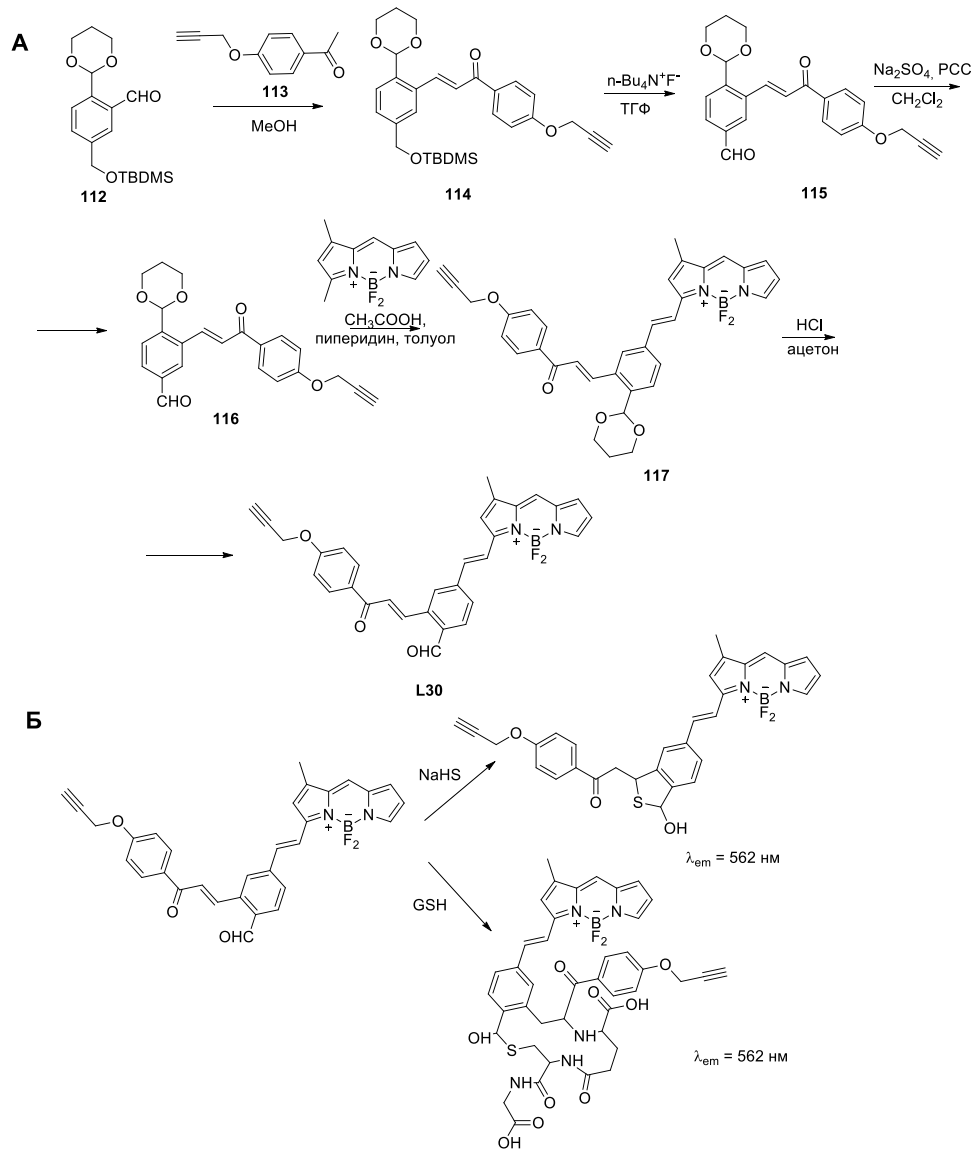
**Рисунок 31.** А) Схема синтеза соединения **L29**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L29**. Двумя входными сигналами являются Cys/Hcy и GSH. Выходные сигналы - это изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления Cys/Hcy или GSH ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Сенсор **L29** обладал максимумом поглощения при 552 нм, а также слабым максимумом испускания при 605 нм с квантовым выходом около 0.001. Добавление 5 мМ GSH к раствору **L29** в CH<sub>3</sub>CN/HEPES-буфере (1:1, 20 мМ, pH 7.4) вызывало резкое снижение интенсивности поглощения при 552 нм наряду с одновременным появлением полосы поглощения при 581 нм.



В спектрах флуоресценции добавление GSH вызывало появление испускания в красной области спектра с максимумом 605 нм при возбуждении светом длиной волны 565 нм, что позволило сенсору **L29** обнаружить GSH. Затем изменения профилей спектров были исследованы в присутствии  $\text{Cu}^{2+}$  или  $\text{Ni}^{2+}$ . В первые 3 мин исходное поглощение при 552 нм стало уменьшаться и начала появляться новая полоса поглощения при 490 нм. Впоследствии, полоса поглощения при 490 нм сдвигалась до 520 нм. Кроме того, происходило увеличение интенсивности флуоресценции при 556 нм при возбуждении волной света длиной 490 нм в течение 3 мин. Таким образом, реакция **L29** с GSH приводит к красной флуоресценции, тогда как у **L29** с  $\text{Cu}^{2+}$  или  $\text{Ni}^{2+}$  приводит к оранжевой флуоресценции.

В работе [47] был исследован сенсор, который селективно определяет  $\text{H}_2\text{S}$  и GSH. Он представляет собой молекулу, в которой ядро БОДИПИИ (электронодефицитное) объединено с хальконовой группой (электроннодонорная). В таком донорно-акцепторном комплексе проявляется ICT-механизм, за счет которого гасится флуоресценция флуорофора. Сенсор был получен в 5 стадий. Ключевая из которых является конденсация альдегида **116** с БОДИПИИ **108** (Рисунок 32). Сенсор **L30** почти не испускает в буфере PBS (10 мМ, pH 7.4, 20%  $\text{CH}_3\text{CN}$ ) при возбуждении светом длиной 530 нм. При обработке **L30**  $\text{NaHS}$ , в качестве источника  $\text{HS}^-$  или GSH происходило значительное увеличение интенсивности флуоресценции с максимумом в 562 нм.



Изменение  
интенсивности  
флуоресценции

| Ввод             |     | Выход                    |
|------------------|-----|--------------------------|
| H <sub>2</sub> S | GSH | λ <sub>em</sub> = 562 нм |
| 0                | 0   | 0                        |
| 0                | 1   | 1                        |
| 1                | 0   | 1                        |
| 1                | 1   | 1                        |

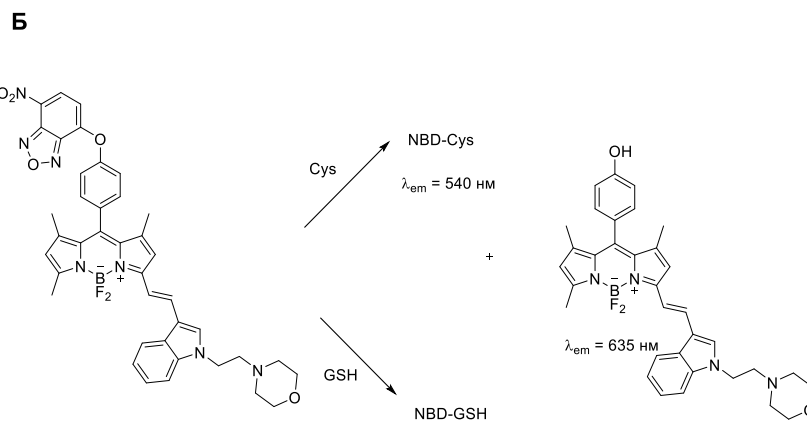
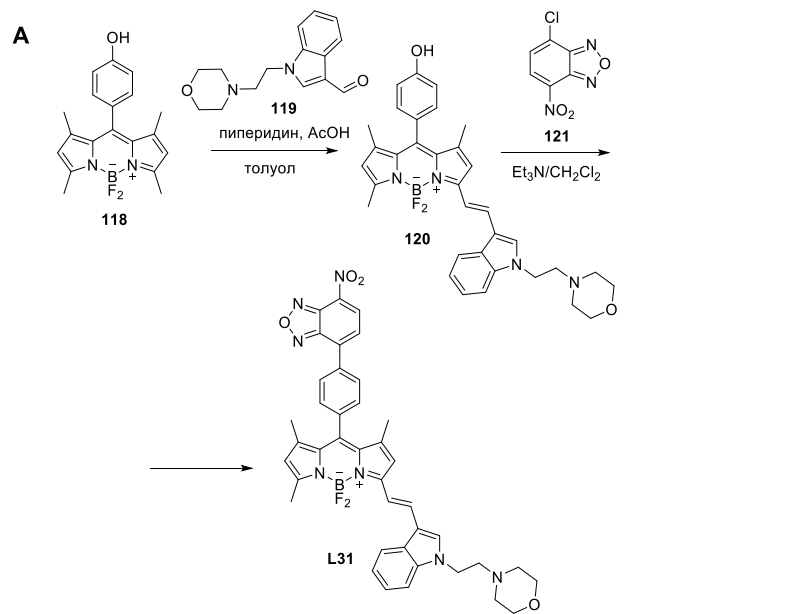
**Рисунок 32.** А) Схема синтеза соединения **L30**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L30**. Два входными сигналами являются H<sub>2</sub>S и GSH. Выходной сигнал - это изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления H<sub>2</sub>S или GSH ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Был предложен механизм процесса, в котором **L30** реагирует с H<sub>2</sub>S путем тандемного нуклеофильного присоединения и образованием богатого электронами 1,3-

дигидробензо[с]тиофенового фрагмента. В случае с GSH, его тиоловая группа реагирует с альдегидной группой сенсора **L30**, что приводит к промежуточному гемитиоацеталу, в структуре которого аминная группа GSH находится в непосредственной близости от реакционноспособной  $\alpha,\beta$ -ненасыщенной карбонильной группы сенсора, благодаря чему между ними возможна реакция Михаэля. В образовавшихся продуктах увеличение электронной плотности в фенильном кольце блокирует процесс переноса заряда и, следовательно, происходит восстановление флуоресцентных свойств сенсора.

В работе [48] был описан флуоресцентный сенсор **L31** для селективного обнаружения Cys и GSH, который представляет собой БОДИПИ, связанный с 7-нитробензофуразаном (NBD) через эфирную связь. Сенсор был получен в две стадии. На первой стадии была проведена конденсация Кневенагеля между флуорофором БОДИПИ **118** и альдегидом **119**, а на второй стадии происходило замещение атома водорода гидроксильной группы **120** на фрагмент NBD **121**. После реакции сенсора с нуклеофильными GSH или Cys, из сенсора высвобождался флуорофор БОДИПИ. Сенсор не обладал флуоресценцией за счет фотоиндуцированного переноса электронов PET от NBD к БОДИПИ (Рисунок 33).

После добавления глутатиона GSH к раствору сенсора, интенсивность флуоресценции сенсора постепенно увеличивалась (в 30 раз), пока концентрация GSH не составила 64.0 экв. по отношению к сенсору. Эффект “Off-On” связан с отщеплением NBD группы, что привело к характерному флуоресцентному испусканию индол-БОДИПИ  $\lambda_{em}=135$  нм. Напротив, в присутствии Cys появляется два максимума испускания при 540 нм и 635 нм.



GSH  
Cys, Hcy

Изменение  
интенсивности  
флуоресценции

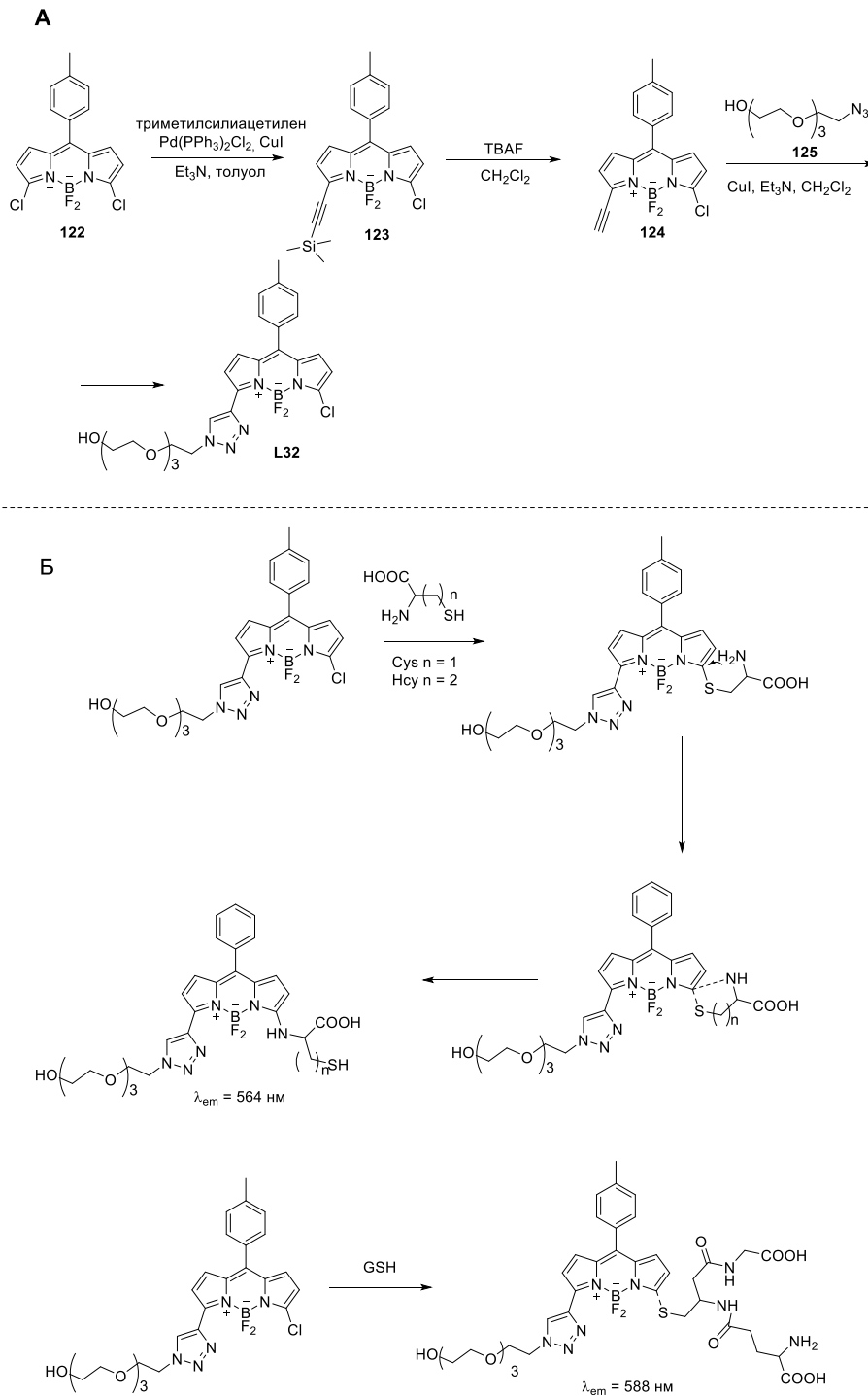
| Ввод |     | Выход  |
|------|-----|--|
| Cys  | GSH | $\lambda_{em} = 540 \text{ нм}$<br>$\lambda_{em} = 635 \text{ нм}$ |
| 0    | 0   | 0  |
| 0    | 1   | 1  |
| 1    | 0   | 1  |
| 1    | 1   | 1  |

**Рисунок 33 А)** Схема синтеза соединения **L31**. **Б)** Принципиальная схема механизма работы сенсора **L31**. Двумя входными сигналами являются Cys и GSH. Выходные сигналы - это изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления Cys или GSH ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Таким образом, Cys может быть легко идентифицирован по одновременному появлению двух полос испускания при 540 нм и 635 нм, тогда как GSH может быть идентифицирован по появлению одной полосы испускания при 635 нм. Такое различие можно объяснить тем, что при взаимодействии Cys и сенсора **L31** образуется БОДИПИИ и NBD-Cys, обеспечивающие

испускание флуоресценции при 635 нм и 540 нм соответственно. В случае с GSH образуется БОДИПИ и не флуоресцентный продукт NBD-GSH, и возникает только одна полоса испускания при 635 нм.

В работе [49] был описан флуоресцентный сенсор **L32**, позволяющий определять GSH в присутствии Cys и Hcy на основе монохлор-БОДИПИ. Синтез сенсора был реализован в 3 стадии. Ключевой из которых является кросс-сочетание Соногаширы между дихрол-БОДИПИ **122** и триметилсилилацетиленом. Свободная тиольная группа аналита нуклеофильно замещает хлор в БОДИПИ, что приводит к значительному смещению максимума в красной области флуоресценции. Аминогруппы Cys/Hcy (но не GSH) далее замещают серу с образованием аминозамещенного БОДИПИ, имеющего отличные от исходного сенсора фотофизические свойства (Рисунок 34).



Cys, Hcy  
GSH

Изменение интенсивности флуоресценции

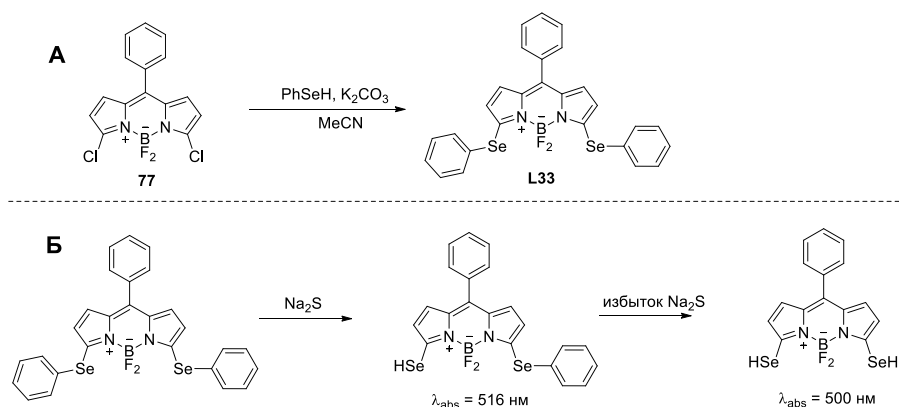
| Ввод    |     | Выход  |
|---------|-----|--|
| Cys/Нсу | GSH | λ <sub>em</sub> = 564 нм<br>λ <sub>em</sub> = 588 нм |
| 0       | 0   | 0  |
| 0       | 1   | 1  |
| 1       | 0   | 1  |
| 1       | 1   | 1  |

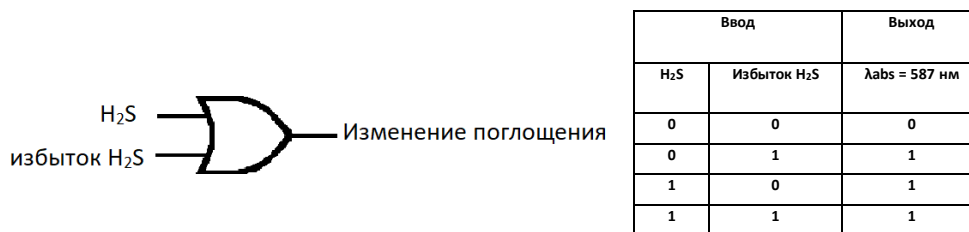
**Рисунок 34.** А) Схема синтеза соединения **L32**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L32**. Два входными сигналами являются Cys/Нсу и GSH. Выходной сигнал -

это изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления Cys/Нсу или GSH ведет к молекулярному логическому элементу OR.

В случае GSH, по мере прохождения реакции, полоса испускания свободного сенсора с максимумом в 556 нм уменьшается, в то время как новый максимум при 588 нм увеличивается. При добавлении Cys уменьшение интенсивности флуоресценции при 556 нм первоначально сопровождалось появлением новой полосы испускания при 590 нм, которая быстро уменьшилась. Затем максимум испускания **L32** сместился до 564 нм. В присутствии Hsu максимум испускания в 587 нм постепенно увеличивался в течение первых 15 мин, аналогичному тому, который наблюдался с GSH, а затем этот максимум уменьшался. Полученные данные позволяют отличать GSH от Cys/Hsu. Спектры поглощения в присутствии GSH значительно отличаются от спектров в присутствии Cys или Hsu. Они также могут использоваться для определения GSH в физиологических условиях.

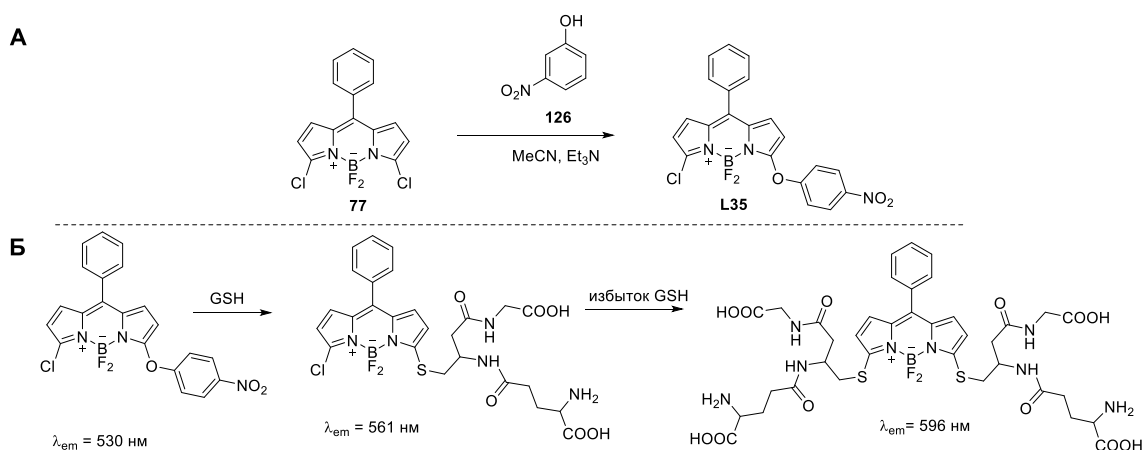
В работе [50] был показан фенилселен-замещенный флуоресцентный сенсор **L33** “On-Off” на основе БОДИПИ для определения  $H_2S$  на основе реакции расщепления фенилселенидной группы при 3-м и 5-м положении БОДИПИ. Сенсор был получен реакцией между дихлор-БОДИПИ **77** и бензолселенолом. При добавлении  $Na_2S$  в концентрации от 0 до 20 мкМ происходило замещение одной фенилселенидной группы гидросульфидом, что приводило к увеличению интенсивности поглощения с максимумом при 587 нм и появлялись новые сигналы при 390 нм и 516 нм. При добавлении  $Na_2S$  в концентрации от 20 до 85 мкМ, сероводород способствовал дальнейшему замещению фенилселенида в 5-положении БОДИПИ, что сопровождалось снижением интенсивности поглощения полосы при 516 и 552 нм и увеличилось поглощение при 500 нм. Полоса поглощения при 587 нм при этом исчезала. В ходе реакции происходило изменение цвета флуоресценции от фиолетового до розового. Сенсор **L33** обладает сильной флуоресценцией при возбуждении светом длиной 582 нм с максимумом 610 нм. При добавлении  $Na_2S$  происходило постепенное гашение интенсивности флуоресценции в зависимости от концентрации  $Na_2S$ . При добавлении 100 экв.  $Na_2S$  происходило полное гашение флуоресценции (Рисунок 35).





**Рисунок 35.** А) Схема синтеза соединения **L33**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L33**. Двумя входными сигналами являются H<sub>2</sub>S и избыток H<sub>2</sub>S. Выходной сигнал - это изменение поглощения. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления H<sub>2</sub>S или Избыток H<sub>2</sub>S ведет к молекулярному логическому элементу OR.

В работе [51] был описан ратиометрический флуоресцентный сенсор **L34** на основе м-нитрофенолзамещенного хлор-БОДИПИ для обнаружения GSH. Сенсор был получен реакцией дихлорзамещенного-БОДИПИ **77** и 2-нитрофенола **126**. Обнаружение основано на двухступенчатом нуклеофильном ароматическом замещении нитрофенольной группы и хлора GSH в буферном растворе СТАВ. При добавлении GSH происходило замещение нитрофенольной группы, что приводило к изменению максимума испускания флуоресценции. Положение максимумов испускания менялось от 530 до 561 нм, что соответствует смене зеленой флуоресценции на желтую. Добавление избытка GSH вызвало вторую стадию замещения (замещение хлора), что приводило к изменению максимума испускания флуоресценции с 561 до 596 нм (смена цвета флуоресценции с желтого на красновато-оранжевый). Сенсор находит применение в клеточной ратиометрической флуоресцентной визуализации GSH.

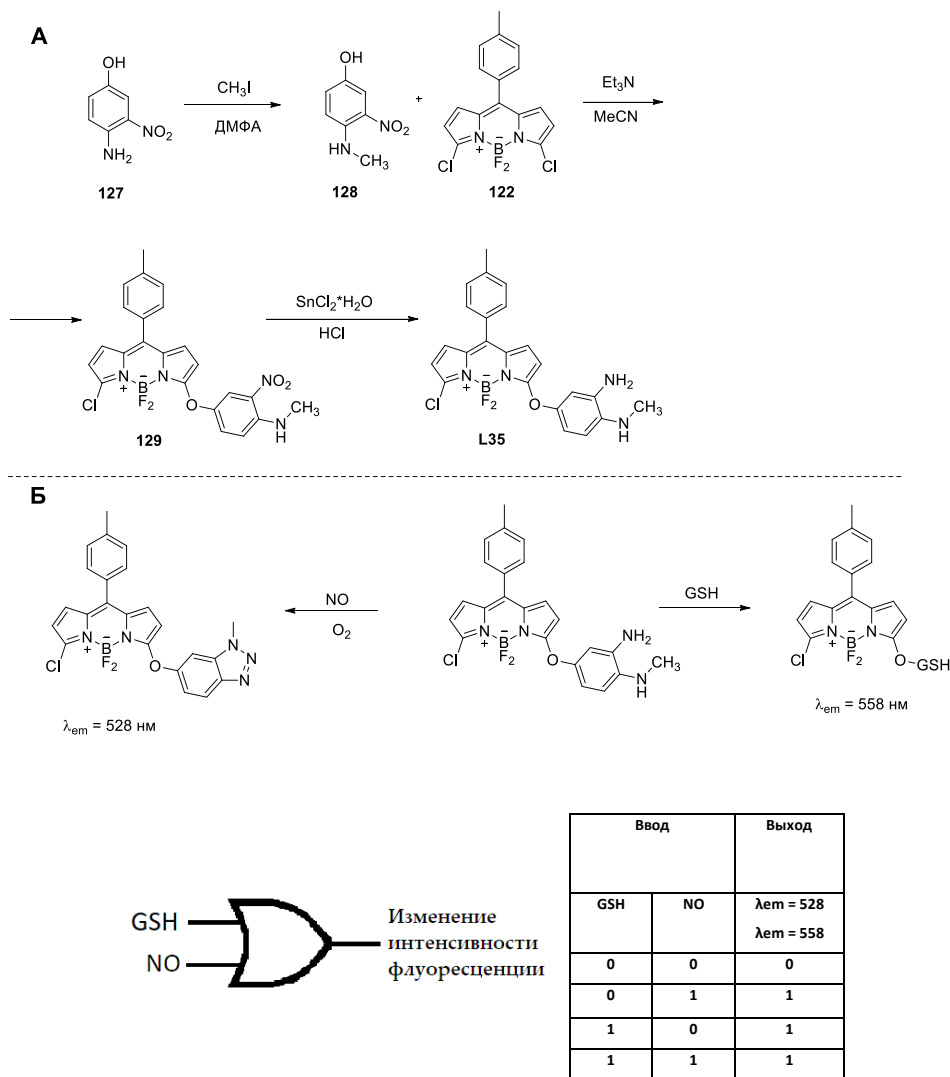






**Рисунок 35.** А) Схема синтеза соединения **L34**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L34**. Двумя входными сигналами являются GSH и GSH. Выходной сигнал – изменение максимумов испускания. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления GSH или избыток GSH ведет к молекулярному логическому элементу OR.

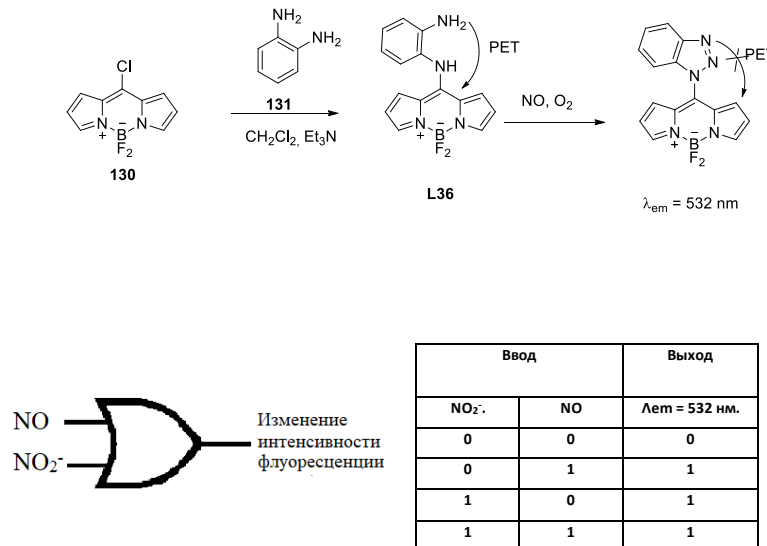
В работе [52] был показан сенсор **L35** на основе 4-амино-3-(метиламино)фенол замещенного хлор-БОДИПИ. Он был получен в две стадии из 3,5-дихлор-БОДИПИ **122**. На первой стадии 3,5-дихлор-БОДИПИ **122** вводили в реакцию с 4-(метиламино)-3-нитрофенолом **128**, а затем NO<sub>2</sub>-группу в образовавшемся продукте **129** восстанавливали в NH<sub>2</sub>-группу. Его флуоресцентные свойства были изучены в присутствии NO и GSH в PBS буфере (10 mM, pH 7.4, 30% CH<sub>3</sub>CN) при 37 °C. Было показано, что в присутствии NO происходит увеличение испускания флуоресценции с максимумом в 558 нм, а при добавлении GSH происходит увеличение интенсивности испускания флуоресценции с максимумом в 528 нм. После одновременного добавления фермента, генерирующего NO, и GSH максимум испускания при 528 нм увеличивался быстро, и затем возникал максимум испускания при 558 нм, так как реакция с GSH шла быстрее, чем образовывался NO (Рисунок 36).



**Рисунок 36.** А) Схема синтеза соединения **L35**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L35**. Двумя входными сигналами являются GSH и NO. Выходной сигнал - изменение испускания флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления GSH или NO ведет к молекулярному логическому элементу OR.

Приведенные выше результаты показали, что сенсор **L35** способен обнаружить присутствие NO и GSH по двум каналам флуоресценции. Механизм работы сенсора объясняется тем, что NO запускает трансформацию диамина в триазол, который обладает зеленой флуоресценцией, а GSH индуцирует реакцию замещения  $S_{NAg}$  4-амино-3-(метиламино)фенольной группы, приводящую к продукту, испускающему в красной области спектра. Сенсор был использован для обнаружения экзогенных и эндогенных NO и GSH в клетках макрофагов.

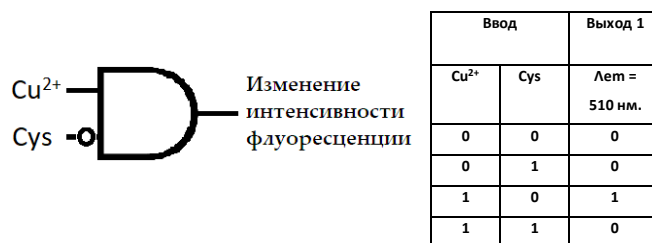
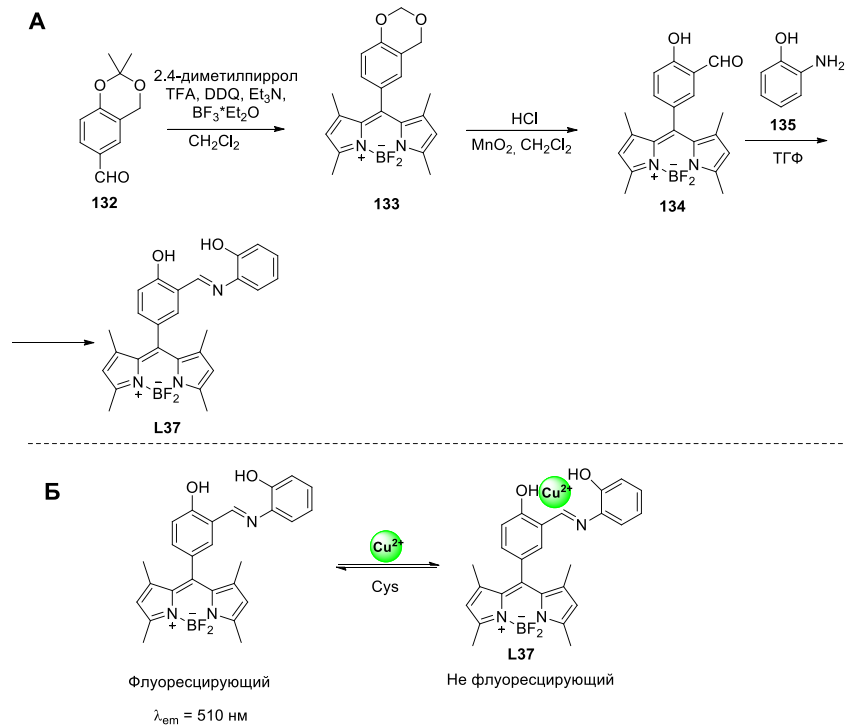
В работе [53] был разработан сенсор **L36** для определения оксида азота NO и NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Он был получен путем объединения в одной молекуле флуорофора БОДИПИ и о-фенилендиамина, который выполняет рецепторную функцию, а также гасит флуоресценцию по РЕТ-механизму. Синтез был осуществлен в одну стадию из О-фенилендиамина **131** и мезо-хлор-БОДИПИ **130** (Рисунок 37).



**Рисунок 37.** Схема синтеза соединения **L36**. Принципиальная схема механизма работы сенсора **L36**. Двумя входными сигналами являются NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO. Выходные сигналы - это изменение интенсивности флуоресценции. Как видно из таблицы истинности, мониторинг добавления NO<sub>2</sub><sup>-</sup> или NO ведет к молекулярному логическому элементу OR.

При обработке раствора сенсора NO или нитритом в фосфатном буфере, РЕТ гашение снимается за счет образования производного бензотриазола, что приводит к увеличению интенсивности флуоресценции при 532 нм. ( $\lambda_{\text{ex}}=470 \text{ нм}$ ). Таким образом, была реализована стратегия “Off-On” определения аналита от темного фона к сильной зеленой флуоресценции после добавления NO и NO<sub>2</sub><sup>-</sup>.

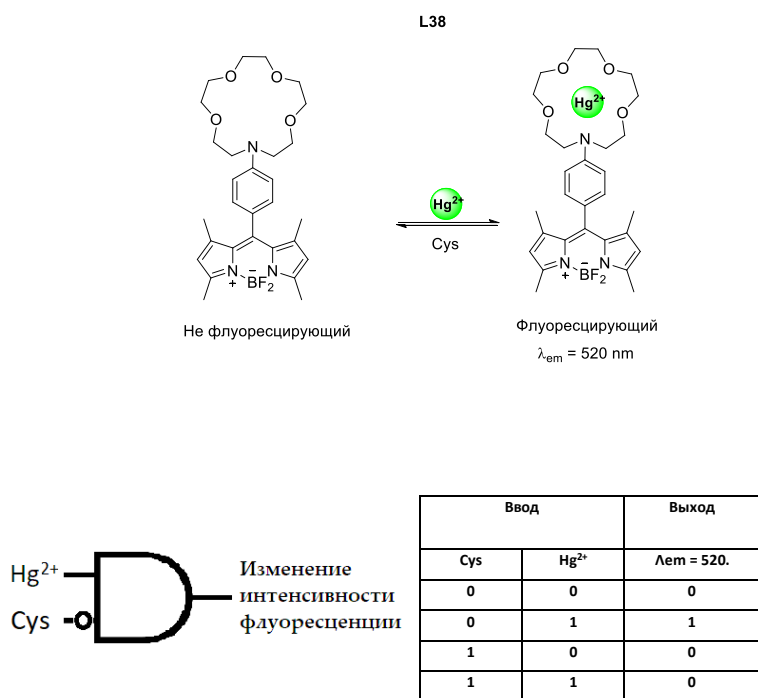
Флуоресцентный сенсор **L37**, селективный в отношении Cu<sub>s</sub> был предложен в работе [54]. Он представляет собой комплекс Cu<sup>2+</sup> с БОДИПИ и был получен в результате реакции конденсации БОДИПИ **134** с 2-аминофенолом **135**. БОДИПИ **134** был синтезирован путем конденсации альдегида с 2,4-диметилпирролом, с дальнейшим расщеплением полученного ацетала **132** под действием каталитического количества HCl и окислением MnO<sub>2</sub> (Рисунок 38).



**Рисунок 38.** А) Схема синтеза соединения **L37**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L37**. Два входными сигналами являются  $\text{Cu}^{2+}$  и Cys. Выходной сигнал - это выход снижения интенсивности флуоресценции при 510 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу INHIBIT.

Молекулярное определение основано на демеаллировании слабофлуоресцентного комплекса **L37** с  $\text{Cu}^{2+}$  цистеином, и последующем гидролизе основания Шиффа, приводящему к усилению интенсивности флуоресценции при максимуме в 510 нм. Сенсор демонстрировал конкурентную селективность в отношении Cys по сравнению с Hsu, N-ацетилцистеин, метионином и GSH. Кроме того, сенсор был описан как возобновляемый, было показано, что его можно использовать заново после обработки 2-аминофенолом.

Сингхом и др. [55] был получен флуоресцентный сенсор **L38**, селективный в отношении Cys (Рисунок 39).

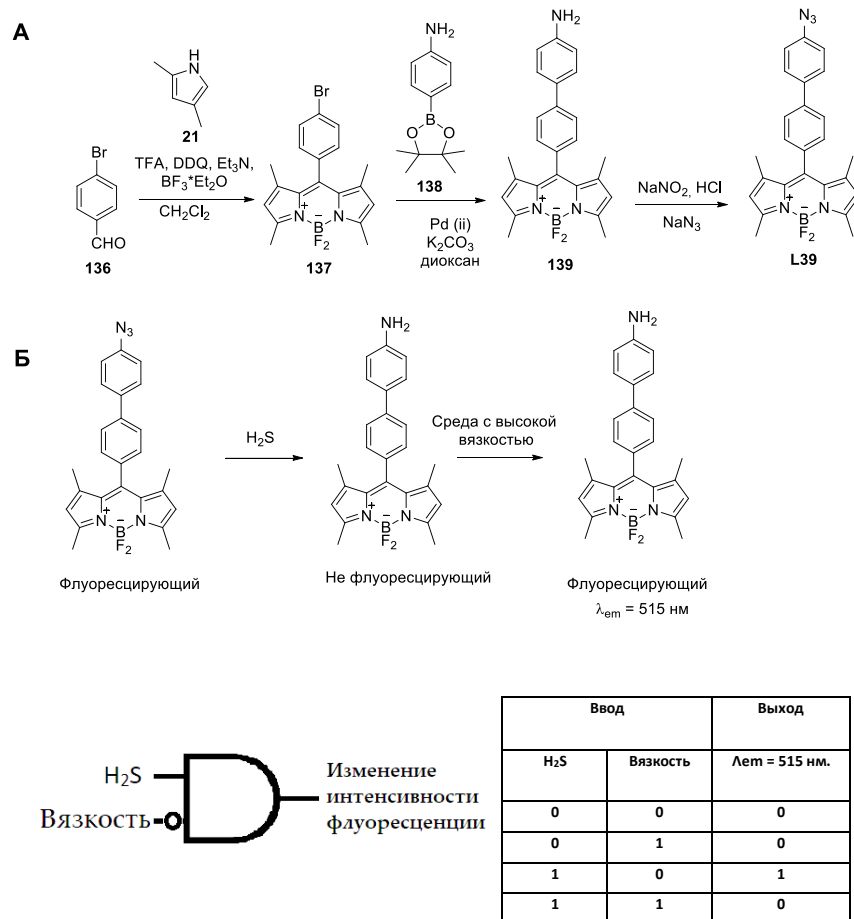


**Рисунок 39.** Принципиальная схема механизма работы сенсора **L38**. Двумя входными сигналами являются Cys и Hg<sup>2+</sup>. Выходной сигнал - увеличение интенсивности флуоресценции при 520 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу INHIBIT.

Он представляет собой координационный комплекс Hg<sup>2+</sup> и краун-БОДИПИ. Соединение является РЕТ-сенсором. После добавления водного раствора ионов Hg<sup>2+</sup> к раствору сенсора **L38** в ацетонитриле происходит увеличение интенсивности флуоресценции при 520 нм. При последовательном добавлении водного раствора Cys к раствору **L38**, интенсивность испускания при 520 нм уменьшается и стабилизируется. На основании того, что возможно обратимое взаимопревращение за счет добавления постоянных количеств Cys и Hg<sup>2+</sup> к раствору **L38** является сенсором типа “On-Off” для Cys.

Интересный пример МЛЭ был получен в работе [56]. Он представляет собой мезо-финилзамещенный БОДИПИ с азидной группой, которая подвергается восстановлению в присутствии H<sub>2</sub>S. Сенсор был получен в три стадии, ключевой из которых является кросс-сочетание по Сузуки между бромфенил-БОДИПИ **137** и бороновым эфиром анилина **138**. При добавлении H<sub>2</sub>S (Na<sub>2</sub>S был использован в качестве источника H<sub>2</sub>S) к раствору сенсора **L39** происходило уменьшение полосы поглощения при 495 нм. Спектр флуоресценции сенсора **L39** имеет полосу испускания с максимумом при 515 нм при возбуждении волной света 470 нм.

После добавления  $\text{H}_2\text{S}$  (0–60 мМ) к раствору сенсора **L39** полоса испускания при 515 нм уменьшалась с увеличением концентрации  $\text{H}_2\text{S}$  (Рисунок 40).

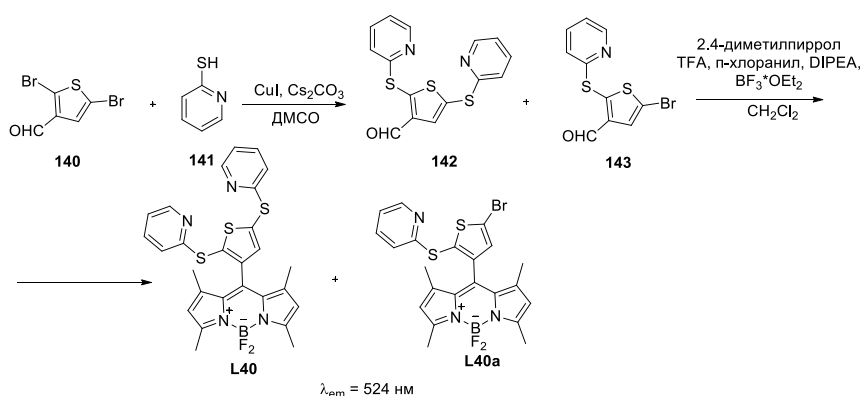


**Рисунок 40.** А) Схема синтеза соединения **L39**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L39**. Два входными сигналами являются  $\text{H}_2\text{S}$  и Вязкость. Выходной сигнал - гашение интенсивности флуоресценции при 515 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу INHIBIT.

Продукт, образованный после восстановления азидной группы, работает как флуоресцентный молекулярный ротор и его энергия может рассеивается безызлучательными путями из-за свободного вращения мезозамещенного фенильного кольца. Восстановленный продукт **L39** реагирует на изменения вязкости и может быть также охарактеризован как флуоресцентный молекулярный ротор, у которого интенсивность флуоресценции и время затухания увеличиваются с увеличением вязкости. Было показано, что значительное увеличение интенсивности флуоресценции наблюдалось с увеличением концентрации глицерина в растворе. Однако, в отсутствии  $\text{H}_2\text{S}$  такого увеличения интенсивности флуоресценции не происходило.

В работе [57] были показаны два “Off-On” сенсора на основе БОДИПИ для одновременного определения  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{O}_2^-$ . Сенсоры получены в две стадии. На первой стадии альдегид **140** функционализирован до дисульфидного и моносульфидного производного **142** и **143** по реакции сочетания в присутствии солей меди (I). Затем эти альдегиды подвергались реакции с 2,4-диметилпирролом с образованием сенсоров **L40** и **L40a**. Механизм основан на том, что 2-пиридил-S группы, могут подвергаться окислению АФК, а также могут участвовать в связывании  $\text{Hg}^{2+}$  и обладают способностью гасить флуоресценцию по РЕТ-механизму (Рисунок 41).

**А**



**Б**

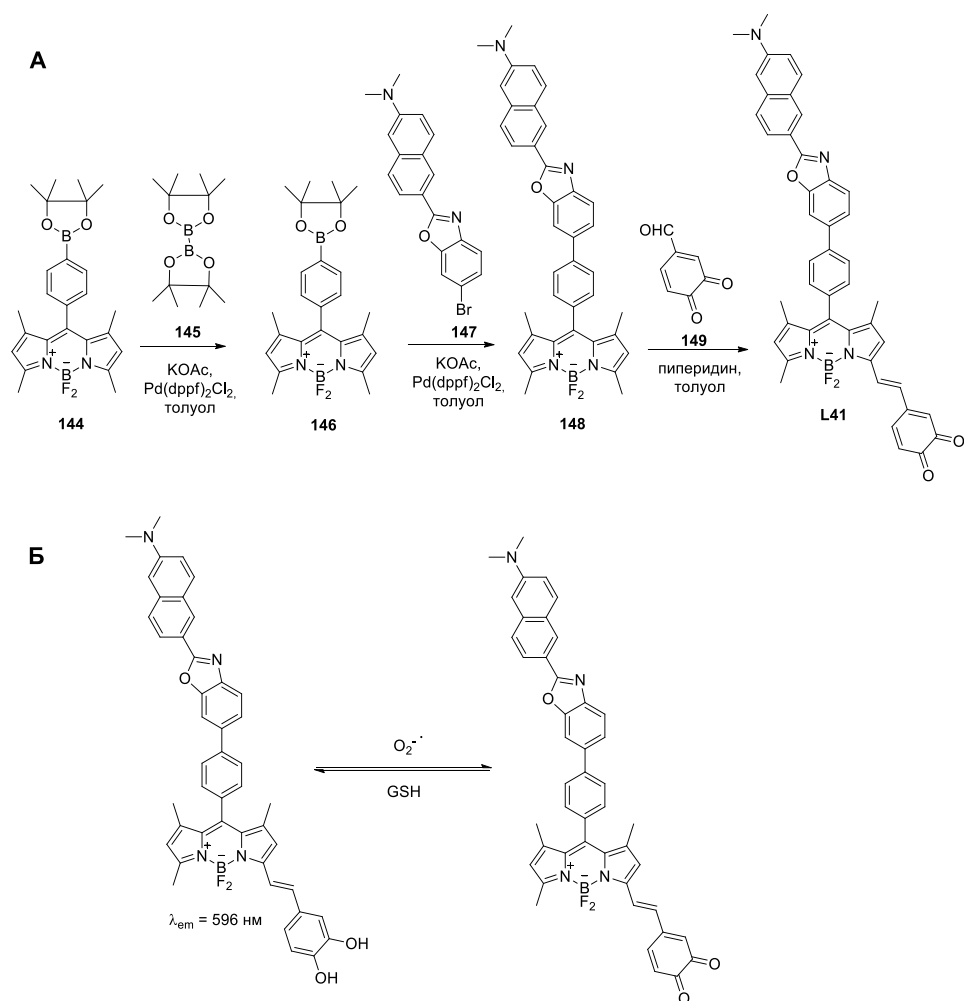


**Рисунок 41.** А) Схема синтеза соединений **L40** и **L40a**. Б) Принципиальная схема механизма работы сенсора **L40** и **L40a**. Два входными сигналами являются  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{O}_2^-$ . Выходной сигнал - это увеличение интенсивности флуоресценции при 524 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

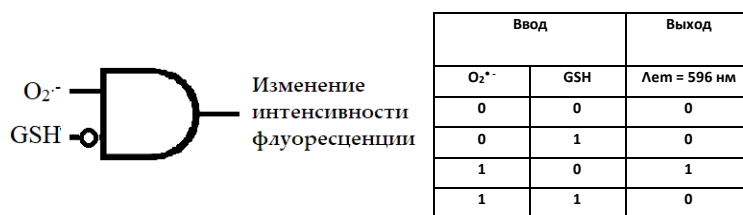
При добавлении  $\text{Hg}^{2+}$  к растворам сенсоров **L40** и **L40a** в  $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$  (70:30) смещение максимумов поглощения с 506 до 532 нм, при этом флуоресценция менялась со светло-желтой на оранжево-красную. Этот количественный батохромный сдвиг (25 нм) достаточен, чтобы его можно было наблюдать невооруженным глазом при концентрациях сенсора в  $10^{-6}$  М. Ионы других металлов не влияют на испускание флуоресценции сенсора. Флуоресцентные свойства

растворов сенсоров **L40** и **L40a** были проверены на отклики к различным активным формам кислорода. В случае добавления  $\text{KO}_2$  в раствор **L40** происходило увеличение интенсивности флуоресценции на 150%. Затем было исследовано влияние на флуоресцентное испускание присутствия аналитов  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{O}_2^-$ . При одновременном присутствии аналитов ( $+\text{Hg}^{2+} + \text{O}_2^-$  или  $+\text{O}_2^- + \text{Hg}^{2+}$ ) наблюдалось сильное разгорание флуоресценции.

В работе [58] был показан флуоресцентный “On-Off” сенсор **L41** на основе БОДИПИ, позволяющий определять  $\text{O}_2^-$ . Синтез сенсора был проведен в три стадии, ключевая из которых - кросс-сочетание по Сузуки. В присутствии  $\text{O}_2^-$  флуоресценция сенсора с максимумом в 596 нм гасится. Это объясняется тем, что в результате реакции сенсора **L41** с  $\text{O}_2^-$  (окисляющим веществом) из пирокатехол-формы (сильно флуоресцирующая форма) образовывалась бензохинон-форма (форма со слабой флуоресценцией), в которой флуоресценция гасилась за счет PET-механизма. Добавление GSH (восстанавливающее вещество) превращало сенсор обратно из бензохиноновой формы в форму пирокатехина с восстановлением флуоресценции (Рисунок 42).



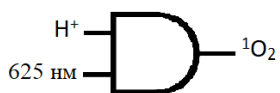
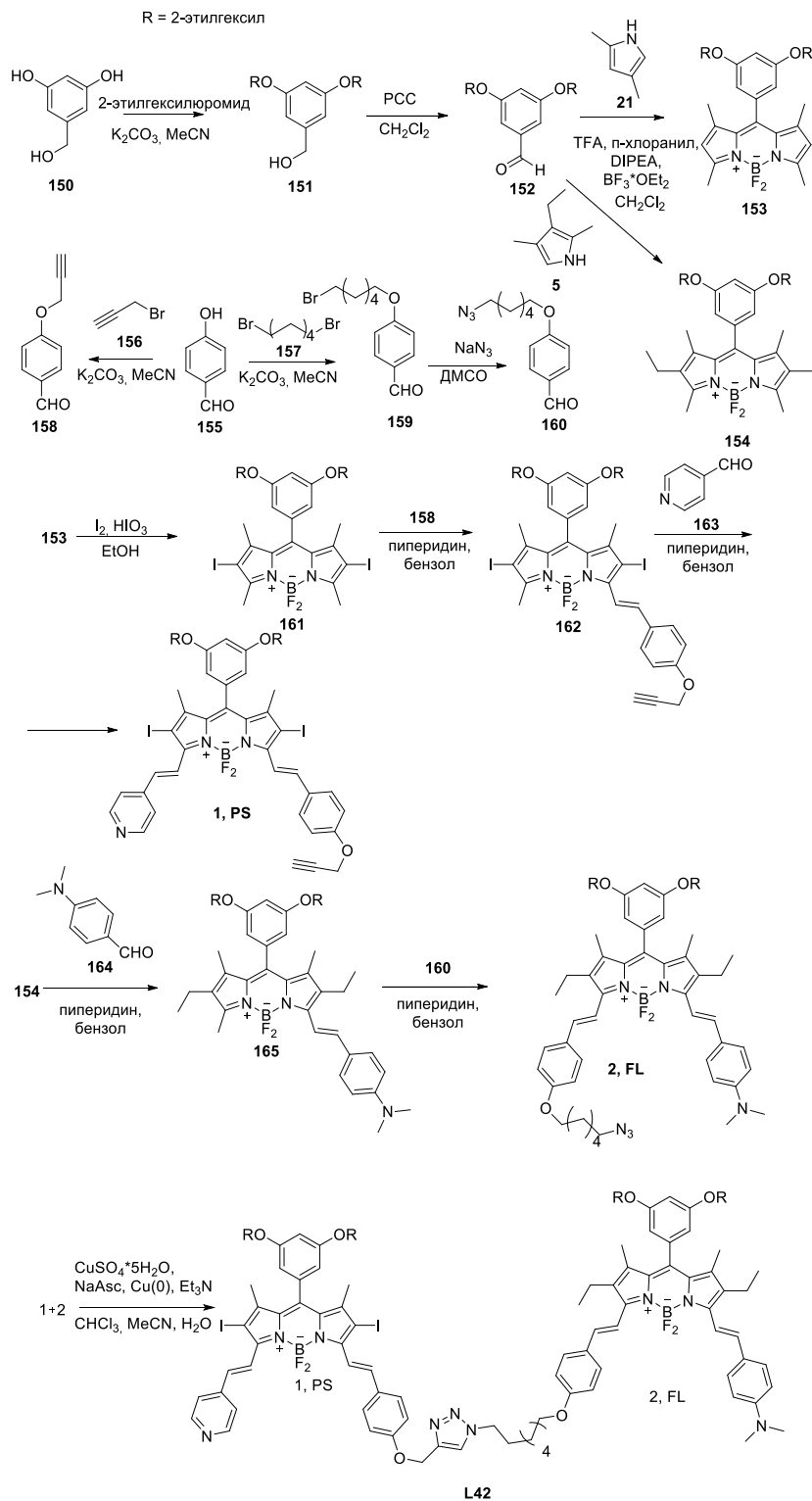




**Рисунок 42.** Принципиальная схема механизма работы сенсора **L41**. Двумя входными сигналами являются O<sub>2</sub>\*• и GSH. Выходной сигнал - это гашение интенсивности флуоресценции при 596 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу INHIBIT.

## II.5. Молекулярные логические элементы на основе БОДИПИ для генерации синглетного кислорода

В работе [59] был показан МЛЭ **L42**, состоящий из двух фрагментов дистирил-БОДИПИ, соединенных вместе. На рисунке 43 представлен его многостадийный синтез. Ключевым этапом является сборка МЛЭ посредством клик-реакции из двух фрагментов функционализированных БОДИПИ. Один из модулей (2, модуль FL) ответственен за флуоресценцию, другой модуль (1, модуль PS) ответственен за образование синглетного кислорода. Свет на длине волны 625 нм и кислота (трифторуксусная кислота, TFA) являются входными параметрами МЛЭ, а образование синглетного кислорода - выходным. Работа сенсора **L42** может быть разбита на наложенное действие двух модулей, соединенных вместе.

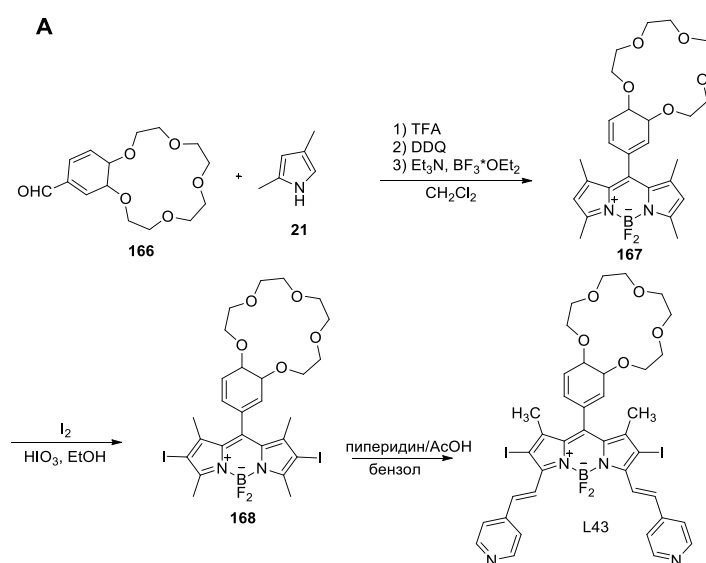


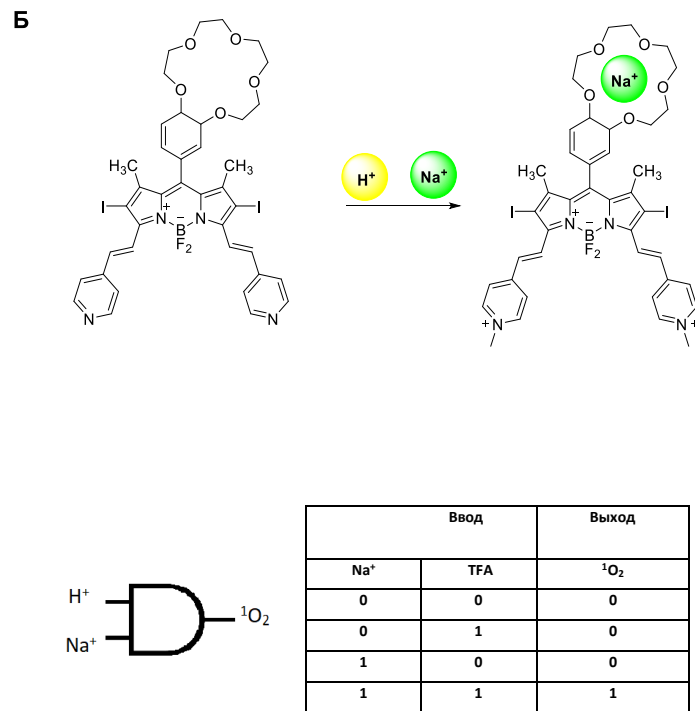
| Ввод                       |              | Выход          |
|----------------------------|--------------|----------------|
| $\lambda = 625 \text{ nm}$ | $\text{H}^+$ | $^1\text{O}_2$ |
| 0                          | 0            | 0              |
| 0                          | 1            | 0              |
| 1                          | 0            | 0              |
| 1                          | 1            | 1              |

**Рисунок 43.** Принципиальная схема механизма работы МЛЭ **L42**. Двумя ходными сигналами являются  $\lambda = 625$  нм и  $^1\text{O}_2$ . Выходной сигнал - это выгенерация синглетного кислорода  $^1\text{O}_2$ . Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

Соединение **L42** обладает широкой полосой поглощения, и трудно оценить спектральные изменения при добавлении TFA. Для понимания механизма работы соединения **L42**, два компонента изучались как независимые модули. До добавления кислоты, максимальное поглощение изолированного модуля PS (1) имеет длину волны 647 нм, а для модуля FL (2) - длину волны 681 нм, однако при добавлении TFA максимум поглощения 1 смещается до 671 нм, тогда как максимум поглощения 2 смещается до 647 нм. При добавлении кислоты и возбуждении на фиксированной длине волны 625 нм, в PS и FL происходит изменение направления передачи энергии возбуждения, и затем образуется синглетный кислород. В отсутствие кислоты происходит интенсивное испускание с максимумом в 715 нм.

В работе [60] Аккая был описан МЛЭ **L43**, в котором входными сигналами являются  $\text{Na}^+$  и  $\text{H}^+$ . Молекулярная система начинала высвобождать цитотоксический синглетный кислород только тогда, когда концентрации обоих катионов были высоки. Дизайн такого МЛЭ включает в себя РЕТ-модулятор на основе краун-эфира, чувствительного только к  $\text{Na}^+$ , но не к  $\text{H}^+$ . Синтез сенсора начинался с формилирования соединения **166**. Затем, используя стандартные процедуры конденсации полученного альдегида с 2,4-диметилпиролом, был получен функционализированный БОДИПИ **167**. 3 и 5 положения ядра которого замещались двумя пиридилными группами, чувствительными к кислоте (Рисунок 44).



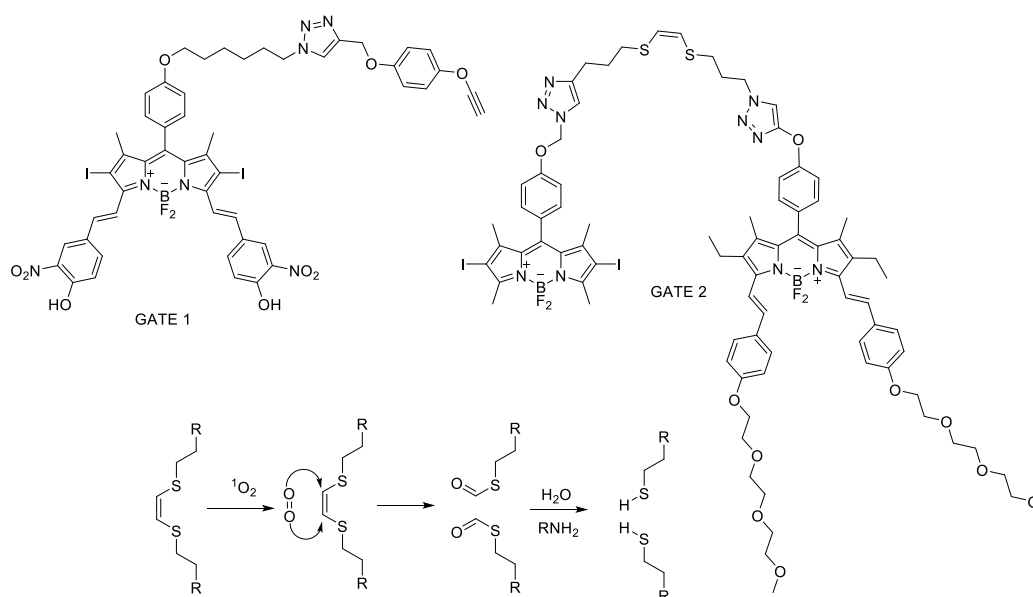


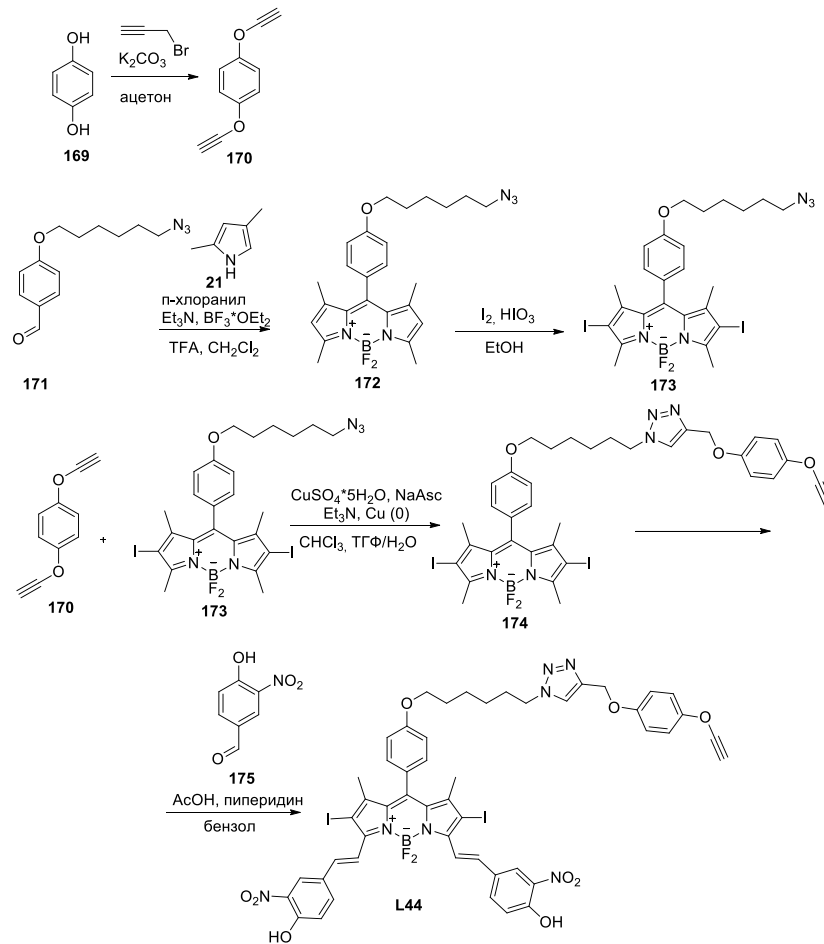
**Рисунок 44.** А) Схема синтеза соединения **L43**. Б) Принципиальная схема механизма работы МЛЭ **L43**. Двумя входными сигналами являются  $\text{Na}^+$  и TFA. Выходной сигнал - это генерация синглетного кислорода. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

Спектральные характеристики и емкость генерации синглетного кислорода соединения **L43** изучались в  $\text{CH}_3\text{CN}$ . При добавлении аликвоты TFA к ацетонитрильному раствору **L43**, наблюдалось смещение максимумов поглощения в красную область спектра сенсора с 630 до 660 нм. Таким образом, используя светодиодную лампу при волне 660 нм, генерация синглетного кислорода наблюдалась только тогда, когда TFA и  $\text{Na}^+$  присутствовали в растворе одновременно. Когда ни TFA, ни  $\text{Na}^+$  не присутствовали или, когда присутствовал только TFA, скорость образования синглетного кислорода была значительно ниже.

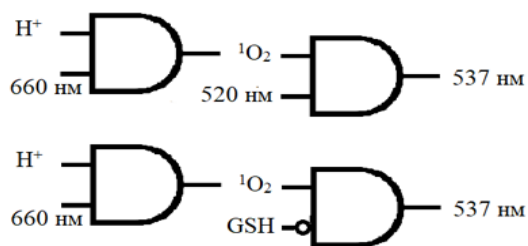
В работе Аккая [61] для **L44** было предложено два каскада МЛЭ: AND-AND и AND-INHIBIT. Каждый из них состоял из активируемого кислотой фотосенсибилизатора GATE 1 (работает в режиме AND) и части, активируемой синглетным кислородом GATE 2 (работает в режиме AND или INHIBIT). Для первого каскада AND-AND, выходным действием первой части GATE 1, является высвобождение синглетного кислорода под действием света длиной 660 нм и кислотной среды. Второй GATE 2 у первого каскада можно рассматривать как элемент AND, который использует синглетный кислород (выход первой логической операции) и свет длиной волны в 520 нм в качестве входных элементов. Процесс AND приводит на выходе к увеличению интенсивности флуоресценции с максимумом поглощения в 537 нм. Данный

процесс вызван реакцией между синглетным кислородом и (Z)-1,2-бис(алкилтио)этиновым фрагментом GATE 2, приводящей к расщеплению двойной связи в структуре GATE 2. Вторым каскад AND-INHIBIT также состоит из GATE 1 и GATE 2. Выходным действием первого МЛЭ является высвобождение синглетного кислорода под действием света длиной 660 нм и кислоты. Вводным элементом у GATE 2 является GSH. Такой каскад можно рассматривать как МЛЭ типа INHIBIT. Присутствие GSH мешает усилению флуоресценции. Эти данные могут быть истолкованы следующим образом: GSH действует как «ловушка» для  $^1\text{O}_2$  и снижает уровень  $^1\text{O}_2$  (Рисунок 45).





## Первый каскад



| Ввод 1 |                | Выход 1                     |        | Ввод 2                      |        | Выход 2 |        |
|--------|----------------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|---------|--------|
| 660 нм | H <sup>+</sup> | <sup>1</sup> O <sub>2</sub> | 520 нм | <sup>1</sup> O <sub>2</sub> | 520 нм | 537 нм  | 537 нм |
| 0      | 0              | 0                           | 0      | 0                           | 0      | 0       | 0      |
| 1      | 0              | 0                           | 0      | 0                           | 0      | 0       | 0      |
| 0      | 1              | 0                           | 0      | 0                           | 0      | 0       | 0      |
| 1      | 1              | 1                           | 1      | 1                           | 1      | 1       | 1      |

Двумя входными сигналами МЛЭ 1, ввода 1 является свет длиной волны 660 нм и H<sup>+</sup>. Выходные сигналы - это выход 1 образование <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, который является входным сигналом для МЛЭ 2. У МЛЭ 2 входными сигналами ввод 2 являются <sup>1</sup>O<sub>2</sub> и свет длиной волны 520 нм. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

## Второй каскад

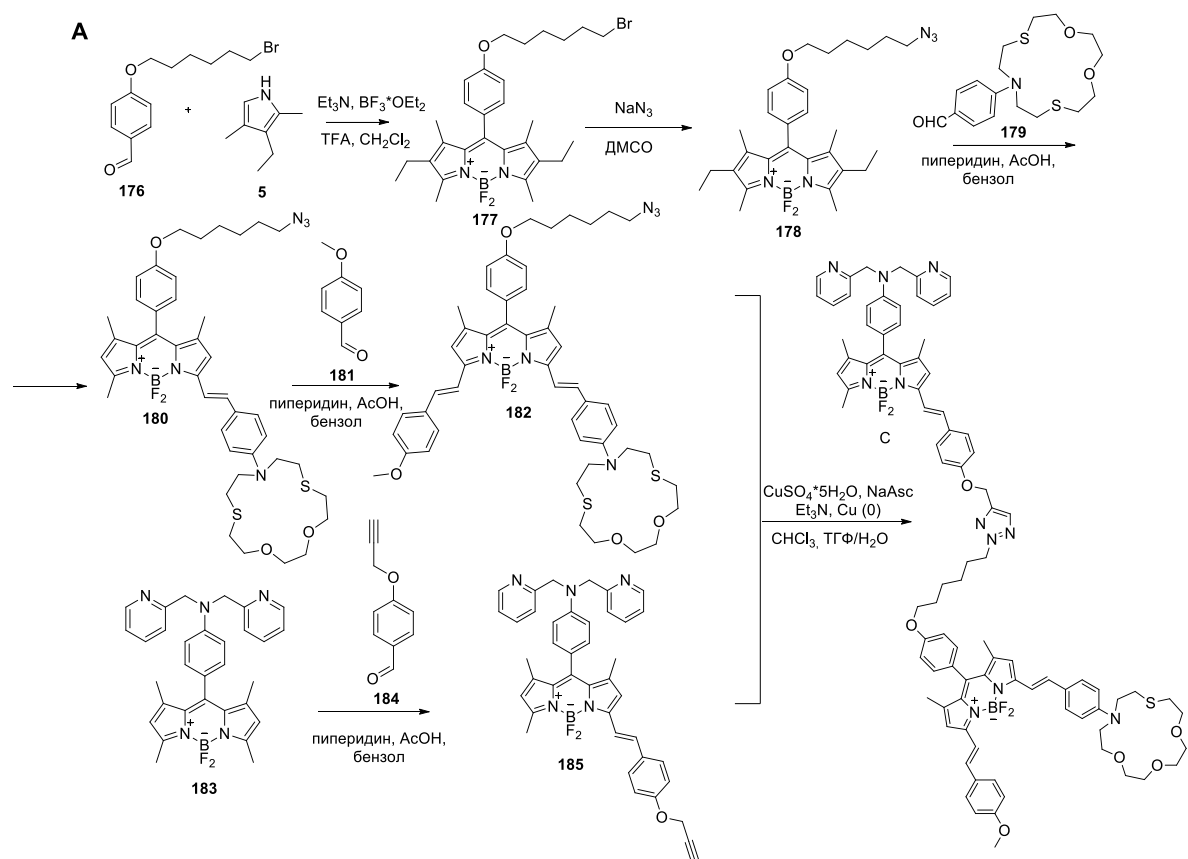
| Ввод1  |                | Выход 1                     |
|--------|----------------|-----------------------------|
| 660 нм | H <sup>+</sup> | <sup>1</sup> O <sub>2</sub> |
| 0      | 0              | 0                           |
| 1      | 0              | 0                           |
| 0      | 1              | 0                           |
| 1      | 1              | 1                           |

| Ввод2                       |     | Выход 2 |
|-----------------------------|-----|---------|
| <sup>1</sup> O <sub>2</sub> | GSH | 537 нм  |
| 0                           | 0   | 0       |
| 0                           | 1   | 0       |
| 1                           | 0   | 1       |
| 1                           | 1   | 0       |

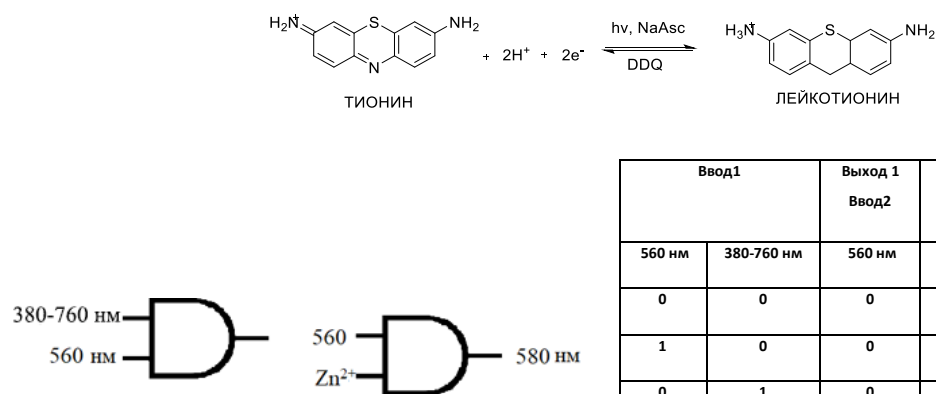
Двумя входными МЛЭ 1 сигналами ввода 1 являются свет длиной волны 660 нм и H<sup>+</sup>. Выходные сигналы - это выход 1 образование <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, который является входным сигналом для МЛЭ 2. У МЛЭ 2 входными сигналами ввод 2 являются <sup>1</sup>O<sub>2</sub> и GSH. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу INHIBIT.

**Рисунок 45.** А) Схема синтеза соединения **L44**. В) Принципиальная схема механизма работы МЛЭ **L44**

В работе [62] было описано два сенсора **L45** и **L46** типа AND, состоящих из двух независимых МЛЭ, смешанных в одном растворе. Первым независимым логическим элементом AND является молекула тионина. Другой элемент AND представляет собой производное стирил-БОДИПИИ с дипиколиламиновой (DPA) группой **A**, флуоресценция у которого гасится с помощью PET-механизма, и восстанавливается, когда к раствору сенсора добавляются Zn<sup>2+</sup>. Эти две системы AND работают независимо. Когда МЛЭ объединяют в растворе, выход первой МЛЭ (тионин) становится одним из входов второй МЛЭ 2 (**L45**). Таким образом, в смеси двух логических компонентов AND, два элемента интегрированы с помощью фотохимической модуляции. В итоге, два независимых логических элемента AND можно принудительно интегрировать в один, просто смешивая их в растворе (Рисунок 46).



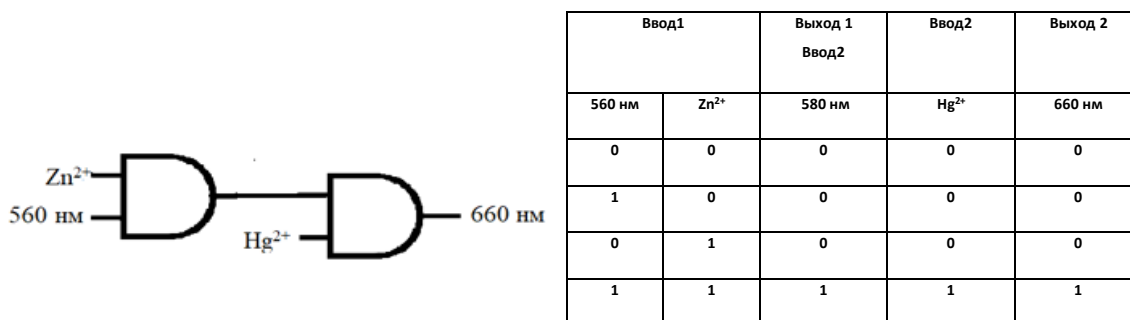
**Б**



**Рисунок 46.** А) Схема синтеза соединения **L45** и **L46**. Б) Принципиальная схема механизма работы МЛЭ **L45** и **L46**. Два входными сигналами ввода 1 являются свет длиной волны 560 нм и свет длиной волны 380-760 нм. Выходные сигналы - это выход 1 с излучением 560 нм, который является вводным сигналом для МЛЭ 2. У МЛЭ 2 входными сигналами являются свет длиной волны 560 нм и  $\text{Zn}^{2+}$ . Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к каскадному молекулярному логическому элементу AND.



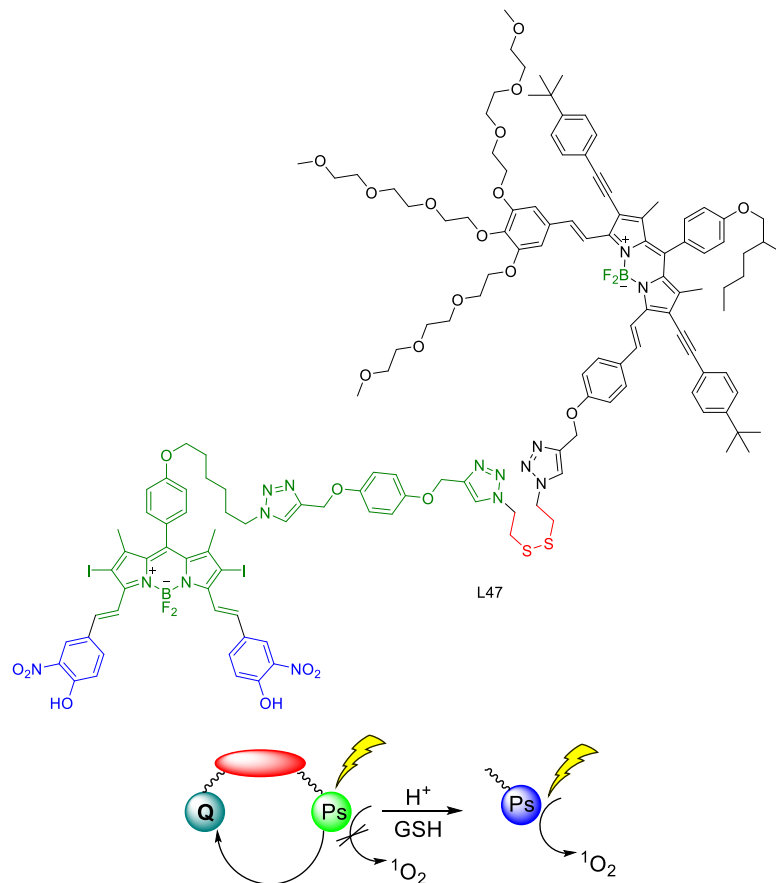
Второй каскад МЛЭ **L46**, основан на передаче энергии (RET). Первый AND идентичен элементу в предыдущей схеме (соединение **A**). Другой МЛЭ также является производным моностирила (**B**), но так как он имеет азатиакрауновый фрагмент, присоединенный через аминный атом азота, перенос заряда приводит к более длинноволновому поглощению и испусканию (Рисунок 47). Соединение **B** действует как AND, с фотонным (свет при 580 нм) и ионным ( $\text{Hg}^{2+}$ ) входами. Только при наличии обоих входов появляется ярко-красное испускание при 660 нм. Когда соединения **A** и **B** связываются по реакции циклоприсоединения Хьюсена, полученный продукт (**C**) фактически является модулем по ионно-модулированному переносу энергии. В этой молекуле фотонный вход при 660 нм генерируется только когда все три входа ( $h\nu = 560$  нм,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Hg}^{2+}$ ) присутствуют. Во всех других комбинациях испускание при 660 нм является не сильным. Испускание в красной области спектра зависит от эффективности RET-модуля от первого логического элемента (**A**). Возбуждение при 560 нм приводит к возбуждению этого конкретного флуорофора, но в отсутствие  $\text{Zn}^{2+}$ , эффективность передачи энергии резко снижается. Когда присутствуют  $\text{Zn}^{2+}$ , RET блокируется, и энергия возбуждения передается на второй модуль. Второй модуль (акцептор), полученный из соединения **B**, даже когда передача энергии эффективна, не флуоресцирует ярко из-за сильного внутримолекулярного переноса заряда. Когда к раствору сенсора добавляются катионы ( $\text{Hg}^{2+}$ ), наблюдается испускание в красной области спектра.



**Рисунок 47.** Принципиальная схема механизма работы МЛЭ **L46**. Два входными сигналами ввода 1 являются свет длиной волны 560 нм и  $\text{Zn}^{2+}$ . Выходные сигналы - это выход 1 с излучением 580 нм, который является входным сигналом для МЛЭ 2. У МЛЭ 2 входными сигналами являются свет длиной волны 580 нм и  $\text{Hg}^{2+}$ . Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к каскадному молекулярному логическому элементу AND.

Структура флуоресцентного фотосенсибилизатора **L47** [54], активируемого GSH и  $\text{H}^+$  содержит два фрагмента. Фрагмент ответственный за гашение флуоресценции (Q) и

фотосенсибилизатор (PS), которые связаны дисульфидным мостиком, расщепляющимся под действием GSH. Для разработки молекулы в этой работе авторы использовали две характеристики микроокружения опухоли: более низкий pH и более высокие концентрации GSH [55]. Спектральный сдвиг на длине волны возбуждения 625 нм появляется только при протонировании молекулы, что делает сенсибилизатор активным только в кислых условиях. Кислота индуцирует изменение поглощения фотосенсибилизатора, что позволяет увеличить коэффициент экстинкции на длине волны возбуждения и, таким образом, готовит его к активации. Однако акцептор энергии, сопряженный с фотосенсибилизатором через дисульфидную связь все еще гасит возбужденное состояние через эффект передачи энергии RET. Лишь только когда оба связанных компонента присутствуют при пороговых значениях, происходит активация генерации синглетного кислорода (Рисунок 48).



| Ввод           |     | Выход                       |
|----------------|-----|-----------------------------|
| H <sup>+</sup> | GSH | <sup>1</sup> O <sub>2</sub> |
| 0              | 0   | 0                           |
| 0              | 1   | 0                           |



|   |   |   |
|---|---|---|
| 1 | 0 | 0 |
| 1 | 1 | 1 |

**Рисунок 48.** Принципиальная схема механизма работы МЛЭ L47. Два входными сигналами являются  $H^+$  и GSH. Выходной сигнал - это генерация синглетного кислорода. Как видно из таблицы истинности, мониторинг выходных сигналов приводит к молекулярному логическому элементу AND.

### III. Обсуждение результатов

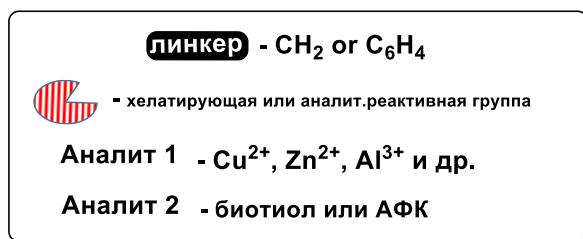
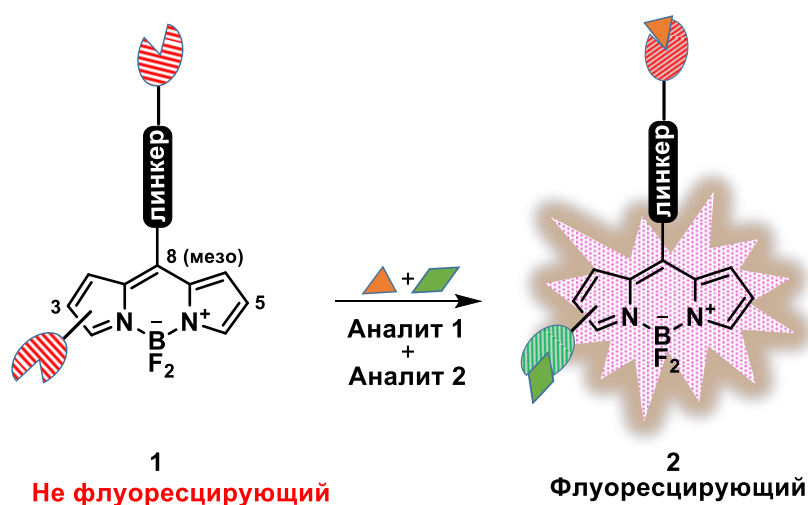
Создание молекулярно-логических элементов (МЛЭ) на основе органических молекул является актуальным и динамично развивающимся направлением в современной органической химии. Одни из наиболее интересных МЛЭ получают на основе флуоресцентных красителей с двумя рецепторными группами. Они позволяют детектировать одновременное присутствие в растворе двух типов анализируемых частиц (входные сигналы) за счет изменения спектральных свойств сенсора (выходные сигналы) [63]. Считывание и интерпретация полученных выходных сигналов лежат в основе детектирования, позволяя обнаруживать два типа анализируемых частиц на качественном и количественном уровнях с высокой степенью точности измерений. Принцип флуоресцентного детектирования нескольких аналитов основан на построении каскадов входных/выходных сигналов и их анализе инструментами булевой логики.

Для разработки МЛЭ перспективным является использование производных 4,4-дифтор-4-бор-3а,4а-диазо-*s*-индаценов (БОДИПИ) содержащих две рецепторные группы в 3-м (5-м) и 8-ом положениях флуоресцентного ядра. Выбор данного класса флуорофоров объясняется его устойчивостью к свету, химическим веществам, высокими молярными коэффициентами поглощения  $\epsilon(\lambda)$ , квантовыми выходами флуоресценции  $\Phi$ , узкими полосами поглощения, и хорошей растворимостью. Кроме того, спектроскопические и фотофизические свойства БОДИПИ легко контролируются направленным введением вспомогательных остатков в ключевые положения дифторборонового дипирролилметенового ядра.

Анализ литературы по МЛЭ на основе красителей ряда БОДИПИ показал, что на сегодняшний день известно большое количество мономодальных сенсоров, содержащих одну рецепторную группу [6, 11, 64-67]. Однако, практически не изучены в силу синтетических трудностей остаются двумодальные сенсоры, которые также имеют сложнопредсказуемые спектральные свойства. Предполагается, что подобные сенсоры могут обеспечить детектирование одновременного присутствия в растворе двух типов анализируемых частиц, например, двух различных видов катионов тяжелых металлов, катионов металла и анионов или биоаналитов различного происхождения.

В качестве общего принципа создания таких сенсоров в настоящей работе было предложено использовать объединение в одной молекуле флуорофора БОДИПИ и двух рецепторных групп, подавляющих флуоресценцию ядра БОДИПИ в свободном, т.е. несвязанном с анализируемой частицей состоянии. А именно, интерес представляло введение в мезо-положение БОДИПИ через метильный или фенильный линкер рецепторных групп (ионофоры, реакционноспособные центры), подавляющих в несвязанном состоянии флуоресценцию по механизму фотоиндуцированного переноса электронов (PET). Кроме того,

интересной была бы модификация третьего положения каркаса БОДИПИ будут хелатирующими группами или реакционноспособными центрами, позволяющими управлять флуоресценцией по механизму внутримолекулярного переноса заряда (ИСТ). Одновременное селективное взаимодействие подобных сенсоров с двумя детектируемыми частицами могло бы сопровождаться полным снятием гашения флуоресценции и приводить, как следствие, к значительному увеличению её интенсивности (принцип «Off-On»). При этом в случае взаимодействия только с одним типом анализируемых частиц, снятие гашения флуоресценции было бы лишь частичным и не должно было бы приводить к сколь-нибудь значимому спектральному отклику. В качестве аналитов интерес представляет изучение катионов тяжелых металлов и различных биоаналитов (биотиолов, АФК) (Рисунок 1).



**Рисунок 1.** Дизайн двумодального сенсора на основе БОДИПИ.

Таким образом, двумодальные сенсоры БОДИПИ могли бы позволить оценивать одновременное наличие в растворе сразу двух анализируемых видов частиц на качественном и количественном уровнях с высокой степенью точности измерений. В связи с этим, целью настоящей работы стала разработка новых двумодальных сенсоров ряда БОДИПИ, перспективных для детектирования присутствия двух различных аналитов в растворах. А именно интерес представляет разработка двумодальных сенсоров на катионы металлов, а также изучение полифенол-БОДИПИ (в 3,5,8 позициях ядра которого фенольные группы) в качестве

универсальной платформы для создания (моно-) двумодальных сенсоров на катионы металлов и/или биоаналиты. В частности, использование бисфенол-БОДИПИ (3,8-позициях ядра фенольные группы) может быть интересным в качестве удобной платформы для создания двумодальных сенсоров.

На первом этапе работы мы обратились к разработке мономодальных сенсоров в ряду БОДИПИ перспективных для создания на их основе целевых двумодальных сенсоров. Перспективным представлялось введение хелатирующих групп, обладающих свойствами РЕТ и ИСТ гасителей, в 8 и 3 положения ядра БОДИПИ через линкеры различной природы, способные существенным образом влиять на геометрию молекулы сенсора. В качестве линкеров были выбраны “жесткий” фениловый и “мягкий” метиленовый. В качестве критериев отбора хелатирующих групп были использованы синтетическая доступность и селективность в отношении катионов тяжелых металлов.

### III.1. Разработка сенсоров для детектирования катионов тяжелых металлов

Ионы металлов имеют важное значение в нашей повседневной жизни [68-70]. Такие катионы как  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  участвуют в различных биологических процессах в качестве кофакторов ферментов. Ионы  $\text{Hg}^{2+}$ , являясь смертельным токсином, обладают высокой проницаемостью через кожу человека и способны вызывать проблемы с дыханием и серьезные повреждения ЦНС [71]. Катионы  $\text{Al}^{3+}$  сильно токсичны для окружающей среды, опасны для растений и животных. Алюминий не играет важной роли в физиологических процессах в организме человека, но может взаимодействовать с белками, ферментами и коферментами, а также вытеснять биологически важные металлы, такие как магний, кальций и железо [69]. Было показано, что он может связываться с различными секреторными гранулярными белками, вызывая гипопаратиреоз и астеническую болезнь костей [70]. Катионы  $\text{Zn}^{2+}$  легко поглощаются и накапливаются в тканях растений, при этом корень является основным местом их скопления. Этот металл играет важную роль в процессах, связанных с развитием растения [69]. Между тем,  $\text{Zn}^{2+}$  токсичен для растений в высоких концентрациях [72, 73].  $\text{Cu}^{2+}$  является окислительно-восстановительным кофактором многих ферментов в организме человека [74]. Повышение уровня  $\text{Cu}^{2+}$  в организме может вызвать повреждения желудочно-кишечного тракта, печени или почек [20, 75, 76].

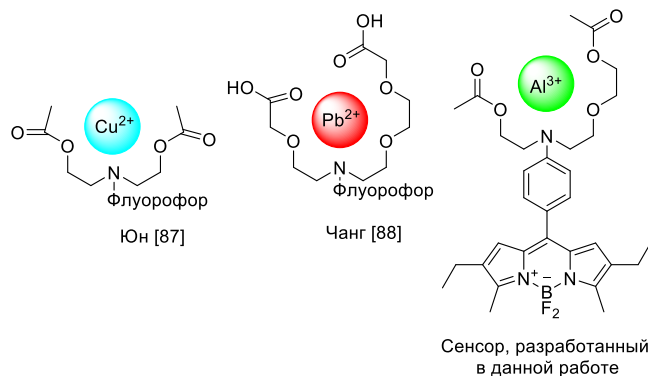
Таким образом, разработка надежных, быстрых и дешевых методов для обнаружения ионов этих металлов имеет большое значение как для охраны окружающей среды, так и для изучения биологических систем. Флуоресцентные методы детектирования обладают значительными преимуществами при обнаружении катионов металлов по сравнению с другими методами детекции, такими как ЯМР, атомно-абсорбционная спектроскопия и масс-спектрометрия, в их числе легкость пробоподготовки, неинвазивность и т.д. [77, 78].

В частности, особого интереса заслуживает разработка флуоресцентных сенсоров, позволяющих детектировать одновременное присутствие в растворе двух различных катионов [79]. Подобные соединения могли бы стать удобными инструментами экологического мониторинга и анализа патологических состояний, сопряженных с каскадными клеточными процессами в которых принимают участие сразу несколько металлов [80-84].

#### III.1.2. Разработка мономодального флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы $\text{Al}^{3+}$

В последнее время аналоги краун-эфиров с открытой цепью, так называемые “псевдо-крауны” (Рисунок 2), все больше применяются во флуоресцентном детектировании как

легкодоступные, многообещающие лигирующие агенты для катионов металлов [85]. В группе Юна разработали флуоресцентный сенсор “Off-On” для детектирования  $\text{Cu}^{2+}$  на основе *N,N*-бис(2-ацетоксиэтил)амин в качестве рецепторной группы [86].



**Рисунок 2.** Флуоресцентные сенсоры на основе “псевдо-краун” эфиров.

Группой Чанга был предложен  $\text{Pb}^{2+}$  - селективный флуоресцентный сенсор на основе *N,N*-бис(2-этоксикарбонилметокси)этилового хелатора, который эффективен в водных растворах и характеризуется низким пределом обнаружения [87].

Нами был реализован многостадийный синтез неизвестных ранее в литературе соединений **S1**, **S2**, **S3**, **S4**, **S5**, продемонстрировавших селективность в отношении  $\text{Al}^{3+}$  и представляющих собой красители БОДИПИ, модифицированные по *мезо*-положению каркаса «псевдо-азакраун эфирными остатками» (Схема 1). Структура соединений **S1-S5** предложена на основе ионного радиуса и координационного числа  $\text{Al}^{3+}$ , аналогично такому для  $\text{Cu}^{2+}$  [88]. При этом относительно небольшое изменение структуры хелатора может легко изменить избирательность сенсора. Удлинение “псевдо-краун эфирных остатков”, используемых в работах Юна для  $\text{Cu}^{2+}$ , является потенциальной стратегией для разработки сенсора для  $\text{Al}^{3+}$ . Однако, количество координационных центров в структуре хелатора не должно превышать их количество заявленное в исследовании Чанга, потому что имеющееся средство к  $\text{Pb}^{2+}$  может приводить к снижению селективности средства к  $\text{Al}^{3+}$ . Флуорофор может влиять на хелатирующую способность рецепторной группы из-за внутри- и межмолекулярной координации и блокировки свободного вращения хелатора [89].

На первом этапе, для введения «псевдо-краун эфирных остатков» ((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)(2-ацетоксиэтил)амин и бис(2-ацетоксиэтил)амин к флуорофору БОДИПИ в качестве основных реагентов были получены замещенные бензальдегиды **4a**, **4b**. Диолы **2a**, **2b** синтезирован по реакции  $\text{S}_{\text{N}}^2$  замещения *N*-(2-гидроксиэтил)анилина с 2-(2-хлорэтокси)этанолом [87]. Реакцией с уксусным ангидридом в пиридине по концевым ОН-



группам соединений **2a**, **2b** были введены ацетатные защитные группы. Формилированием по Вильсмейеру-Хааку *para*-положения полученных соединений **3a**, **3b** привело к целевым альдегидам **4a**, **4b** с выходами 89% и 83%, соответственно.

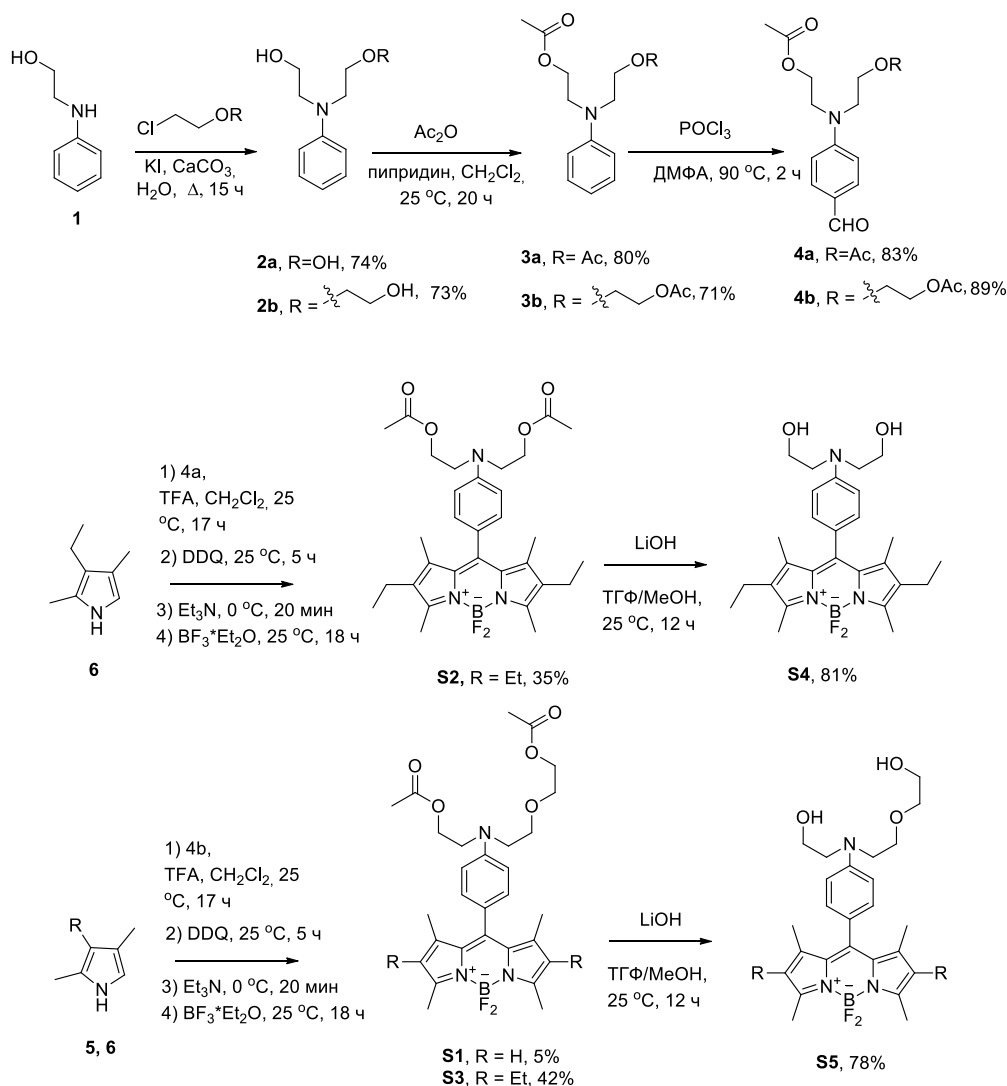


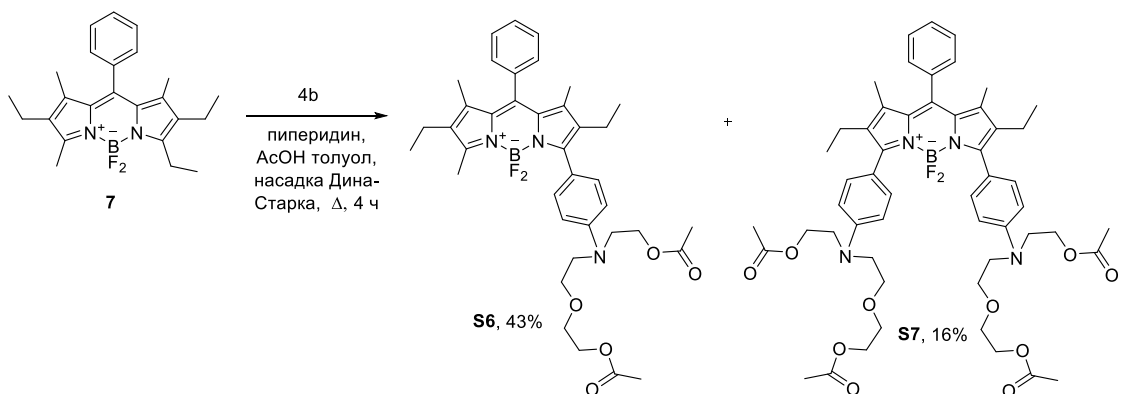
Схема 1. Синтез соединений S1-S5.

One-pot синтез **S1**, **S2** и **S3** был осуществлен конденсацией альдегидов **4a**, **4b** с пирролами **5**, **6** в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  путем поэтапной обработки трифторуксусной кислотой (TFA), 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохиноном (DDQ), триэтиламинем и эфиром трифтористого бора. Гидролиз ацетатных групп в присутствии LiOH в соединениях **S2** и **S3** позволил получить продукты **S4**, **S5** со свободными концевыми гидроксильными группами с выходами 81% и 78%.

На следующем этапе, с целью изучения взаимосвязи структура-хелатирующие свойства, нами были получены соединения **S6**, **S7**, в которых «псевдо-краун эфирная» ((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)(2-ацетоксиэтил)амино группа вводилась в 3- и 5- положения ядра

БОДИПИИ через стирильный линкер (Схема 2). Ожидалось, что за счет изменения положения хелатора и природы линкера может быть изменен механизм гашения флуорофора (с РЕТ механизма на ICT) [79], что в свою очередь могло привести к изменению фотофизических свойств и селективности сенсора в отношении катионов металлов.

В связи с этим, конденсацией по Кневенагелю из альдегида **4b** с БОДИПИИ **7** был синтезирован 3-замещенный продукт **S6** в качестве основного продукта (выход 43%) и 3,5-дизамещенное производное **S7** в качестве минорного продукта (выход 16%).



**Схема 2.** Синтез соединений **S6**, **S7**.

### III.1.3 Исследование фотофизических свойств соединений **S1**, **S3**, **S5**, **S6**, **S7** и их способности детектировать $Al^{3+}$

Полученная серия соединений **S1** - **S7** была исследована методами УФ- и флуоресцентной спектроскопии. Фотофизические данные приведены в таблице 1. В качестве растворителя был использован MeCN (содержание воды менее 5%). Было показано, что все они обладают сродством к катионам алюминия (III).

Таблица 1. Фотофизические данные соединений S1-S7.

| Сенсор | $\lambda_{\text{abs}}$<br>[нм] | $\varepsilon$ [ $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ] | $\lambda_{\text{em}}$<br>[нм] | $\Phi$ [b]<br>[%] | Стоксов<br>сдвиг<br>[ $\text{cm}^{-1}$ ] |
|--------|--------------------------------|---|-------------------------------|-------------------|--|
| S1     | 498                            | 81129   | 514                           | <0.1              | 625                                      |
| S3     | 517                            | 93199   | 547                           | <0.1              | 1061                                     |
| S5     | 521                            | 100000  | 544                           | <0.1              | 811                                      |
| S6     | 613                            | 70031   | 688                           | 9.5               | 1779                                     |
| S7     | 706                            | 32999   | 762                           | 3.6               | 1047                                     |

[a] Спектры записывали в  $\text{CH}_3\text{CN}$  при 298 К. [б] Сульфат хирина был использован в качестве эталона  $\Phi = 0.55$  в 0.1 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 310$  нм. Все значения  $\Phi_{\text{em}}$  скорректированы с учетом изменений показателя преломления.

Исследование фотофизических свойств соединений S1, S3, S5, S6, S7 в присутствии катионов металлов показали, что соединение S1 с ядром 2,6-Н-БОДИПИ и соединение S5, не содержащие ацетильные группы в хелаторе, малоэффективны для обнаружения  $\text{Al}^{3+}$ . Эти соединения обладали низкой селективностью по отношению к  $\text{Al}^{3+}$  в присутствии катионов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  и обладали умеренными флуоресцентным откликом (Спектры поглощения и испускания S1, S3, S5, S6 и S7 приведены в приложении).

В то же время, соединения S3, S6 и S7, полученные из криптопиррола с использованием 2-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)амино)этилацетатной хелатирующей группы, были перспективны для селективного ратиометрического детектирования в УФ-области и для флуоресцентного обнаружение  $\text{Al}^{3+}$ .

Сенсор S3 при добавлении  $\text{Al}^{3+}$  к раствору S3 (15  $\mu\text{M}$  в MeCN) интенсивность максимума поглощения постепенно уменьшалась вплоть до образования новой батохромносдвинутой полосы с максимумом при 527 нм. Изобестическая точка наблюдалась при 524 нм (Рисунок 3).

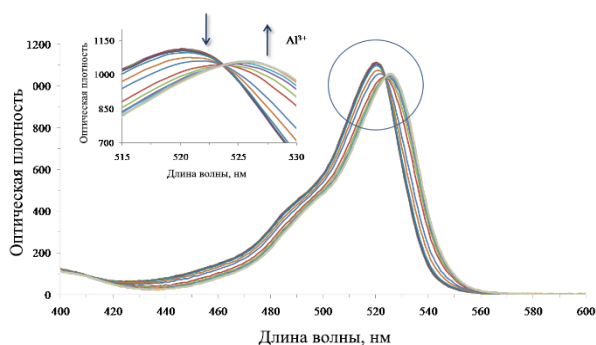
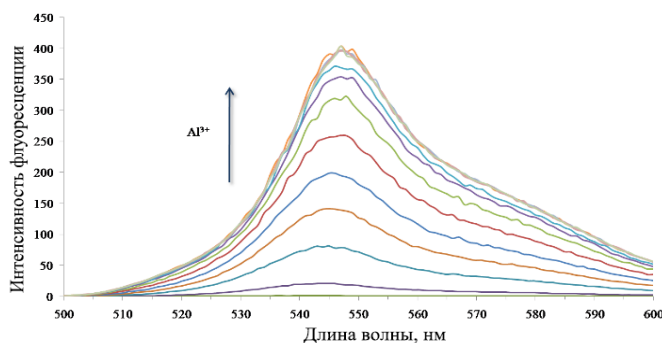


Рисунок 3. Спектры поглощения раствора S3 (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN с различной концентрацией  $\text{Al}^{3+}$ .

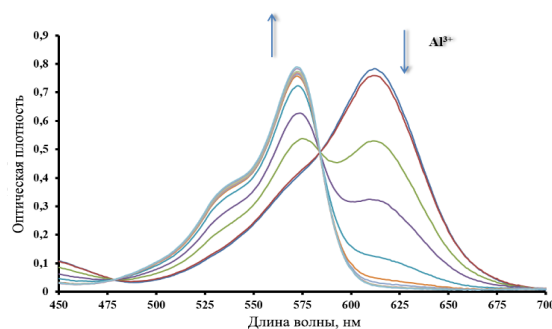
Молярный коэффициент поглощения **S3** в присутствии  $Al^{3+}$  незначительно изменялся от  $9.3 \times 10^4$  до  $8.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . При добавлении  $Al^{3+}$  к раствору **S3** ( $15 \text{ }\mu\text{M}$  в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}} = 504 \text{ nm}$ ) снималось гашение флуоресценции из-за координации  $Al^{3+}$  с аминогруппой, и раствор **S3** приобретал интенсивную зеленую флуоресценцию (Рисунок 4).



**Рисунок 4.** Спектры флуоресценции раствора **S3** ( $15 \text{ }\mu\text{M}$ ) в MeCN с различными концентрациями  $Al^{3+}$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 504 \text{ nm}$ ).

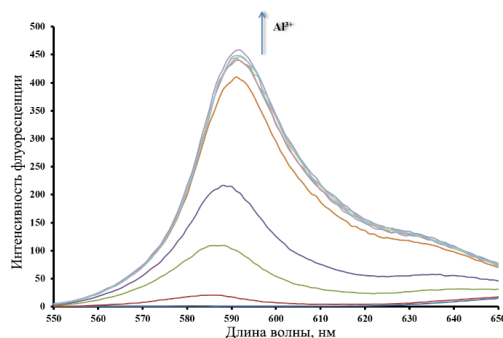
Максимум испускания флуоресценции комплекса **S3** с  $Al^{3+}$  был равен  $547 \text{ nm}$ , при этом разгорание флуоресценции ( $\sim 1200$ -раз) наблюдалось невооруженным глазом. Квантовый выход составил  $0.18$ . Эксперимент Job's plot подтверждает, что соединение **S3** образует комплекс  $Al^{3+}$  в соотношении  $1:1$ . Эксперименты по титрованию позволили определить константу ассоциации ( $K_s$ ), равную  $3.2 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$ , что находится в диапазоне значений для хемосенсоров на  $Al^{3+}$  [90-92]. Предел обнаружения  $Al^{3+}$  с помощью **S3** составил  $3.8 \text{ }\mu\text{M}$ , что свидетельствует о высокой чувствительности сенсора.

Изменения в спектре поглощения сенсора **S6** при координации ионов  $Al^{3+}$  гораздо более выражены по сравнению с сенсором **S3** (Рисунок 5). Комплексообразование с  $Al^{3+}$  вызвало сильный гипсохромный сдвиг максимума поглощения **S6**, в результате цвет менялся с синего на фиолетовый. Полоса на  $613 \text{ nm}$  уменьшалась без заметного сдвига, и сильная полоса поглощения появилась при  $573 \text{ nm}$ . Молярный коэффициент поглощения изменялся незначительно с  $7.0 \times 10^4$  до  $6.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  при связывании  $Al^{3+}$ .



**Рисунок 5.** Спектры поглощения раствора **S6** (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN с различной концентрацией  $\text{Al}^{3+}$ .

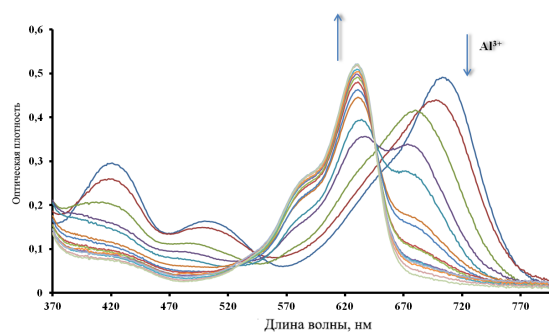
При добавлении  $\text{Al}^{3+}$  к раствору **S6** (15  $\mu\text{M}$  в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}} = 580$  нм) происходило более чем 1000-кратное разгорание флуоресценции при 595 нм. Квантовый выход связанного сенсора 0.34 (Рисунок 6).



**Рисунок 6.** Спектры флуоресценции раствора **S6** (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN с различными концентрациями  $\text{Al}^{3+}$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 560$  нм).

Анализ связывания сенсора **S6** с  $\text{Al}^{3+}$  с использованием Job's plot показал, что происходит образование комплекса состава 1:2. Константа стабильности комплекса, образованного между ионами  $\text{Al}^{3+}$  и соединением **S6** в ацетонитриле, рассчитанная с помощью спектрофотометрии в УФ-видимой области составила,  $\log\beta = 12.34$ . Предел обнаружения  $\text{Al}^{3+}$  сенсором **S6** составил 1.6  $\mu\text{M}$ .

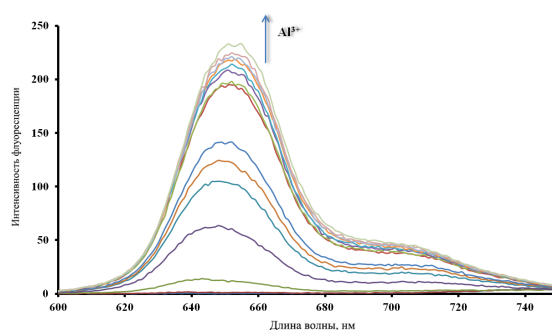
При добавлении  $\text{Al}^{3+}$  к раствору сенсора **S7** наблюдалось появление двух новых максимумов в спектрах поглощения при 627 нм и 583 нм, сопровождаемые изменением цвета раствора с зеленого на красновато-синий (Рисунок 7).



**Рисунок 7.** Спектры поглощения раствора **S7** (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN с различными концентрациями  $\text{Al}^{3+}$ .

Максимум поглощения при 706 нм уменьшился. С постепенным добавлением  $\text{Al}^{3+}$  наблюдались две изобестические точки при 684 нм и 646 нм, что указывает на ступенчатое образование комплексов разной стехиометрии.

Интенсивность флуоресценции хемосенсора **S7** (15  $\mu\text{M}$  в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}} = 640$  нм) постепенно увеличивалась с увеличением концентрации  $\text{Al}^{3+}$  (Рисунок 7).

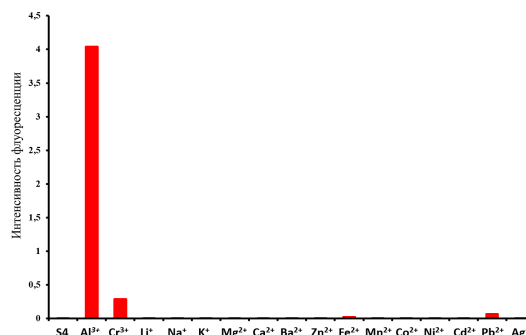


**Рисунок 8.** Спектры флуоресценции раствора **S7** (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN с различными концентрациями  $\text{Al}^{3+}$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 640$  нм).

Интенсивность флуоресценции в спектрах **S7** при 652 нм увеличилась примерно в 1400 раз при добавлении одного эквивалента  $\text{Al}^{3+}$  и достигла максимального значения при добавлении 2 эквивалентов  $\text{Al}^{3+}$  (квантовый выход связанного сенсора равен 0.31). Эксперимент подтвердил двухстадийное комплексообразование сенсора **S7**. Вероятно **S7** способен образовывать комплекс с  $\text{Al}^{3+}$  в соотношении 1:1 и 1:2.

Затем были исследованы флуоресцентные отклики **S3**, **S6** и **S7** на различные катионы и их селективность в отношении  $\text{Al}^{3+}$ . Существенные спектральные изменения для сенсора **S3** наблюдались только в случае  $\text{Al}^{3+}$ . Так, добавление  $\text{Al}^{3+}$  к сенсору **S3** вызвало 1200-кратное усиление флуоресценции. В тех же условиях добавление  $\text{Cr}^{3+}$  привело только к 90-кратному усилению флуоресценции соответственно (Рисунок 9). Другие катионы, такие как  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Ba}^{2+}$ , встречающиеся в

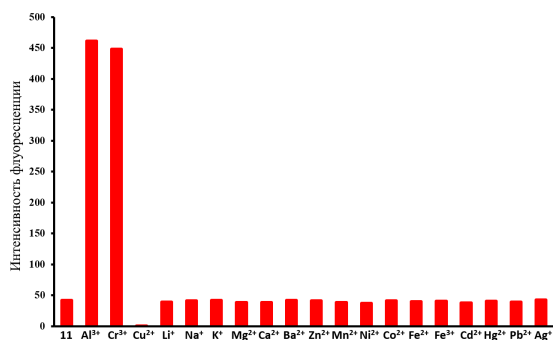
высоких концентрации в физиологических условиях, не влияли на спектры испускания соединения **S3**.



**Рисунок 9.** Флуоресцентный отклик раствора **S3** (15  $\mu\text{M}$ ) при добавлении катионов  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Ba}^{2+}$  (15  $\mu\text{M}$ ) в  $\text{MeCN}$ ,  $\lambda_{\text{ex}}=504$  нм.

Для дальнейшего изучения перспективности соединения **S3** как ионоселективного флуоресцентного хемосенсора на  $\text{Al}^{3+}$  мы провели эксперименты в присутствии 1 экв.  $\text{Al}^{3+}$  и смеси 10 экв. катионов других металлов; при этом не наблюдались значительные изменения интенсивности флуоресценции по сравнению с измеренным в отсутствие ионов других металлов кроме 1 экв.  $\text{Al}^{3+}$ .

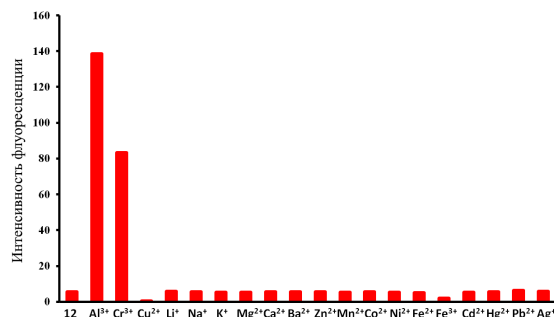
Сенсор **S6** оказался менее селективным (Рисунок 10). При добавлении различных катионов металлов, в том числе алюминия. Такие катионы как  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Ag}^+$  не влияют на повышение интенсивности флуоресценции **S6**. Добавление ионов  $\text{Al}^{3+}$  и  $\text{Cr}^{3+}$  сопровождалось 1000-кратным разгоранием флуоресценции при 591 нм.



**Рисунок 10.** Флуоресцентный отклик раствора **S6** (15  $\mu\text{M}$ ) при добавлении катионов различных металлов (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}}=560$  нм.

Отношение интенсивностей флуоресценции  $I_{\text{Al}^{3+}} / I_{\text{Cr}^{3+}}$  сенсора **S6**, измеренное в присутствии  $\text{Al}^{3+}$  и  $\text{Cr}^{3+}$  составляло 1 : 1. Обработка сенсора **S6** другим ионами металлов, даже в количестве 10 экв., не привела к значительным изменениям.

Существенные спектральные изменения для сенсора **S7** наблюдались только в случае  $\text{Al}^{3+}$  и  $\text{Cr}^{3+}$ . Отношение интенсивностей флуоресценции  $I_{\text{Al}^{3+}} / I_{\text{Cr}^{3+}}$  сенсора **S7**, измеренное в присутствии  $\text{Al}^{3+}$  и  $\text{Cr}^{3+}$ , составляло 1.7:1. Ионы  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  снижают интенсивность испускания сенсора **S7** (Рисунок 11).



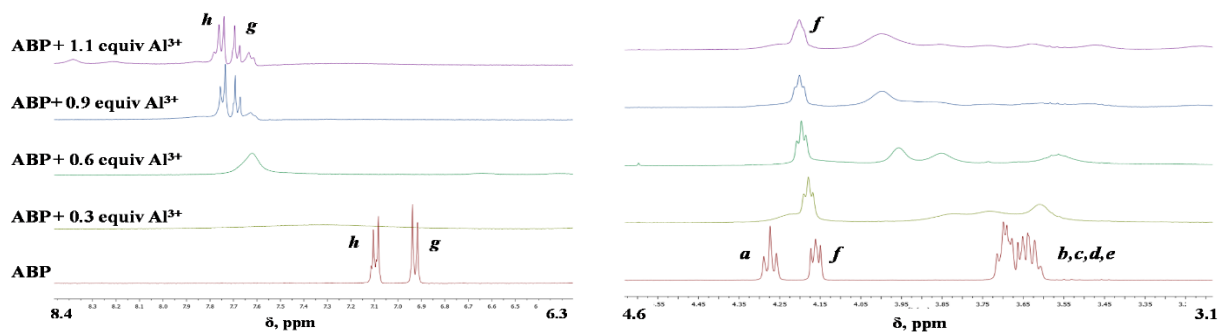
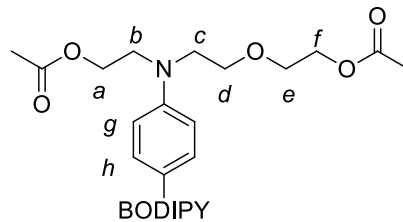
**Рисунок 11.** Флуоресцентный отклик раствора **S7** (15  $\mu\text{M}$ ) при добавлении катионов различных металлов (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}}=640$  нм.

Увеличение интенсивности испускания сенсора **S7** не происходило в присутствии 10 экв. избытка других катионов металлов, таких как  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Li}^{+}$ ,  $\text{Na}^{+}$  и  $\text{K}^{+}$ .

$^1\text{H}$ -ЯМР титрование в  $\text{CH}_3\text{CN}$  было использовано для исследования природы связывания сенсора **S3** и  $\text{Al}^{3+}$ . Химические сдвиги протонов сенсора до и после добавления  $\text{Al}^{3+}$  изображены на рисунке 12. В присутствии  $\text{Al}^{3+}$  (0-1.1 экв.), протоны боковой цепи *a*, *b*, *c*, *d* и *e* сдвигаются с уширением сигнала примерно на 0.4-0.6 м.д в сторону сильного поля. Сигналы протонов *g* и *h* фенильного кольца при 6.94 м.д. и 6.09 м.д. смещаются до 7.67 м.д. и 7.75 м.д.



соответственно. Это указывает на то, что азот участвует в комплексообразовании с  $\text{Al}^{3+}$ . Стоит отметить, что цепные протоны *f* были индифферентны к добавлению  $\text{Al}^{3+}$ , следовательно, группа  $\text{CH}_2\text{OAc}$  не участвует в координировании металла.



**Рисунок 12.**  $^1\text{H}$  ЯМР титрование соединения **S3** с  $\text{Al}^{3+}$  в MeCN.

Таким образом, мы синтезировали и охарактеризовали пять новых “Off-On” сенсорных молекул на основе «псевдо-краунов», которые оказались селективны в отношении  $\text{Al}^{3+}$ . Исследования показали, что соединение **S1** с ядром 2,6-Н-БОДИПИИ и соединение **S5** без ацетильной группы в хелаторе малоэффективны для обнаружения  $\text{Al}^{3+}$ .

Между тем, соединение **S3**, с 2-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)амино)этилацетатной группой может быть использован во флуоресцентных исследованиях, тогда как сенсоры **S6** и **S7** могут быть использованы через два разных канала – детектированием УФ и откликом флуоресценции. Максимальная интенсивность флуоресценции для сенсоров **S3**, **S6** и **S7** была достигнута добавлением 0.5 - 2 эквивалентов  $\text{Al}^{3+}$ , а пределы обнаружения оказались низкими. Наблюдаемые изменения цвета или усиление флуоресцентного испускания могут быть объяснены связыванием  $\text{Al}^{3+}$  с 2-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)амино)этилацетатным фрагментом, что снимает гашение с ядра БОДИПИИ. Сенсоры **S3**, **S6** и **S7** не разгораются в присутствии множества ионов, включая биологически необходимые  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ . Таким образом, наши сенсорные молекулы могут быть использованы для ратиометрического определения  $\text{Al}^{3+}$  в аналитических сенсорах в ацетонитриле, так же, как 2-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)амино)этилацетатный хелатор может найти применение в качестве легкодоступного хелатора для разработки  $\text{Al}^{3+}$ -селективных флуоресцентных сенсоров.

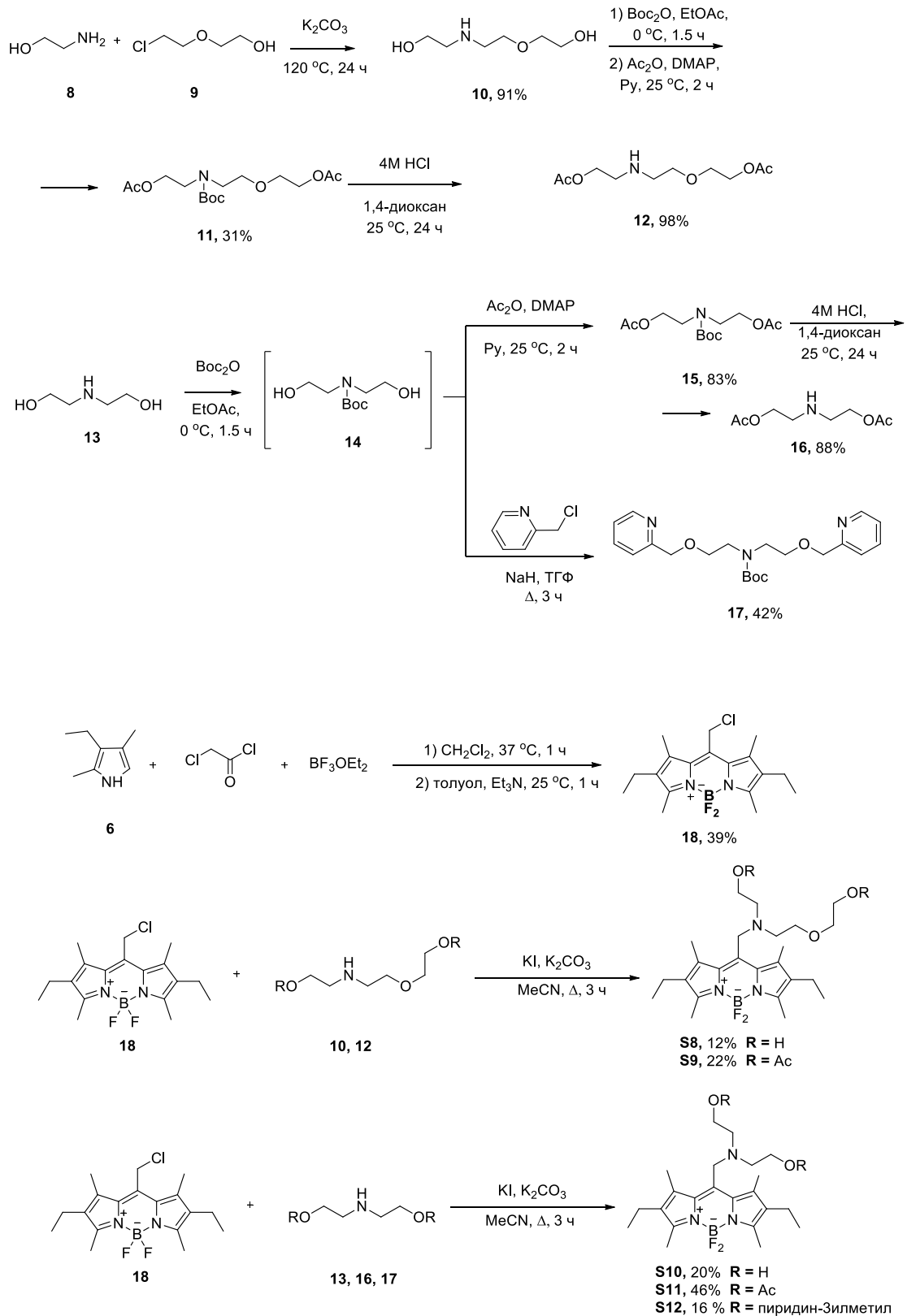
### III.1.4. Разработка флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы $\text{Cu}^{2+}$

На предыдущем этапе работы изучение *мезо*-, 3- и 5- положения каркаса БОДИПИ показало, что *мезо*-положение наиболее эффективно для создания чувствительного и селективного сенсора на основе «псевдо-краун» эфиров. Поэтому на следующем этапе нашей работы интерес представляло создание соединений, в которых «псевдо-краун эфирная» группа вводилась в *мезо*-положение ядра БОДИПИ через метиленовый линкер. Ожидалось, что из-за уменьшения длины линкера может быть существенным образом изменена селективность сенсоров, в связи со стерическим затруднением для координации ионов металлов рецепторной группы, вызываемых флуоресцентным ядром.

Нами был реализован многостадийный синтез неизвестных ранее в литературе соединений **S8**, **S9**, **S10**, **S11**, **S12**, представляющих собой красители БОДИПИ, модифицированные по *мезо*-положению каркаса «псевдо-краун эфирная» через  $\text{CH}_2$ -группу (Схема 3).

Конденсацией этаноламина **8** с 2,2-хлорэтоксиэтаном **9** был получен диол **10**. Затем соединение **10** было обработано последовательно ди-третбутилкарбонатом и уксусным ангидридом, что позволило защитить атом азота Вос-защитой, а гидроксигруппы — ацетатными остатками. Вос-защиту в соединении **11** сняли путем обработки хлороводородистой кислотой в диоксане при комнатной температуре. В результате был синтезирован хелатор **12** выход которого на три стадии составил 27%.

Далее были синтезированы симметричные хелатирующие группы **16** и **17**. Обработка диола **13** ди-третбутилкарбонатом в этилацетате привела к соединению **14**. Последнее было без выделения введено в реакцию с уксусным ангидридом, что позволило выделить продукт **15** с выходом 83%. Вос-защиту в соединении **15** сняли путем обработки хлороводородистой кислотой в диоксане при комнатной температуре. В результате чего с выходом 88% был получен хелатор **16**. Кипячением диола **14** с 2-(хлорметил)пиридином в тетрагидрофуране получили хелатирующую группу **17**, известную в литературе как селективную к ионам  $\text{Hg}^{2+}$  [93].



**Схема 3.** Синтез целевых соединений **S8-S12**.

Необходимый в синтезе 8-хлорметил БОДИПИ **18** был получен с выходом 39%, согласно литературной методике [94], последовательной конденсацией криптопиррола с хлорацетилхлоридом и комплексообразованием получившегося дипиррометена с эфиром

трехфтористого бора. Реакции нуклеофильного замещения между Cl-БОДИПИ **18** и хелаторами **10, 12, 13, 16, 17** позволили получить серию соединений **S8-S12** с выходами 16-46%.

### III.1.5 Исследование фотофизических свойств соединений **S8 - S12** и их способности детектировать $\text{Cu}^{2+}$

Соединения **S8 - S12** были исследованы методами УФ- и флуоресцентной спектроскопии.

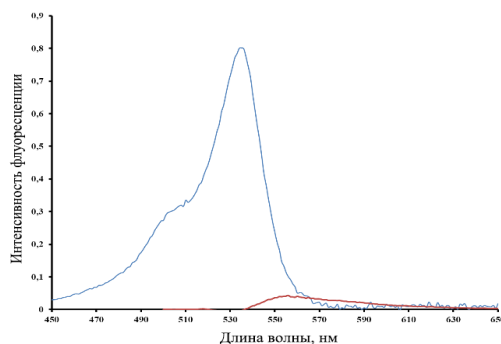
Для соединений **S8-S12** были сняты спектры поглощения и спектр испускания флуоресценции в сухом MeCN (содержание воды менее 5%) при комнатной температуре. Полученные фотофизические данные приведены в таблице 2.

**Таблица 2.** Данные по поглощению и флуоресценции при комнатной температуре.

| Сенсор     | $\lambda_{\text{abs}}$<br>[нм] | $\epsilon$ [ $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ] | $\lambda_{\text{em}}$<br>[нм] | $\Phi$ [b]<br>[%] | Стоксов<br>сдвиг<br>[ $\text{cm}^{-1}$ ] |
|------------|--------------------------------|--|-------------------------------|-------------------|--|
| <b>S8</b>  | 535                            | 61925  | 556                           | 1.2               | 708                                      |
| <b>S9</b>  | 537                            | 74533  | 557                           | 0.6               | 668                                      |
| <b>S10</b> | 534                            | 53566  | 556                           | 1.1               | 741                                      |
| <b>S11</b> | 537                            | 73792  | 555                           | 2.9               | 663                                      |
| <b>S12</b> | 534                            | 60613  | 555                           | 1.2               | 708                                      |

<sup>[a]</sup> Спектры записывали в  $\text{CH}_3\text{CN}$  при 298 К. <sup>[б]</sup> Сульфат хирина был использован в качестве эталона  $\Phi = 0.55$  в 0.1 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 310$  нм. Все значения  $\Phi_{\text{em}}$  скорректированы с учетом изменений показателя преломления.

Все исследованные соединения демонстрировали профиль поглощения, типичный для производных БОДИПИ: сильное поглощение в области 534–537 нм с относительно высокими молекулярными коэффициентами поглощения (спектры поглощения и испускания соединений **S8, S9, S11, S12** приведены в Приложение)  $50000\text{--}75000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  [11, 14, 95]. В качестве примера спектры поглощения и испускания соединения **S10** показаны на рисунке 13.

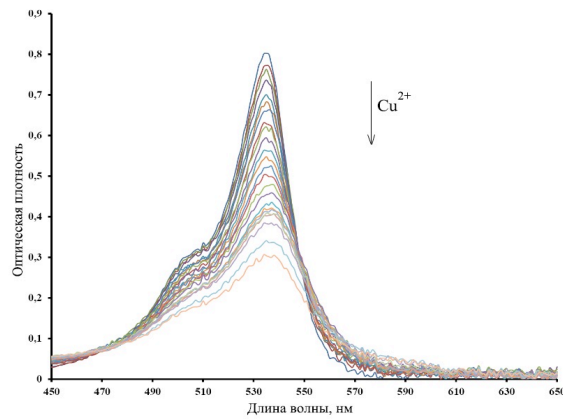


**Рисунок 13.** Спектры поглощения и испускания раствора **S10** (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}} = 515$  нм.

Сравнение спектров поглощения соединения **S10** ( $\lambda_{\text{abs}} = 534$  нм,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ) с литературными данными для наиболее близкого известного структурного аналога 8-  $(\text{CH}_2\text{NEt}_2)$ -БОДИПИ ( $\lambda_{\text{abs}} = 501$  нм,  $\text{CHCl}_3$ ) [96], выявило тенденцию к смещению максимума поглощения в длинноволновую область. В тоже время, коэффициент экстинкции для соединения **S10** ( $\epsilon = 5.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) был ниже, чем для 8-  $(\text{CH}_2\text{NEt}_2)$ -БОДИПИ ( $\epsilon = 7.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) [96].

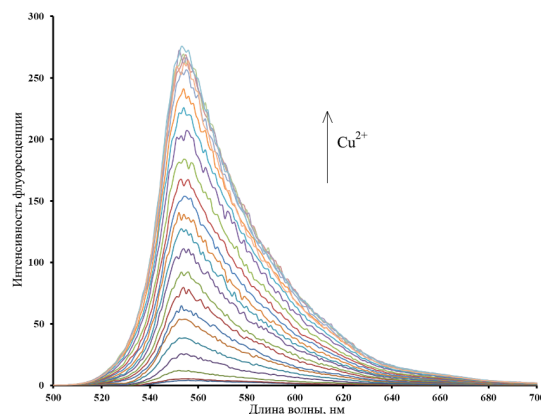
В спектрах флуоресценции всех исследованных соединений максимум испускания располагался между 555 и 557 нм. Стоксов сдвиг (разница между  $\lambda_{\text{em}}$  и  $\lambda_{\text{abs}}$ ) для всех красителей **S8-S12** был больше, чем для литературных аналогов - мезо- $\text{CH}_2\text{NR}_2$  замещенных БОДИПИ (т.е.  $660 \text{ cm}^{-1}$ ) [97-99]. Особенно ярко эта тенденция наблюдалась для БОДИПИ с OH-группами **S8** и **S10** ( $708$  и  $741 \text{ cm}^{-1}$ ). Низкие значения  $\Phi_{\text{F}}$  для всех исследованных соединения **S8-S12** ( $\leq 0,03$  в MeCN) объясняются гашением флуоресценции по механизму PET с участием неподеленной пары атома азота “псевдо-краун группы” [15].

Было изучено влияние различных катионов на фотофизические свойства синтезированных красителей **S8-S12**. Исследование соединений **S8**, **S9** и **S11** показало, что они не обладали селективностью к  $\text{Cu}^{2+}$  в присутствии  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Cr}^{3+}$ . Данные об их спектральных свойствах в присутствии различных катионов металлов приведены в Приложении. Напротив, соединение **S10**, полученное с использованием 2,2'-азандилдиэтанола, в качестве хелатирующей группы, проявляет себя как перспективное для селективного ратиометрического определения  $\text{Cu}^{2+}$  в УФ-видимом диапазоне или за счет “Off-On” разгорания флуоресценции. Спектр поглощения раствора **S10** не изменился при добавлении  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Ba}^{2+}$ . В тоже время как при добавлении  $\text{Cu}^{2+}$  к **S10** (15  $\mu\text{M}$  в MeCN) интенсивность максимума поглощения постепенно снижалась после образования новой батохромно смещенной полосы с максимумом при 547 нм (Рисунок 14). При связывании  $\text{Cu}^{2+}$  молярный коэффициент поглощения изменился от  $5.3 \cdot 10^4$  до  $2.6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .



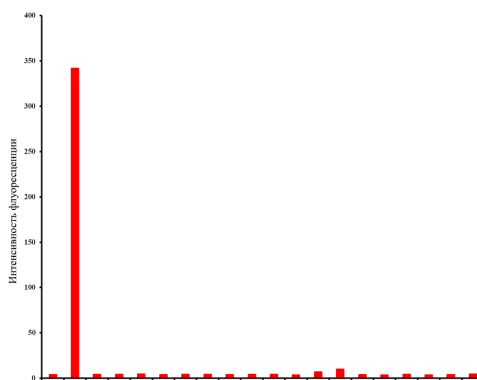
**Рисунок 14.** Спектры поглощения **S10** (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN при различных концентрациях  $\text{Cu}^{2+}$  (0-2.0 экв.).

Флуоресцентные свойства раствора сенсора **S10** очень сильно изменялись в присутствии  $\text{Cu}^{2+}$  (Рисунок 15). В эксперименте можно было наблюдать, что добавление одного эквивалента  $\text{Cu}^{2+}$  вызывает усиление интенсивности флуоресценции **S10** (от  $\Phi = 1.1\%$  для **S10** до  $\Phi = 14\%$  для комплекса **S10** с ионами  $\text{Cu}^{2+}$ ).



**Рисунок 15.** Спектр испускания раствора **10** (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}} = 515$  нм, при различных концентрациях  $\text{Cu}^{2+}$  (0-2.0 экв.),  $\lambda_{\text{ex}} = 515$  нм.

Этот факт может быть объяснён снятием гашения флуоресценции по механизму PET, в результате участия неподеленной пары атома азота хелатора в координации  $\text{Cu}^{2+}$  [100]. Примечательно, что другие катионы, которые встречаются в высоких концентрациях в физиологических условиях, не влияли на флуоресценцию раствора **S10** даже в случае их присутствия в избытке. Для демонстрации селективности **S10** для  $\text{Cu}^{2+}$  спектры испускания регистрировали в присутствии одного эквивалента  $\text{Cu}^{2+}$  и 10-кратного избытка  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Ba}^{2+}$  (Рисунок 16).



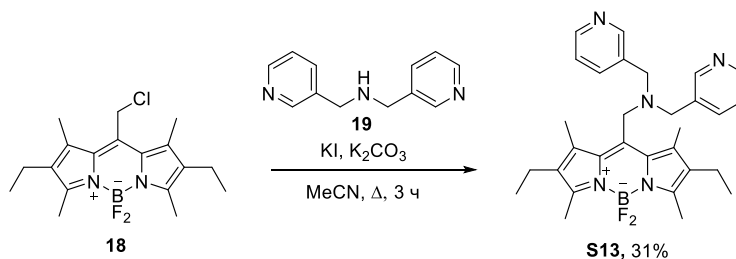
**Рисунок 16.** Флуоресцентный отклик раствора **S10** (15  $\mu\text{M}$ ) при добавлении катионов металлов  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Ba}^{2+}$  10 экв. (15  $\mu\text{M}$ ) в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}}=515$  нм.

Разгорание флуоресценции возникало даже в присутствии большого количества различных катионов. Эта информация о селективности делает сенсор **S10** перспективным флуоресцентным сенсором для ионов  $\text{Cu}^{2+}$ .

### III.1.6. Разработка флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы $\text{Zn}^{2+}$

Флуоресцентные сенсоры на основе ди(2-пиколил)аминовых производных (DPA) обладали высоким потенциалом для детектирования  $\text{Zn}^{2+}$ . В связи с этим, на следующем этапе работы нами было получено ранее не известное соединение **S13**, представляющее собой каркас БОДИПИ, модифицированный DPA по мезо-положению с использованием метиленового линкера (Схема 4).

Синтез **S13** был реализован из мезо- $\text{CH}_2\text{-Cl}$ -БОДИПИ **18** конденсацией с дипиколиламином **19**. Выход продукты после очистки колоночной хроматографией составил 31%.

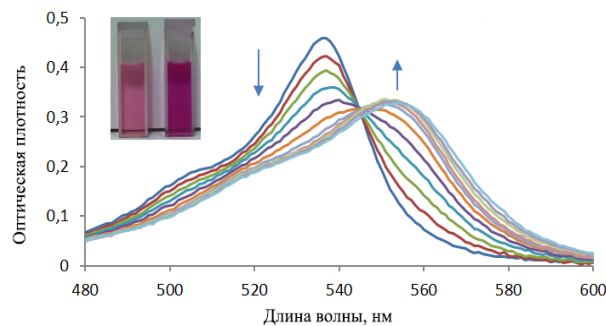


**Схема 4.** Синтез соединения **S13**.

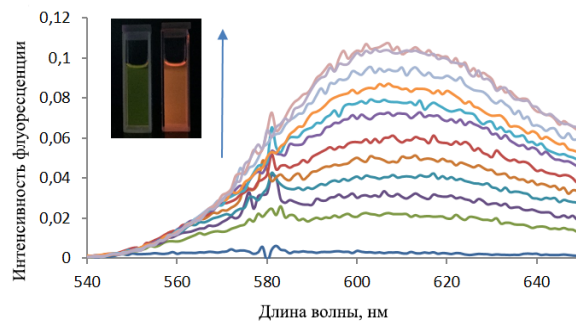
Для соединения **S13** были сняты спектры испускания флуоресценции и поглощения в MeCN. Свободный сенсор характеризовался максимумом поглощения при 538 нм и дополнительный максимум при 506 нм. Было обнаружено, что коэффициент экстинкции у

соединения **S13** достаточно высокий ( $\epsilon = 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), а квантовый выход свободного сенсора низкий (0.06 в MeCN/H<sub>2</sub>O, 1:3) из-за тушения флуоресценции ядра БОДИПИ по РЕТ-механизму при участии неподеленной пары азота аминного заместителя.

Добавление  $\text{Zn}^{2+}$  к раствору **S13** приводило к сильным изменениям в спектрах поглощения и флуоресценции. Максимум поглощения комплекса **S13** с  $\text{Zn}^{2+}$  в MeCN смещался в длинноволновую область до 556 нм. Молярный коэффициент поглощения изменялся незначительно с  $22000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  до  $16000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  при связывании с  $\text{Zn}^{2+}$ . Небольшое снижение интенсивности максимума поглощения наблюдалось при добавлении более чем 1 эквивалента  $\text{Zn}^{2+}$ . После добавления  $\text{Zn}^{2+}$  к раствору **S13** в MeCN наблюдалось 21 кратное разгорание флуоресценции ( $\lambda_{\text{em}} = 610 \text{ nm}$ ) (Рисунок 17, 18). Было показано, что флуоресцентный отклик типа “Off-On” для **S13** при комплексообразовании с  $\text{Zn}^{2+}$  наблюдается в различных буферных растворах. Сильное увеличение квантового выхода наблюдалось в воде, MES, MOPS и HEPES (~ 8-16 раз); в растворе трис-HCl интенсивность флуоресцентного отклика было ниже почти вдвое (Рисунок 19).

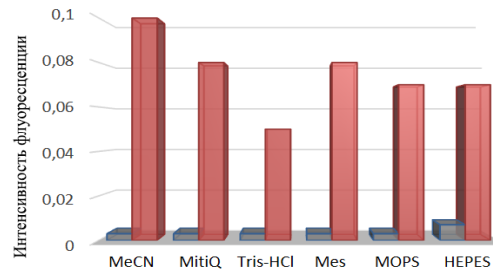


**Рисунок 17.** Спектры абсорбционного титрования **S13** ( $10^{-5} \text{ M}$ ) при добавлении  $\text{Zn}^{2+}$  (0 - 1.1 экв.) в MeCN.



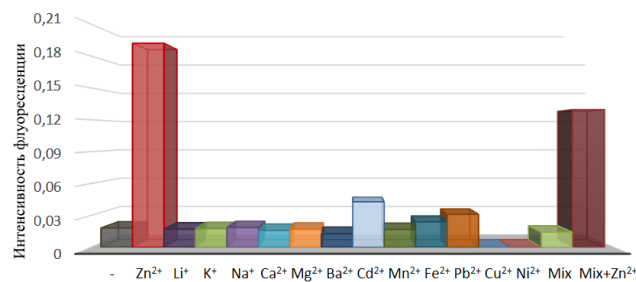
**Рисунок 18.** Спектры флуоресцентного титрования **S13** ( $10^{-5} \text{ M}$ ) при добавлении  $\text{Zn}^{2+}$  (0 – 1.1 экв.) в MeCN ( $\lambda_{\text{ex}} = 580 \text{ nm}$ ).





**Рисунок 19.** Интенсивности флуоресценции раствора соединения **S13** (10  $\mu\text{M}$ ) при добавлении  $\text{Zn}^{2+}$  (1 экв.) в различных растворителях, включая MeCN и буферные растворы: трис-HCl (pH = 7.5), MES (pH = 6.0), MOPS (pH = 7.5), HEPES (pH = 7.5). Серые столбцы представляют свободный **S13**, красные столбцы представляют добавление  $\text{Zn}^{2+}$  (1 экв.) к растворам **S13**.

Был изучен флуоресцентный отклик **S13** на различные катионы металлов и его селективность в отношении  $\text{Zn}^{2+}$  (Рисунок 20).

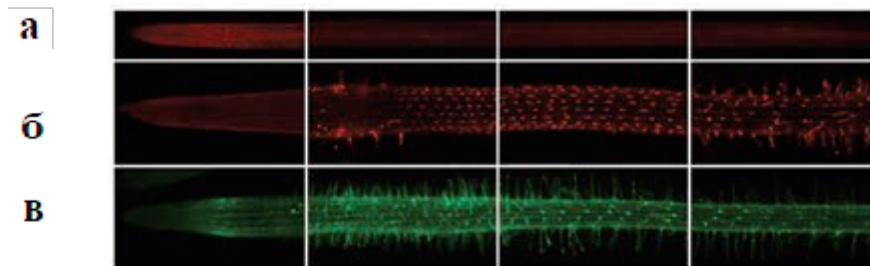


**Рисунок 20.** Интенсивность флуоресценции **S13** (10  $\mu\text{M}$ ) в смеси MeCN/H<sub>2</sub>O (1:3 при добавлении различных катионов металлов). Первый серый столбец отвечает свободному **S13**; следующие 13 цветных столбцов отвечают добавлению **S13** (10  $\mu\text{M}$ ) разных конкурирующих катионов (1 экв.) последовательно:  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ; зеленый (14-й) столбец отвечает добавлению к раствору **S13** (10  $\mu\text{M}$ ) к смеси катионов (10 экв.)  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ; последний темно-красный столбец отвечает добавлению  $\text{Zn}^{2+}$  к раствору **S13** в присутствии той же смеси катионов.

При добавлении катионов  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  не происходило разгорание флуоресценции. Катионы переходных металлов, а именно  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$ , связываясь с **S13**, приводили к незначительному разгоранию флуоресценции. Ионы  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  действуют как гасители флуоресценции. Для дальнейшего изучения возможности использования **S13** в качестве селективного хемосенсора для детектирования  $\text{Zn}^{2+}$ , провели конкурентные эксперименты в присутствии  $\text{Zn}^{2+}$  с концентрацией  $1.0 \times 10^{-5}$  М и смеси  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  с концентрацией  $10 \times 10^{-5}$  М; эксперимент не

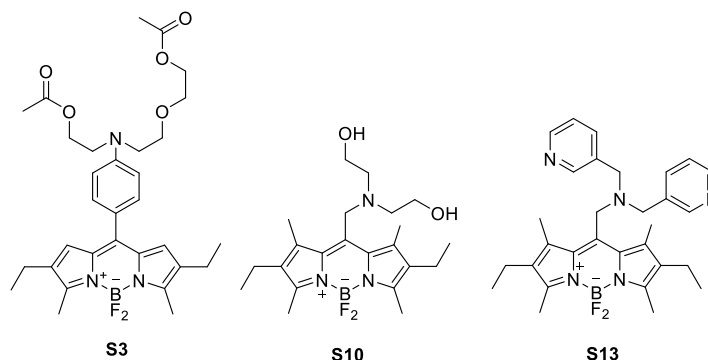
показал существенных изменений интенсивности флуоресценции по сравнению с измеренной интенсивностью в отсутствие других ионов металлов кроме  $Zn^{2+}$ . Приведенные выше результаты свидетельствуют о хорошей селективности **S13** по отношению к катионам  $Zn^{2+}$ .

Цинк в большом количестве содержится в земной коре и является вторым, после железа, наиболее распространенным переходным металлом в растениях [101]. Оценка содержания свободного и слабосвязанного  $Zn^{2+}$  в клетках растений является актуальной проблемой экологического мониторинга в крупных мегаполисах. По этой причине способность сенсора **S13** специфически определять ионы цинка *in vivo* была испытана на корнях растения *Brassica napus*. Сенсор показал хорошее диффузное окрашивание клеток корня. Обработка раствором сенсора корней, выращенных в течение 3 дней в присутствии избытка  $Zn^{2+}$  (250  $\mu$ M), привела к яркому окрашиванию с хорошо видимыми скоплениями металла в цитоплазме. Характерное увеличение флуоресценции в корнях канолы (*Brassica napus*) вызывалось только избытком цинка, который локализовался преимущественно в клетках ризодермы. Другие катионы металлов, такие как  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  не вызывали существенного повышения уровня флуоресценции по сравнению с контрольными образцами корней, а  $Cu^{2+}$  вызвал резкое снижение уровня флуоресценции. Таким образом, **S13** продемонстрировал способность с высокой специфичностью выявлять избыток цинка в корнях растений. Сравнение окрашивания корней сенсором **S13** и Newport Green™ выявило ряд преимуществ **S13**, а именно сенсор **S13** показал более низкое фоновое окрашивание тканей и лучшую фотостабильность.



**Рисунок 21.** Окрашивание корней *Brassica napus L.*, обработанных (а) **S13** (контроль), (б) **S13** и  $Zn^{2+}$ , (в) сенсор Newport Green™ DCF и  $Zn^{2+}$ .

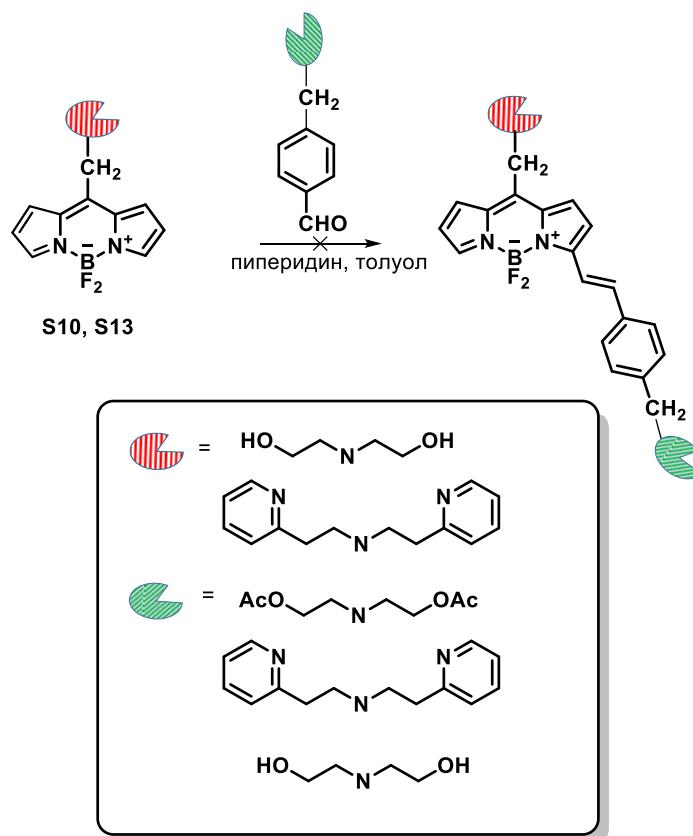
Подводя итог работы по разработке мономодальных сенсоров на катионы тяжелых металлов, можно отметить, что: 1) был разработан новый сенсор **S3** для селективного детектирования катионов  $Al^{3+}$ ; 2) был разработан сенсор **S10** для селективного детектирования катионов  $Cu^{2+}$ ; 3) был получен сенсор **S13** эффективный для детектирования  $Zn^{2+}$  *in vivo*. Структуры сенсоров **S3**, **S10**, **S13** в дальнейшем были использованы нами для разработки целевых двумодальных молекул.



### III.1.7 Разработка бимодального флуоресцентного “Off- On” сенсора на $Al^{3+}$ и $Zn^{2+}$

Для получения двумодальных сенсоров на катионы металлов нами была изучена возможность модификации исследованных нами мономодальных сенсоров в 3-м положении молекулы БОДИПИ хелатирующей группой. На начальном этапе работы нами были предприняты попытки получения двумодальных сенсоров на основе красителей БОДИПИ **S10**, **S13**, содержащих хелатирующие группы, селективные в отношении  $Cu^{2+}$   $Zn^{2+}$ , связанные с ядром БОДИПИ через метиленовый линкер. В качестве базовой стратегии синтеза была выбрана конденсация Кневенагеля, широко применяемая для модификации ядра БОДИПИ (Рисунок 22).

Было найдено, что в стандартных условиях (кипячение в толуоле/бензоле с насадкой Дина-Старка) реакции **S10** и **S13** с замещенными бензальдегидами **13**, **16**, **17** к целевым двумодальным сенсорам не приводили. Во всех случаях не зависимо от температурного режима, растворителя и давления в системе, наблюдалась лишь деградация исходных соединений.



**Рисунок 22.** Реакция Кневенагеля красителей **S10** и **S13** с функционализированными бензальдегидами.

В связи с чем на следующем этапе мы сфокусировали наши усилия на получении двумодальных молекул на основе соединения **S3** селективного в отношении  $Al^{3+}$ . “Псевдо-краун” эфирная хелатирующая группа в его структуре соединялась с флуоресцентным ядром БОДИПИ через фенильный линкер, что позволило надеяться на его стабильность в условиях конденсации Кневенагеля. В три стадии из соединения **S3** и анилина **20** нами был синтезирован двумодальный сенсор **S14** (Схема 5), содержащий в 3-м положении дипикалиламиновый фрагмент, селективный в отношении  $Zn^{2+}$ . Обработка анилина **20** хлорметилпиридином привела к производному **21**, формилирование которого по Вейсмееру-Хааку позволило получить альдегид **22**. Конденсация последнего с соединением **S3** при кипячении в сухом толуоле с насадкой Дина-Старка сопровождалась образованием целевого **S14**. Выход продукта на последней стадии, после очистки колоночной хроматографией, составил 3%.

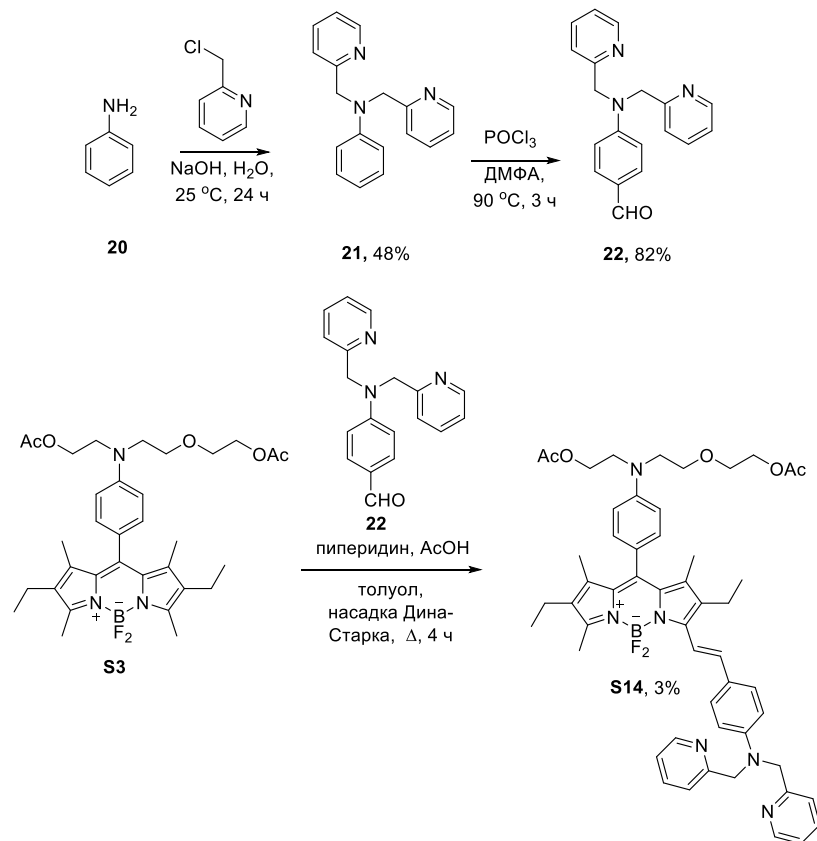
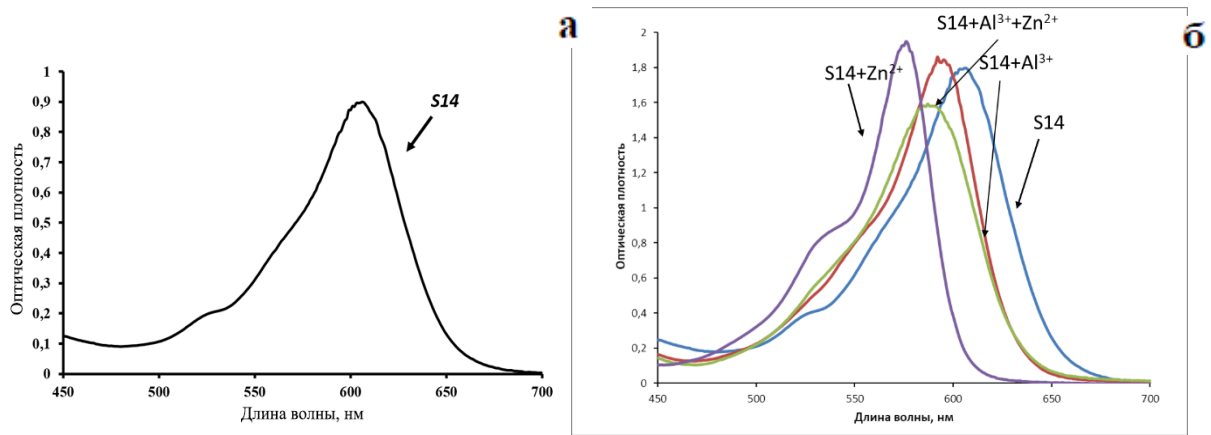


Схема 5. Синтез соединения S14.

### III.1.8. Исследование фотофизических свойств соединения S14

Соединение S14 было исследовано в ультрафиолетовой области и области видимого света спектрами поглощения и флуоресценции в MeCN,  $\lambda_{\text{ex}} = 580$  нм. В спектре поглощения S14 демонстрировал относительно широкую полосу поглощения при 606 нм.

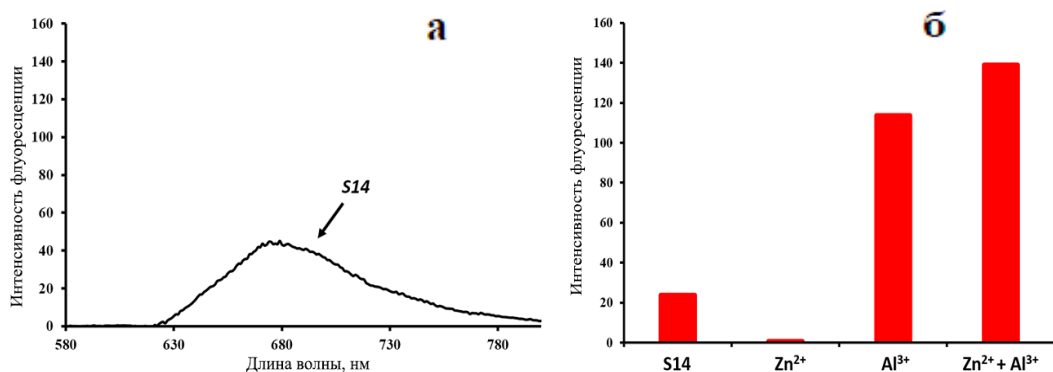
Сенсор S14 имел высокий молярный коэффициент поглощения ( $\epsilon = 9.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Спектры флуоресценции S14 демонстрировали широкую полосу испускания низкой интенсивности при 678 нм. Квантовый выход свободного сенсора, загашенного фотоиндуцированным переносом электрона с аминогруппы на ядро БОДИПИ, был рассчитан в ацетонитриле при концентрации 3  $\mu\text{M}$  и составил  $\Phi \leq 0.15\%$ . Добавление 1 экв.  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Al}^{3+}$  к раствору S14 (15  $\mu\text{M}$  в MeCN) сопровождалось образованием новых полос поглощения со сдвигом до 575 нм и до 595 нм соответственно (Рисунок 23).



**Рисунок 23.** (а) УФ-спектр поглощения свободного сенсора **S14** (15 μM) в MeCN. (б) Спектры поглощения пробы **S14** в присутствии ионов Zn<sup>2+</sup> и Al<sup>3+</sup> (1 экв.); при одновременном присутствии Zn<sup>2+</sup> и Al<sup>3+</sup> (1 экв.).

При одновременном присутствии Zn<sup>2+</sup> и Al<sup>3+</sup> в растворе **S14**, наблюдалось образование полосы поглощения при 586 нм, свидетельствующей об одновременном связывании соединения **S14** с Zn<sup>2+</sup> и Al<sup>3+</sup>.

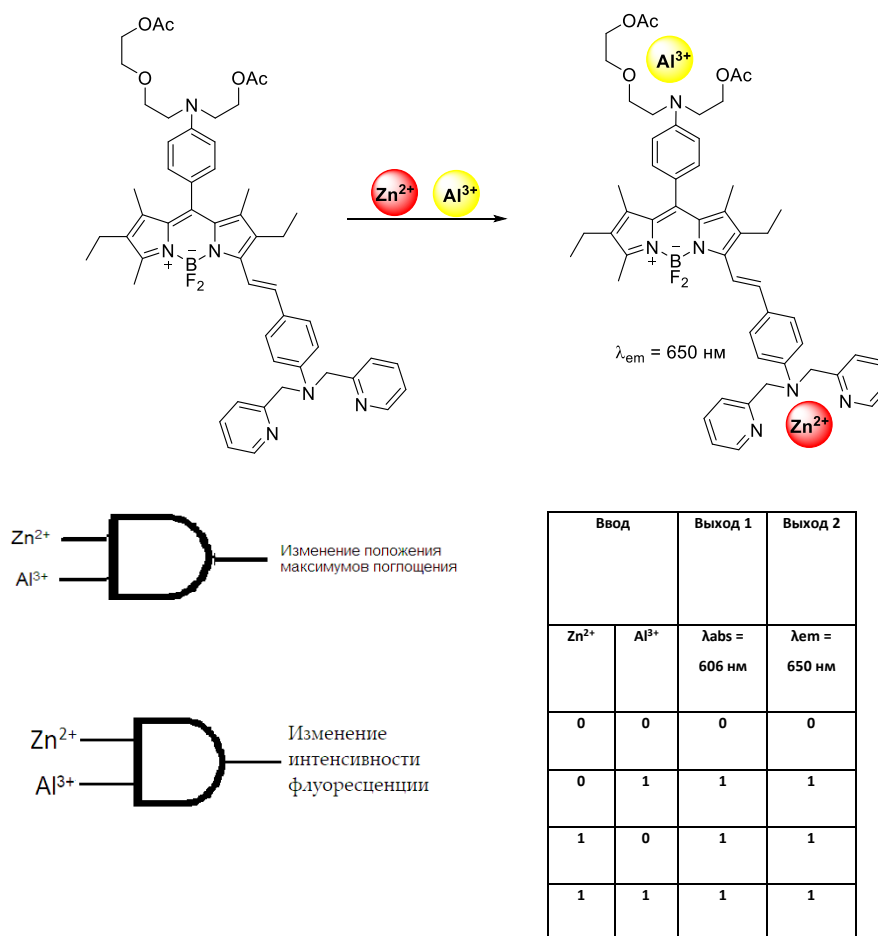
Исследование способности **S14** детектировать Zn<sup>2+</sup> и Al<sup>3+</sup> откликом флуоресценции проводилось при волне возбуждения равной 580 нм. Неожиданным оказался факт, что добавление ионов Zn<sup>2+</sup> к раствору соединения **S14** (15 μM в MeCN) приводило к полному гашению флуоресценции. При добавлении Al<sup>3+</sup> к раствору соединения **S14** (15 μM в MeCN) гашение флуоресценции снималось в результате координации Al<sup>3+</sup> аминогруппой, а раствор **S14** интенсивно флуоресцировал красным цветом. Полоса флуоресценции связанного сенсора с Al<sup>3+</sup> сенсора была сдвинута в коротковолновую область (650 нм) (Рисунок 24).



**Рисунок 24.** (а) Спектр флуоресценции свободного сенсора **S14** (15 μM) в. (б) Флуоресцентный отклик при 650 нм сенсора **S14** (15 μM) в MeCN при добавлении Zn<sup>2+</sup> (1 экв.), Al<sup>3+</sup> (1 экв.) и одновременном присутствии Zn<sup>2+</sup> и Al<sup>3+</sup> (1 экв.) λ<sub>ex</sub> = 580 нм.

Максимальное разгорание флуоресценции раствора сенсора **S14** наблюдалось при одновременном присутствии 1 экв.  $Zn^{2+}$  и  $Al^{3+}$ . Данный факт подтверждает одновременную координацию  $Zn^{2+}$  и  $Al^{3+}$  разными хелатирующими группами соединения **S14**.

Таким образом, в растворе сенсором **S14** возможно одновременное детектирование ионов цинка (II) и алюминия (III). Используя булеву логику, пробу **S14** можно представить как МЛЭ типа AND, работающий в режиме разгорания флуоресценции и типа OR в режиме поглощения. (Рисунок 25).



**Рисунок 25.** Предполагаемый механизм активации сенсора **S14** Его можно рассматривать как МЛЭ типа OR в режиме флуоресценции и типа OR в режиме поглощения. Двумя входными сигналами являются  $Zn^{2+}$  и  $Al^{3+}$ . Выходные сигналы - это выход 1 - изменение положения максимумов поглощения, выход 2 - изменение интенсивности флуоресценции при 650 нм.



### III.2. Разработка сенсоров на основе полифенол-замещенного БОДИПИ

Еще одним актуальным направлением органической химии является разработка флуоресцентных сенсоров для селективного совместного обнаружения ряда важных биоаналитов, таких как биотиолы, активные формы кислорода (АФК) и ферменты, связанные с гипоксическим состоянием клеток.

Биотиолы, в том числе цистеин (Cys), гомоцистеин (Hcy), глутатион (GSH) [102] и сероводород ( $H_2S$ ) играют важную роль в биологических процессах. Самый простой биотиол  $H_2S$  синтезируется эндогенно через ферментативные и неферментативные процессы [103]. Субнормальные концентрации  $H_2S$  могут привести к различным патологиям, таким как болезнь Хантингтона, болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера [104]. В больших концентрациях Cys вызывают повреждение печени, кожи, депигментацию волос и т.д [105]. Hcy рассматривается как фактор развития нарушений в работе сердечно-сосудистой системы и развитии болезни Альцгеймера [106, 107]. GSH, как наиболее распространенный внутриклеточный биотиол (1–10  $\mu M$ ), играет ключевую роль в здоровье человека в связи с его характерными окислительно-восстановительными свойствами и нуклеофильностью [108, 109].

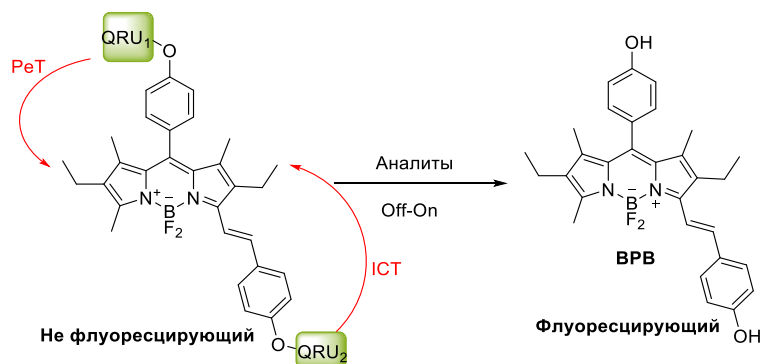
Активные формы кислорода (АФК) такие как, супероксид ( $O_2^{\cdot-}$ ), пероксид водорода ( $H_2O_2$ ), гипохлористая кислота (HOCl), синглетный кислород ( $^1O_2$ ), озон ( $O_3$ ) и гидроксильный радикал ( $OH^{\cdot}$ ) непрерывно генерируются, трансформируются и потребляются во всех живых организмах как следствие аэробной жизни. Традиционно считается, что эти активные метаболиты кислорода вызывают окислительный стресс и повреждения, которые приводят к ухудшению состояния тканей и систем органов при старении и болезнях. Однако, новые данные показывают, что АФК, производимые в определенных ситуациях, также могут способствовать улучшению физической формы и самочувствия. Таким образом разработка методов детектирования АФК является важной задачей [100].

Гипоксия (избыточная экспрессия и биологическая активность ферментов нитроредуктазы (NTR)) - это патологическое состояние, при котором тканям не хватает кислорода, необходимого для нормального клеточного метаболизма [110]. Известно, что в некоторых опухолях средняя концентрация кислорода составляет около 4%, а иногда она даже может уменьшаться до менее 0.1% [111]. В онкологии гипоксия опухоли часто связана с плохой реакцией на протоколы лечения [112, 113]. Необходимость выявления гипоксии опухолей как для осуществления селективной химиотерапии, направленной на гипоксию, так и для оптимизации лечения опухолей, чувствительных к кислороду (то есть фотодинамическая терапия и лучевая терапия), привлекла к разработке контрастных агентов для визуализации

гипоксического статуса опухолевых клеток в различных биологических системах (т.е. живых клетках *ex vivo* или *in vivo*) [114].

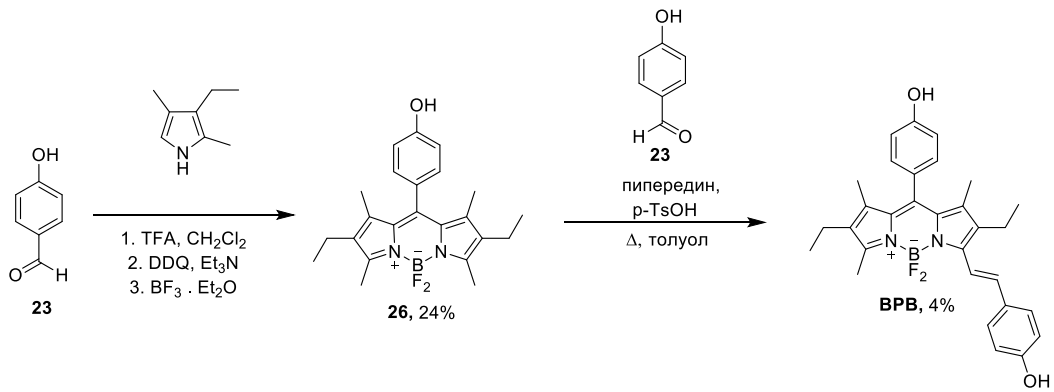
Таким образом, обнаружение и мониторинг уровня биотиолов, АФК, ферментов задействованных в гипоксии, является важной задачей для понимания патологических процессов в организме человека.

Мы предположили, что в качестве универсальной платформы, позволяющей детектировать биологические аналиты, может быть использован (*E*)-4-(2-(2,8-диэтил-5,5-дифтор-10-(4-гидроксифенил)-2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен (**ВРВ**). Он характеризуется квантовым выходом флуоресценции, близким к 100% в смест фосфатный буфер + 50% EtOH, с максимумом испускания при 600 нм. Максимумы поглощения **ВРВ** находятся при 335 и 583 нм и имеют значения коэффициентов экстинкции 22 300 M<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup> и 66 250 M<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup> соответственно. Реализация двух различных механизмов гашения (ICT и PET) при дизайне двумодальных сенсоров на основе **ВРВ** возможна благодаря наличию двух концевых гидроксильных групп в 8-м и 3-м положениях флуоресцентного ядра [115]. Введение реакционноспособных сенсорных групп по фенольным атомам кислорода может приводить к гашению флуоресценции ядра, таким образом кислородные атомы могут быть использованы в качестве центров направленной модификации (Рисунок 26).



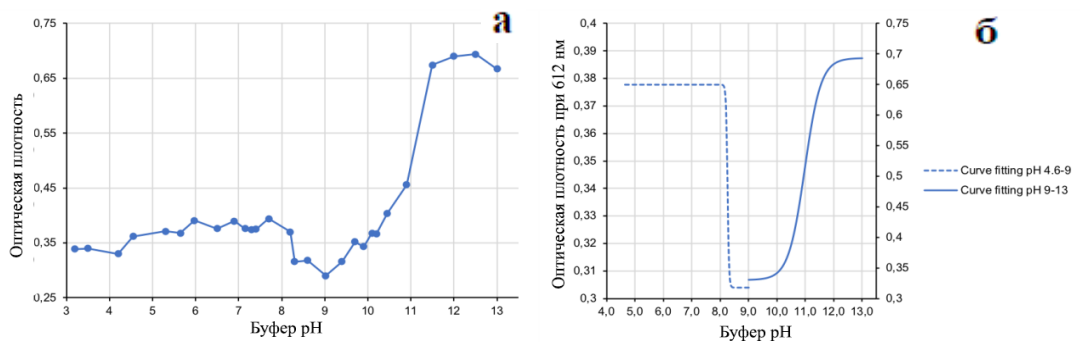
**Рисунок 26.** Общая схема двумодального сенсора на основе бисфенол-зместенного БОДИПИ.

Флуорофор БОДИПИ **26** был получен конденсацией между пара-гидроксибензальдегидом **23** с криптопирролом, с последующей обработкой DDQ и BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O соответственно. Для получения свободного бис-фенольного флуорофора **ВРВ** была проведена конденсация Кневенагеля с пара-гидроксибензальдегидом **23**. Чтобы получить сверхчистый образец бис-фенольного флуорофора **ВРВ**, была проведена двухстадийная очистка образца соединения: 1) колоночная хроматография на обычном силикагеле, 2) полупрепаративная ОФ-ВЭЖХ (Схема 6).



### Схема 6. Синтез флуорофора ВРВ.

Мы впервые определили значения рКа фенольных групп ВРВ (8.2 и 11 для пара-гидроксистирильного и мезо-пара-гидроксифенильного фрагментов соответственно), изучая их спектральное поведение в диапазоне рН 3.2 - 13.0 (построение зависимой от рН кривой поглощения для выбранной длины волны в 612 нм, Рисунок 27).



**Рисунок 27.** (а) Кривая рН-зависимой максимальной поглощения (612 нм) для ВРВ (концентрация: 10  $\mu$ М в фосфатном буфере); (б) Кривая Больцмана, полученная с помощью программного обеспечения Origin Pro 8.

### III.2.1. Разработка мономодального флуоресцентного «Off – On» сенсора для мониторинга S-нуклеофилов с повышенной чувствительностью

Первоначально мы решили оценить потенциал флуорогенного **BPB** для разработки флуоресцентных сенсоров, перспективных для обнаружения одного аналита. В настоящее время хорошо известно, что более высокие характеристики селективности и чувствительности обнаружения могут быть достигнуты путем введения двух одинаковых реакционноспособных фрагментов в структуру ядра сенсора [115, 116]. Для демонстрации эффекта флуорогенного «Off-On» поведения пробы на основе **BPB** была предложена структура сульфидного/сульфитного аналита, содержащего 7-нитро-1,2,3-бензоксадиазолу группу (NBD). Несколько исследовательских групп [117-119] в последние годы показали, что группа NBD является эффективной для создания сенсоров «Off-On» в отношении S-нуклеофилов (Cys, Hcy, GSH), характеризуется высокой чувствительностью и высокой селективностью [119]. Чтобы доказать заявленную концепцию, были проведено сравнение спектральных свойств и флуорогенной реакционной способности сенсоров **S15** и **S16**, несущих два фрагмента NBD и один фрагмент NBD соответственно.

Синтез сенсора **S15** был проведен с использованием реакции O-арилрования бисфенола **BPB** хлоридом NBD (NBD-Cl). Реакцию проводили в сухом CH<sub>3</sub>CN в присутствии DIPEA (Схема 7). Основная трудность, связанная с этим синтезом, заключалась в том, что главным продуктом было бис-O-NBD эфирное производное **S15** (выход 25%). После нескольких попыток (изменение соотношения между NBD-Cl/основание и **BPB** (0.1 экв/1 экв) нам удалось выделить небольшое количество моно-O-NBD-эфира **S16** (выход 24%), что касается мезо-O-NBD-замещенного продукта, после многих попыток синтеза, его удалось выделить только следовое количество мезо-O-NBD-замещенного продукта (менее 1 мг).

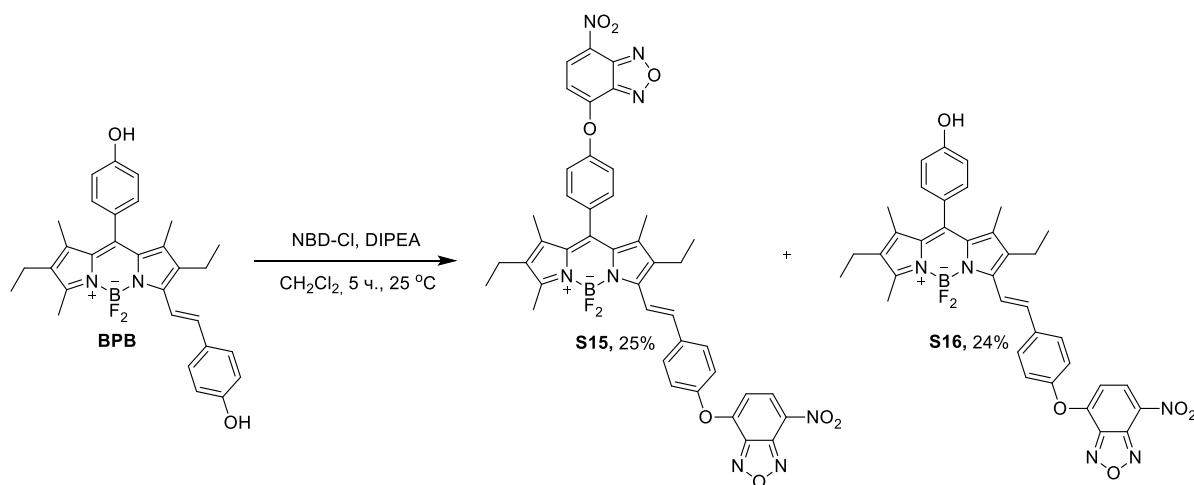
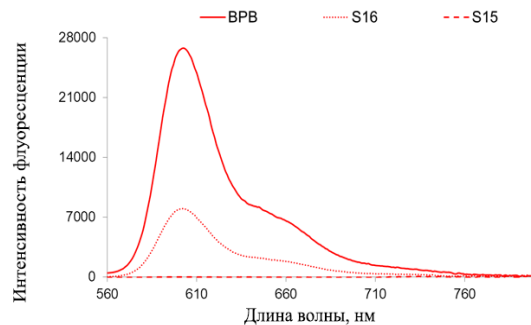


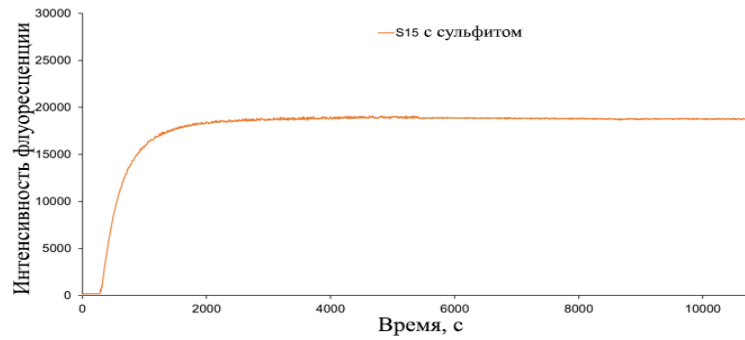
Схема 7. Синтез сенсоров **S15** и **S16** на основе NBD.

Как и ожидалось, сенсор **S15**, несущий два фрагмента NBD, оказался не флуоресцирующим (определить остаточный квантовый выход флуоресценции было невозможно из-за отсутствия линейной взаимосвязи между флуоресценцией и поглощением на длине волны возбуждения  $\lambda_{\text{ex}}=540$  нм). И наоборот, сенсор на основе моно-NBD **S16** обладал остаточной флуоресценцией (Рисунок 28). Сенсор **S15** имеет максимум поглощения при  $\lambda_{\text{max}} = 590$  нм (10 mM PB + 50 % EtOH, 25 °C) ( $\epsilon = 31800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Сенсор **S16** имеет максимум поглощения при  $\lambda_{\text{max}} = 578$  нм (10 mM PB + 50 % EtOH, 25 °C) ( $\epsilon = 63000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );



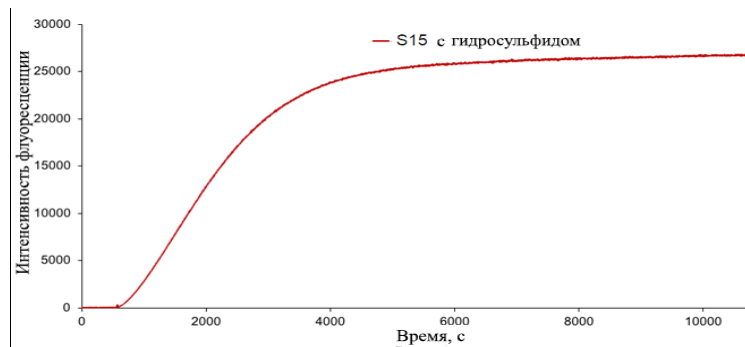
**Рисунок 28.** Спектры флуоресцентного испускания ( $\lambda_{\text{ex}}=540$  нм) флуорогенных сенсоров на основе NBD **S15** и **S16**, и флуорофора на основе бисфенола **BPB** (концентрация: 0.25  $\mu\text{M}$  в PB + 50% EtOH при 25 °C).

Затем мы исследовали флуорогенную реакционную способность сенсоров **S15** и **S16** (концентрация: 0.25  $\mu\text{M}$ ) в 10 mM PB + 50% EtOH при 25 °C по отношению к различным S-нуклеофилам, таким как биотиолы (соль L-Cys и HCl и GSH), сульфит натрия и бензолсульфиновая кислота и гидросульфид натрия, последний является эквивалентом  $\text{H}_2\text{S}$  в биологических средах. Многочисленные кинетические эксперименты (аналит в количестве эквивалентов в диапазоне 5-100) были выполнены на спектрофлуориметре SAFAS Flx Xenius XC (оснащен 10-кварцевым держателем ячеек для одновременного измерения флуоресцентного испускания десяти различных растворов). Эксперимент показал, что самый быстрый и интенсивный флуоресцентный отклик “Off-On” (при  $\lambda_{\text{em}}=600$  нм) был достигнут с сульфитным анионом  $\text{SO}_3^{2-}$ . После добавления  $\text{SO}_3^{2-}$  (5 экв.) к 0.25  $\mu\text{M}$  раствору сенсора **S15** мы наблюдали быстрое увеличение интенсивности флуоресценции при 600 нм, которое достигало плато через 15 минут (Рисунок 29).



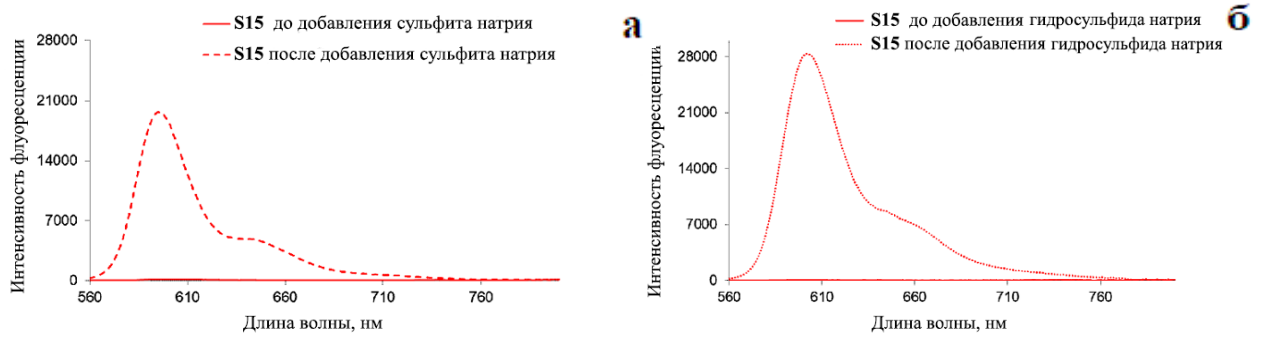
**Рисунок 29.** Зависимость от времени изменения интенсивности оранжево-красной флуоресценции  $\lambda_{ex}=540$ ,  $\lambda_{em}=600$  флуорогенного сенсора **S15** (концентрация:  $0.25 \mu\text{M}$ ) в  $10 \text{ mM PB} + 50\% \text{ EtOH}$  при  $25^\circ\text{C}$  при добавлении  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5 экв., инкубация в течение 3 часов).

Добавление 5 эквивалентов раствора  $\text{NaHS}$  привело к сравнимому увеличению флуоресценции, но время достижения плато было больше (около 1 часа) (Рисунок 30).

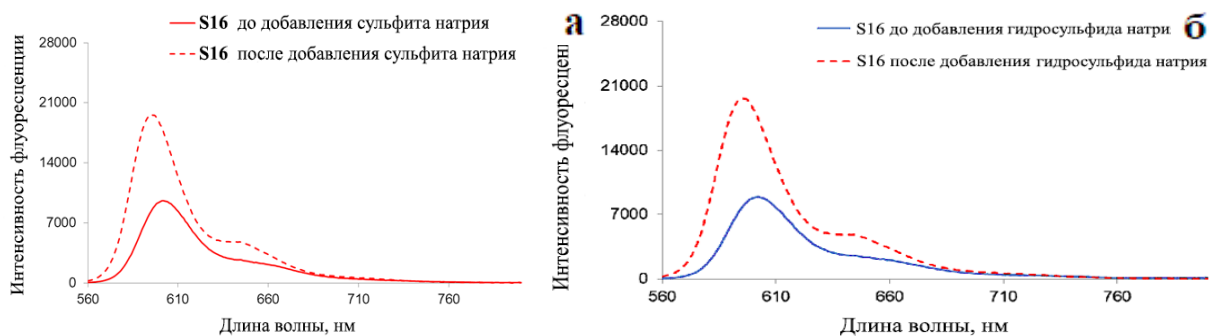


**Рисунок 30.** Зависимость от времени изменения интенсивности оранжево-красной флуоресценции  $\lambda_{ex}=540$ ,  $\lambda_{em}=600$  флуорогенного сенсора **S15** (концентрация:  $0.25 \mu\text{M}$ ) в  $10 \text{ mM PB} + 50\% \text{ EtOH}$  при  $25^\circ\text{C}$  при добавлении  $\text{NaHS}$  (5 экв., инкубация в течение 3 часов).

На рисунках 31 и 32 показано наложение спектров флуоресцентного испускания (волна возбуждения  $\lambda_{ex}=540$ ) флуорогенных сенсоров **S15** и **S16** до и после активации  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  и  $\text{NaHS}$  (5 экв., инкубация в течение 3 часов в  $\text{PB} + 50\% \text{ EtOH}$  при  $25^\circ\text{C}$ ). Интенсивность флуоресценции **S15** при  $600 \text{ nm}$  увеличилась примерно в 25 раз при добавлении  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , что указывает на то, что сенсор **S15** можно использовать для обнаружения сульфита с заметным усилением флуоресценции. В случае сенсора **S16** происходит увеличение интенсивности флуоресценции только в 3 раза. Интенсивность флуоресценции **S15** при  $600 \text{ nm}$  увеличилась примерно в 30 раз при добавлении  $\text{NaHS}$ , но время достижения плато было больше.

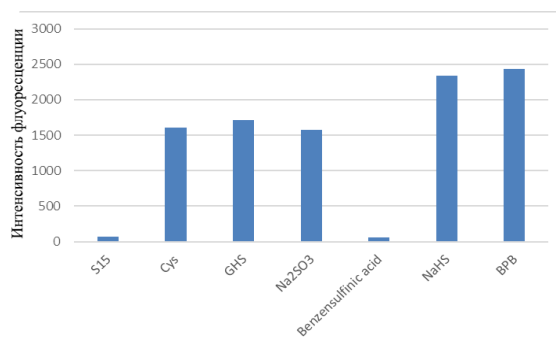


**Рисунок 31.** Спектры флуоресцентного испускания (волна  $\lambda_{ex}=540$ ) флуорогенного сенсора на основе NBD **S15** (концентрация:  $0.25 \mu\text{M}$ ) до и после инкубации с  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (а) и (б)  $\text{NaHS}$  в РВ + 50% EtOH при  $25^\circ\text{C}$ .



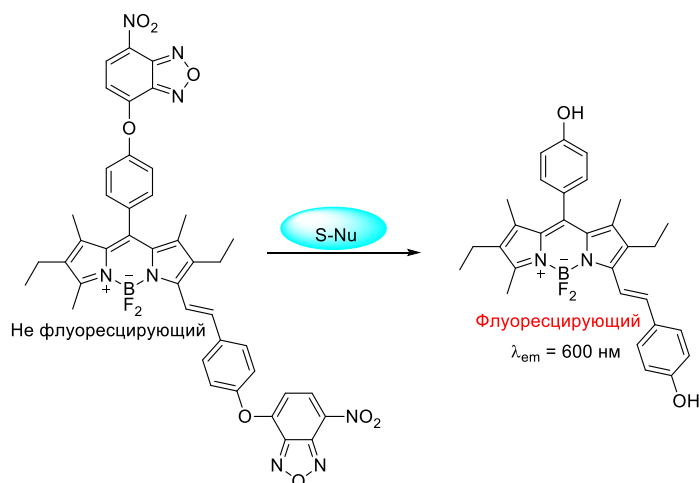
**Рисунок 32.** Спектры флуоресцентного испускания ( $\lambda_{ex}=540$  нм) флуорогенного сенсора на основе NBD **S16** (концентрация:  $0.25 \mu\text{M}$ ) до и после инкубации с  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (а) и (б)  $\text{NaHS}$  в РВ + 50% EtOH при  $25^\circ\text{C}$ .

Также была исследована селективность сенсора **S15** в отношении S-нуклеофилов (Рисунок 33). Различные аналиты, включая  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{HS}^-$  и биотиолы, включая цистеин (Cys), глутатион (GSH) [102] и бензолсульфиновая кислота, были добавлены к раствору сенсора **S15**. Как показано на рисунке 33, самые значительные изменения в спектре испускания раствора сенсора были обнаружены при добавлении  $\text{SO}_3^{2-}$  и  $\text{HS}^-$ . Добавление Cys и GSH привело к увеличению интенсивности флуоресценции в 20 раз, но реакция с ними шла намного медленнее.



**Рисунок 33.** Селективность **S15** ( $\lambda_{ex}=540$ ) по отношению к различным серосодержащим соединениям в PB + 50% EtOH при 25 °C.

Механизм тиолиза сенсоров **S15** и **S16** был подтвержден жидкостной хроматографией (ЖХ) в сочетании с флуоресцентным детектированием. Было обнаружено, что процесс флуорогенной активации привел к высвобождению свободного фенольного флуорофора (Рисунок 34). Время удерживания которого совпало со временем удерживания чистого **BPB** (6.0 минут).



**Рисунок 34.** Механизм флуоресцентного детектирования сенсором **S15**.

Интересно отметить, что при хранении моно-NBD-сенсора **S16**, он подвергается реакции диспропорционирования, которая приводит к образованию бис-NBD-продукта **S15** и исходного флуорофора.

Сенсор **S15** убедительно доказал потенциал бис-фенольного флуорогенного каркаса для создания флуоресцентных сенсоров с двойным гашением флуоресценции для низкофонового детектирования (предел обнаружения  $\text{HS}^-$   $3.5 \times 10^{-9}$ , для  $\text{SO}_3^{2-}$   $1.4 \times 10^{-9}$  M) S-нуклеофилов. Также была показана более высокая эффективность сенсора, несущего две реакционноспособные группы гашения по сравнению с фотоактивными молекулярными системами с однократным гашением (**S15** по сравнению с **S16**).

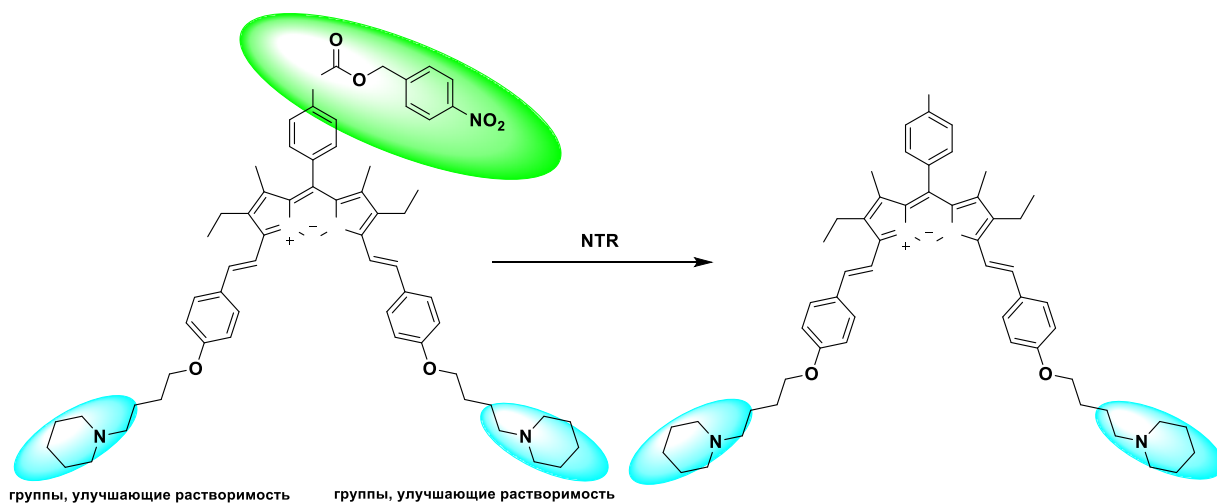


### III.2.2. Разработка водорастворимого флуоресцентного сенсора на основе трисфенол-БОДИПИ для детектирования гипоксии клеток

На следующем этапе работы мы сфокусировали наши усилия на изучении возможности создания сенсора на основе трисфенол-БОДИПИ для детекции клеточной гипоксии. Трисфенол БОДИПИ бы выбран из-за того, что: 1) его максимумы испускания и поглощения сдвинуты в дальнюю красную область, что удобно для биологических исследований. 2) у него есть три точки модификации, а именно три гидрокси-группы, позволяющие ввести в структуру дополнительные фрагменты, повышающие растворимость в воде. Несколько исследований показали, что избыточная экспрессия и биологическая активность ферментов нитроредуктазы (NTR) напрямую связаны с гипоксическим статусом в живых клетках, и, следовательно, этот класс окислительно-восстановительных ферментов (так же, как азоредуктаза и DT-диафораза) в настоящее время рассматривается важный как релевантный биомаркер для разработки методов обнаружения этого кислородно-депривационного состояния [120, 121]. В гипоксических условиях в присутствии NTR нитроароматические соединения восстанавливаются до соответствующих гидроксиламинов или аминопроизводных [122]. Следовательно, несколько NTR-чувствительных флуоресцентных реакционных проб были разработаны с использованием процесса био-восстановления и способности нитроарильных фрагментов гасить флуоресценцию посредством процесса окислительного фотоиндуцированного переноса электронов (PET). Большинство флуорогенных нитроарильных производных были успешно использованы для визуализации гипоксии в опухолевых клетках посредством гашения флуоресценции “Off-On” [102, 122-125]. Однако, лишь в немногих работах использовали краситель 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацен (БОДИПИ) в качестве флуорогенной платформы [126-130] и, кроме того, мало внимания уделялось оптимизации как спектральных характеристик, так и физико-химических свойств (например, максимума дальнего красного испускания, растворимости в воде, проницаемости в клетку) соответствующих проб.

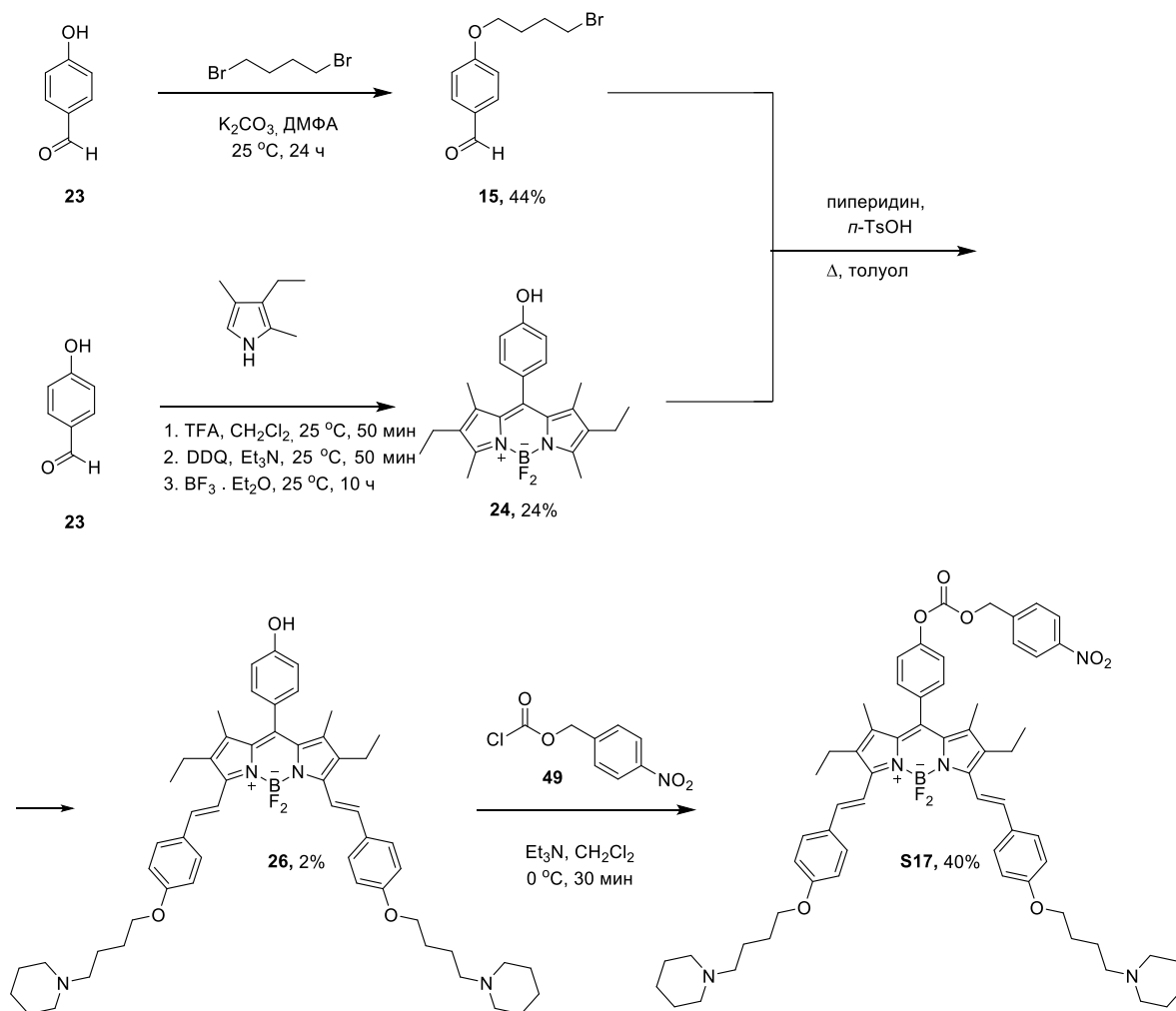
С использованием трисфенол-БОДИПИ в качестве платформы для разработки флуоресцентных сенсоров нами был разработан водорастворимый флуоресцентный сенсор для детектирования нитроредуктазы, работающий в дальней красной области спектра [131]. При дизайне пробы мы руководствовались следующими соображениями: 1) мезофенольный фрагмент молекулы сенсора регулирует флуоресценцию ядра БОДИПИ после снятия с него защитной группы, селективной к NTR [132, 133] 2) два других фенольных фрагмента были использованы для дальнейшей ортогональной функционализации пробы **S17** с целью установки двух *N*-алкилпиперидинильных групп для повышения как его растворимости в воде, так и клеточного поглощения. Так же этот новый NTR-чувствительный флуоресцентный сенсор был

использован для визуализации гипоксического статуса в линии клеток A549 немелкоклеточного рака легких человека (Рисунок 35).



**Рисунок 35.** Предполагаемый механизм активации сенсора S17.

Сенсор S17 был синтезирован из коммерчески доступных реагентов в четыре этапа в соответствии с синтетической схемой, показанной на схеме 8. Сначала было получено производное бензальдегида **25**, несущего 4-бромбутоксигруппу. Синтез БОДИПИ **24**, содержащего пара-гидроксифенильную группу в качестве мезоарильного заместителя, проводили по общей методике, предлагаемой в работе Линдси [134]. Конденсация пара-гидроксибензальдегида **23** с криптопирролом в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  с использованием последовательной обработки трифторуксусной кислотой (TFA), 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохиноном (DDQ), триэтиламинем и трифторид-эфиром бора ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) привела к соединению **24** с выходом 24%. Затем соединение **24** ввели в конденсацию Кневенагеля с избытком бензальдегида **25** (5 экв.) в присутствии пиперидина и пара-толуолсульфокислоты (TsOH) и в кипящем сухом толуоле. Реакцию проводили до полного испарения этого растворителя. Эти условия позволили нам получить соединения **26** с умеренным выходом. Реакция О-ацилирование фенольные группы пара-нитробензилхлорформиатом в присутствии  $\text{Et}_3\text{N}$  дало сенсор S17, который был выделен в чистом виде методом колоночной хроматографии на силикагеле с выходом в 40%.

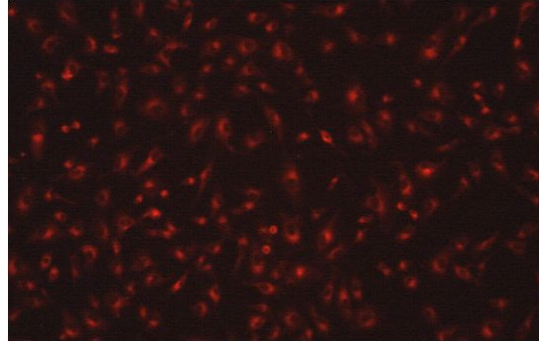


**Схема 8.** Синтез NTR-чувствительного флуоресцентного сенсора **S17**.

Фотофизические свойства сенсора **S17** были изучены в воде, содержащей 10% ДМСО, чтобы минимизировать образование нефлуоресцентных агрегатов *H*-типа. Спектр поглощения этого производного имеет сильную полосу поглощения с максимумом при 659 нм ( $\epsilon = 19\,000 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ). Спектр испускания флуоресценции **S17** характеризуется широкой полосой испускания в ИК области с максимумом при 686 нм ( $\lambda_{\text{ex}} = 610 \text{ нм}$ ). Стоксовское смещение для **S17** составляло  $697 \text{ см}^{-1}$ . Интересно отметить, что гашение пара-нитробензильным фрагментом не так эффективно, как первоначально ожидалось. Относительный квантовый выход флуоресценции **S17** составил 0.15.

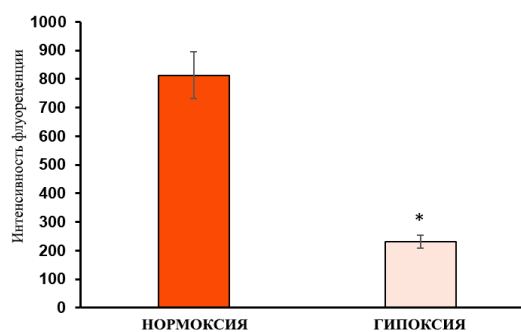
На следующем этапе мы оценили потенциал **S17** *in vitro* биологической модели гипоксии. Совместно с РОНЦ им. Блохина под руководством Щербакова сенсор **S17** был использован для визуализации гипоксии в живых клетках (клеточная линия рака легкого A549) (Рисунок 36). Согласно литературным данным, активность редуктаз в этой клеточной линии значительно возрастает с уменьшением уровня кислорода [126]. После предварительного анализа токсичности **S17** мы показали, что инкубация клеток A549 с сенсором в двух разных

концентрациях (10 и 20  $\mu\text{M}$ ) в течение 24 часов не приводила к значительным изменениям их морфологии. Распределение вещества внутри клеток оценивали с помощью флуоресцентного микроскопа Carl Zeiss Axiovert 200. Как видно на рис.36, наблюдается значительное цитоплазматическое накопление сенсора.



**Рисунок 36.** Флуоресцентное изображение клеток A549, инкубированных с сенсором S17 (20 мМ) в течение 60 мин.  $\lambda_{\text{ex}}= 530\text{-}585$  нм;  $\lambda_{\text{em}} = 615$  нм.

Флуоресцентная микроскопия не позволяет проводить быстрый количественный анализ накопленной пробы и имеет ряд недостатков, которые особенно очевидны при анализе большого количества образцов. Поэтому при работе с клетками при гипоксии использован протокол, применяемый к считывателю флуоресцентных микропланшетов. Подготовленные образцы переносили в черные 96-луночные планшеты и анализировали при 610/680 нм с использованием устройства для считывания микропланшетов. Гипоксические условия моделировали в мультигазовом инкубаторе Binder в течение 6 часов. Контрольные клетки содержались в условиях нормоксии. Затем гипоксические и нормоксические клетки окрашивали и готовили образцы для анализа. Гипоксические образцы имели более слабую флуоресценцию по сравнению с нормоксическими образцами (Рисунок 37). Таким образом, Сенсор S17 эффективно окрашивает живые клетки и действует как флуоресцентный сенсор “On-Off” в отношении гипоксии.

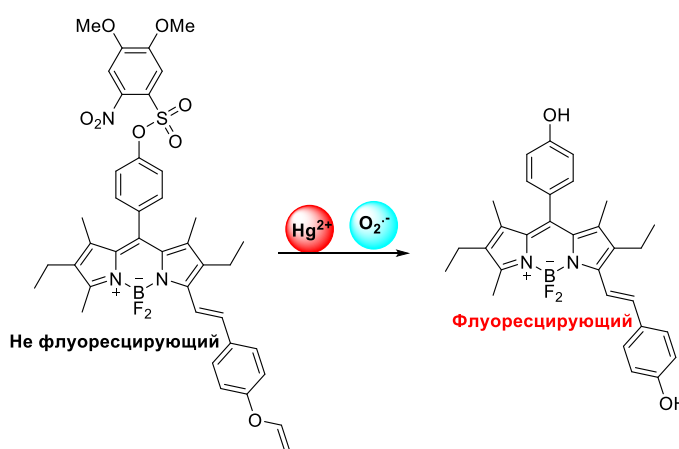


**Рисунок 37.** Интенсивность флуоресценции нормоксических и гипоксических клеток A549, обработанных S17 ( $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 610/680$  нм).

Таким образом, мы разработали новый NTR-чувствительный сенсор на основе БОДИПИИ, работающий в режиме флуоресцентного отклика “On-Off”. Было продемонстрировано, что сенсор **S17** применим для визуализации распределения нитроредуктазы в клетках рака легких. Сенсор работает в диапазоне спектра от дальнего красного до ближнего инфракрасного диапазона, обладает хорошей растворимостью в воде и может быть использован в биологических системах и в исследованиях визуализации *in vivo*.

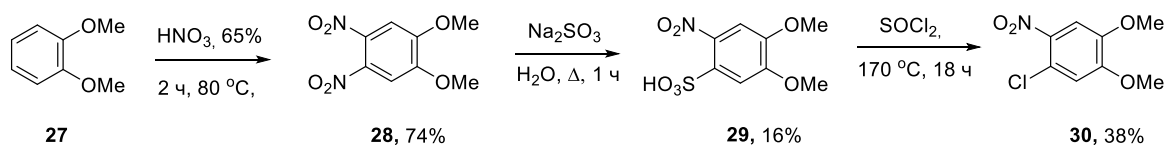
### III.2.3. Разработка бимодального флуоресцентного «Off – On» сенсора на катионы $\text{Hg}^{2+}$ и супероксид анион-радикал $\text{O}_2^{\cdot-}$

Нами было предложено соединение **S18** на основе **BPB**, который, как ожидалось, будет реагировать на катионы  $\text{Hg}^{2+}$  и супероксидный анионный радикал  $\text{O}_2^{\cdot-}$  (Рисунок 38).



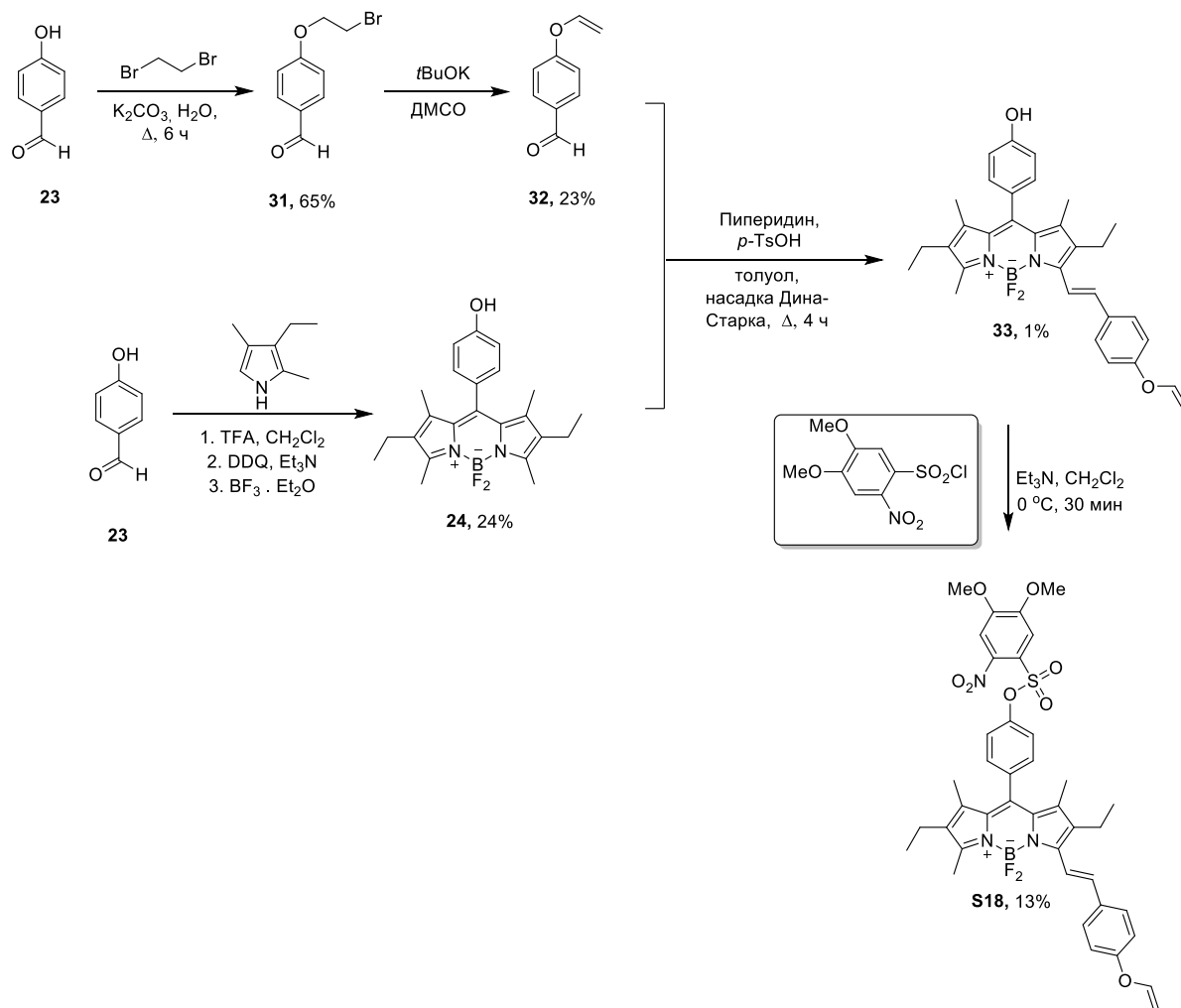
**Рисунок 38.** Предполагаемый механизм активации сенсора **S18**  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{O}_2^{\cdot-}$ .

При разработке сенсора **S18** мы руководствовались следующими соображениями: 1) в группе Маэда показали, что 4,5-диметокси-2-нитробензолсульфонильный эфир является оптимальной группой для маскировки фенольных фрагментов 2',4',5',7'-тетрафлуоресцеина и получения флуоресцентного реакционного сенсора, позволяющего детектировать  $\text{O}_2^{\cdot-}$  [135], и мы решили использовать это производное бензолсульфонил в качестве реакционноспособной группы. 2). В качестве реакционной группы, селективной к катионам ртути, был использован виниловый эфир, гидрализующийся в присутствии катионов ртути. Соответствующий сульфонилирующий агент (сульфонилхлорид) коммерчески недоступен и был синтезирован в 3 стадии из 1,2-диметоксибензола **27** (Схема 9) [136, 137]. Основная трудность, связанная с этим синтезом, касалась очистки производного сульфоновой кислоты **29**, которая была достигнута флэш-хроматографией на силикагеле с обращенной фазой **S18** (Схема 9).



**Схема 9.** Синтез реакционноспособной группы на супероксидный анионный радикал  $O_2^{\cdot-}$ .

Синтез двумодального сенсора **S18** был проведен в 5 стадий из коммерческого *para*-гидроксибензальдегида **23** (Схема 10).

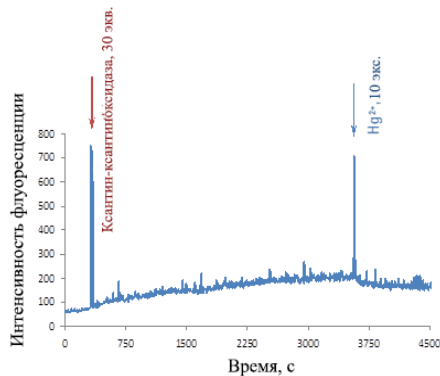


**Схема 10.** Синтез соединения **S18**.

Высокий уровень чистоты соединения был подтвержден анализом с помощью ОФ-ВЭЖХ и находился в диапазоне 95-100% в зависимости от длины волны, используемой для обнаружения в УФ-видимом диапазоне. Сенсор имел максимум поглощения при  $\lambda_{max} = 597$  (PB + 10% MeCN,  $25^\circ C$ ), ( $\epsilon = 35800 M^{-1} cm^{-1}$ ) и является не флуоресцирующим веществом.

Мы изучили флуорогенную реакционную способность **S18** по отношению к катиону  $Hg^{2+}$  и супероксидному анион-радикалу  $O_2^{\cdot-}$ . Первые попытки активации сенсора с использованием  $KO_2$  как источника АФК не увенчались успехом. Были выдвинуты две гипотезы о причинах этого: 1) слишком короткое время жизни супероксидного анион-радикала в водных средах (диспропорционирование на  $H_2O_2$  и  $O_2$ ) [138], и 2) нежелательное окисление флуорофора, приводящее к потере спектральных характеристик сенсора в оранжево-красной

области. Затем мы попытались выполнить активацию **S18** через генерирование  $O_2^{\cdot -}$  *in situ* за счет ферментативной системы ксантин/ксантиноксидаза (ХО) [139]. Последовательное добавление ксантин/ХО (30 экв., 60 мин инкубации) и катионов  $Hg^{2+}$  (10 экв., около 20 мин инкубации) к раствору **S18** не привело к увеличению интенсивности флуоресценции при 602 нм (Рисунок 39).

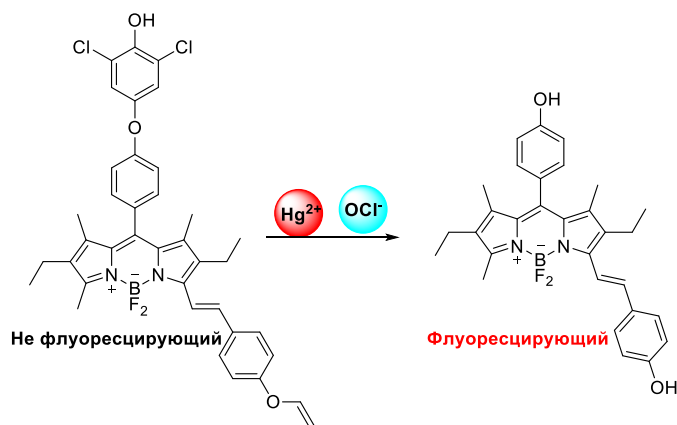


**Рисунок 39.** Зависимость от времени изменения интенсивности флуоресценции ( $\lambda_{ex}=584$  нм,  $\lambda_{em}=602$  нм) концентрация сенсора **S18**:  $1.3 \mu M$  в РВ + 10%  $CH_3CN$  при  $25^\circ C$ . Последовательное добавление катионов ксантин / ксантиноксидаза (ХО) (30 экв., 60 мин инкубации) и катионов  $Hg^{2+}$  (10 экв., около 20 мин инкубации).

Это может быть объяснено 1) образованием нефлуоресцентных комплексов с катионами  $Hg^{2+}$ , 2) низкой эффективностью ферментативной генерации  $O_2^{\cdot -}$  в водной среде, содержащей 10%  $CH_3CN$ .

### III.2.4. Разработка бимодального флуоресцентного «Off – On» сенсора на катионы $Hg^{2+}$ и гипохлорит анион $ClO^-$

Следующий предложенный нами сенсор на основе бисфенольного **BPB S19** (Рисунок 40) должен был быть перспективным для детектирования гипохлорит-аниона ( $OCl^-$ ) и катионов ртути (II). Для изучения была выбрана хлорноватистая кислота, так как она отвечает за важные биологические процессы, таких как развитие врожденного иммунитета, и является одной из самых мало изученных форм АФК.



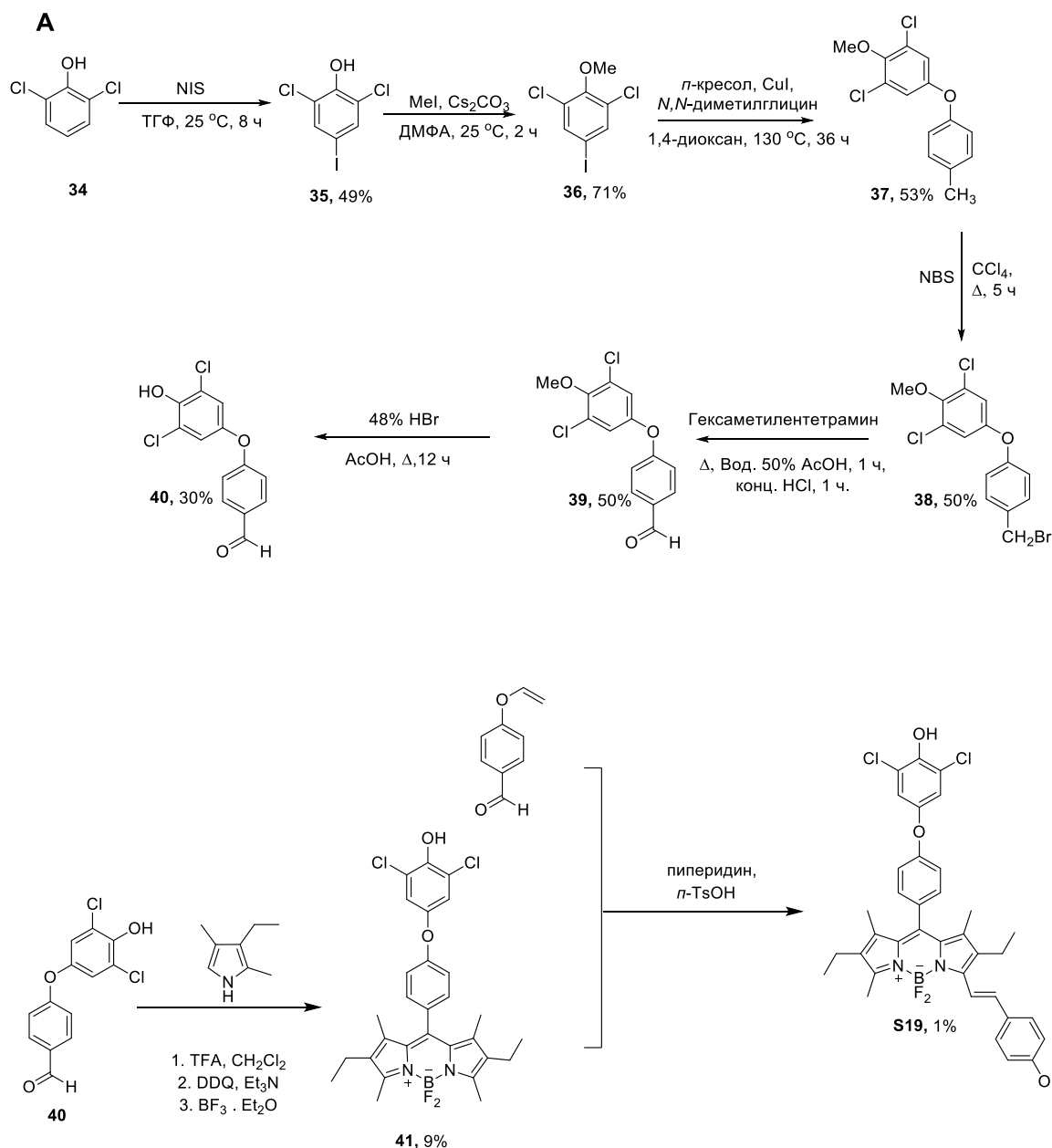
**Рисунок 40.** Предполагаемый механизм активации сенсора **S19**  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{OCl}^-$ .

Вдохновленные флуоресцентным сенсором на  $\text{HClO}$ , о котором недавно сообщила группа Янга [140], мы синтезировали и изучили соединение на основе красителя БОДИПИИ с бис-арилловым эфиром на основе 2,6-дихлорфенильной группы, которую мы поместили в *мезо*-позицию БОДИПИИ. Поскольку известно, что  $\text{Hg}^{2+}$  способствуют гидролизу винилэфирной группы (в физиологических условиях) [141], мы заменили этим алкеновым фрагментом гидроксил у стирилового фенола.

Смешанный бис-арилловый эфир **38** был синтезирован в 6 стадий из 2,6-дихлорфенола в следующей последовательности: 1) йодированием 2,6-дихлорфенола *N*-йодсукценимидом был получен продукт **35**, 2) затем метилирование свободного фенола метилиодидом дало соединение **36**, 3) сочетанием по Ульману этого фенола с *para*-крезолом был получен бисарильный эфир **37**, 4) радикальное бромирование бензильного положения которого привело к получению соединения **38**, 5) окислением по Соммелету было получено соединение **39**, 6) снятие метильной защиты которого привело к образованию альдегида **40**. (Схема 11А) [142]

Синтез соединения **S19** был проведен в 4 стадии. Конденсация альдегида **40** с криптопироллом, с последующим комплексообразованием с  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  дала продукт **41**. Его дальнейшая конденсация по Кневенагелю с винилоксибензальдегидом **32** привела к получению продукта **S19** с выходом 1% (Схема 11Б).

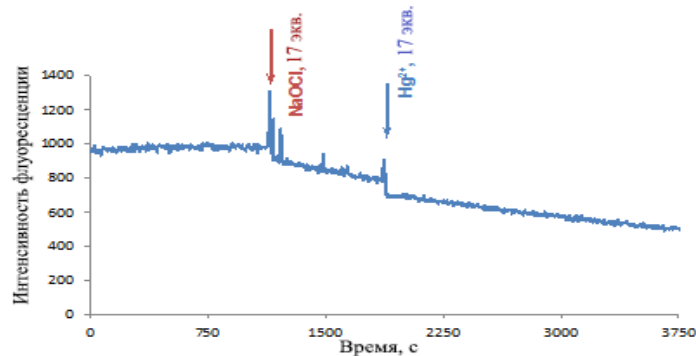




**Схема 11.** Синтез соединения **S19**.

Высокий уровень чистоты соединения был подтвержден анализом с помощью ОФ-ВЭЖХ и находился в диапазоне 95-100% в зависимости от длины волны, используемой для обнаружения в УФ-видимом диапазоне. Сенсор имел максимум поглощения при  $\lambda_{\text{max}} = 593 \text{ нм}$  (PB + 10% MeCN, 25 °C), ( $\epsilon = 14000 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ). Мы определили спектральные свойства **S19** и изучили его реакционную способность в отношении  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{ClO}^-$ , в качестве источника которого был использован раствор гипохлорита натрия. К сожалению, мы наблюдали плохое гашение флуоресценции этого сенсора **S19** в PB, что позволило предположить, что 2,6-дихлорфенил не является подходящей PET-активной группой для **BPB**, в отличие от сенсора на основе флуоресцеина. Все попытки активации сенсора с последовательным добавлением  $\text{ClO}^-$  (17 экв.,

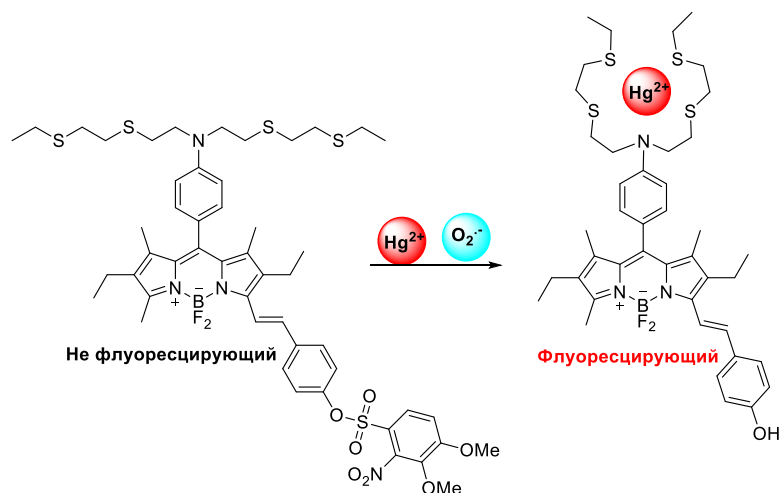
20 мин. инкубации) и  $\text{Hg}^{2+}$  (17 экв., около 40 мин. инкубации) приводили к уменьшению интенсивности флуоресценции, вероятно, из-за деградации соединения **S19** (Рисунок 41).



**Рисунок 41.** Зависимость от времени изменения интенсивности флуоресценции ( $\lambda_{\text{ex}}=581$  нм,  $\lambda_{\text{em}}=602$  нм, концентрация **S19**:  $1.45 \mu\text{M}$  в РВ (100 мМ, pH 7.5) при  $25^\circ\text{C}$ . Последовательное добавление NaOCl (17 экв., 20 мин инкубации) и катионов Hg (II) (17 экв., 40 мин инкубации).

### III.2.5. Разработка бимодального флуоресцентного «Off – On» сенсора на катионы $\text{Hg}^{2+}$ и супероксид анион-радикал $\text{O}_2^{\cdot-}$

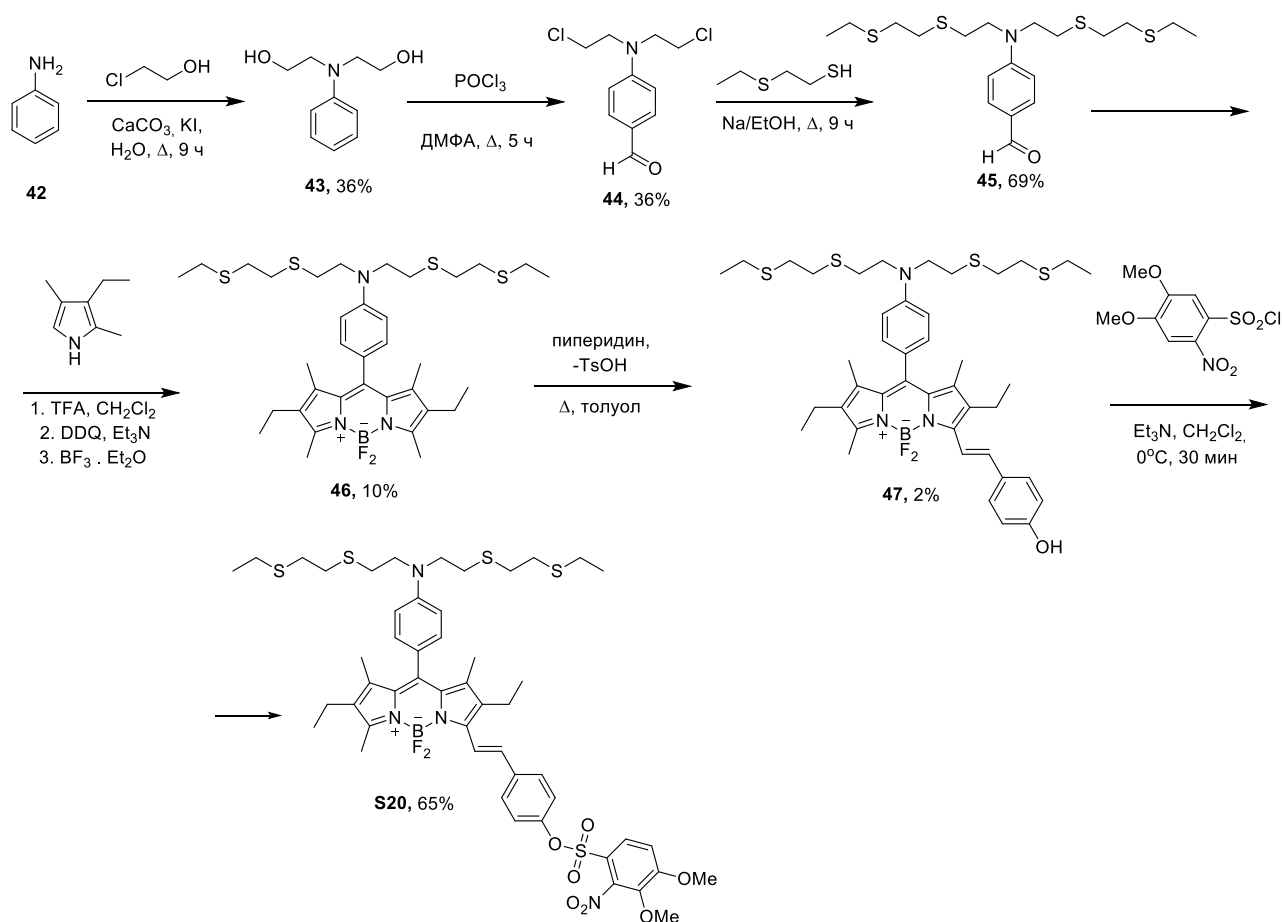
Мы разработали и синтезировали соединение **S20** (Рисунок 42), перспективное для детектирования  $\text{Hg}^{2+}$  и супероксид анион-радикалов  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . При его создании использовалось объединение в одной молекуле БОДИПИ полтитиольной группы, описанной как селективной к катионам ртути (II) [143] и использованного ранее DNBS.



**Рисунок 42.** Предполагаемый механизм активации соединения **S20**  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{O}_2^{\cdot-}$ .

Основные синтетические усилия были направлены на получение *para*-аминобензальдегида **45**, функционализированного тиол-хелатирующей группой [144]. Его синтез начинался с алкилирование анилина 2-хлорэтанолом, в результате приводящего к

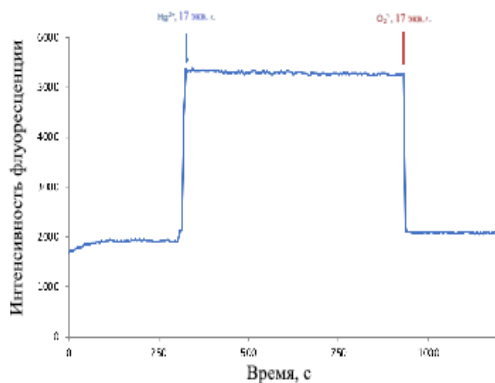
получению *N,N*-бис-(2-гидроксиэтил)анилина **43**. Последующая обработка этого третичного амина  $\text{POCl}_3$  в ДМФА позволила провести формилирование и замещение на атом хлора гидроксильных групп с получением соединения **44**. Нуклеофильное замещение атомов хлора 2-(этилтио)этантиолом (свежеполученным по реакции между 1,2-этандитиолом и этилиодидом) [145] привело к бензальдегиду **45** (Схема 12). Синтез целового соединения **S20**, был выполнен в условиях, ранее аналогичных для **S15-S19**. Во избежание неверного толкования флуоресцентных исследований *in vitro*, а также на основе недавней публикации, в которой сообщалось об использовании неводного раствора  $\text{KO}_2$  для проведения валидации флуорогенного сенсора, нацеленного на эндоплазматический ретикулум [146], мы решили провести наши эксперименты с раствором  $\text{KO}_2$  в сухом ДМСО и в присутствии краун-эфира 18-С-6 (Рисунок 43).



**Схема 12.** Синтез соединения **S20**.

Сенсор **S20** имел максимум поглощения при  $\lambda_{\text{max}} = 595$  нм (PB + 10% MeCN, 25 °C), ( $\epsilon = 16000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) и являлся не флуоресцирующим веществом. Флуорогенную активацию сенсора **S20** (1.0  $\mu\text{M}$ ) изучали в смеси воды и  $\text{CH}_3\text{CN}$  (3:7) при 25 °C путем последовательного добавления водного раствора  $\text{Hg}^{2+}$  и раствора  $\text{KO}_2$  в ДМСО. После добавления катионов  $\text{Hg}^{2+}$

(17 экв.) мы наблюдали быстрое увеличение интенсивности флуоресценции при 602 нм, которая почти мгновенно достигла плато (Рисунок 43). Это подтверждает комплексообразование  $\text{Hg}^{2+}$  с хелатирующим лигандом на основе тиола, который подавлял процесс РЕТ и наоборот, последующее добавление  $\text{KO}_2$  (17 экв.) приводило к резкому снижению интенсивности флуоресценции. Мы предполагаем, что полисульфидный хелатор взаимодействует с  $\text{O}_2^-$  с сульфоновой группой за счет быстрых процессов окисления.



**Рисунок 43.** Зависимость от времени изменения интенсивности флуоресценции ( $\lambda_{\text{ex}}=581$  нм,  $\lambda_{\text{em}}=602$  нм флуорогенного сенсора **S20**, концентрация:  $1.0 \mu\text{M}$  в  $\text{PB} + 70\% \text{CH}_3\text{CN}$  при  $25^\circ\text{C}$ . Последовательное добавление вод. раствора  $\text{Hg}^{2+}$  (17 экв., 10 мин инкубации) и  $\text{KO}_2$  в  $\text{DMCO} +$  краун-эфир 18-С-6 (17 экв., 34 экв. 18-С-6, 60 мин инкубации).

Нами не было получено положительных результатов с бимодальными сенсорами **S18**, **S19**, **S20**, которые предположительно активируются парой аналитов: АФК ( $\text{O}_2^-$  или  $\text{ClO}^-$ ) и  $\text{Hg}^{2+}$ . Мы предположили ряд гипотез, объясняющих это:

- Стабильность каркаса моно-стирил-БОДИПИ не полностью совместима с реакционной способностью АФК, которые могут приводить к его окислению.
- Для сенсора **S19** реакционноспособная группа, а именно 3,4-дихлор-5-гидроксифенил, не была РЕТ-активной в контексте выбранного фенольного красителя БОДИПИ (нет соответствия между уровнями энергии ВЗМО-НСМО).
- Для сенсора **S20** возможно окисление атомов серы, приводящее к резкому снижению интенсивности флуоресценции.

### III.2.6. Разработка бимодального флуоресцентного «Off – On» сенсора на катионы $\text{Hg}^{2+}$ и $\text{HS}^-$

Следующий полученный нами “Off-On” сенсор **S21** представлял молекулу бисфенол-БОДИПИ, у которой атомы водорода замещены на с реакционноспособные группы селективные к катионам  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{HS}^-$ . Поскольку известно, что  $\text{Hg}^{2+}$  способствуют гидролизу винилэфирной группы (в физиологических условиях) [141], мы заменили этим алкеновым

фрагментом гидроксил у стиролового фенола. Данный заместитель также позволял модулировать процесс внутримолекулярного переноса заряда [8]. Атом водорода второй фенольной группы (в мезоарильном положении) был замещен селективным к тиолам 2,4-динитробензолсульфониловым эфиром (DNBS) [147], который также способен вызывать гашение флуоресценции ядра БОДИПИИ по механизму окислительного фотоиндуцированного переноса электронов (PET). Синтез соединения **S21** (Схема 13) был проведен в 5 стадий из коммерчески доступного пара-гидроксибензальдегида. Флуорофор БОДИПИИ **24** был получен в результате конденсации между бензальдегидом **23** и криптопирролом (3-этил-2,4-диметилпирролом). По реакции Кневенагеля с винилоксиальдегидом было получено соединение **33**, замещение фенольного гидроксида которого на 2,4-динитробензолсульфонил позволило получить сенсор **S21**.

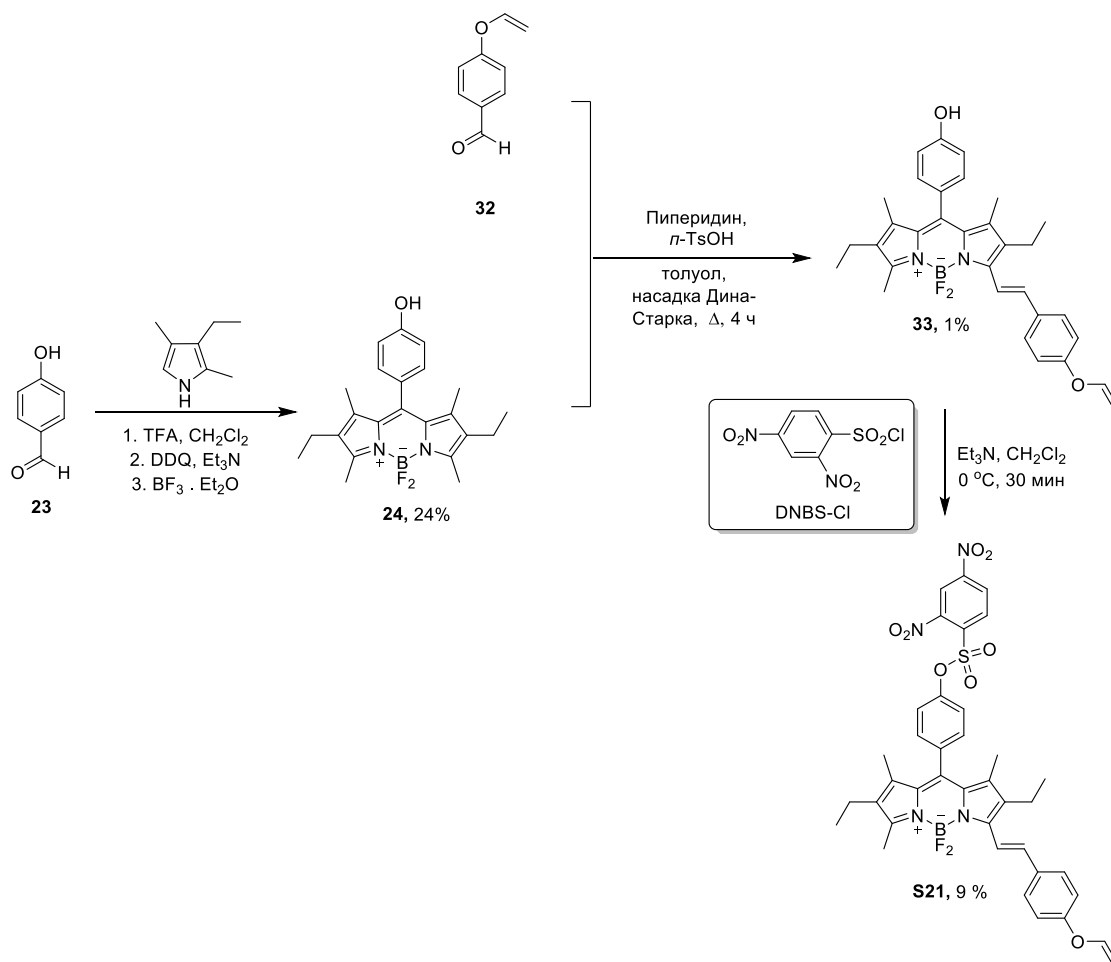
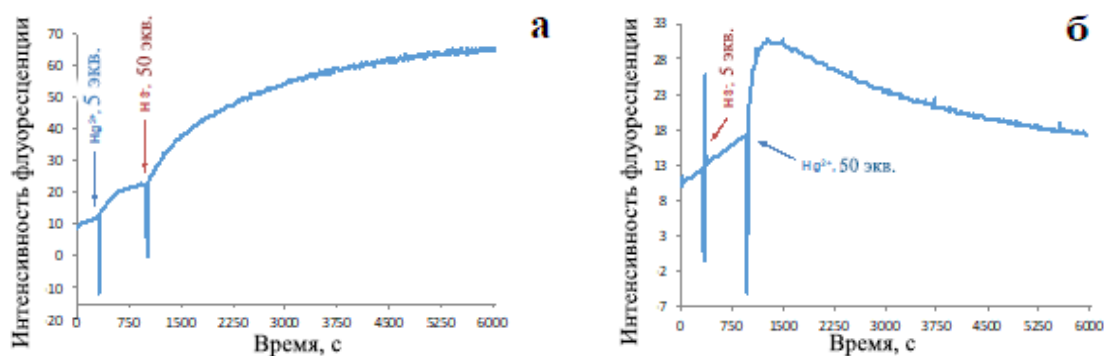


Схема 6. Синтез перспективного соединения **S21**.

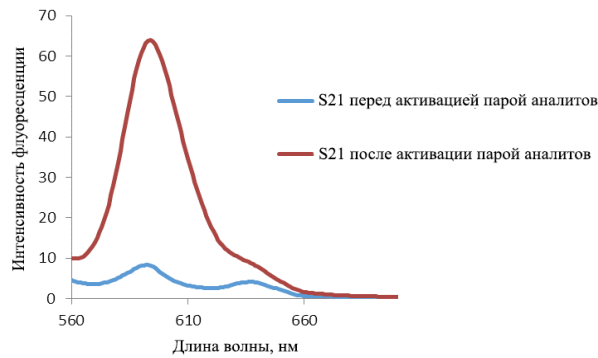
Для получения сверхчистого образца **S21** были проведены две последовательные очистки. Первая с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, и вторая с использованием полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ. Высокий уровень чистоты был подтвержден анализом ОФ-ВЭЖХ и был в диапазоне 95-100% в зависимости от длины волны, используемой

для обнаружения в УФ-видимом диапазоне. Как и ожидалось, сенсор **S21** оказался почти не флуоресцирующим (определить остаточный квантовый выход флуоресценции было невозможно из-за отсутствия линейной зависимости между флуоресценцией и поглощением на длине волны возбуждения,  $\lambda_{\text{ex}}=540$  нм). Спектр имел максимум поглощения при  $\lambda = 599$  нм (PB + 10% MeCN, 25 °C) ( $\varepsilon = 41200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

Далее мы исследовали флуорогенную реакционную способность **S21** по отношению к  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{HS}^-$  (преобладающая форма  $\text{H}_2\text{S}$  при физиологическом pH, NaHS была использована в качестве источника гидросульфидного аниона). Были изучены зависимость от времени изменения интенсивности флуоресценции сенсора с этой парой аналитов. Результаты показаны на рисунках 44 и 45. При последовательном добавлении  $\text{Hg}^{2+}$  (5 экв., 10 мин инкубации) и  $\text{HS}^-$  анионов (50 экв., около 85 минут инкубации) раствор **S21** показал постепенное и умеренное увеличение интенсивности флуоресценции при 595 нм. Для достижения плато потребовалось около 60 мин (рис. 44, а). Обратная последовательность добавления ( $\text{HS}^-$ , 5 экв., 10 мин, затем  $\text{Hg}^{2+}$ , 50 экв.) также приводила к умеренному флуорогенному ответу “Off-On”, но после длительной инкубации неожиданно наблюдалось снижение интенсивности флуоресценции при 595 нм (рис. 44, б). Поскольку аналиты  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{HS}^-$  способны реагировать вместе с образованием осадка  $\text{HgS}$ , активация **S21** при одновременной инкубации с этой парой аналитов не рассматривалась.

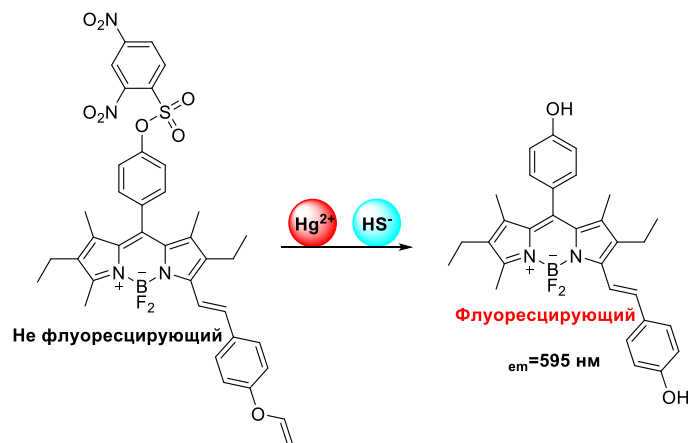


**Рисунок 44.** (а) Зависимость от времени изменения интенсивности флуоресценции ( $\lambda_{\text{ex}}=540$  нм,  $\lambda_{\text{em}}=595$  нм, сенсора **S21**, концентрация:  $1.7 \mu\text{M}$ ) в PB + 10%  $\text{CH}_3\text{CN}$  при 25 °C.  $\text{HgCl}_2$  (5 экв.) добавляли через 5 минут инкубации сенсора в буфере, через 10 минут инкубации добавили NaHS (50 экв.); (б) NaHS (5 экв.) добавляли после 5 мин инкубации сенсора в буфере, через 10 мин инкубации добавили  $\text{HgCl}_2$  (50 экв.).



**Рисунок 45.** Спектры флуоресценции ( $\lambda_{\text{ex}}=540$  нм) флуоресцентного сенсора **S21** (концентрация:  $1.7 \mu\text{M}$ ) в РВ + 10%  $\text{CH}_3\text{CN}$  при  $25^\circ\text{C}$  до и после активации парой аналитов.

Таким образом, нам удалось продемонстрировать концепцию “Off-On” обнаружения двух аналитов на основе флуорофора **ВРВ** при изучении пары аналитов  $\text{HS}^-$  и  $\text{Hg}^{2+}$ .



| Ввод             |               | Выход                           |
|------------------|---------------|---------------------------------|
| $\text{Hg}^{2+}$ | $\text{HS}^-$ | $\lambda_{\text{em}}=595$<br>нм |
| 0                | 0             | 0                               |
| 0                | 1             | 0                               |
| 1                | 0             | 0                               |
| 1                | 1             | 1                               |

**Рисунок 46.** Предполагаемый механизм активации сенсора **S21**. Флуоресцентный сенсор **S21** можно рассматривать как МЛЭ типа AND в режиме флуоресценции. Двумя входными

сигналами являются  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{HS}^-$ . Выходной сигнал - это увеличение интенсивности флуоресценции при 595 нм.



#### IV. Выводы

1. Разработаны схемы синтеза ряда ранее неизвестных «псевдо-краун» эфир-содержащих борных комплексов дипиррометенов (БОДИПИ). Показано, что линкер, связывающий флуоресцентное ядро и «псевдо-краун» эфирную хелатирующую группу, существенным образом влияет на селективность связывания красителей с катионами тяжелых металлов. На основании исследования спектральных характеристик ряда синтезированных соединений выявлены сенсоры типа «Off-On» селективные в отношении  $Al^{3+}$  и  $Cu^{2+}$ .
2. Впервые показано, что производное БОДИПИ функционализированное дипиколиламиновым остатком по мезо-положению через метиленовый линкер может быть использовано для селективного детектирования  $Zn^{2+}$  в водных средах, а также визуализации распределения  $Zn^{2+}$  в тканях растений.
3. Предложен и реализован метод синтеза ранее неизвестного двумодального «Off-On» сенсора ряда БОДИПИ, содержащего «псевдо-краун» эфирную и дипиколиламиновою хелатирующие группы. Показана его эффективность для детектирования одновременного присутствия в растворе  $Al^{3+}$  и  $Zn^{2+}$ .
4. Впервые систематически изучена перспективность использования полифенол-замещенных красителей ряда БОДИПИ в качестве универсальной платформы для создания флуоресцентных сенсоров на различные биоаналиты. Разработаны доступные методы синтеза производных БОДИПИ с хелатирующими и/или реакционно-способными группами активными в отношении S-нуклеофилов, активных форм кислорода,  $Hg^{2+}$ , а также чувствительных к гипоксии раковых клеток.
5. Продемонстрировано, что за счет введения 7-нитро-1,2,3-бензоксадиазольных реакционно-способных групп в структуру 3,8-бисфеносодержащего БОДИПИ могут быть получены эффективные в водных средах «Off-On» хемосенсоры селективные в отношении  $SO_3^{2-}$ . Функционализация с помощью эфира 4-нитрофенилуксусной кислоты позволила получить «On-Off» сенсор для визуализации гипоксических раковых клеток легкого.
6. На базе 3,8-бисфеносодержащего БОДИПИ, за счет введения по концевым ОН-группам винилового и 2,4-динитробензолсульфонильного заместителей разработан двумодальный «Off-On» сенсор, позволяющий осуществлять мониторинг последовательного поступления  $Hg^{2+}$  и  $HS^-$  в физиологических средах.

## V. Экспериментальная часть

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{19}\text{F}$  регистрировали на спектрометре Bruker WM-300 МГц или на Bruker Avance Neo 500 МГц. Химические сдвиги приведены в м.д. в шкале  $\delta$  относительно растворителя ( $^1\text{H}$ :  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta = 7.27$  ppm,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta = 2.50$  ppm;  $^{13}\text{C}$ :  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta = 77.00$  ppm,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta = 39.50$  ppm.). Мультиплетность сигналов обозначается как с, синглет; д, дублет; т, триплет; кв, квадруплет; м, мультиплет; дд, дублет дублетов, ддд, дублет дублетов дублетов, дддд, дублет дублетов дублетов дублетов и тд. Значения констант спин-спинового взаимодействия ( $J$ ) приведены в Герцах. ИК-спектры регистрировали на приборе Bruker Vector 22 в виде прессовок с бромидом калия или в тонком слое. Температуры плавления (т. пл.) определяли на столике Кофлера и не корректировали. Масс спектры высокого разрешения были зарегистрированы на приборе Bruker MicroTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI). Измерения выполнены на положительных (напряжение на капилляре – 4500 V) или отрицательных (напряжение на капилляре 3200 V) ионах. Диапазон сканирования масс -  $m/z$  50 - 3000 Да, калибровка - внешняя или внутренняя (Electrospray Calibrant Solution, Fluka). MALDI-TOF масс-спектры были сняты на Bruker Daltonics Ultraflex II LRF 2000 (матрица: дитранол). HPLC-MS анализ выполнен на Thermo-Dionex Ultimate 3000. Контроль за ходом реакций и чистотой химических веществ осуществляли методом ТСХ («Cilufol-UV-254»). Препаративная колоночная хроматография выполнялась с использованием силикагеля 60 (Acros 60A, 0.060-0.200 мм, 230-400 меш, Merck). УФ спектры и спектры флуоресценции измерялись на спектрофотометре Флюорат-02-Панорама при температуре  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  или на флуориметре HORIBA Jobin Yvon Fluorolog и спектрофотометре Varian Cary 50 Scan. Наблюдаемая флуоресценция детектировалась под прямым углом относительно пучка возбуждения. Спектры флуоресценции были скорректированы по отношению к чувствительности измеряющего фотоэлектронного умножителя. Для снятия спектров поглощения и флуоресценции использовались спектроскопически чистые растворители фирм Aldrich и Acros. 3-Этил-2,4-диметилпиррол, 2-хлорацетилхлорид, эфират трехфтористого бора, триэтиламин, ди-*трет*-бутилкарбонат, соляная кислота, 1,4-диоксан, уксусный ангидрид, пиридин, 4-диметиламинопиридин, иодид калия и карбонат калия являются коммерческими реагентами и были использованы без дополнительной очистки. Растворители очищали по стандартным методикам.

## Высокоэффективная жидкостная хроматография

Несколько хроматографических систем были использованы для аналитических экспериментов и очистки (путем полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ или системой автоматической флеш-очистки):

Система А: ОФ-ВЖХ с  $\text{CH}_3\text{CN}$  и 0.1% трифторуксусной кислотой (водная TFA 0.1%, pH 2.0) в роли элюента [50%  $\text{CH}_3\text{CN}$  (5 мин), затем линейный градиент с 50% до 100% (30 мин)  $\text{CH}_3\text{CN}$ ] при скорости потока 4 мл/мин. Система В: полупрепаративная ОФ-ВЖХ с  $\text{CH}_3\text{CN}$  и 0.1% трифторуксусной кислотой (водная TFA 0.1 %, pH 2.0) в роли элюента [60%  $\text{CH}_3\text{CN}$  (5 мин), затем линейный градиент с 60% до 100% (20 мин)  $\text{CH}_3\text{CN}$ ] при скорости потока 4.0 мл/мин. Система С: полупрепаративная ОФ-ВЖХ с  $\text{CH}_3\text{CN}$  и 0.1% трифторуксусной кислотой (водная TFA 0.1%, pH 2.0) в роли элюента [35%  $\text{CH}_3\text{CN}$  (5 мин), затем линейный градиент с 35% до 60% (10 мин)  $\text{CH}_3\text{CN}$ , затем линейный градиент с 60 % до 100 %] при скорости потока 4.0 мл/мин. Система D: ОФ-ВЖХ (Silicycle) с  $\text{CH}_3\text{CN}$  и 0.1% трифторуксусной кислотой (водная TFA 0.1%, pH 2.0) в роли элюента [25%  $\text{CH}_3\text{CN}$  (5 мин), затем линейный градиент с 25% до 50% (15 мин)  $\text{CH}_3\text{CN}$ , затем линейный градиент с 50% до 100% (45 мин)  $\text{CH}_3\text{CN}$ ] при скорости потока 20 мл/мин.

### Расчет квантовых выходов флуоресценции

Квантовые выходы флуоресценции определялись в насыщенных воздухом растворах при температуре  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . Для расчета квантовых выходов использовалась следующая формула [148]:

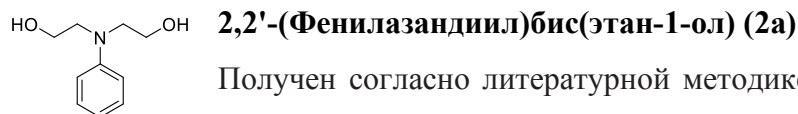
$$\varphi^{fluor} = \varphi^{fluor}_R \cdot (S \cdot (1 - 10^{-A_r}) \cdot n^2) / (S_R \cdot (1 - 10^{-A}) \cdot n_R^2)$$

Где  $\varphi^{fluor}$  и  $\varphi^{fluor}_R$  – квантовые выходы анализируемого раствора и стандарта соответственно,  $A$  и  $A_R$  – оптическая плотность анализируемого раствора и раствора стандарта соответственно,  $S$  и  $S_R$  – площадь под кривой спектра флуоресценции анализируемого раствора и раствора стандарта соответственно,  $n$  и  $n_R$  – показатели преломления растворителей исследуемого вещества и стандартного соединения.

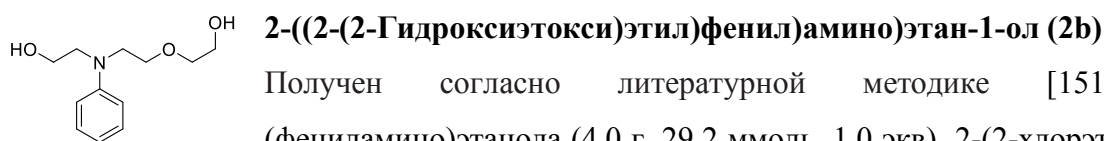
### Расчет предела обнаружения сенсора

Предел обнаружения был рассчитан, как описано в работе [149]. Спектры испускания сенсора были собраны 30 раз для определения фонового шума  $\sigma$ . Кривая линейной регрессии была построена в соответствии с интенсивностью испускания сенсора в зависимости от концентраций аналита в диапазоне 0–30 мкМ, и была получена величина наклона кривой. Предел обнаружения был затем определен как отношение  $3\sigma$  к величине наклона.

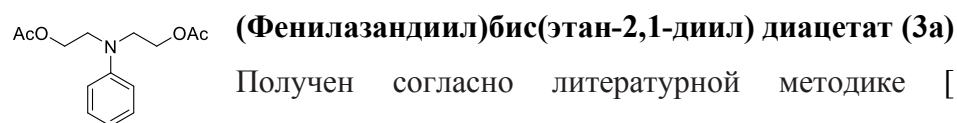
### V.1. Синтез соединений перспективных для детектирования катионов металлов.



Получен согласно литературной методике [150]. Смесь 2-(фениламино)этанола (2.0 г, 14.6 ммоль, 1.0 экв), 2-хлорэтанола (2.1 г, 24.2 ммоль, 1.7 экв), CaCO<sub>3</sub> (2.5 г, 25.0 ммоль, 1.7 экв) и KI (0.24 г, 1.12 ммоль, 0.076 экв) в воде (30 мл) кипятили с обратным холодильником при интенсивном перемешивании в течение 15 часов. Ход реакции контролировали с помощью ТСХ (элюент петр. эф. – EtOAc, 1 : 1). После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры осадок отфильтровали, фильтрат экстрагировали EtOAc (3 × 30 мл). Органический экстракт сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, затем растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле, (элюент петр. эф. – EtOAc 1 : 1 → 1 : 10). Бесцветное масло, выход 2.0 г, (74%), т. пл. 55-57 °С. (т. пл. лит 57 °С) <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.52 (т, *J* = 4.8 Гц, 4H, CH<sub>2</sub>N), 3.78 (т, *J* = 4.8 Гц, 4H, CH<sub>2</sub>O), 4.12 (с, 2H, OH), 6.68 (дд, *J* = 8.4 Гц, 1H, ArH), 6.73 (д, *J* = 6.9 Гц, 2H, ArH), 7.24 (м, 2H, Ar-H). LRMS (ESI, LC-MS): *m/z* 182.2 [M + H]<sup>+</sup>, рассчитано для C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>2</sub> 182.2.

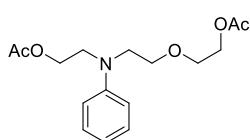


Получен согласно литературной методике [151]. Смесь 2-(фениламино)этанола (4.0 г, 29.2 ммоль, 1.0 экв), 2-(2-хлорэтокси)этанола (6.0 г, 48.2 ммоль, 1.7 экв), CaCO<sub>3</sub> (5.0 г, 50.0 ммоль, 1.7 экв) и KI (0.48 г, 2.24 ммоль, 0.077 экв) в воде (60 мл) кипятили с обратным холодильником при интенсивном перемешивании в течение 15 часов. Ход реакции контролировали с помощью ТСХ (элюент петр. эф. – EtOAc, 1 : 1). После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры осадок отфильтровали, фильтрат экстрагировали EtOAc (3 × 60 мл). Органический экстракт сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, затем растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией (элюент петр. эф. – EtOAc, 1:1 → 1:10). Бесцветное масло, выход 4.6 г (73%), <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.54–3.81 (м, 13H, 6 × CH<sub>2</sub> + OH), 4.10–4.36 (уш. с, 1H, OH), 6.68–6.71 (м, 3H, 3 × CH), 7.19–7.27 (м, 2H, 2 × CH). МС (ЭИ) рассчитано для C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub> ([M]<sup>+</sup>) 255, найдено *m/z* 225.



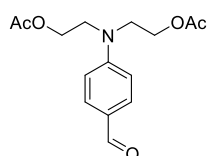
Получен согласно литературной методике [152]. К раствору 2,2'-(фенилазандиил)бис(этан-1-ола) (2a) (2.0 г, 10.22 ммоль) и пиридина (2.6 мл, 32.25 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 мл) при 0 °С добавляли по каплям уксусный ангидрид (3.2 мл, 33.9

ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 20 часов при комнатной температуре. Ход реакции контролировали с помощью ТСХ (элюент петр. эф. – EtOAc, 1 : 1). Реакционную смесь разбавляли CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 мл) и промывали водой (3 × 20 мл). Органический слой сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией (элюент петр. эф. – EtOAc, 1:1 → 1:10). Вязкое масло, выход 2.0 г (80%), <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.04 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 3.59–3.63 (т, 4H, *J* = 12.6 Гц, 2 × CH<sub>2</sub>), 4.21–4.24 (т, 4H, *J* = 12.5 Гц, 2 × CH<sub>2</sub>), 6.70–6.76 (м, 3H, 3 × CH), 7.20–7.24 (м, 2H, 2 × CH). МС (ЭИ) рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub> ([M]<sup>+</sup>) 265, найдено *m/z* 265.



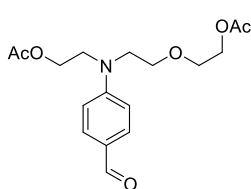
### 2-((2-(2-Ацетоксиэтокси)этил)фенил)амино)этилацетат (3b)

Получен согласно литературной методике [89]. К раствору 2-((2-(2-Гидроксиэтокси)этил)фенил)амино)этан-1-ола (2b) (4.6 г, 20.4 ммоль, 1.0 экв) и пиридина (5.2 мл, 64.5 ммоль, 3.2 экв) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 мл) при 0 °С добавляли по каплям уксусный ангидрид (6.4 мл, 67.8 ммоль, 3.3 экв). Реакционную смесь перемешивали в течение 20 часов при комнатной температуре. Ход реакции контролировали с помощью ТСХ (элюент петр. эф. – EtOAc, 1 : 1). Реакционную смесь разбавляли CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 мл) и промывали водой (3 × 20 мл). Органический слой сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией (элюент петр. эф. – EtOAc, 1:1 → 1:10). Вязкое масло, выход 4.4 г (71%). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.04 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.07 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.56–3.67 (м, 8H, 4 × CH<sub>2</sub>), 4.18–4.28 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 6.72–6.78 (м, 3H, 3 × CH), 7.23–7.27 (м, 2H, 2 × CH). МС (ЭИ) рассчитано для C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub> ([M]<sup>+</sup>) 309, найдено *m/z* 309.



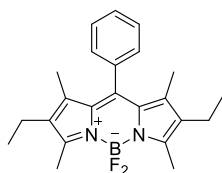
### ((4-Формилфенил)азандиил)бис(этан-2,1-диил)диацетат (4a)

Получен согласно литературной методике [152]. К сухому ДМФА (1.0 мл,) при 0 °С при перемешивании добавляли по каплям POCl<sub>3</sub> (0.20 мл, 1.60 ммоль). Полученную смесь перемешивали 1 час при комнатной температуре. Затем добавляли раствор (фенилазандиил)бис(этан-2,1-диил)диацетата (3a) (2.0 г, 5.82 ммоль) в сухом ДМФА (1 мл). Реакционную смесь нагревали при 90 °С в течение 2 ч, после чего охлаждали и выливали в лед, далее добавляли насыщенный раствор ацетата натрия до pH 7. Смесь экстрагировали EtOAc (3 × 50 мл) и сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией (элюент петр. эф. – EtOAc, 1 : 1). Вязкое бесцветное масло, выход 1.62 г (83%). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.04 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 3.71 – 3.74 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 4.26 – 4.29 (т, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 7.74 (д, 2H, *J* = 8.7 Гц, 2 × CH), 6.82(д, 2H, *J* = 8.7 Гц, 2 × CH), 9.74 (с, 1H, CHO). МС (ЭИ) рассчитано для C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub> ([M]<sup>+</sup>) 293, найдено *m/z* 293.



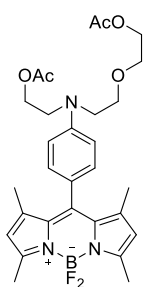
### 2-((2-(2-Ацетоксиэтокси)этил)(4-формилфенил)амино)этилацетат (4b)

Получен согласно литературной методике [89]. К сухому ДМФА (1.5 мл) при 0 °С при перемешивании добавляли по каплям POCl<sub>3</sub> (0.29 мл, 3.10 ммоль). Полученную смесь перемешивали 1 час при комнатной температуре. Затем добавляли растворенный 2-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)(фенил)амино)-этилацетат (3b) (3.0 г, 9.71 ммоль) в сухом ДМФА (1 мл). Реакционную смесь нагревали при 90 °С в течение 2 ч, после чего охлаждали и выливали в лед, далее добавляли насыщенный раствор ацетата натрия до pH 7. Смесь экстрагировали EtOAc (3 × 50 мл) и сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией (элюент петр. эф. – EtOAc, 1 : 1). Вязкое бесцветное масло, выход 2.9 г (89%). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.04 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.05 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.63–3.69 (м, 6H, 3 × CH<sub>2</sub>), 3.74 (т, *J* = 6.4 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.19–4.23 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.29 (т, *J* = 6.4 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.81 (д, *J* = 8.9 Гц, 2H, 2 × CH), 7.74 (д, *J* = 8.9 Гц, 2H, 2 × CH), 9.75 (с, 1H, CHO). МС (ЭИ) рассчитано для C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub> ([M]<sup>+</sup>) 337, найдено *m/z* 337.



#### 6-Диэтил-1,3,5,7-тетраметил-8-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен (7)

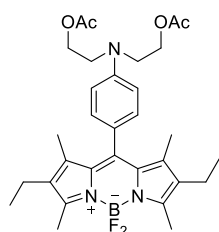
Получен согласно литературной методике [153]. К раствору бензальдегида (0.48 мл, 4.71 ммоль, 1.0 экв) и 3-этил-2,4-диметил-1*H*-пиррола (1.38 мл, 10.24 ммоль, 2.2 экв) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (46 мл) в атмосфере аргона добавили трифторуксусную кислоту (одна капля, 15 μл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем добавили раствор 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинона (1.18 г, 5.20 ммоль, 1.1 экв) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (120 мл). Перемешивали 20 минут при комнатной температуре, охладили до 0 °С, добавили триэтиламин (12 мл), затем BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (12 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь экстрагировали 5% водным раствором NaHCO<sub>3</sub> (2 × 50 мл). Органический слой промывали водой (3 × 100 мл), пропускали через слой целита, сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении. Остаток дважды очищали колоночной хроматографией (элюент петр. эф. – CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1 : 0 → 1 : 2). Красное твердое вещество, выход 720 мг (40%), т. пл. 185–186 °С (т. пл лит 185–186 °С [154]). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.00 (т, 6H, *J* = 7.3 Гц, 2 × CH<sub>3</sub>), 1.30 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 2.32 (кв, 4H, *J* = 7.3 Гц, 2 × CH<sub>2</sub>), 2.54 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 7.29–7.31 (м, 2H, 2 × CH), 7.48–7.50 (м, 3H, 3 × CH). МС (ЭИ) рассчитано для C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub> ([M]<sup>+</sup>) 380, найдено *m/z* 380.



#### 4,4-Дифтор-8-(4-(2-(2-ацетоксиэтокси)этил)-(2-ацетоксиэтил)аминофенил)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен (S1)

К раствору 4-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)(2-ацетоксиэтил)амино)-бензальдегида (4b) (200 мг, 0.59 ммоль, 1.0 экв) и 2,4-диметилпиррола (0.13 мл, 1.26 ммоль, 2.1 экв) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (18 мл) в атмосфере аргона добавили трифторуксусную кислоту (одна

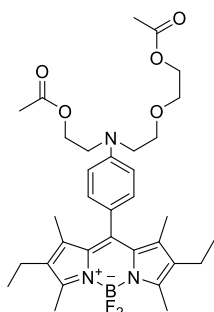
капля, 15 мкл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем добавили раствор 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинона (148 мг, 0.65 ммоль, 1.1 экв) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (23 мл). Перемешивали 12 часов при комнатной температуре, охладили до 0 °С, добавили триэтиламин (3.6 мл), затем  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (3.6 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Реакционную смесь экстрагировали 5% водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (2 × 30 мл). Органический слой промывали водой (3 × 30 мл), пропускали через слой целита, сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Остаток дважды очищали колоночной хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2 - \text{MeOH}$ , 1 : 0 → 20 : 1). Твердое красное вещество, выход 17 мг (5%), т. пл. 102-105 °С  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.52 (с, 6H, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 2.08 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.11 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.57 (с, 6H, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 3.65 (т, 2H,  $J = 5.8$  Гц, 2 ×  $\text{CH}_2$ ), 3.68–3.73 (м, 6H, 3 ×  $\text{CH}_2$ ), 4.24–4.25 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.31 (т, 2H,  $J = 6.5$  Гц,  $\text{CH}_2$ ), 5.89 (с, 2H, 2 ×  $\text{CH}$ ), 6.87 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц, 2 ×  $\text{CH}$ ), 7.09 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц, 2 ×  $\text{CH}$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (125 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.5, 14.7, 20.9, 49.9, 51.1, 61.1, 63.4, 68.4, 69.2, 112.4, 120.9, 123.1, 129.1, 132.1, 142.7, 143.1, 147.7, 154.9, 171.9 (C=O).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -146.3 (кв,  $^1J_{\text{F-B}} = 38.0$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.78 (т,  $J = 38.0$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 578.2613, найдено  $m/z$  578.2616. UV-vis (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} = 497$  нм ( $\epsilon = 81000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).



**(2,6-Диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен)фенил)азандиил)бис(этан-2,1-диил)диацетат (S2)**

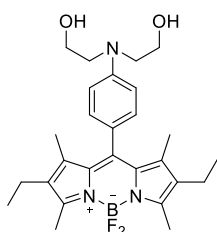
К раствору соединения **4a** (500 мг, 1.70 ммоль, 1.0 экв) и 3-этил-2,4-диметил-1*H*-пиррола (0.42 мл, 3.12 ммоль, 1.8 экв) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (46 мл) в атмосфере аргона добавили трифторуксусную кислоту (одна капля, 15  $\mu\text{l}$ ). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем добавили раствор 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинона (148 мг, 0.65 ммоль, 1.1 экв) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (23 мл). Перемешивали 5 часов при комнатной температуре, охладили до 0 °С, добавили триэтиламин (9 мл), затем  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (9 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Реакционную смесь экстрагировали 5% водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (2 × 30 мл). Органический слой промывали водой (3 × 30 мл), пропускали через слой целита, сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Остаток дважды очищали колоночной хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2 - \text{MeOH}$ , 1:0 → 100:1). Твердое красное вещество, выход 382 мг (35%), т. пл 173-175 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.00 (т, 6H,  $J = 7.5$  Гц, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 1.40 (с, 6H, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 2.09 (с, 6H, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 2.33 (кв, 4H,  $J = 7.5$  Гц, 2 ×  $\text{CH}_2$ ), 2.54 (с, 6H, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 3.70 (т, 4H,  $J = 6.3$  Гц, 2 ×  $\text{CH}_2$ ), 4.31 (т, 4H,  $J = 6.3$  Гц, 2 ×  $\text{CH}_2$ ), 6.85 (д, 2H,  $J = 8.5$  Гц, 2 ×  $\text{CH}$ ), 7.09 (д, 2H,  $J = 8.5$  Гц, 2 ×  $\text{CH}$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12.0, 12.5, 14.7, 17.2,

21.0, 49.9, 53.5, 61.2, 112.5, 124.4, 129.4, 129.5, 131.6, 132.6, 138.5, 147.4, 153.3, 171.0 (C=O).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -146.6 (кв,  $^1J_{\text{F-B}} = 32.0$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.86 (т,  $J = 33.4$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_4\text{Na}$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 590.4822; найдено  $m/z$  590.4825.



**4,4-Дифтор-8-[4-(2-(2-ацетоксиэтокси)этил)-(2-ацетоксиэтил)аминофенил]-2,6-диэтил-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S3)**

К раствору соединения **4b** (500 мг, 1.48 ммоль, 1.0 экв) и 3-этил-2,4-диметил-1*H*-пиррола (0.42 мл, 3.12 ммоль, 2.1 экв) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (46 мл) в атмосфере аргона добавили трифторуксусную кислоту (одна капля, 15 мкл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем добавили раствор 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинона (148 мг, 0.65 ммоль, 1.1 экв) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (23 мл). Перемешивали 5 часов при комнатной температуре, охладили до 0 °С, добавили триэтиламин (9 мл), затем  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (9 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Реакционную смесь экстрагировали 5% водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (2 × 30 мл). Органический слой промывали водой (3 × 30 мл), пропускали через слой целита, сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Остаток дважды очищали колоночной хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2 - \text{MeOH}$ , 1 : 0 → 100:1). Твердое красное вещество, выход 382 мг (42%), т. пл. 126 -129 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.01 (т, 6H,  $J = 7.2$  Гц, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 1.41 (с, 6H, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 2.08 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.11 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.33 (кв, 4H,  $J = 7.2$  Гц, 2 ×  $\text{CH}_2$ ), 2.54 (уш. с, 6H, 2 ×  $\text{CH}_3$ ), 3.61–3.75 (м, 8H, 4 ×  $\text{CH}_2$ ), 4.25 (т, 2H,  $J = 4.8$  Гц,  $\text{CH}_2$ ), 4.31 (т, 2H,  $J = 6.6$  Гц,  $\text{CH}_2$ ), 6.84 (д, 2H,  $J = 8.8$  Гц, 2 ×  $\text{CH}$ ), 7.08 (д, 2H,  $J = 8.8$  Гц, 2 ×  $\text{CH}$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12.1, 12.6, 14.7, 17.2, 21.0, 49.2, 51.1, 61.4, 63.6, 68.6, 69.3, 112.2, 123.7, 129.4, 129.5, 131.6, 132.6, 138.6, 141.2, 147.9, 148.8, 153.2, 171.0 (C=O).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -146.6 (кв,  $^1J_{\text{F-B}} = 35.4$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.86 (т,  $J = 35.4$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 634.3237; найдено  $m/z$  634.3240. UV-vis (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} = 523$  нм ( $\epsilon = 93000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

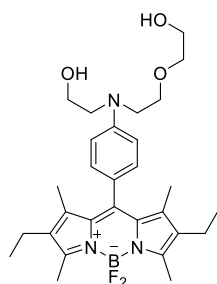


**((2,6-Диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен)фенил)азанидил)бис(этан-1-ол) (S4)**

Раствор  $\text{LiOH}$  (5 мг, 0.21 ммоль, 2.1 экв) в воде (0.4 мл) добавили к раствору соединения **S2** (61 мг, 0.10 ммоль, 1.0 экв) в ТГФ/MeOH (0.4 : 1.6 мл) в атмосфере аргона. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт дважды очищали колоночной хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2 - \text{MeOH}$ , 1 : 0 → 100 : 1).

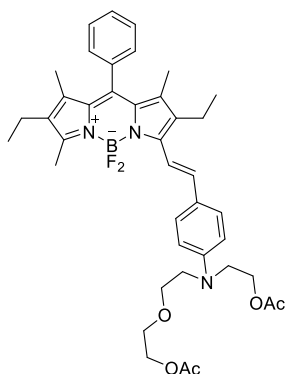


Твердое красное вещество, выход 43 мг (78%), т. пл. 133–134 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.00 (т, 6H,  $J = 7.5$  Гц,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 1.41 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.32 (кв, 4H,  $J = 7.5$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.54 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 3.53 (с, 2H,  $2 \times \text{OH}$ ), 3.67 (т, 4H,  $J = 4.9$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 3.93 (т, 4H,  $J = 4.9$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 6.78 (д, 2H,  $J = 8.5$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.08 (д, 2H,  $J = 8.5$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12.0, 12.5, 14.7, 17.2, 29.8, 30.1, 60.6, 68.1, 77.3, 113.4, 129.4, 129.5, 131.5, 132.6, 138.5, 142.3, 153.4.  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -146.5 (кв,  $^1J_{\text{F-B}} = 32.4$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.82 (т,  $J = 33.7$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{Na}$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 550.3028; найдено  $m/z$  550.3023.



**4,4-Дифтор-8-[4-(2-(2-этокси)этил)(2-ацетоксиэтил)аминофенил]-2,6-диэтил-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен (S5)**

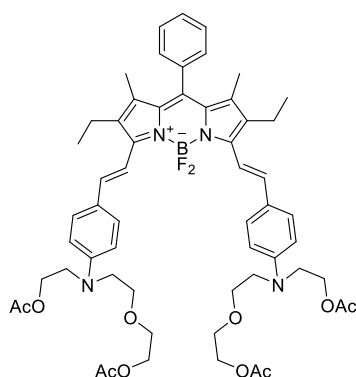
Раствор LiOH (5 мг, 0.21 ммоль, 2.1 экв) (0.4 мл) добавили к раствору соединения **S3** (61 мг, 0.10 ммоль, 1.0 экв) в ТГФ/MeOH (0.4 : 1.6 мл) в атмосфере аргона. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт дважды очищали колоночной хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH, 1 : 0  $\rightarrow$  100 : 1). Твердое красное вещество, выход 43 мг (78%), т. пл. 78 – 81 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.01 (т, 6H,  $J = 7.5$  Гц,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 1.46 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.33 (кв, 4H,  $J = 7.5$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.48 (уш. с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 3.52–3.73 (м, 12H,  $6 \times \text{CH}_2$ ), 6.92 (д, 2H,  $J = 8.9$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.08 (д, 2H,  $J = 8.9$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), сигналы OH-групп не наблюдаются.  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.2, 11.7, 13.9, 16.5, 50.9, 53.8, 59.1, 60.9, 68.1, 72.5, 112.3, 120.3, 122.1, 128.9, 129.0, 131.7, 132.7, 138.9, 142.3, 148.7, 148.8, 153.8.  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -145.0 (кв,  $^1J_{\text{F-B}} = 35.6$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.73 (т,  $J = 35.6$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{Na}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 550.3028; найдено  $m/z$  550.3023. UV-vis (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} = 521$  нм ( $\epsilon = 100000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).



**(E)-5-(4-((2-(2-Ацетоксиэтокси)этил)(2-ацетоксиэтил)амино)стирил)-2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,3,7-триметил-8-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен (S6)**

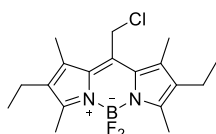
Смесь альдегида **4b** (266 мг, 0.79 ммоль, 3.0 экв), соединения **7** (100 мг, 0.26 ммоль, 1.0 экв), пиперидина (0.15 мл, 1.52 ммоль, 5.8 экв) и уксусной кислоты (0.15 мл, 2.63 ммоль, 10.0 экв) кипятили в сухом толуоле (18 мл) с обратным холодильником в течение 12 ч, используя насадку Дина-Старка. После охлаждения смеси до комнатной температуры растворитель отгоняли при пониженном давлении. Продукт трижды очищали с помощью колоночной хроматографии (петр. эф. – EtOAc, 1 : 0  $\rightarrow$  2 : 1). Темно-синее твердое вещество, выход 78 мг (43 %), т. пл. 125–127 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.01 (т, 3H,  $J = 7.5$  Гц,  $\text{CH}_3$ ), 1.16 (т, 3H,  $J = 7.4$  Гц,  $\text{CH}_3$ ),

1.30 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.32 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.07 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.10 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.29 (кв, 2H,  $J = 7.5$  Гц, CH<sub>2</sub>), 2.59 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.60 (кв, 2H,  $J = 7.4$  Гц, CH<sub>2</sub>), 3.64–3.72 (м, 8H, 4 × CH<sub>2</sub>), 4.22 – 4.25 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.29 (т, 2H,  $J = 6.3$  Гц CH<sub>2</sub>), 6.78 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц, CH<sub>2</sub>), 7.19 (д, 1H,  $J = 16.6$  Гц, CH), 7.30 – 7.33 (м, 2H, 2 × CH), 7.48–7.53 (м, 5H, 5 × CH), 7.60 (д, 1H,  $J = 16.6$  Гц, CH). <sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.4, 11.6, 12.7, 14.0, 14.6, 17.1, 18.4, 20.9, 29.7, 50.3, 51.4, 61.2, 63.5, 68.5, 69.3, 112.6, 116.5, 127.1, 128.5, 128.6, 128.7, 128.8, 129.0, 129.2, 131.5, 132.0, 133.0, 135.3, 135.7, 136.1, 137.9, 138.6, 38.7, 147.3, 150.4, 153.8, 170.8, 170.9. <sup>19</sup>F ЯМР (282 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ –142.5 (кв,  $^1J_{F-B} = 33.6$  Гц, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (96 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.05 (т,  $J = 33.6$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для C<sub>40</sub>H<sub>49</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> ([M]<sup>+</sup>) 699.3656; найдено  $m/z$  699.3660. UV-vis (MeCN): λ<sub>max</sub> = 613 нм (ε = 70000 M<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>).



**3,5-Бис((*E*)-4-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)(2-ацетоксиэтил)амино)стирол)-2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен (S7)**

Выделен как побочный продукт в синтезе соединения **S6**. Соединение дважды очищали колоночной хроматографией (петр. эф. – EtOAc, 1 : 0 → 2 : 1). Твердое темно-зеленое вещество, выход 42 мг (16%), т. пл. 98 – 100 °С. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.14 (т, 6H,  $J = 7.4$  Гц, 2 × CH<sub>3</sub>), 1.33 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 1.99 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 2.00 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 2.58–2.69 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 3.62 – 3.66 (м, 16H, 8 × CH<sub>2</sub>), 4.13 – 4.14 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 4.24 (т, 4H,  $J = 6.1$  Гц, 2 × CH<sub>2</sub>), 6.80 – 6.90 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 7.38–7.54 (м, 13H, 13 × CH). <sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.4, 14.0, 18.4, 20.8, 50.1, 51.4, 53.3, 61.4, 63.4, 68.7, 69.3, 112.1, 112.2, 116.4, 116.7, 126.8, 128.6, 128.7, 128.9, 129.0, 129.3, 133.4, 135.5, 146.6, 147.7, 170.8, 170.9. <sup>19</sup>F ЯМР (282 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ –139.6–139.0 (м, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (96 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 0.98 – 1.64 (м). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для C<sub>57</sub>H<sub>69</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub> ([M]<sup>+</sup>) 1018.5079; найдено  $m/z$  1018.5076. UV-vis (MeCN): λ<sub>max</sub> = 704 нм (ε = 33000 M<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>).

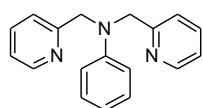


**8-(Хлорметил)-4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-2,6-диэтил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен (18)**

Получен согласно литературной методике [94]. К раствору 3-этил-2,4-диметилпиррола (**6**) (1.9 мл, 4.06 ммоль, 2.0 экв) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 мл) в атмосфере аргона добавили 2-хлорацетилхлорид (1.0 мл, 2.03 ммоль, 1.0 экв) и перемешивали реакционную смесь при 37 °С в течение часа. Затем смесь охладили до комнатной температуры, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> отогнали при пониженном давлении. Остаток растворили в толуола (20 мл,) добавили триэтиламина (1.5 мл), перемешивали 15 минут при комнатной температуре в атмосфере аргона, затем добавили BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (2.3 мл) и выдерживали реакционную смесь при комнатной температуре еще в течение

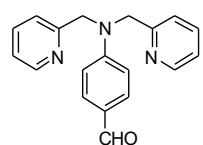
часа. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Остаток повторно растворили в H<sub>2</sub>O (25 мл) и водную фракцию экстрагировали EtOAc (3 × 10 мл). Органическую фракцию сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали в вакууме. Продукт **18** выделяли методом колоночной хроматографии (петр. эф. – EtOAc, 50 : 1). Получили 830 мг порошка пурпурно-красного цвета (39%) с т.пл. 253 – 255 °С (т. пл. лит = 251 - 252 °С) [94], R<sub>f</sub> = 0.30 (петр. эфир – EtOAc, 5 : 1). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.97 (с, 2H, CH<sub>2</sub>Cl), 2.50 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 2.45 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 2.40 (кв, J = 7.3 Гц, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>) 1.02 (т, J = 7.3 Гц, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>BClF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>Na ([M+Na]<sup>+</sup>) 375.1585; найдено m/z 375.1584.

**(E)-2-((2-(2-Ацетоксиэтокси)этил)(4-(2-(10-(4-(бис(пиридин-2-ил-метил)амино)фенил)-2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (21)**

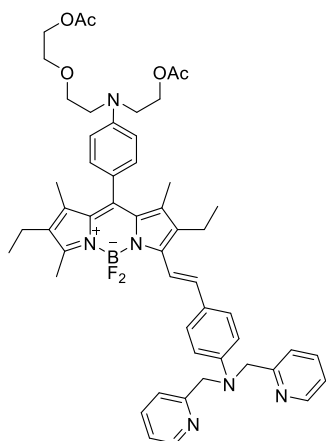


Получен согласно литературной методике [89]. К раствору 2-хлорметилпиридина (2.0 г, 12.0 ммоль) в H<sub>2</sub>O (0.5 мл) добавили анилин (0,6 г, 6.0 ммоль), 5 N NaOH (3 мл) и гексадецириметиламмонийхлорид (20 мг). Смесь интенсивно перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре. Затем смесь экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, экстракт промывали H<sub>2</sub>O и сушили MgSO<sub>4</sub>. Очистку проводили с помощью колоночной хроматографии, (элюент CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - AcOEt, 4:1). Растворитель удаляли при пониженном давлении. После выпаривания растворителя желаемый продукт получали в виде твердого вещества бежевого цвета с выходом 792 мг (48%) т.пл. 112-113 °С (т.пл. 111-112 °С) [155]. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.60 (д, J = 4.9 Hz, 2H, 2 × CH), 7.62 (т, J = 7.5 Hz, 2H, 2 × CH), 7.27 (д, J = 8.0 Hz, 2H, 2 × CH), 7.20 - 7.13 (м, 4H, 4 × CH), 6.76 – 6.68 (м, 3H, 3 × CH), 4.84 (с, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>). МС (ЭИ) рассчитано для C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub> ([M]<sup>+</sup>) 337 найдено m/z 275.

**4-(бис(пиридин-2-илметил)амино)бензальдегид (22)**

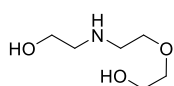


Получен согласно литературной методике [89]. К сухому ДМФА (2 мл) при 0 °С при перемешивании добавляли по каплям POCl<sub>3</sub> (1 мл, 26 ммоль). Полученную смесь перемешивали 1 час при комнатной температуре. Затем добавляли N, N-бис(пиридин-2-илметил)анилин (0.6 г, 22 ммоль) растворенный в сухом ДМФА (1 мл). Реакционную смесь нагревали при 90 °С в течение 3 ч, после чего охлаждали и выливали в лед, далее добавляли насыщенный раствор ацетата натрия до pH 7. Смесь экстрагировали C (3 × 50 мл) и сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией (элюент петр. эф. – EtOAc, 1 : 1). Вязкое бесцветное масло, выход 542 мг (82%). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 9.75 (с, 1H, CHO), 8.61 (д, J = 4.8 Hz, 2H, 2 × CH), 7.73 – 7.63 (м, 4H, 4 × CH), 7.26 – 7.18 (м, 4H, 4 × CH), 6.81 (д, J = 8.5 Hz, 2H, 2 × CH), 4.93 (с, 4H, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>). МС (ЭИ) рассчитано для C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O ([M]<sup>+</sup>) 303 найдено m/z 303.



**(E)-2-((2-(2-Ацетоксиэтокси)этил)амино)стирил)-2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S14)**

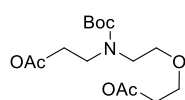
Альдегид **22** (20 мг, 0.07 ммоль, 1.0 экв), пиперидин (1 мл) и TsOH (10 мол.%) последовательно добавили при перемешивании к раствору соединения **S3** (44 мг, 0.07 ммоль, 1.0 экв) в сухом толуоле (60 мл). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником до полного выпаривания растворителя. После чего, добавляли 10 мл сухого толуола и смесь кипятили с обратным холодильником до полного выпаривания. Затем реакционную смесь растворили в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 мл) и промывали  $\text{H}_2\text{O}$  ( $3 \times 10$  мл). Органическую фракцию сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали с помощью колоночной хроматографии ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH 100 : 1  $\rightarrow$  10 : 1). Твердое синее вещество, выход 2 мг (3%), т. пл. 281-283 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.63 (д,  $J = 4.8$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 7.66 (т,  $J = 7.4$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 7.44 (д,  $J = 8.2$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 7.31 - 7.16 (м, 6H, 2  $\times$  CH+2CH+2CH), 7.08 (д,  $J = 8.5$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 6.82 (д,  $J = 8.5$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 6.72 (д,  $J = 8.3$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 5.32 (с, 4H, 2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 4.31 (т, 2H,  $J = 6.6$  Гц,  $\text{CH}_2$ ), 4.25 (т, 2H,  $J = 4.8$  Гц,  $\text{CH}_2$ ), 3.61 – 3.75 (м, 8H, 4  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 2.64 – 2.51 (м, 5H,  $\text{CH}_2$  +  $\text{CH}_3$ ), 2.33 (кв,  $J = 7.4$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.11 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.10 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.08, (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.13 (т,  $J = 7.4$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.00 (т,  $J = 7.4$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  160.0 (2  $\times$  CO), 153.8 (2  $\times$  C), 150.5 (C), 149.2 (C), 148.4 (3  $\times$  C), 138.6 (C), 137.4 (C), 135.8 (2  $\times$  CH), 133.4 (C), 130.1 (C), 129.5 (C), 126.9 (2  $\times$  CH), 125.2 (CH), 122.9 (2  $\times$  CH), 121.6 (CH), 116.8 (CH), 113.8 (C), 112.5 (C), 69.9 (2  $\times$  CH), 69.3 (C), 64.2 (CH), 62.1 (CH), 62.1 (CH), 58.16 (CH), 51.6 (CH), 50.6 (2  $\times$  CH), 21.6 (2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 19.1 (2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 17.8 (2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 15.4 (2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 14.8 (2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 13.3 (2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 12.5 (2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 12.3 (2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 11.8 ( $\text{CH}_3$ ).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (470 МГц  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -143 (кв,  $J = 32.3$  Гц).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (160 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.02 (т,  $J = 32.3$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для  $\text{C}_{52}\text{H}_{60}\text{BF}_2\text{N}_6\text{O}_5$  ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ ) 897.4690, найдено  $m/z$  897.4691. UV-vis (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} = 606$  нм ( $\epsilon = 94000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).



**2-((2-(2-Гидроксиэтокси)этил)амино)этан-1-ол (10)**

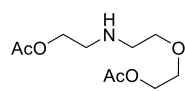
Получен согласно литературной методике [156]. К раствору 2-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)амино)этилацетата (145 мг, 0.62 ммоль, 1.0 экв) в метаноле (3.0 мл) добавили 2.5% раствор NaOH в метаноле (2.2 мл, 0.62 ммоль, 1.0 экв) и перемешивали при комнатной температуре 24 часа. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, от избытка щелочи избавлялись при помощи колоночной хроматографии ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH, 10:1). Желтое масло, выход 92 мг (91%),  $R_f = 0.18$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH, 3:1).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  4.45 -

4.34 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.71 – 3.64 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 3.55 – 3.45 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.41 – 3.35 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 1.84 (уш. с, 3H, NH + 2 × OH). HRMS(ESI/Q-TOF) рассчитано для C<sub>6</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>3</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 149.1183; найдено *m/z* 149.1176.



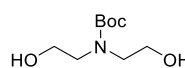
**2-((2-(2-Ацетоксиэтокси)этил)трет-бутоксикарбонил)амино)этилацетат (11)**

Смесь этаноламина (**8**) (219  $\mu$ л, 3.63 ммоль, 3.0 экв) и 2,2-хлорэтоксигэтанола (**9**) (128  $\mu$ л, 1.21 ммоль, 1.0 экв) в присутствии карбоната калия (127 мг, 0.92 ммоль, 0.76 экв) нагревали до 120 °С при перемешивании в течение 24 часов. После чего добавили ди-трет-бутилкарбонат (583 мкл, 2.44 ммоль, 2.0 экв) и дополнительно перемешивали при 0 °С в течении 1.5 часов. К полученной смеси последовательно добавили уксусный ангидрид (716 мкл, 7.58 ммоль, 6.2 экв), пиридин (652 мкл, 8.10 ммоль, 6.7 экв), DMAP (15 мг, 0.122 ммоль, 0.1 экв) и перемешивали полученную смесь при комнатной температуре в течение 2 часов. Растворитель отгоняли при пониженном давлении. Остаток повторно растворили в H<sub>2</sub>O (30 мл) и водную фракцию экстрагировали EtOAc (3 × 15 мл). Органическую фракцию сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали в вакууме. Продукт очищали колоночной хроматографией (петр. эф. – EtOAc, 5:1). Желтое масло, выход 124 мг (31%), R<sub>f</sub> 0.14 (EtOAc – петр. эфир, 1:5). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.11 - 4.00 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 3.11-2.90 (м, 8H, 2 × CH<sub>2</sub>), 2.62 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 1.86 (с, 9H, Boc). <sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  171.0 (C=O), 170.9 (C=O), 155.4 (C=O), 80.0 (C), 69.9 (CH<sub>2</sub>), 68.9 (CH<sub>2</sub>), 63.5 (CH<sub>2</sub>), 62.7 (CH<sub>2</sub>), 47.8 (CH<sub>2</sub>), 47.2 (CH<sub>2</sub>), 47.0 (CH<sub>3</sub>), 28.4 (3 × CH<sub>3</sub>), 20.9 (CH<sub>3</sub>). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>7</sub>Na ([M+Na]<sup>+</sup>) 356.1680; найдено *m/z* 356.1679.



**2-((2-(2-Ацетоксиэтокси)этил)амино)этилацетат (12)**

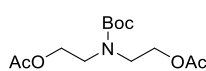
К раствору соединения **11** (150 мг, 0.45 ммоль) в EtOAc (750 мкл) добавляли 4*N* HCl (90 мкл) в 1,4-диоксане при 0 °С в течении 3 часов. Затем растворитель отгоняли при пониженном давлении. Прородукт был получен в виде белого твердого вещества, выход 101 мг (98%), т. пл. 146-148 °С, R<sub>f</sub> 0.30 (петр. эф. – EtOAc 5:1). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.54 - 4.46 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.98 – 3.90 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.76 – 3.69 (м, 4H, CH<sub>2</sub>), 3.44 – 3.37 (м, 4H, CH<sub>2</sub>), 3.31 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.17 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.46 (уш. с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.2 (C=O), 168.5 (C=O), 70.4 (CH<sub>2</sub>), 69.0 (CH<sub>2</sub>), 66.6 (CH<sub>2</sub>), 64.0 (CH<sub>2</sub>), 48.9 (CH<sub>2</sub>), 47.5 (CH<sub>2</sub>), 27.4 (CH<sub>3</sub>), 20.7 (CH<sub>3</sub>). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>5</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 234.1336; найдено *m/z* 234.1333.



**Трет-бутил-бис(2-гидроксиэтил)карбамат (14)**

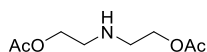
К раствору 2,2'-азандиил-бис(этан-1-ола) (500 мг, 4.76 ммоль, 1.0 экв) в EtOAc (4.76 мл) при охлаждении добавили ди-трет-бутилкарбонат (1038 мг, 4.76 ммоль, 1.0 экв).

Полученную смесь перемешивали 1.5 часа при 0 °С. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, в результате чего продукт получили в виде аналитически чистого образца, выход 876 мг (90%) желтое масло,  $R_f$  0.30 (петр. эф. – EtOAc, 1:1).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.71 – 3.64 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 3.42 – 3.35 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 1.45 (с, 9H,  $3 \times \text{CH}_3$ ), 1.26 (уш. с, 2H,  $2 \times \text{OH}$ ). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для  $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  228.1206; найдено 228.1210



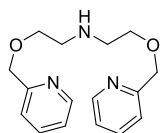
### ((Трет-бутоксикарбонил) азандиил)бис(этан-2,1-диил)диацетат (15)

К раствору соединения **13** (500 мг, 4.76 ммоль, 1.0 экв) в EtOAc (4.76 мл), при 0 °С, добавили ди-*трет*-бутилкарбонат (1.1 мл, 4.76 ммоль, 1.0 экв). Полученную смесь перемешивали при охлаждении 1.5 часа. Затем к полученной смеси последовательно добавили уксусный ангидрид (0.9 мл, 10.5 ммоль, 2.2 экв), пиридин (0.8 мл, 10.5 ммоль, 2.2 экв), DMAP (58 мг, 0.45 ммоль, 0.1 экв). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Растворитель отгоняли при пониженном давлении. Остаток растворяли в  $\text{H}_2\text{O}$  (30 мл) и водную фракцию экстрагировали EtOAc ( $3 \times 15$  мл), органическую фракцию сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали в вакууме. Продукт выделяли методом колоночной хроматографии (петр. эф. – EtOAc, 5 : 1). Светло-желтое масло, выход 1141 мг (83%),  $R_f$  0.30 (петр. эф. – EtOAc, 5:1).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.21 – 4.12 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 3.53-3.42 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.06 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 1.46 (с, 9H,  $3 \times \text{CH}_3$ ). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для  $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_6\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  312.1410; найдено 312.1417.



### 2-[(2-Ацетоксиэтил)амино]этилацетат (16) гидрохлорид

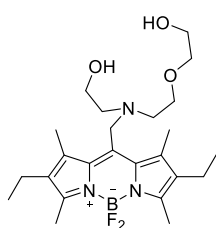
Получен согласно литературной методике [157]. К раствору соединения **15** (1329 мг, 4.6 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл) добавляли 4N HCl (2.5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течении 24 часов при комнатной температуре. Затем растворитель отгоняли при пониженном давлении. Белый порошок, выход 793 мг (88%), т. пл. 147 – 148 °С,  $R_f$  0.30 (петр. эф. – EtOAc, 5:1).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.25 (уш. с, 1H, NH), 4.27 (т, 4H,  $J = 4.8$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 3.10 (т, 4H,  $J = 4.8$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.07 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{NO}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  190.1073; найдено 190.1077.



### Бис(2-(пиридин-2-илметокси)этил)амин (17)

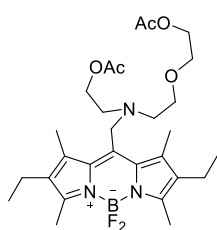
К раствору трет-бутилбис(2-гидроксиэтил)карбамата (**14**) (200 мг, 0.97 ммоль, 1.0 экв) в ТГФ (8 мл), добавили хлорметил-пиридин (261 мг, 2.05 ммоль, 2.1 экв) и гидрид натрия (351 мг, 14.60 ммоль, 15.0 экв). Полученную смесь кипятили 3 часа с обратным холодильником. После охлаждали до комнатной температуры, растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт **17** выделяли методом колоночной хроматографии ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – метанол, 1 : 1). Бежевое вязкое масло, выход 118 мг (42%).  $R_f$  0.20 (петр. эф. – EtOAc, 5:1).  $^1\text{H}$

ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.52 (д, 2H,  $J = 4.7$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.63 (дд, 2H,  $J = 1.6, 7.7$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.41 (д, 2H,  $J = 7.8$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.11 (дд, 2H,  $J = 1.6, 7.7$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 4.64 (с, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 3.69 (т, 4H,  $J = 5.2$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.89 (т, 4H,  $J = 5.2$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.47 (уш. с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  157.0 ( $2 \times \text{C}$ ), 149.1 ( $2 \times \text{CH}$ ), 137.1 ( $2 \times \text{CH}$ ), 122.8 ( $2 \times \text{CH}$ ), 121.8 ( $2 \times \text{CH}$ ), 73.3 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 66.6 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 48.2 ( $2 \times \text{CH}_2$ ). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 288.1707, найдено  $m/z$  288.1700.



**8-(2-((2-Гидроксиметокси)этил)амино)этан-1-ол)аминометил)-2,6-диэтил-4,4-дифторо-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S8)**

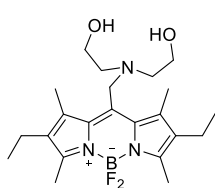
К раствору **18** (150 мг, 0.37 ммоль, 1.0 экв) в сухом MeCN (38.5 мл) при перемешивании добавили йодид калия (62 мг, 0.37 ммоль, 1.0 экв), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (154 мг, 1.11 ммоль, 3.0 экв) и 2-((2-(2-гидроксиэтокси)этил)амино)этан-1-ол (**10**) (111 мг, 0.75 ммоль, 2.0 экв). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 часов и охладили до комнатной температуры. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли методом колоночной хроматографии (петр. эфир – EtOAc, 1:1). Порошок темно-красного цвета, выход 15 мг (12%), т. пл. 138 – 140 °С, R<sub>f</sub> 0.24 (петр.эф. – EtOAc, 1:2). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.13 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.69 (т, 2H,  $J = 5.6$  Гц, CH<sub>2</sub>), 3.47 (т, 4H,  $J = 5.6$  Гц, CH<sub>2</sub>), 3.51 - 3.44 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.94 (т, 2H,  $J = 5.0$  Гц, CH<sub>2</sub>), 2.87 (т, 4H,  $J = 5.0$  Гц, CH<sub>2</sub>), 2.52 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.45 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.44 – 2.37 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 1.61 (уш.с, 1H, OH), 1.28 (с, 1H, NH), 1.06 (т,  $J = 7.50$  Гц, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), сигнала одной OH-группы в спектре не наблюдается. <sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  153.9 ( $2 \times \text{C}$ ), 137.4 ( $2 \times \text{C}$ ), 136.9 ( $2 \times \text{C}$ ), 133.4 ( $2 \times \text{C}$ ), 132.7 (C), 69.8 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 72.5 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 70.1 (CH<sub>2</sub>), 61.8 (CH<sub>2</sub>), 60.2 (CH<sub>2</sub>), 55.6 (CH<sub>2</sub>), 52.9 (CH<sub>2</sub>), 51.2 (CH<sub>3</sub>), 17.3 (CH<sub>3</sub>), 14.7 (CH<sub>3</sub>), 13.8 (CH<sub>3</sub>), 12.6 ( $2 \times \text{CH}_3$ ). <sup>19</sup>F ЯМР (282 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  -145.79 (кв,  $J_{F-B} 33.20$  Гц, 2F) <sup>11</sup>B ЯМР (96 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0.58 (т,  $J_{B-F} = 33.20$  Гц, B). ИК (KBr): 3433, 2928, 1719, 1548, 1326, 1193, 1046, 977, 535 см<sup>-1</sup>. HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 466.3051; найдено  $m/z$  466.3035. UV-vis (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} = 535$  нм ( $\epsilon = 62000$  M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).



**8-(2-((2-Ацетоксиэтил)амино)этокси)метилацетат)аминометил)-2,6-диэтил-4,4-дифторо-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S9)**

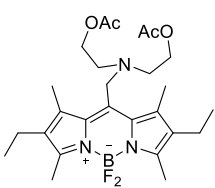
К раствору **18** (70 мг, 0.17 ммоль, 1.0 экв) в сухом MeCN (17.5 мл) добавили при перемешивании йодид калия (29 мг, 0.17 ммоль, 1.0 экв), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (71 мг, 0.51 ммоль) и 2-((2-(2-ацетоксиэтокси)этил)амино)этилацетат (**12**) (113 мг, 0.34 ммоль, 2.0 экв). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 часов и охладили до комнатной температуры. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией (петр. эф. – EtOAc, 1:1). Порошок оранжево-

красного цвета, выход 21 мг (22%), т. пл. 140-142 °С,  $R_f$  0.24 (петр. эф. – EtOAc 2:1).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.17 (т, 4H,  $J = 4.4$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 4.10 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.09 – 4.05 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.60 – 3.53 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.94 – 2.77 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.52 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.45 – 2.38 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.41 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.07 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.93 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.06 (т,  $J = 8.07$  Гц, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.9 ( $2 \times \text{C}=\text{O}$ ), 153.5 ( $2 \times \text{C}$ ), 137.9 ( $2 \times \text{C}$ ), 137.3 ( $2 \times \text{C}$ ), 132.1 ( $2 \times \text{C}$ ), 132.9 (C), 69.9 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 68.9 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 63.6 ( $\text{CH}_2$ ), 62.6 ( $\text{CH}_2$ ), 52.5 ( $\text{CH}_2$ ), 51.1 ( $\text{CH}_2$ ), 50.4 ( $\text{CH}_2$ ), 20.8 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 17.3 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 14.6 ( $\text{CH}_3$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3$ ), 12.6 ( $2 \times \text{CH}_3$ ).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -146.46 (кв,  $^1J_{F-B} = 33.09$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.65 (т,  $^1J_{B-F} = 33.09$  Гц). HRMS(ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ) 572.3083; найдено  $m/z$  572.308. UV-vis (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} = 537$  нм ( $\epsilon = 78000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).



**8-((Бис(2,2'-азанедил(этан-1-ол)амино)метил)-2,6-диэтил-4,4-дифторо-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S10)**

К раствору **18** (98 мг, 0.24 ммоль, 1.0 экв) в сухом MeCN (25.5 мл) при перемешивании добавили йодид калия (40 мг, 0.24 ммоль, 1.0 экв),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (99 мг, 0.71 ммоль, 3.0 экв) и диэтаноламин (**13**) (220 мг, 0.97 ммоль, 4.0 экв). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 3 часов и охладили до комнатной температуры. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли методом колоночной хроматографии (петр. эф. – EtOAc, 1:1). Красное твердое вещество, выход 22 мг (20%), т. пл. 130 – 132 °С,  $R_f$  0.24 (петр.эф. – EtOAc, 1:1).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.13 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.61 (т, 4H,  $J = 5.1$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.88 (т, 4H,  $J = 5.1$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.52 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.45 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.43 – 2.36 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 1.06 (т,  $J = 7.33$  Гц, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), сигналы OH-групп в спектре не наблюдаются.  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  153.9 ( $2 \times \text{C}$ ), 137.5 (C), 136.9 ( $2 \times \text{C}$ ), 133.5 ( $2 \times \text{C}$ ), 132.7 ( $2 \times \text{C}$ ), 60.8 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 55.2 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 51.1 ( $\text{CH}_2$ ), 17.3 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 14.8 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 13.9 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 12.7 ( $2 \times \text{CH}_3$ ).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -146.50 (кв,  $J_{F-B} = 32.03$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.65 (т,  $J_{B-F} = 32.03$  Гц, B). ИК (KBr): 3423, 2963, 1544, 1476, 1196, 979, 536  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_2$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 422.2789; найдено  $m/z$  422.2788. UV-vis (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} = 535$  нм ( $\epsilon = 53000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

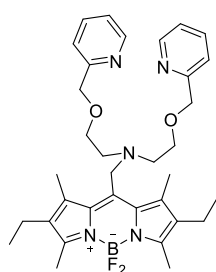


**8-(2-[(2-Ацетоксиэтил)амино]этилацетат)-2,6-диэтил-4,4-дифторо-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S11)**

К раствору **18** (200 мг, 0.49 ммоль, 1.0 экв) в сухого MeCN (50 мл) добавили при перемешивании йодид калия (81 мг, 0.49 ммоль, 1.0 экв),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (202 мг, 1.46 ммоль, 3.0 экв) и 2-[(2-ацетоксиэтил)амино]этилацетат **16** (220 мг, 0.97 ммоль, 2.0 экв). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 3 ч и охладили до комнатной температуры. Растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очищали

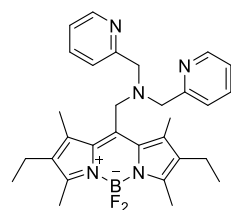


методом колоночной хроматографии (петр. эф. – EtOAc, 1:1). Оранжево-красное твердое вещество, выход 57 мг (46%), т. пл. 135 – 137 °С,  $R_f$  0.14 (петр. эф. EtOAc – 5 : 1).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.13 (т, 4Н,  $J = 5.1$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 4.09 (с, 2Н,  $\text{CH}_2$ ), 3.01 (т, 4Н,  $J = 5.1$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.53 (с, 6Н,  $2\text{CH}_3$ -1,7), 2.47 – 2.31 (м, 4Н,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.40 (с, 6Н,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 1.98 (с, 6Н,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 1.07 (т,  $J = 7.33$  Гц, 6Н,  $2 \times \text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.9 ( $2 \times \text{CO}$ ), 153.7 ( $2 \times \text{C}$ ), 137.1 ( $2 \times \text{C}$ ), 133.2 ( $2 \times \text{C}$ ), 132.8 ( $2 \times \text{C}$ ), 62.3 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 51.2 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 50.2 ( $\text{CH}_2$ ), 20.8 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 17.3 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 14.7 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 13.7 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 12.6 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), сигнала от одного атома углерода в спектре не наблюдается.  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -146.49 (кв,  $^1J_{\text{F-B}} = 33.09$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.71 (т,  $^1J_{\text{B-F}} = 33.09$  Гц, В). ИК (KBr): 3445, 2966, 1732, 1547, 1194, 980, 724, 536  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_4$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 506.3001; найдено  $m/z$  506.3004. UV-vis (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} = 537$  нм ( $\epsilon = 74000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).



**8-((Бис(2-(пиридин-2-илметокси)этил)амино)метил)-2,6-диэтил-4,4-дифторо-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S12)**

К раствору **18** (74 мг, 0.18 ммоль, 1.0 экв) в сухом MeCN (18.5 мл) добавили при перемешивании йодид калия (30 мг, 0.18 ммоль, 1.0 экв),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (75 мг, 0.54 ммоль, 3.0 экв) и бис(2-(пиридин-2-илметокси)этил)амин **17** (97 мг, 0.35 ммоль, 2.0 экв). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 часов и охладили до комнатной температуры. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли методом колоночной хроматографии (петр. эф. – EtOAc, 1:1),  $R_f$  0.14 (петр. эф. EtOAc – 4 : 1). Темно-красное твердое вещество, выход 17.7 мг (16%), т. пл. 148 – 150 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.54 (д, 2Н,  $J = 4.2$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.66 (дд, 2Н,  $J = 1.7, 7.9$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.34 (д, 2Н,  $J = 4.2$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.17 (дд, 2Н,  $J = 1.7, 7.9$  Гц,  $2 \times \text{CH}$ ), 4.56 (с, 4Н,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 4.16 (с, 2Н,  $\text{CH}_2$ ), 3.65 (т, 4Н,  $J = 5.7$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 3.06 (т, 4Н,  $J = 5.7$  Гц,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.51 (с, 6Н,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.40 (с, 6Н,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.38 – 2.31 (м, 4Н,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 1.01 (т,  $J = 7.5$  Гц, 6Н,  $2 \times \text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  158.3 ( $2 \times \text{C}$ ), 153.3 ( $2 \times \text{C}$ ), 148.9 ( $2 \times \text{CH}$ ), 138.3 ( $2 \times \text{C}$ ), 137.3 ( $2 \times \text{C}$ ), 136.7 ( $2 \times \text{CH}$ ), 133.1 ( $2 \times \text{C}$ ), 132.9 (C), 122.2 ( $2 \times \text{CH}$ ), 121.2 ( $2 \times \text{CH}$ ), 73.7 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 69.7 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 52.6 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 50.6 ( $\text{CH}_2$ ), 17.3 ( $2 \times \text{CH}_2$ ), 14.6 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 13.8 ( $2 \times \text{CH}_3$ ), 12.5 ( $2 \times \text{CH}_3$ ).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -146.45 (кв,  $^1J_{\text{F-B}} = 32.03$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (96 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.60 (т,  $^1J_{\text{B-F}} = 32.03$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{BF}_2\text{N}_5\text{O}_2$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 604.3635, найдено  $m/z$  604.3629.

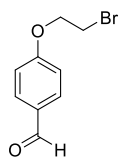


**8-((Бис(пиридин-2-илметил)амино)метил)-2,6-диэтил-4,4-дифторо-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S13)**

К раствору **18** (80 мг, 0.20 ммоль, 1.0 экв) в сухого MeCN (20 мл) добавили

при перемешивании йодид калия (73 мг, 0.44 ммоль, 2.2 экв),  $K_2CO_3$  (61 мг, 0.44 ммоль, 2.2 экв) и 2,2'-дипиколиламин 20 (80 мг, 0.40 ммоль, 2.0 экв). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 8 часов и охладили до комнатной температуры. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Остаток повторно растворили в  $H_2O$  (50 мл) и водную фракцию экстрагировали  $CH_2Cl_2$  ( $3 \times 20$  мл). Органическую фракцию сушили над  $Na_2SO_4$  и концентрировали в вакууме. Продукт выделяли методом колоночной хроматографии ( $CH_2Cl_2$  – метанол, 10 : 1). Пурпурно-красное твердое вещество, выход 3.4 мг (31%), т. пл. 253 – 255 °С,  $R_f$  0.30 ( $CH_2Cl_2$  – MeOH, 10 : 1).  $^1H$  ЯМР (300 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.55 (д, 2H,  $J = 5.1$  Гц,  $2 \times CH$ ), 7.71 (дд, 2H,  $J = 1.4, 8.1$  Гц,  $2 \times CH$ ), 7.17-7.32 (м, 4H,  $4 \times CH$ ), 4.25 (с, 2H,  $CH_2$ ), 3.93 (с, 4H,  $2 \times CH_2$ ), 2.49 (с, 6H,  $2 \times CH_3$ ), 2.40 (кв, 4H,  $J = 7.3$  Гц,  $2 \times CH_2$ ), 2.25 (с, 6H,  $2 \times CH_3$ ), 1.04 (т, 6H,  $J = 7.3$  Гц,  $2 \times CH_3$ ).  $^{13}C$  ЯМР (75 МГц,  $CDCl_3$ ): 186.1, 184.9, 165.3, 161.0, 153.5, 148.4, 137.4, 136.9, 133.3, 132.4, 124.4, 122.4, 103.9, 99.8, 57.3, 49.0, 45.8, 29.7, 17.2, 14.8, 13.8, 12.5.  $^{19}F$  ЯМР (282 МГц  $CDCl_3$ ):  $\delta$  -140.25 (кв,  $^1J_{F-B} = 33.03$  Гц, 2F).  $^{11}B$  ЯМР (96 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  0.80 (т,  $^1J_{B-F} = 33.03$  Гц). UV-vis (MeCN):  $\lambda_{max} = 538$  нм ( $\epsilon = 22000$   $M^{-1} cm^{-1}$ ). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $C_{30}H_{36}BFN_5$  ( $[M-F]^+$ ) 496.3048, найдено 496.3040.

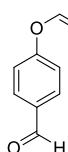
## V.2. Разработка сенсоров на основе полифенол-замещенного БОДИПИ



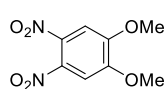
### 4-(2-бромэтокси)бензальдегид (31)

Получен по литературной методике [158]. 4-Гидроксибензальдегид (2.4 г, 20.0 ммоль, 1.0 экв) и 1,2-дибромэтан (8.6 мл, 100.0 ммоль, 5.0 экв) растворили в сухом  $\text{CH}_3\text{CN}$  (60 мл). Затем добавили безводный  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (4.4 г, 30.0 ммоль, 1.5 экв) и полученную реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 6 часов. После этого смесь охладили до комнатной температуры и фильтровали. Твердый остаток промыли  $\text{CH}_3\text{CN}$  (3 × 20 мл), и объединенный фильтрат сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли колоночной хроматографией на силикагеле (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 10 : 1 → 5 : 1). Белого твердое вещество, выход 3.0 г (65%), т. пл. 55 – 58 °С.  $R_f$  (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 5 : 1) = 0.5.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.90 (с, 1H, CHO), 7.85 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.02 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H, 2 × CH), 4.38 (т,  $J = 6.2$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.67 (т,  $J = 6.2$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ). LRMS (ESI, LC-MS) рассчитано для  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{BrO}_2$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 230.1, найдено  $m/z$  230.1.

### 4-(Винилокси)бензальдегид (32)



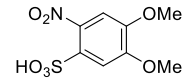
Получен по литературной методике [158]. 4-(2-бромэтокси)бензальдегид (0.9 г, 4.0 ммоль, 1.0 экв) растворили в сухом ДМСО (20 мл). Затем добавили  $^t\text{BuOK}$  (0.5 г, 4.4 ммоль, 1.1 экв) и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут. После чего смесь разбавили  $\text{EtOAc}$  (30 мл), промыли водой (3 × 15 мл), насыщенным водным раствором  $\text{NaCl}$  (3 × 15 мл) и сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Органический слой упарили при пониженном давлении и продукт выделили колоночной хроматографией на нейтральном оксиде алюминия (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 50 : 1 → 10 : 1). Бесцветное масло, 136 мг (23%),  $R_f$  (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 5 : 1) = 0.65.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.93 (с, 1H, CHO), 7.89 (д,  $J = 8.4$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.12 (д,  $J = 8.4$  Гц, 2H, 2 × CH), 6.72 (дд,  $J = 6.0$  Гц, 13.6 Гц, 1H, CH), 4.97 (дд,  $J = 1.2$  Гц, 13.6 Гц, 1.2 Гц, 1H, CH), 4.64 (дд,  $J = 1.2$ , 6.0, 1.2 Гц, 1H, CH). LRMS (ESI, LC-MS) рассчитано для  $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_2$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 149.2, найдено  $m/z$  149.2

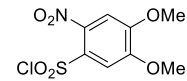


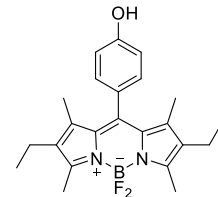
### 1,2-Диметокси-4,5-динитробензол (28)

Получен по литературной методике [137]. 1,2-Диметоксибензол (10 мл, 78.2 ммоль, 1.0 экв) добавляли по каплям к концентрированной азотной кислоте (65%, водный раствор, 100 мл) при интенсивном перемешивании при охлаждении ледяной водой. Реакционную смесь довели до комнатной температуры, затем дополнительно выдержали в течение 2 часов при 80 °С. Полученную смесь охладили до 0 °С. Выпавший осадок фильтровали, промывали деионизированной водой до нейтральной реакции фильтрата. Продукт очищали перекристаллизацией из горячего этанола (150 мл). Выход 13.2 г (74%), т. пл. 131-132

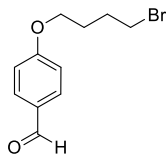
°С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.35 (с, 2H, 2  $\times$  CH), 4.02 (с, 6H, 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ). LRMS (ESI, LC-MS) рассчитано для  $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_6$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 229.1, найдено  $m/z$  229.2

 **4,5-Диметокси-2-нитробензолсульфовая кислота (29)**  
Получена по литературной методике [159]. Суспензию 1,2-диметокси-4,5-динитробензола (10.0 г, 0.044 моль, 1.0 экв) в (150 мл) в водном растворе 10%  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  кипятили с обратным холодильником в течение 1 часа. Реакционную смесь фильтровали, затем фильтрат концентрировали в вакууме и полученный порошок кипятили с обратным холодильником в  $\text{MeOH}$  (200 мл) в течении 2 часов. Выпавший  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  отфильтровывали. Растворитель отогнали при пониженном давлении. К продукту добавили  $\text{EtOAc}$  (200 мл) и  $\text{HCl}$  (10%, водный раствор, 200 мл). Реакционную смесь экстрагировали  $\text{EtOAc}$  (1 л), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель упарили в вакууме. Продукт выделяли с помощью колоночной флэш-хроматографией на силикагеле с обращенной фазой, функционализированном октадецилом (40-75 мкм) ( $\text{CH}_3\text{CN} - \text{H}_2\text{O}$ , 1 : 0  $\rightarrow$  0 : 1). Желтое твердое вещество, выход 1.0 г (16%). Т. пл. 157-159 °С.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  7.94 (с, 1H, CH), 7.36 (с, 1H, CH), 3.96 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.83 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ). LRMS (ESI, LC-MS) рассчитано для  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_7\text{S}$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 264.2, найдено  $m/z$  264.2

 **4,5-Диметокси-2-нитробензолсульфонил хлорид (30)**  
Получен по литературной методике [136]. Смесь 4,5-диметокси-2-нитробензолсульфоновой кислоты (542 мг, 2.0 ммоль, 1.0 экв) и тионилхлорида (5 мл) кипятили с обратным холодильником в течение ночи. Полученную смесь вылили в ледяную воду и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  (3  $\times$  15 мл). Органический слой промыли водой (3  $\times$  15 мл) и высушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт получили в виде аналитически чистого образца и использовали на следующей стадии без очистки. Темное масло, выход 216 мг (38%).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.59 (с, 1H, CH), 7.41 (с, 1H, CH), 3.91 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.83 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ). ИК (тонкая пленка): 3384, 3063, 2943, 2852, 1731, 1685, 1579, 1538, 1512 1459, 1442, 1374, 1360, 1278, 1263, 1227, 1168 1139, 1023, 977, 950, 876, 856, 837, 791, 748, 691, 664, 613  $\text{cm}^{-1}$  LRMS (ESI, LC-MS) рассчитано для  $\text{C}_8\text{H}_9\text{ClNO}_6\text{S}$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 282.7, найдено  $m/z$  282.6.

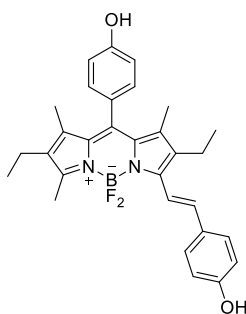
 **2,6-Диэтил-4,4-дифтор-8-(4-гидроксифенил)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен (24)**  
3-Этил-2,4-диметилпиррол (2.7 мл, 20.0 ммоль, 2.5 экв) и 4-гидроксибензальдегид (1.0 г, 8.0 ммоль, 1.0 экв) растворили в сухом  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (600 мл). К полученной смеси добавили трифторуксусную кислоту (50  $\mu\text{l}$ , 0.7 моль, 10 моль.%) и перемешивали при комнатной температуре в течение 50 мин. Затем добавляли DDQ (1.9 г, 8.0 ммоль, 1.0 экв) и дополнительно реакционную смесь перемешивали в течение 50 мин с

последующим добавлением триэтиламина (16 мл, 120.0 ммоль, 6.0 экв). После перемешивания в течение 30 минут добавили  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (16 мл, 128.0 ммоль, 6.4 экв). Смесь выдержали при перемешивании в течение 10 часов при комнатной температуре. Полученную смесь промывали водн. 1.0 М раствором  $\text{KHSO}_4$  ( $3 \times 200$  мл), деионизированной водой (200 мл), и сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении. Колоночной хроматографией (элюент пентан –  $\text{EtOAc}$ , 10:1  $\rightarrow$  5:1). Красное твердое вещество, выход 763 мг (24%), т.пл. 288 - 290 °С (т.пл. 290 °С) [160].  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.04 (д,  $J = 8.5$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}$ ), 6.87 (д,  $J = 8.5$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}$ ), 2.45 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 2.23 (кв,  $J = 7.6$  Гц, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 1.27 (с, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 0.91 (т,  $J = 7.6$  Гц, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ), сигнал OH – группы не наблюдался. LRMS (ESI, LC-MS) рассчитано для  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 397.3, найдено  $m/z$  397.3.



#### 4-(4-Бромбутокс)бензальдегид (15)

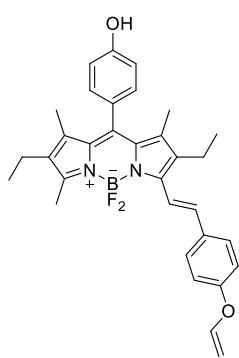
Получен согласно литературной методике [160]. 4-гидроксибензальдегид (1.2 г, 10.0 ммоль, 1.0 экв), безводный  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (2.1 г, 15.0 ммоль, 1.5 экв) и 1,4-дибромбутан (4.3 г, 20.0 ммоль, 2.0 экв) растворили в сухом ДМФА (20 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Осадок отфильтровали, фильтрат разбавили  $\text{EtOAc}$  (70 мл) и промыли деионизированной водой ( $3 \times 30$  мл). Органический слой сушили безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отгоняли при пониженном давлении. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией (элюент пентан –  $\text{EtOAc}$ , 10: 1). Бесцветное твердое вещество, выход 1.14 г (44%), т.пл 44 – 43 °С ( т. пл. лит = 43 °С) [161].  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.90 (с, 1H, CHO), 7.86 (д,  $J = 8.4$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}$ ), 7.01 (д,  $J = 8.4$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}$ ), 4.07 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.51 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.12-2.04 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.03-1.95 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ); LRMS (ESI+): рассчитано для  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{BrO}_2$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), 258.0, найдено  $m/z = 258.0$ .



#### (E)-4-(2-(2,8-Диэтил-5,5-дифтор-10-(4-гидроксифенил) --2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (BPB)

4-Гидроксибензальдегид (33 мг, 0.3 ммоль, 1.0 экв), пиперидин (400 мкл) и  $\text{TsOH}$  (10 ммоль%) последовательно добавили к раствору соединения **26** (100 мг, 0.3 ммоль, 1.0 экв) в сухом толуоле (10 мл). Полученную смесь нагревали до температуры кипения до полного испарения растворителя. Затем добавляли еще 7 мл сухого толуола и смесь повторно нагревали до полного испарения растворителя. Полученное твердое вещество растворили в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мл) и трижды промыли водным 1.0 М раствором  $\text{KHSO}_4$  (1.0 М) ( $3 \times 10$  мл), деионизированной водой ( $2 \times 10$  мл) и сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли колоночной хроматографией (элюент пентан –  $\text{EtOAc}$ , 4:1), что позволило получить 8

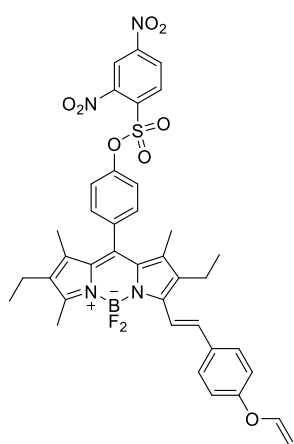
мг (6%) голубого аморфного порошка. Была проведена дополнительная очистка полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ (система D,  $t_R = 40-42$  мин). Выход 5.0 мг (4%), т.пл. = 296 - 297 °С,  $R_f 0.2$  (пентан – EtOAc, 4 : 1).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.59 (д,  $J = 16.6$  Гц, 1H, CH), 7.49 (д,  $J = 8.5$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.18 – 7.12 (м, 3H, 3 × CH), 6.96 (д,  $J = 8.6$  Гц, 2H, 2 × CH), 6.84 (д,  $J = 8.5$  Гц, 2H, 2 × CH), 2.62 – 2.54 (м, 5H,  $\text{CH}_2 + \text{CH}_3$ ), 2.32 (кв,  $J = 7.5$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.36 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.14 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.00 (т,  $J = 7.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), сигналы OH-групп не наблюдались.  $^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  160.2 (2 × C), 155.8 (C), 151.4 (C), 142.3 (C), 140.7 (C), 140.5 (C), 136.9 (2 × C), 135.1 (C), 134.6 (C) 134.1 (C), 131.5 (2 × CH), 131.0 (C), 130.2 (2 × CH), 128.4 (CH), 118.8 (CH), 117.7 (2 × CH), 117.4 (2 × CH), 19.7 ( $\text{CH}_2$ ), 18.5 ( $\text{CH}_2$ ), 15.6 ( $\text{CH}_3$ ), 15.1 ( $\text{CH}_3$ ), 13.4 ( $\text{CH}_3$ ), 12.8 ( $\text{CH}_3$ ), 12.5 ( $\text{CH}_3$ ).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (470 МГц  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -142.37 (кв,  $^1J_{F-B} = 33.6$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (160 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.02 (т,  $^1J_{B-F} = 33.6$  Гц); ИК (KBr): 3107, 2962, 2926, 1646, 1598, 1539, 1520, 1452, 1386, 1348, 1333, 1240, 1190, 1169, 1141, 1115, 1066, 1047, 1003, 959, 930, 878, 846, 826, 785, 769, 753, 735, 702, 674, 612  $\text{cm}^{-1}$ . UV-vis (10 mM PB + 50 % EtOH, 25 °С):  $\lambda_{\text{max}} = 583$  нм ( $\epsilon = 34300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ); Флуоресценция (PB + 50 % EtOH, 25 °С):  $\lambda_{\text{max}} = 603$  нм ( $\Phi_F 100$  %). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 501.4290, найдено  $m/z$  501.4291.



**(E) -4- (2,8-Диэтил-5,5-дифтор-1,3,9-триметил-7- (4- (винилокси) стирил) --2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацен (33)**

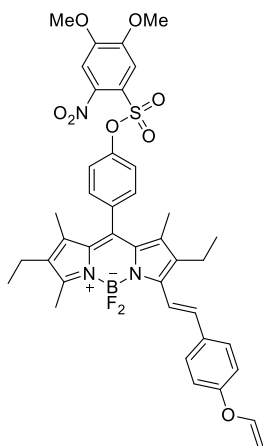
4-(Винилокси)бензальдегид (40 мг, 0.3 ммоль, 1.5 экв), пиперидин (1 мл) и TsOH (10 мг, 0.06 ммоль, 0.3 экв) последовательно добавляли при перемешивании к раствору соединения **26** (90 мг, 0.2 ммоль, 1.0 экв) в сухом толуоле (30 мл). Полученную смесь кипятили при 140 °С до полного испарения растворителя. Затем добавили свежую порцию толуола (25 мл) и пиперидина (1 мл) и повторно кипятили пять раз. Продукт выделяли флэш-хроматографией ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – EtOAc, 10 : 1) с дополнительной очисткой полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ (система А,  $t_R = 30-32$  мин). Синий аморфный порошок, выход 1 мг (1%), т.пл. 285 - 289 °С,  $R_f 0.2$  (пентан – EtOAc, 5: 1).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.63 (д,  $J = 16.7$  Гц, 1 H, CH), 7.56 (д,  $J = 8.6$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.20 – 7.10 (м, 3H, 3 × CH), 7.02 – 6.94 (м, 4H, 4 × CH), 6.67 (дд,  $J = 13.7, 6.0$  Гц, 1H, CH), 4.81 (дд,  $J = 1.7, 13.7$  Гц, 1H, CH), 4.48 (дд,  $J = 6.1, 1.7$  Гц, 1H, CH), 2.63 – 2.55 (м, 5H,  $\text{CH}_2 + \text{CH}_3$ ), 2.32 (кв,  $J = 7.5$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.36 (с, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 1.15 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.99 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ). сигнал OH-группы не наблюдался.  $^{19}\text{F}$  ЯМР (470 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -142.23(кв,  $J_{F-B} = 32.5$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (160 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.02 (т,  $J_{B-F} = 32.5$  Гц, B). ИК(KBr): 3473, 2960, 2924, 2869, 1601, 1529, 1509, 1448, 1401, 1387, 1362, 1328, 1264, 1184, 1165, 1113, 1062, 1002,

695, 924, 891, 859, 821, 762, 703  $\text{cm}^{-1}$ . UV-vis (PB, 25 °C):  $\lambda_{\text{max}} = 599 \text{ nm}$  ( $\epsilon=34800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ); Флуоресценция (PB, 25 °C):  $\lambda_{\text{max}} = 540 \text{ nm}$  ( $\Phi_{\text{F}} 0.2\%$ ); HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 527.1157, найдено  $m/z$  527.1155.



**(E) -4- (2,8-Диэтил-5,5-дифтор-1,3,9-триметил-7- (4- (винилокси) стирил) --2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен (S21)**

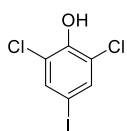
К суспензии соединения **33** (15 мг, 0.03 ммоль, 1.0 экв) в сухом  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мл) при 0 °C добавили  $\text{Et}_3\text{N}$  (5  $\mu\text{l}$ , 0.037 ммоль, 1.23 экв). Смесь перемешивали в течение 5 мин и затем добавили 2,4-динитробензолсульфонилхлоридом (10 мг, 0.037 моль, 1.23 экв). Полученную смесь выдерживали при 0 °C в течение 30 минут, затем разбавили  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 мл), промыли 1.0 М  $\text{KHSO}_4$  (10 мл) и сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделили колоночной флэш-хроматографией (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 10 : 1  $\rightarrow$  7 : 1), дополнительной очисткой полупрепаративной ОФ-ВЖХ (система В,  $t_{\text{R}} = 28 - 30$  мин). Аморфный порошок синего цвета, выход 2 мг (9%), т.пл. 274 - 276 °C,  $R_f$  0.4 (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 5: 1).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.72 (д,  $J = 2.2$  Гц, 1H, CH), 8.54 (дд,  $J = 2.2, 8.6$  Гц, 1H, CH), 8.26 (д,  $J = 8.6$  Гц, 1H, CH), 7.67 – 7.55 (м, 3H, CH+CH+CH), 7.45 – 7.35 (м, 4H, CH+CH+CH+CH), 7.21 (д,  $J = 16.7$  Гц, 1H, CH), 7.07 – 7.00 (м, 2H, 2  $\times$  CH), 6.69 (дд,  $J = 6.0, 13.7$  Гц, 1H, CH), 4.84 (дд,  $J = 1.7, 13.7$  Гц, 1H, CH), 4.51 (дд,  $J = 1.7, 6.0$  Гц, 1H, CH), 2.62 – 2.58 (м, 5H,  $\text{CH}_2 + \text{CH}_3$ ), 2.34 (кв,  $J = 7.5$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.29 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.28 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.17 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.02 (т,  $J = 7.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  157.1 (2  $\times$  C), 156.2 (C), 151.0 (C), 149.1 (2  $\times$  C), 147.7 (2  $\times$  C), 138.0 (C), 137.7 (C), 136.6 (2  $\times$  C), 136.2 (2  $\times$  C), 134.7 (2  $\times$  C), 133.8 (CH), 133.5 (2  $\times$  C), 132.4 (2  $\times$  CH), 130.7 (2  $\times$  CH), 128.6 (CH), 126.2 (2  $\times$  CH), 122.9 (CH), 120.4 (2  $\times$  CH), 117.2 (2  $\times$  CH), 95.7 (CH), 34.1 ( $\text{CH}_2$ ), 22.3 ( $\text{CH}_2$ ), 17.1 ( $\text{CH}_3$ ), 14.5 ( $\text{CH}_3$ ), 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 11.9 ( $\text{CH}_3$ ), 11.6 ( $\text{CH}_3$ ).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (470 МГц  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -142.40 (кв,  $^1J_{\text{F-B}} = 33.2$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (160 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.94 (т,  $^1J_{\text{B-F}} = 33.2$  Гц). ИК(KBr): 3107, 2962, 2925, 1646, 1598, 1536, 1505, 1452, 1385, 1348, 1333, 1240, 1190, 1169, 1141, 1115, 1066, 1046, 10003, 959, 929, 878, 846, 826, 785, 769, 753, 702, 674, 613  $\text{cm}^{-1}$ . MALDI-TOF: рассчитано для  $\text{C}_{38}\text{H}_{35}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{S}^+$   $[\text{M}]^+$  756.6, найдено  $m/z$  756.6. UV-vis (PB + 10% MeCN, 25 °C):  $\lambda_{\text{max}} = 599 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 41200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). HRMS (ESI/Q-TOF) рассчитано для  $\text{C}_{38}\text{H}_{36}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 757.5812, найдено  $m/z$  757.5811



**(E)-4-(2,8-Диэтил-5,5-дифтор-1,3,9-триметил-7-(4-(винилокси) стирил)-2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-4-фенил-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацен (S18)**

К суспензии соединения **33** (10 мг, 0.02 ммоль, 1.0 экв) в сухом  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мл) при 0 °С добавили  $\text{Et}_3\text{N}$  (4 мкл, 0.04 ммоль, 2.0 экв). Смесь перемешивали в течение 5 минут и добавили 4,5-диметокси-2-нитробензолсульфонилхлоридом (9 мг, 0.03 ммоль, 1.5 экв). Полученную смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 минут, затем разбавили  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 мл), промыли 1.0 М  $\text{KHSO}_4$  (10 мл) и сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделили колоночной флэш-хроматографией (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 10 : 1 → 7 : 1). С дополнительной очисткой полупрепаративной ОФ-ВЖХ (система В,  $t_R = 20 - 23$  мин). Синий аморфный порошок, выход 2.0 мг (13%), т. пл. 270 – 272 °С,  $R_f$  0.4 (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 5: 1).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.61 (д,  $J = 16.8$  Гц, 1H, CH), 7.55 (д,  $J = 8.7$ , 2H, 2 × CH), 7.46 – 7.35 (м, 4H, CH+CH+CH), 7.32 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.17 (д,  $J = 16.8$  Гц, 1H, CH), 7.01 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H, 2 × CH), 6.67 (дд,  $J = 6.0$ , 13.7, 1H, CH), 4.82 (дд,  $J = 1.7$ , 13.7, Гц, 1H, CH), 4.49 (д,  $J = 6.1$ , 1.7 Гц, 1H, CH), 4.04 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.95 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.58 - 2.56 (м, 5H,  $\text{CH}_2 + \text{CH}_3$ ), 2.31 (кв,  $J = 7.5$ , 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.26 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.25 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.14 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.99 (т,  $J = 7.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  157.1 (C), 156.1 (C), 153.3 (C), 151.0 (C), 149.6 (C), 149.5 (C), 147.7 (C), 142.7 (C), 138.0 (C), 137.2 (C), 135.4 (C), 134.6 (C), 134.1 (C), 133.2 (C), 132.5 (C), 131.7 (C), 131.6 (C), 130.3 (2 × CH), 128.6 (2 × CH), 123.2 (2 × CH), 120.9 (CH), 117.2 (2 × CH), 113.5 (CH), 108.3 (CH), 95.7 (2 × CH), 57.0 (2 ×  $\text{CH}_3$ ), 56.9 (2 ×  $\text{CH}_3$ ), 18.3 ( $\text{CH}_2$ ), 17.1 ( $\text{CH}_2$ ), 14.5 ( $\text{CH}_3$ ), 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 18.8 ( $\text{CH}_2$ ) 11.9 ( $\text{CH}_3$ ), 11.5 ( $\text{CH}_3$ ).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (470 МГц  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -142.41 (кв,  $^1J_{F-B} = 34.0$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (160 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.96 (т,  $^1J_{B-F} = 34.0$  Гц). ИК(KBr): 2959, 2921, 2041, 1711, 1643, 1596, 1535, 1505, 1450, 1376, 1361, 1332, 1280, 1229, 1186, 1170, 1138, 1113, 1063, 1033, 10004, 963, 865, 824, 792, 766, 732, 704  $\text{cm}^{-1}$ . UV-vis (PB + 10% MeCN, 25 °С):  $\lambda_{\text{max}} = 597$  нм ( $\epsilon = 35800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для  $\text{C}_{40}\text{H}_{41}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 772.2664, найдено  $m/z$  772.2677.

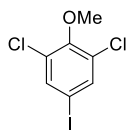


**2-(Бензилокси)-1,3-дихлор-5-йодбензол (35)**

Получен согласно литературной методике [162]. К раствору 2,6-дихлорфенола (408 мг, 2.5 ммоль, 1.0 экв) в ТГФ (5 мл) добавили *N*-йодсукцинимид (225 мг, 3.75 ммоль, 1.5 экв). Полученную смесь перемешивали в течении 8 часов при 25 °С, после чего обработали 10% водным раствором  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (10 мл). Водный слой экстрагировали  $\text{EtOAc}$  (3 × 10 мл), и объединенный органический слой промыли насыщенным водным раствором  $\text{NaCl}$ . Органический слой сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (20 мл). После упаривания растворителя при

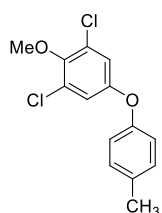


пониженном давлении продукт выделили колоночной флэш-хроматографией (элюент пентан – EtOAc, 100 : 1). Твердое бесцветное вещество, выход 350 мг (49%), т.пл. 91 – 92 °С (т. пл. лит 91– 92 °С) [162]. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.49 (с, 2H). сигнал OH-группы не наблюдался. LRMS (ESI): рассчитано для C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>IO ([M+H]<sup>+</sup>) 289.1, найдено *m/z* = 289.1.



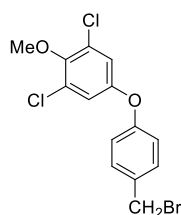
### 1,3-Дихлоро-5-иодо-2-метоксибензол (36)

Получен согласно литературной методике [162]. 2-(Бензилокси)-1,3-дихлор-5-иодбензол **35** (1.6 г, 5.6 ммоль, 1.0 экв) растворили в ДМФА (20 мл). Затем добавили Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.2 г, 6.7 ммоль, 1.2 экв) и метилйодид (0.4 мл, 6.7 моль, 1.2 экв). Через 2 часа полученную смесь разбавили водой (100 мл) и экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 40 мл). Объединенные органические слои промыли 1% HCl (60 мл) и затем сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отгоняли при пониженном давлении. Продукт выделили колоночной флэш-хроматографией (пентан – EtOAc, 100 : 1). Твердое бесцветное вещество, выход 1.2 г (71%), т.пл. 82 – 83 °С (т.пл. лит. 82-83 °С) [162]. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 7.57 (с, 2H, 2 × CH), δ 3.81 (с, 3H, CH<sub>3</sub>). LRMS (ESI): рассчитано для C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>IO ([M+H]<sup>+</sup>) 302.8, найдено *m/z* = 302.9.



### 1,3-Дихлоро-2-метокси-5-(*p*-толилокси)бензол (37)

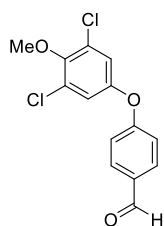
Получен согласно модифицированной литературной методике [142]. Смесь 1,3-дихлоро-5-иодо-2-метоксибензола **36** (314 мг, 1.0 ммоль, 1.0 экв), 3-метоксифенола (168 мг, 1.5 ммоль, 1.5 экв), CuI (19 мг, 0.10 ммоль, 0.1 экв), *N,N*-диметилглицина гидрохлорида (32 мг, 0.31 ммоль, 0.3 экв) и Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (676 мг, 2.0 ммоль, 2.0 экв) в 1,4-диоксане (6 мл) перемешивали при 90 °С в течение 36 часов в атмосфере аргона. Реакционной смеси дали остыть до комнатной температуры, разбавили EtOAc (10 мл), промыли 1M HCl (8 мл), затем водой. Органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отогнали про пониженном давлении. Продукт выделяли флэш-хроматографией (EtOAc – пентан, 1 : 100). Твердое бесцветное вещество, выход 154 мг (53%), т.пл. 90 – 91 °С. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.07 (д, *J*=7.9 Гц, 2H, 2 × CH), 6.83-6.80 (м, 4H, 2 × CH+CH+CH), 3.77 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.26 (с, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 154.2 (C), 153.6 (C), 147.7 (C), 134.1 (C), 130.6 (2 × CH), 129.7 (2 × CH), 119.5 (2 × CH), 118.2 (2 × CH), 60.8 (CH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 364.1215, найдено *m/z* 364.1216.



### 5-(4-(Бромметил)фенокси)-1,3-дихлоро-2-метоксибензол (38)

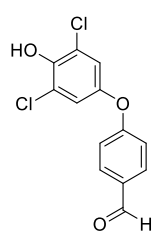
Получен согласно модифицированной литературной методике [142]. Смесь 1,3-дихлоро-2-метокси-5-(*p*-толилокси)бензола **37** (709 мг, 2.5 ммоль, 1.0 экв), *N*-бромсукцинимид (557 мг, 3.1 ммоль, 1.25 экв) и 2,2'-азо-бис-изобутиронитрила (10 мг, 0.062 ммоль, 0.025 экв) кипятили в CCl<sub>4</sub> (5 мл) с обратным холодильником в течение 5

часов. Охлажденный раствор профильтровали, и фильтрат концентрировали в вакууме. Продукт выделили флэш-хроматографией (пентан – EtOAc, 100 : 1). Бесцветное масло, выход 732 мг (50%). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.32 (д, *J*=8.5 Гц, 2H, 2 × CH), 6.60-6.87 (м, 4H, 2 × CH+CH+CH), 4.43 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.81 (с, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 156.4 (C), 133.6 (C), 130.8 (C), 129.9 (C), 119.3 (4 × CH), 119.1 (4 × CH), 60.8 (CH<sub>2</sub>), 32.9 (CH<sub>3</sub>). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>BrCl<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 363.0246, найдено *m/z* 363.0245



#### 4-(3,5-дихлор-4-метоксифенокси)бензальдегид (39)

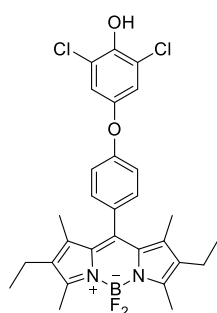
Получен согласно модифицированной литературной методике [142]. Раствор 5-(4-(бромметил)фенокси)-1,3-дихлоро-2-метоксибензола **38** (700 мг, 2.2 ммоль, 1.0 экв), гексаметилентетрамина (601 мг, 4.3 ммоль, 2.0 экв) кипятили в 50% уксусной кислоте (6 мл) в течение 1 ч. К охлажденному раствору добавили концентрированную HCl (1.5 мл) и реакционную смесь повторно кипятили с обратным холодильником в течение 1 часа. Охлажденный раствор экстрагировали EtOAc (3 × 5 мл), органическую фазу промывали водой (10 мл), 5% водным раствором Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и затем снова водой, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли флэш-хроматографией (пентан – EtOAc, 10 : 1). Светло-желтое масло, выход 628 мг (50%). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.88 (с, 1H, CHO), 7.82 (д, *J*= 8.7 Гц, 2H, 2 × CH), 7.02 (д, *J* = 8.7, 2H, 2 × CH), 6.97 (с, 2H, 2 × CH), 3.84 (с, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 190.6 (C=O), 161.9 (C), 151.2 (C), 148.3 (C), 132.1 (C), 130.25 (2 × CH), 120.3 (2 × CH), 119.1(2 × CH), 118.1 (2 × CH), 60.9 (CH<sub>3</sub>). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 298.1129, найдено *m/z* 298.1130



#### 4-(3,5-Дихлор-4-гидроксифенокси) бензальдегид (40)

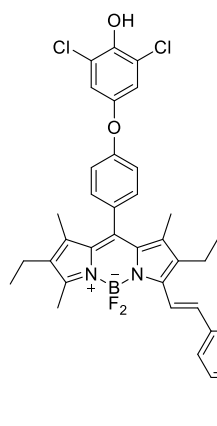
4-(3,5-дихлор-4-метоксифенокси)бензальдегид **39** (360 мг, 1.2 ммоль, 1.0 экв) растворили в смеси ледяной уксусной кислоты (12 мл) и HBr (12 мл, 48%). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 12 часов. Охлажденный раствор экстрагировали EtOAc (3 × 5 мл), органическую фазу промыли 1.0 М HCl (5 мл), водой (10 мл). Органический слой сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделили флэш-хроматографией (элюент пентан – EtOAc, 10 : 1). Светло-желтое масло, выход 120 мг (30%). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.88 (с, 1H, CHO), 7.82 (д, *J*=8.7 Гц, 2H, 2 × CH), 7.02 (д, *J*=8.7 Гц, 2H, 2 × CH), 6.97 (с, 2H, 2 × CH), сигнал OH-группы в спектре не наблюдался. <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 189.6 (C=O), 161.6 (C), 146.7 (C), 144.5 (C), 131.1 (C), 130.7 (2 × CH), 120.3 (2 × CH), 119.7 (2 × CH),

116.4 (2 × CH). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 282.9923, найдено *m/z* 282.9927.



**2,6-Дихлор-4-(4-(2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен-8-ил)феноксифенол (41)**

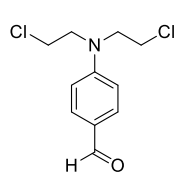
3-Этил-2,4-диметилпиррол (1.4 мл, 1.1 ммоль, 2.75 экв) и альдегид **40** (120 мг, 0.4 ммоль, 1.0 экв) растворили в безводном CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (62 мл), после чего добавили TFA (7 μл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 50 минут и затем добавили DDQ (96 мг, 0.44 ммоль, 1.1 экв) и смесь перемешивали еще 50 минут. Затем добавили Et<sub>3</sub>N (8 мл) и дополнительно перемешивали при комнатной температуре 30 минут, после чего добавили BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (8 мл) и перемешивали смесь в течение 2 часов при комнатной температуре. После этого смесь трижды промыли водным 1.0 М раствором KHSO<sub>4</sub> (3 × 200 мл), затем деионизированной водой. Органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли колоночной флэш-хроматографией (пентан – CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 5 : 1). Красное твердое вещество, выход 20 мг (9%), т.пл. 283 °С, R<sub>f</sub> 0.55 (пентан – EtOAc, 5 : 1). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.19 (д, *J* = 8.5 Гц, 2H, 2 × CH), 7.01 (д, *J* = 8.5 Гц, 2H, 2 × CH), 6.94 (с, 2H, 2 × CH), 2.46 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 2.25 (кв, *J* = 7.5 Гц, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 1.30 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 0.92 (т, *J* = 7.5 Гц, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), сигнал OH-группы в спектре не наблюдался. <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 152.9 (2 × C), 148.5 (2 × C), 143.6 (2 × C), 137.1 (2 × C), 130.1 (C), 129.1 (2 × C), 120.6 (2 × C), 118.4 (2 × C), 117.9 (2 × CH), 66.9 (2 × CH), 28.7 (2 × CH), 16.1 (2 × CH<sub>3</sub>), 13.6 (2 × CH<sub>3</sub>), 11.5 (2 × CH<sub>2</sub>), 10.8 (2 × CH<sub>3</sub>). <sup>19</sup>F ЯМР (470 МГц CDCl<sub>3</sub>): δ -142.40 (кв, <sup>1</sup>*J*<sub>F-B</sub> = 35.5 Гц, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (160 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.05 (т, <sup>1</sup>*J*<sub>B-F</sub> = 35.5 Гц). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>BCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 557.1740, найдено *m/z* 557.1442.



**(*E*)-2,6-Дихлор-4-(4-(2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,3,7-триметил-5-(4-(винилокси)стирил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен-8-ил)феноксифенол (S19)**

4-(Винилокси)бензальдегид **32** (5 мг, 0.03 ммоль, 1.0 экв), пиперидин (0.2 мл) и AcOH (125 μл) последовательно добавили к раствору соединения **40** (15 мг, 0.03 моль, 1.0 экв) в сухом толуоле (5 мл). Смесь кипятили при 140 °С (температура бани) до тех пор, пока все не испарилось весь растворитель. После этого снова добавляли толуол (5 мл) и пиперидин (0.2 мл), и протокол осушения повторили пять раз. Продукт выделили колоночной флэш-

хроматографией (пентан – EtOAc, 10 : 1) с последующей полупрепаративной ОФ-ВЖХ (система А,  $t_R = 23 - 25$  мин). Синее твердое вещество, выход 1 мг (1%), т. пл = 279 – 281 °С,  $R_f$  0.2 (пентан – EtOAc, 5 : 1).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.64 (д,  $J = 16.9$  Гц, 1H, CH), 7.56 (д,  $J = 6.9$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 7.28 (д,  $J = 8.6$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 7.18 (д,  $J = 16.9$  Гц, 1H, CH), 7.10 (д,  $J = 6.9$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 7.02 (с, 2H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 7.01 (д,  $J = 8.6$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 6.67 (дд,  $J = 6.1, 13.7$  Гц, 1H, CH), 4.82 (дд,  $J = 1.7, 13.7$  Гц, 1H, CH), 4.48 (дд,  $J = 1.7, 6.0$  Гц, 1H, CH), 2.67 – 2.55 (м, 5H,  $\text{CH}_2 + \text{CH}_3$ ), 2.34 (кв, 2H,  $J = 7.5$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.41 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.39 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.16 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.01 (т,  $J = 7.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), ОН-группа в спектре не наблюдалась.  $^{19}\text{F}$  ЯМР (470 МГц  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta -142.40$  (кв,  $^1J_{F-B} = 35.5$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (160 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta 1.05$  (т,  $^1J_{B-F} = 35.5$  Гц). UV-vis (PB, 25 °С):  $\lambda_{\text{max}} = 593$  нм ( $\epsilon = 14000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для  $\text{C}_{38}\text{H}_{36}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) рассчитано для 687.2159, найдено  $m/z$  687.2155.

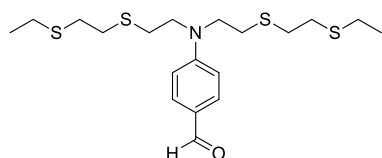


#### 4-(Бис(2-хлорэтил)амино)бензальдегид (43)

Получен согласно литературной методике [158]. Смесь *N,N*-диэтоксанилина (1.6 г, 100 моль, 1.0 экв),  $\text{POCl}_3$  (4.5 мл) и ДМФА (10 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 5 часов. Полученную реакцию смесь вылили в ледяную воду (300 мл) и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 100$  мл). Объединенную органическую фазу сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделили колоночной хроматографией (элюент  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 - \text{EtOAc}$ , 10:1). Желтое твердое вещество, выход 0.44 г (36%), т.пл. 87 – 88 °С (т. пл. лит 87-88 °С).  $R_f$  0.2 (пентан – EtOAc, 1 : 1) [163].  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.78 (с, 1H, CHO), 7.77 (д,  $J = 9.1$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}$ ), 6.74 (д,  $J = 9.1$  Гц, 2H,  $2 \times \text{CH}$ ), 3.84 (т,  $J = 6.8$  Гц, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 3.68 (т,  $J = 6.8$  Гц, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ). LRMS (ESI): рассчитано для  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NCl}_2\text{O}$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 246.0, найдено  $m/z$  246.0.

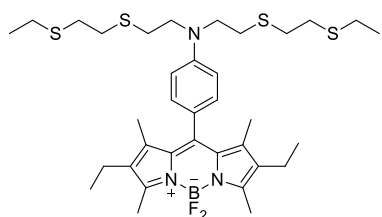
#### 2-(Этилтио)этан-1-тиол

Получен согласно литературной методике [164]. В атмосфере азота смесь дитиоэтиленгликоля (5.0 г, 53.0 ммоль, 4.8 экв) и гидроксида натрия (0.64 г, 16 ммоль, 1.5 экв) в ТГФ (53 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 1 часа. Затем по каплям добавили раствор этилиодида (1.6 г, 11 ммоль, 1.0 экв) в ТГФ (21 мл), и реакцию смесь кипятили с обратным холодильником еще в течение 1 ч в атмосфере азота. Бесцветная жидкость, выход 486 мг (36%). Продукт очищали вакуумной перегонкой т. кип. 72 – 74 °С при давлении 15 Торр (т. кип. лит. 71-73 °С при давлении 15 Торр) [165].  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.80 – 2.65 (м, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.60 – 2.50 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.25 (т,  $J = 7.4$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ). LRMS (ESI): рассчитано для  $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{S}$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 123.0, найдено  $m/z$  123.0.



#### 4-(Бис(2 -((2-(этилтио)этил)тио)этил)амино) бензальдегид (45)

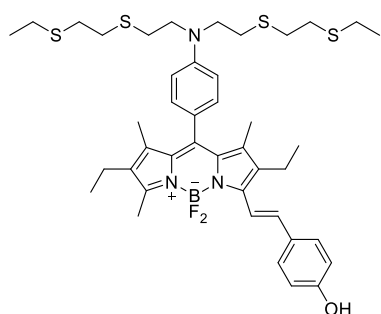
Получен согласно литературной методике [143]. В атмосфере аргона металлический натрий (1.29 г, 56 ммоль, 5 экв) добавили в абсолютном этаноле (60 мл) и добавили к раствору 3-тиопентан-1-тиола (4.1 г, 33.6 ммоль, 3.0 экв). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течении 1 часа. Затем к раствору тиолата по каплям добавляли раствор бис(2-хлорэтокс)бензальдегида (2.53 г, 11.2 ммоль) в абсолютном этаноле (35 мл) и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником еще в течение 4 часов. Затем к раствору добавляли ДМФА (20 мл) и дополнительно кипятили в течение 4 часов. Полученную смесь разбавили  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (300 мл) и промыли ее водой. Объединенную органическую фазу сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . После отгонки растворителя продукт использовали без дополнительной очистки. Бесцветное масло, выход 3.1 г (69%).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.89 (с, 1H, CHO), 7.08 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 6.76 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 3.65 – 3.58 (м, 4H, 2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 2.85 – 2.71 (м, 12H, 6  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 2.59 (кв,  $J = 7.4$  Гц, 4H, 2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 1.27 (т,  $J = 7.4$  Гц, 6H, 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ). LRMS (ESI): рассчитано для  $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{NOS}_4$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 418.1, найдено  $m/z$  418.1



#### 4-(2,6-Диэтил-4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен-8-ил)-N,N-бис(2-((2-(этилтио)этил)тио)этил)анилин (46)

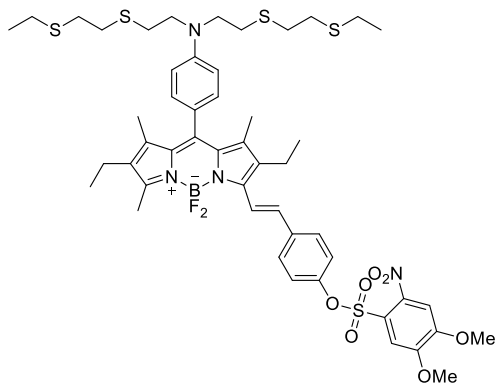
Получен согласно литературной методике [143]. 3-Этил-2,4-диметилпиррол (2.5 мл, 18.0 ммоль, 2.5 экв), альдегид **45** (3.1 г, 7.4 ммоль, 1.0 экв) растворили в сухом  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (600 мл) и затем добавили TFA (50  $\mu\text{l}$ , 0.6 ммоль, 0.08 экв). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 50 минут, после чего добавили DDQ (1.7 г, 7.4 ммоль, 1.0 экв). Смесь перемешивали еще 50 мин с последующим добавлением  $\text{Et}_3\text{N}$  (16 мл, 120.0 ммоль, 16.2 экв). После 30 мин перемешивания добавили  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (16 мл, 128.0 ммоль, 17.3 экв). Смесь перемешивали в течение 10 часов при комнатной температуре. По окончании реакции смесь трижды промывали водным 1.0 М раствором  $\text{KHSO}_4$  (3  $\times$  200 мл), и деионизированной водой (100 мл). Органический слой сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделили колоночной флэш-хроматографией (пентан –  $\text{EtOAc}$ , 20 : 1  $\rightarrow$  10 : 1). Красное твердое вещество, выход 20 мг (10%), т.пл. 231 – 235  $^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.08 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 6.76 (д,  $J = 8.8$  Гц, 2H, 2  $\times$  CH), 3.65 – 3.58 (м, 4H, 2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 2.85 – 2.71 (м, 12H, 6  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 2.59 (кв,  $J = 7.4$  Гц, 4H, 2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 2.52 (с, 6H, 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 2.31 (кв,  $J = 7.5$  Гц, 4H, 2  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 1.38 (с, 6H, 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 1.27 (т,  $J = 7.5$  Гц, 6H, 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 0.99 (т,  $J = 7.5$  Гц, 6H, 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ).  $^{19}\text{F}$  ЯМР (470 МГц

$\text{CDCl}_3$ ):  $\delta -142.40$  (кв,  $^1J_{F-B} = 35.5$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (160 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta 1.05$  (т,  $^1J_{B-F} = 35.5$  Гц). LRMS (ESI): рассчитано для  $\text{C}_{35}\text{H}_{53}\text{BF}_2\text{N}_3\text{S}_4$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 692, найдено  $m/z$  692.



**(E)-4-(2-(8-(4-(Бис(2-((2-этилтио)этил)тио)этил)амино)фенил)-2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,3,7-триметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен-5-ил)винил)фенол (47)**

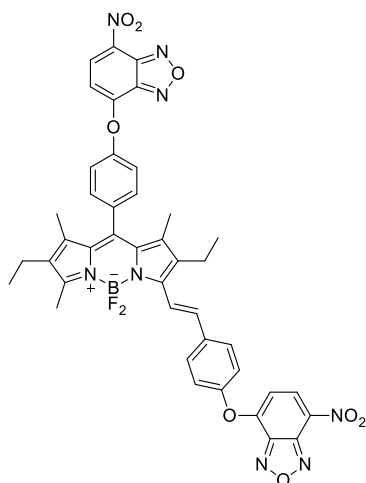
В круглодонной колбе к раствору соединения **46** (20 мг, 0.028 ммоль, 2.5 экв) в сухом толуоле (25 мл) последовательно добавили 4-гидроксibenзальдегид (13 мг, 0.11 ммоль, 1.0 экв), пиперидин (1.0 мл) и TsOH (10 моль%). Полученную смесь кипятили до полного испарения растворителя. Затем добавляли еще 20 мл сухого толуола и повторно кипятили с выпариванием растворителя. Полученное твердое вещество растворили в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10$ ) и промыли водным 1.0 М раствором  $\text{KHSO}_4$  ( $3 \times 10$  мл), и затем деионизированная водой ( $2 \times 10$  мл). Органический слой сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли полупрепаративной ОФ-ВЖХ (система С,  $t_R = 40-45$  мин). Синее твердое вещество, выход 2.0 мг (2%).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta 7.59$  (д,  $J = 16.5$  Гц, 1H, CH), 7.48 (д,  $J = 8.6$  Гц, 2H,  $2 \times$  CH), 7.14 (д,  $J = 16.5$  Гц, 1H, CH), 7.10 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H,  $2 \times$  CH), 6.84 (д,  $J = 8.6$  Гц, 2H,  $2 \times$  CH), 6.77 (д,  $J = 8.7$  Гц, 2H,  $2 \times$  CH), 3.65 – 3.61 (м, 4H,  $2 \times$   $\text{CH}_2$ ), 2.88 – 2.72 (м, 12H,  $6 \times$   $\text{CH}_2$ ), 2.63 – 2.46 (м, 4H,  $2 \times$   $\text{CH}_2$ ), 1.45 – 1.33 (м, 8H,  $2 \times$   $\text{CH}_2 + \text{CH}_3 + \text{OH}$ ), 1.28 (с, 6H,  $2 \times$   $\text{CH}_3$ ), 1.15 (т,  $J = 7.4$  Гц, 6H,  $2 \times$   $\text{CH}_3$ ), 1.00 (т,  $J = 7.4$  Гц, 6H,  $2 \times$   $\text{CH}_3$ ). сигнал OH-группы не наблюдался.  $^{19}\text{F}$  ЯМР (470 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta -142.41$  (кв,  $^1J_{F-B} = 34.0$  Гц, 2F).  $^{11}\text{B}$  ЯМР (160 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta 0.96$  (т,  $^1J_{B-F} = 34.0$  Гц). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для  $\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{BF}_2\text{N}_3\text{OS}_4$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) 795.5159, найдено  $m/z$  795.5161.



**(E)-4-(2-(8-(4-(бис(2-((2-этилтио)этил)тио)этил)амино)фенил)-2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,3,7-триметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен-5-ил)винил)фенил 3,4-диметокси-2-нитробензолсульфонат (S20)**

К суспензии соединения **47** (6.2 мг, 2.5  $\mu\text{моль}$ , 1.0 экв) в сухом  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мл) при 0 °С добавляли  $\text{Et}_3\text{N}$  (1 мкл, 12  $\mu\text{моль}$ , 4.8 экв). Смесь перемешивали при охлаждении в течение 5 минут и затем обработали 4,5-диметокси-2-нитробензолсульфонилхлоридом (4 мг, 12  $\mu\text{моль}$ , 4.8 экв). Полученную смесь выдерживали при 0 °С в течение 30 минут, затем разбавили

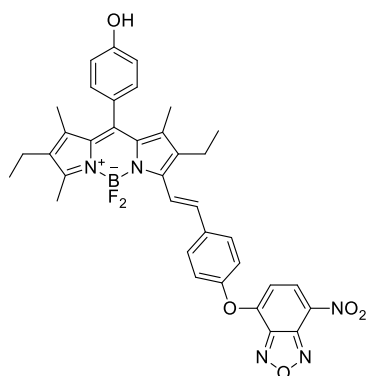
CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 мл), промыли водным 1.0 М КНСО<sub>4</sub> (10 мл) и сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделен полупрепаративной ОФ-ВЖХ (система С, t<sub>Р</sub> = 50-55 мин). Синее твердое вещество, выход 1.7 мг (65%). <sup>1</sup>Н ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.65 (д, J = 16.8 Гц, 1Н, СН), 7.59 (с, 1Н, СН), 7.53 (д, J = 8.7 Гц, 2Н, 2 × СН), 7.31 (с, 1Н, СН), 7.21 (д, J = 8.7 Гц, 2Н, 2 × СН), 7.11 (д, J = 8.5 Гц, 2Н, 2 × СН), 7.09 (д, J = 8.5 Гц, 2Н, 2 × СН), 6.81 (д, J = 16.8 Гц, 1Н, 1 × СН), 4.03 (с, 3Н, СН<sub>3</sub>), 3.90 (с, 3Н, СН<sub>3</sub>), 2.87 – 2.73 (м, 12Н, 6 × СН<sub>2</sub>), 2.67 – 2.52 (м, 4Н, 2 × СН<sub>2</sub>), 1.46 – 1.34 (м, 16Н, 3 × СН<sub>3</sub>), 1.14 (т, J = 7.5 Гц, 6Н, 2 × СН<sub>3</sub>), 1.00 (т, J = 7.5 Гц, 6Н, 2 × СН<sub>3</sub>). <sup>19</sup>F ЯМР (470 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -142.41 (кв, <sup>1</sup>J<sub>F-B</sub> = 34.0 Гц, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (160 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 0.96 (т, <sup>1</sup>J<sub>B-F</sub> = 34.0 Гц). UV-vis (PB + 10% MeCN, 25 °C), λ<sub>max</sub> = 595 нм (ε = 16000 М<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>) HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>50</sub>H<sub>64</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S<sub>5</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 1041.3434, найдено m/z 1041.3439.



**(E)-4-(4-(2,6-Диэтил-4,4-дифтор-1,3,7-триметил-5-(4-((7-нитробензо[с][1,2,5]оксадиазол-4-ил)окси)стирил)-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен-8-ил)фенокси)-7-нитробензо[с][1,2,5]оксадиазол (S15)**

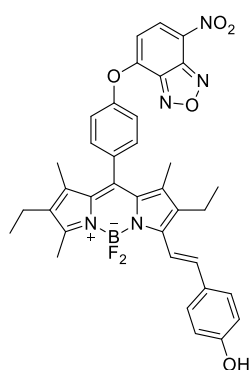
К суспензии соединения **ВРВ** (25 мг, 0.05 ммоль, 1.0 экв) в сухом CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 мл) при 0 °C добавили 4-хлоро-7-нитробензофуран (20 мг, 0.1 ммоль, 2.0 экв). Смесь перемешивали в течение 5 минут и затем обработали DIPEA (26 мл, 0.15 ммоль, 3.0 экв). Полученную смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 минут, затем 5 часов при комнатной температуре. Растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт выделяли колоночной флэш-хроматографией (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH, 100 : 1). Синее твердое вещество, выход 5.0 мг (25%), т. пл. 210 – 212 °C, R<sub>f</sub> 0.6 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH, 4 : 1). <sup>1</sup>Н ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.52 (д, J = 8.3 Гц, 1Н, СН) 8.45 (д, J = 8.3 Гц, 1Н, СН), 7.78 – 7.71 (м, 3Н, СН+СН+СН), 7.53 (д, J = 8.1 Гц, 2Н, 2 × СН), 7.44 (д, J = 8.1 Гц, 2Н, 2 × СН), 7.29 - 7.22 (м, 3Н, СН+СН+СН), 6.65 (д, J = 8.3 Гц, 1Н, СН), 6.61 (д, J = 8.3 Гц, 1Н, СН), 2.70 – 2.57 (м, 5Н, СН<sub>2</sub> + СН<sub>3</sub>), 2.37 (кв, J = 7.7 Гц, 2Н, СН<sub>2</sub>), 1.47 (с, 3Н, СН<sub>3</sub>), 1.45 (с, 3Н, СН<sub>3</sub>), 1.20 (т, J = 7.5 Гц, 3Н, СН<sub>3</sub>), 1.04 (т, J = 7.6 Гц, 3Н, СН<sub>3</sub>). <sup>13</sup>С ЯМР (126 МГц CDCl<sub>3</sub>): δ 157.7 (С), 154.3 (С), 153.6 (С), 153.5 (С), 152.6 (С), 148.1 (С), 145.2 (С), 145.1 (С), 144.2 (С), 144.1 (С), 139.2 (С), 137.7 (С), 136.7 (С), 134.8 (С), 133.4 (С), 133.3 (2 × СН), 132.9 (2 × СН), 132.8 (С), 132.4 (С), 131.6 (С), 131.3 (С), 131.2 (2 × СН), 130.7 (С), 129.3 (2 × СН), 128.8 (С), 121.7 (2 × СН), 121.2 (2 × СН), 108.3 (СН), 107.7 (СН), 29.7 (СН<sub>3</sub>), 18.3 (СН<sub>2</sub>), 17.2 (СН<sub>2</sub>), 14.5 (СН<sub>3</sub>), 14.2 (СН<sub>3</sub>), 12.2 (СН<sub>3</sub>), 11.7 (СН<sub>3</sub>). <sup>19</sup>F ЯМР (470 МГц CDCl<sub>3</sub>): δ -142.14 (кв, <sup>1</sup>J<sub>F-B</sub> = 33.6 Гц, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (160 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.02 (т,

$^1J_{B-F} = 33.6$  Гц). UV-vis (10 mM PB + 50 % EtOH, 25 °C):  $\lambda_{max} = 590$  нм ( $\epsilon = 31800$  M<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>). HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>42</sub>H<sub>34</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 827.5883, найдено  $m/z$  827.5888.



**(E)-4-(2-(2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,3,7-триметил-5-((7-нитробензо[с][1,2,5]оксадиазол-4-ил)окси)стирил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен-8-ил)фенол (S16)**

Выделен как побочный продукт при синтезе соединения **S15**. Очищали полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ, система В ( $t_R = 19-21$  мин). Синие твердое вещество, выход 3.8 мг (24%),  $R_f$  0.5 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH, 4 : 1). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.45 (д,  $J = 8.3$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.75 – 7.70 (м, 3H, CH+CH+CH), 7.19 (д,  $J = 17.0$  Гц, 1H, CH), 7.16 (д,  $J = 8.4$  Гц, 2H, 2 × CH), 6.98 (д,  $J = 8.4$  Гц, 2H, 2 × CH), 6.60 (д,  $J = 8.3$  Гц, 2H, 2 × CH), 2.64 – 2.55 (м, 5H, CH<sub>2</sub> + CH<sub>3</sub>), 2.33 (кв,  $J = 7.5$  Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.40 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.39 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.17 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.01 (т,  $J = 7.6$  Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), сигнал OH-группы не наблюдался. <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  157.3 (C), 156.6 (C), 154.8 (C), 152.7 (C), 147.7 (C), 145.6 (C), 144.6 (C), 140.36 (C), 138.6 (C), 137.4 (C), 134.7 (C), 133.8 (2 × C), 133.3 (C), 132.5 (C), 131.1 (C), 130.1 (2 × CH), 129.6 (2 × CH), 128.33 (C), 122.0 (CH), 121.6 (2 × CH), 116.6 (2 × CH), 108.1 (CH), 41.3 (CH<sub>2</sub>), 30.1 (CH<sub>2</sub>), 18.7 (CH<sub>3</sub>), 17.5 (CH<sub>3</sub>), 14.9 (CH<sub>3</sub>), 14.6 (CH<sub>3</sub>), 13.3 (CH<sub>3</sub>), 12.5 (CH<sub>3</sub>), 11.9 (CH<sub>3</sub>). <sup>19</sup>F ЯМР (470 МГц CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  -142.37 (кв,  $^1J_{F-B} = 33.5$  Гц, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (160 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.02 (т,  $^1J_{B-F} = 33.5$  Гц). UV-vis (10 mM PB + 50 % EtOH, 25 °C):  $\lambda_{max} = 578$  нм ( $\epsilon = 63000$  M<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>). LR-MS (ESI+) рассчитано для C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>BFN<sub>5</sub>O<sub>5</sub> ([M-F]<sup>+</sup>) 644.2, найдено  $m/z$  644.2.

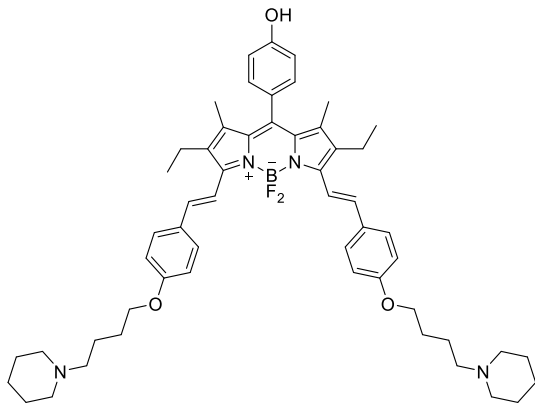


**(E)-4-(2-(2,6-диэтил-4,4-дифтор-1,3,7-триметил-8-((7-нитробензо[с][1,2,5]оксадиазол-4-ил)окси)фенил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен-5-ил)винил)фенол**

Выделен как побочный продукт при синтезе соединения **S15**. Очищали полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ, система В ( $t_R = 20-22$  мин). Синие твердое вещество, выход 3.8 (1%),  $R_f$  0.4 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH, 4 : 1). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.51 (д,  $J = 8.3$  Гц, 1H, CH), 7.60 (д,  $J = 16.8$  Гц, 1H, CH), 7.51 (д,  $J = 8.2$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.45 (д,  $J = 8.2$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.42 (д,  $J = 8.5$  Гц, 2H, 2 × CH), 7.20 (д,  $J = 16.8$  Гц, 1H, CH), 6.86 (д,  $J = 8.5$  Гц, 2H, 2 × CH), 6.63 (д,  $J = 8.2$  Гц, 1H, CH), 2.67 – 2.56 (м, 5H, CH<sub>2</sub> + CH<sub>3</sub>), 2.35 (кв,  $J = 7.5$  Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.44 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.43 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.17 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.02 (т,  $J = 7.6$  Гц, 3H, CH<sub>3</sub>). сигнал OH-группы не наблюдался. <sup>19</sup>F ЯМР (470 МГц

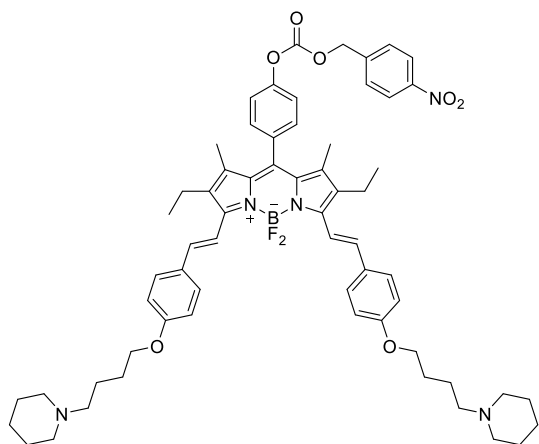


CDCl<sub>3</sub>): δ -142.38 (кв, <sup>1</sup>J<sub>F-B</sub> = 33.6 Гц, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (160 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.01 (т, <sup>1</sup>J<sub>B-F</sub> = 33.6 Гц). LR-MS (ESI+) рассчитано для C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>BFN<sub>5</sub>O<sub>5</sub> ([M-F]<sup>+</sup>) 644.2, найдено m/z 644.2.



**4-(2,6-Диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-3,5-бис((E)-4-(4-(пиперидин-1-ил)бутокс)стирил)-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен-8-ил)фенол (26)**

4-(4-Бромбутокс) бензальдегид (648 мг, 2.5 ммоль, 5.0 экв), пиперидин (1 мл) и TsOH (10 моль%) последовательно добавляли к соединению **24** (200 мг, 0.5 ммоль, 1.0 экв) в сухом толуоле (60 мл). Полученную смесь концентрировали досуха кипячением. Затем добавляли дополнительное количество сухого толуола (10 мл) и смесь снова нагревали до точки кипения. Полученное твердое вещество растворяли в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 мл), последовательно промыли водным 1.0 М KHSO<sub>4</sub> (3 × 10 мл) и деионизированной воды (2 × 10 мл). Органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отогнали под вакуумом. Продукт выделяли колоночной хроматографией (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH, 100: 1) и затем ОФ-ВЭЖХ (система А): t<sub>R</sub> = 4.8 мин (чистота 91% при 260 нм и >99% при 670 нм). Темно-синее твердое вещество, выход 30 мг (2%), R<sub>f</sub> 0.23 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH, 100:1), т пл. 281-283 °С. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ 7.59 (д, J = 8.8 Гц, 4H, 4 × CH), 7.48 (д, J = 7.3 Гц, 2H, 2 × CH), 7.27 (д, J = 7.3 Гц, 2H, 2 × CH), 7.16 (д, J = 8.4 Гц, 2H, 2 × CH), 7.04 (д, J = 8.8 Гц, 4H, 4 × CH), 6.96 (д, J = 8.4 Гц, 2H, 2 × CH), 4.12-4.08 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 3.09-3.13 (м, 5H, 2 × CH<sub>2</sub>), 2.88 (кв, J = 7.0 Гц, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 2.68 – 2.56 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 1.88-1.60 (м, 23H, 14 × CH<sub>2</sub>), 1.42 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 1.05 (т, J = 7.0 Гц, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), сигнал OH-группы не наблюдался. <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ 159.8 (2 × C), 158.6 (C), 158.3 (2 × C), 149.8 (C), 139.7 (4 × CH), 139.4 (2 × C), 135.7 (C), 133.2 (2 × CH), 130.0 (2 × CH), 129.0 (2 × CH), 125.6 (2 × C), 122.4 (4 × CH), 118.3 (2 × C), 117.5 (2 × C), 115.5 (2 × CH), 56.5 (2 × CH<sub>2</sub>), 56.0 (4 × CH<sub>2</sub>), 52.5 (2 × CH<sub>2</sub>), 40.5 (2 × CH<sub>2</sub>), 36.9 (2 × CH<sub>2</sub>), 26.2 (2 × CH<sub>2</sub>), 23.0 (2 × CH<sub>2</sub>), 21.8 (2 × CH<sub>2</sub>), 20.8 (2 × CH<sub>2</sub>), 14.4 (2 × CH<sub>3</sub>), 11.9 (2 × CH<sub>3</sub>). <sup>19</sup>F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ -136.69 (кв, <sup>1</sup>J<sub>F-B</sub> = 67.5 Гц, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (160 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ 1.01 (т, <sup>1</sup>J<sub>B-F</sub> = 67.5 Гц). LRMS (ESI+): рассчитано для C<sub>55</sub>H<sub>70</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) 883.6, рассчитано для C<sub>55</sub>H<sub>71</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>)/2 442.3; найдено m/z = 442.4 (100%), 883.6 (45%).



**4-(2,6-Диэтил-4,4-дифтор-1,7-диметил-3,5-бис((*E*)-4-(4-(пиперидин-1-ил)бутокс)стирил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен-8-ил)фенил(4-нитробензил)карбонат (S17)**

Соединение **26** (15 мг, 0.014 ммоль, 1.0 экв) и Et<sub>3</sub>N (7 мкл, 0.05 ммоль, 3.6 экв) растворили в сухом CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 мл) и раствор охлаждали до 0 °С. Затем к раствору добавили 4-нитробензилкарбохлоридат (11 мг, 0,05 ммоль, 3,) и полученную реакционную смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 минут. После этого смесь разбавляли CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 мл), последовательно промывали водн. 1 М КНСО<sub>4</sub> (10 мл) и сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель отгоняли под вакуумом. Продукт выделяли колоночной хроматографией (элюент CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH, 100 : 1 → 100 : 9) и затем ОФ-ВЭЖХ (система А): *t<sub>R</sub>* = 5.2 мин (чистота 96% при 260 нм и 100% при 670 нм). Темно-синее твердое вещество, выход 5 мг (40%), т.пл. 277 – 279 °С. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ 8.21 (д, *J* = 8.8 Гц, 2H, 2 × CH), 7.62 (д, *J* = 8.8 Гц, 2H, 2 × CH), 7.52 (д, *J* = 7.2 Гц, 2H, 2 × CH), 7.48 (д, *J* = 8.7 Гц, 4H, 4 × CH), 7.24 (д, *J* = 8.7 Гц, 2H, 2 × CH), 7.18 (д, *J* = 7.2 Гц, 2H, 2 × CH), 6.91 (д, *J* = 8.7 Гц, 4H, 4 × CH), 6.82 (д, *J* = 8.8 Гц, 2H, 2 × CH), 5.34 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.08-4.02 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 3.11 – 3.02 (м, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 2.85 (кв, *J* = 7.0, 4H, 2 × CH<sub>2</sub>), 1.92 – 1.61 (м, 28H, 14 × CH<sub>2</sub>), 1.33 (с, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>), 1.05 (с, *J* = 7.0 Гц, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ 159.9 (C=O), 158.4 (C), 158.2 (2 × C), 156.2 (C), 154.5 (2 × C) 152.8 (C), 152.3 (C), 147.9 (C), 143.1 (2 × C), 139.2 (2 × C), 137.8 (4 × CH), 136.1 (2 × CH), 129.9 (2 × CH), 129.5 (2 × CH), 129.2 (2 × C), 125.1 (2 × CH), 124.2 (2 × C), 122.8 (4 × CH), 118.5 (2 × CH), 115.6 (2 × CH), 69.1 (CH<sub>2</sub>), 56.6 (2 × CH<sub>2</sub>), 56.0 (4 × CH<sub>2</sub>), 52.6 (2 × CH<sub>2</sub>), 40.6 (2 × CH<sub>2</sub>), 37.0 (2 × CH<sub>2</sub>), 26.3 (2 × CH<sub>2</sub>), 23.0 (2 × CH<sub>2</sub>), 21.8 (2 × CH<sub>2</sub>), 20.8 (2 × CH<sub>2</sub>), 14.4 (2 × CH<sub>3</sub>), 11.8 (2 × CH<sub>3</sub>). <sup>19</sup>F ЯМР (470 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ -136.74 (кв, <sup>1</sup>*J*<sub>F-B</sub> = 66.8 Гц, 2F). <sup>11</sup>B ЯМР (160 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): δ 1.07 (т, <sup>1</sup>*J*<sub>B-F</sub> = 66.8 Гц). LRMS (ESI+): рассчитано для C<sub>63</sub>H<sub>76</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>)/2 531.8, найдено *m/z* = 531.8. HRMS (ESI/Q-TOF): рассчитано для C<sub>63</sub>H<sub>76</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>)/2 531.7896, найдено 531.7872. UV-vis (H<sub>2</sub>O + 10 % ДМСО, 25 °С): λ<sub>max</sub> = 659 нм (ε = 19 000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

|                |   |
|----------------|---|
| БОДИПИ         | 4,4'-дифтор-4-бора-(3а,4а)-диаза- <i>s</i> -индацен                         |
| МЛЭ            | Молекулярный логический элемент   |
| DDQ            | 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон                                       |
| DIPEA          | диизопропилэтиламин   |
| HRMS           | масс-спектрометрия высокого разрешения                                      |
| <i>in situ</i> | «на месте» (лат.), непосредственно в реакционной смеси                      |
| <i>in vivo</i> | «в (на) живом»(лат.), то есть «внутри живого организма» или «внутри клетки» |
| АФК            | Активные формы кислорода  |
| NBD            | 4-хлор-7-нитробензофуран  |
| HEPES          | (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота                      |
| MOPS           | 3-[ <i>N</i> -Морфолино]пропансульфоновая кислота                           |
| MES            | 2-( <i>N</i> -морфолино)этансульфоновая кислота                             |
| PB             | фосфатный буфер   |
| TFA            | трифторуксусная кислота   |
| TMS            | триметилсилил   |
| Ts             | <i>n</i> -толилсульфонил  |
| UV             | ультрафиолетовое излучение с длиной волны 315 – 400 нм                      |
| DMCO           | диметилсульфоксид   |
| DMFA           | диметилформамид   |
| ИК             | инфракрасная спектроскопия  |
| ТГФ            | тетрагидрофуран   |

|      |   |
|------|---|
| ТСХ  | тонкослойная хроматография                  |
| ЯМР  | спектроскопия ядерного магнитного резонанса |
| NBS  | N-бромсукценимид                            |
| NIS  | N-йодсукценимид                             |
| BPB  | бисфенозамещенный-БОДИПИ                    |
| Cys  | цистеин                                     |
| Hcy  | гомоцистеин                                 |
| GSH  | глутатион                                   |
| XO   | ксантинооксидаза                            |
| B3MO | высшая занятая молекулярная орбиталь        |
| H3MO | низшая свободная молекулярная орбиталь      |
| PPi  | пирофосфат                                  |
| PET  | фотоиндуцированный перенос электрона        |
| ICT  | межмолекулярный перенос заряда              |
| RET  | резонансная передача энергии                |
| RDX  | 1,3,5-тринитропергидро-1,3,5-триазин        |
| PA   | пикриновая кислота                          |
| TNT  | 2,4,6-тринитротолуол                        |
| DCNP | диэтилцианофосфат                           |
| DFP  | диизопропилфторфосфат                       |
| DNBS | 2,4-динитробензосульфонил                   |
| СТАВ | бромид цетилтриметиламмония                 |
| CDI  | карбонилдиимидазол                          |

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Erbas-Cakmak S., Kolemen S., Sedgwick A. C., Gunnlaugsson T., James T. D., Yoon J., Akkaya E. U. Molecular logic gates: the past, present and future // *Chem. Soc. Rev.* – 2018. – Т. 47, № 7. – С. 2228-2248.
2. de Silva P. A., Gunaratne N. H., McCoy C. P. A molecular photoionic AND gate based on fluorescent signalling // *Nature.* – 1993. – Т. 364, № 6432. – С. 42-44.
3. Andréasson J., Pischel U. Molecules with a sense of logic: a progress report // *Chem. Soc. Rev.* – 2015. – Т. 44, № 5. – С. 1053-1069.
4. Andréasson J., Pischel U. Molecules with a sense of logic: a progress report // *Chemical Society Reviews.* – 2015. – Т. 44, № 5. – С. 1053-1069.
5. Aragay G., Pons J., Merkoçi A. Recent trends in macro-, micro-, and nanomaterial-based tools and strategies for heavy-metal detection // *Chemical reviews.* – 2011. – Т. 111, № 5. – С. 3433-3458.
6. Kolemen S., Akkaya E. U. Reaction-based BODIPY probes for selective bio-imaging // *Coordination Chemistry Reviews.* – 2018. – Т. 354. – С. 121-134.
7. Boens N., Leen V., Dehaen W. Fluorescent indicators based on BODIPY // *Chem. Soc. Rev.* – 2012. – Т. 41, № 3. – С. 1130-1172.
8. Vitvitsky V. M., Garg S. K., Keep R. F., Albin R. L., Banerjee R. Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> ion imbalances in Alzheimer's disease // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease.* – 2012. – Т. 1822, № 11. – С. 1671-1681.
9. De Silva A. P., Gunaratne H. N., Gunnlaugsson T., Huxley A. J., McCoy C. P., Rademacher J. T., Rice T. E. Signaling recognition events with fluorescent sensors and switches // *Chem. Rev.* – 1997. – Т. 97, № 5. – С. 1515-1566.
10. de Silva A. P., Uchiyama S. Molecular logic gates and luminescent sensors based on photoinduced electron transfer // *Luminescence Applied in Sensor Science* Springer, 2010. – С. 1-28.
11. Boens N., Leen V., Dehaen W. Fluorescent indicators based on BODIPY // *Chemical Society Reviews.* – 2012. – Т. 41, № 3. – С. 1130-1172.
12. Infochemistry: information processing at the nanoscale. / Szacilowski K.: John Wiley & Sons, 2012.
13. De Silva A. P., Gunaratne H. N., Gunnlaugsson T., Huxley A. J., McCoy C. P., Rademacher J. T., Rice T. E. Signaling recognition events with fluorescent sensors and switches // *Chemical reviews.* – 1997. – Т. 97, № 5. – С. 1515-1566.
14. Loudet A., Burgess K. BODIPY dyes and their derivatives: syntheses and spectroscopic properties // *Chemical reviews.* – 2007. – Т. 107, № 11. – С. 4891-4932.

15. Ulrich G., Ziessel R., Harriman A. The chemistry of fluorescent bodipy dyes: versatility unsurpassed // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2008. – T. 47, № 7. – C. 1184-1201.
16. Treibs A., Kreuzer F. H. Difluoroboryl-komplexe von di-und tripyrrylmethenen // *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. – 1968. – T. 718, № 1. – C. 208-223.
17. Erbas-Cakmak S., Kolemen S., Sedgwick A. C., Gunnlaugsson T., James T. D., Yoon J., Akkaya E. U. Molecular logic gates: the past, present and future // *Chemical Society Reviews*. – 2018. – T. 47, № 7. – C. 2228-2248.
18. Romieu A. “AND” luminescent “reactive” molecular logic gates: a gateway to multi-analyte bioimaging and biosensing // *Organic & biomolecular chemistry*. – 2015. – T. 13, № 5. – C. 1294-1306.
19. Alemdaroğlu T., Onur E., Akgün H. Determination of major and trace elements in sediments of lake Eğridir, Turkey // *International journal of environmental studies*. – 2000. – T. 57, № 2. – C. 157-166.
20. Que E. L., Domaille D. W., Chang C. J. Metals in neurobiology: probing their chemistry and biology with molecular imaging // *Chemical reviews*. – 2008. – T. 108, № 5. – C. 1517-1549.
21. Ackerman C. M., Lee S., Chang C. J. Analytical methods for imaging metals in biology: from transition metal metabolism to transition metal signaling // *Analytical chemistry*. – 2017. – T. 89, № 1. – C. 22-41.
22. Shi W.-J., Li C.-F., Huang Y., Tan H.-y., Wei Y.-F., Liu F., Feng L.-X., Zheng L., Chen G.-S., Yan J.-w. A remarkable colorimetric probe for fluorescent ratiometric and ON-OFF discriminative detection of Hg<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> by double-channel imaging in living cells // *Dyes Pigm.* – 2019. – T. 171. – C. 107782.
23. Gul A., Oguz M., Kursunlu A. N., Yilmaz M. A novel colorimetric/fluorometric dual-channel sensor based on phenolphthalein and Bodipy for Sn (II) and Al (III) ions in half-aqueous medium and its applications in bioimaging // *Dyes Pigm.* – 2020. – T. 176. – C. 108221.
24. Jesu Raj J. G. Bio/chemical sensing and generation of reactive oxygen species based on upconverting nanoparticles; Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, 2017.
25. Eçik E. T., Şenkuytu E., Okutan E., Çiftçi G. Y. Synthesis of BODIPY-cyclotetraphosphazene triad systems and their sensing behaviors toward Co (II) and Cu (II) // *Inorganica Chim. Acta*. – 2019. – T. 495. – C. 119009.
26. Shen B. X., Qian Y. Triphenylamine-BODIPY Fluorescent Dendron: Click Synthesis and Fluorometric Chemodosimeter for Hg<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> Based on the C=N Bond // *ChemistrySelect*. – 2017. – T. 2, № 8. – C. 2406-2413.
27. Zhang X., Xu Y., Guo P., Qian X. A dual channel chemodosimeter for Hg<sup>2+</sup> and Ag<sup>+</sup> using a 1, 3-dithiane modified BODIPY // *New J Chem*. – 2012. – T. 36, № 8. – C. 1621-1625.

28. Chen Y., Pan H., Wang F., Zhao Y., Yin H., Chen Y., Zhang J., Jiang J. An ultrafast BODIPY single molecular sensor for multi-analytes (acid/base/ $\text{Cu}^{2+}$ / $\text{Bi}^{3+}$ ) with different sensing mechanism // *Dyes Pigm.* – 2019. – T. 165. – C. 279-286.
29. Karakuş E., Üçüncü M., Emrulloğlu M. A rhodamine/BODIPY-based fluorescent probe for the differential detection of Hg (II) and Au (III) // *ChemComm.* – 2014. – T. 50, № 9. – C. 1119-1121.
30. Xie X., Qin Y. A dual functional near infrared fluorescent probe based on the bodipy fluorophores for selective detection of copper and aluminum ions // *SENSOR ACTUAT B-CHEM.* – 2011. – T. 156, № 1. – C. 213-217.
31. Cheng T., Wang T., Zhu W., Yang Y., Zeng B., Xu Y., Qian X. Modulating the selectivity of near-IR fluorescent probes toward various metal ions by judicious choice of aqueous buffer solutions // *Chem.Comm.* – 2011. – T. 47, № 13. – C. 3915-3917.
32. Li S., Cao D., Hu Z., Li Z., Meng X., Han X., Ma W. A chemosensor with a paddle structure based on a BODIPY chromophore for sequential recognition of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{HSO}_3^-$  // *RSC Adv.* – 2019. – T. 9, № 59. – C. 34652-34657.
33. Bozdemir O. A., Guliyev R., Buyukcikir O., Selcuk S., Kolemen S., Gulseren G., Nalbantoglu T., Boyaci H., Akkaya E. U. Selective manipulation of ICT and PET processes in styryl-bodipy derivatives: applications in molecular logic and fluorescence sensing of metal ions // *J. Am. Chem. Soc.* – 2010. – T. 132, № 23. – C. 8029-8036.
34. Yuan M., Zhou W., Liu X., Zhu M., Li J., Yin X., Zheng H., Zuo Z., Ouyang C., Liu H. A multianalyte chemosensor on a single molecule: promising structure for an integrated logic gate // *J ORG CHEM.* – 2008. – T. 73, № 13. – C. 5008-5014.
35. Gu Z., Cheng H., Shen X., He T., Jiang K., Qiu H., Zhang Q., Yin S. A BODIPY derivative for colorimetric fluorescence sensing of  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  ions and its application in logic gates // *Spectrochim. Acta A.* – 2018. – T. 203. – C. 315-323.
36. More A. B., Mula S., Thakare S., Chakraborty S., Ray A. K., Sekar N., Chattopadhyay S. An acac-BODIPY dye as a reversible “ON-OFF-ON” fluorescent sensor for  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{S}^{2-}$  ions based on displacement approach // *J. Lumin.* – 2017. – T. 190. – C. 476-484.
37. Cheng T., Wang T., Zhu W., Chen X., Yang Y., Xu Y., Qian X. Red-emission fluorescent probe sensing cadmium and pyrophosphate selectively in aqueous solution // *Org.* – 2011. – T. 13, № 14. – C. 3656-3659.
38. Coskun A., Deniz E., Akkaya E. U. Effective PET and ICT switching of boradiazaindacene emission: a unimolecular, emission-mode, molecular half-subtractor with reconfigurable logic gates // *Org.* – 2005. – T. 7, № 23. – C. 5187-5189.

39. Yu Y., Shu T., Fu C., Yu B., Zhang D., Luo H., Chen J., Dong C. A novel colorimetric sensor based on BODIPY-coumarin dye for simultaneous detection of cyanide and fluoride // *J. Lumin.* – 2017. – T. 186. – C. 212-218.
40. Fu L., Tian F.-F., Lai L., Liu Y., Harvey P. D., Jiang F.-L. A ratiometric “two-in-one” fluorescent chemodosimeter for fluoride and hydrogen sulfide // *Sens. Actuator B-Chem.* – 2014. – T. 193. – C. 701-707.
41. Gao J., Chen X., Chen S., Meng H., Wang Y., Li C., Feng L. The BODIPY-based chemosensor for fluorometric/colorimetric dual channel detection of RDX and PA // *Anal. Chem.* – 2019. – T. 91, № 21. – C. 13675-13680.
42. Bon B., Costero A., Gil S., Máñez R., Sancenón F. Selective chromo-fluorogenic detection of DFP (a sarin and soman mimic) and DCNP (a tabun mimic) with a unique probe based on a boron dipyrromethane (BODIPY) dye // *Org. Bio. Chem.* – 2014. – T. 12. – C. 8745-8751.
43. Zhang J., Ji X., Ren H., Zhou J., Chen Z., Dong X., Zhao W. Meso-heteroaryl BODIPY dyes as dual-responsive fluorescent probes for discrimination of Cys from Hcy and GSH // *Sensors and Actuators B: Chemical.* – 2018. – T. 260. – C. 861-869.
44. Ji X., Lv M., Pan F., Zhang J., Wang J., Wang J., Zhao W. A dual-response fluorescent probe for the discrimination of cysteine from glutathione and homocysteine // *SPECTROCHIM ACTA A.* – 2019. – T. 206. – C. 1-7.
45. Shao J., Sun H., Guo H., Ji S., Zhao J., Wu W., Yuan X., Zhang C., James T. D. A highly selective red-emitting FRET fluorescent molecular probe derived from BODIPY for the detection of cysteine and homocysteine: an experimental and theoretical study // *Chem. Sci.* – 2012. – T. 3, № 4. – C. 1049-1061.
46. Wang F., Zhou L., Zhao C., Wang R., Fei Q., Luo S., Guo Z., Tian H., Zhu W.-H. A dual-response BODIPY-based fluorescent probe for the discrimination of glutathione from cystein and homocystein // *Chem. Sci.* – 2015. – T. 6, № 4. – C. 2584-2589.
47. Cheng J., Liu M., Shao B., Zhang S., Li J., Hu Y., Li X., Zang Y. Development of a novel H<sub>2</sub>S and GSH detection cocktail for fluorescence imaging // *RSC Adv.* – 2016. – T. 6, № 64. – C. 59882-59888.
48. Pan J., Zhang Y., Xu J., Liu J., Zeng L., Bao G.-M. A smart fluorescent probe for simultaneous detection of GSH and Cys in human plasma and cells // *RSC Adv.* – 2015. – T. 5, № 118. – C. 97781-97787.
49. Niu L.-Y., Guan Y.-S., Chen Y.-Z., Wu L.-Z., Tung C.-H., Yang Q.-Z. BODIPY-based ratiometric fluorescent sensor for highly selective detection of glutathione over cysteine and homocysteine // *J AM CHEM SOC.* – 2012. – T. 134, № 46. – C. 18928-18931.



50. Gong D., Zhu X., Tian Y., Han S.-C., Deng M., Iqbal A., Liu W., Qin W., Guo H. A phenylselenium-substituted BODIPY fluorescent turn-off probe for fluorescence imaging of hydrogen sulfide in living cells // *Anal. Chem.* – 2017. – T. 89, № 3. – C. 1801-1807.
51. Gong D., Han S.-C., Iqbal A., Qian J., Cao T., Liu W., Liu W., Qin W., Guo H. Fast and selective two-stage ratiometric fluorescent probes for imaging of glutathione in living cells // *Anal. Chem.* – 2017. – T. 89, № 24. – C. 13112-13119.
52. Chen X.-X., Niu L.-Y., Shao N., Yang Q.-Z. BODIPY-based fluorescent probe for dual-channel detection of nitric oxide and glutathione: visualization of cross-talk in living cells // *Anal. Chem.* – 2019. – T. 91, № 7. – C. 4301-4306.
53. Zhang J., Pan F., Jin Y., Wang N., He J., Zhang W., Zhao W. A BODIPY-based dual-responsive turn-on fluorescent probe for NO and nitrite // *Dyes Pigm.* – 2018. – T. 155. – C. 276-283.
54. Tsay O. G., Lee K. M., Churchill D. G. Selective and competitive cysteine chemosensing: resettable fluorescent “turn on” aqueous detection via Cu<sup>2+</sup> displacement and salicylaldehyde hydrolysis // *New J Chem.* – 2012. – T. 36, № 10. – C. 1949-1952.
55. Kaur N., Kaur P., Singh K. A dioxadithiaazacrown ether–BODIPY dyad Hg<sup>2+</sup> complex for detection of L-cysteine: fluorescence switching and application to soft material // *RSC Adv.* – 2014. – T. 4, № 55. – C. 29340-29343.
56. Gupta N., Reja S. I., Bhalla V., Gupta M., Kaur G., Kumar M. A bodipy based dual functional probe for the detection of hydrogen sulfide and H<sub>2</sub>S induced apoptosis in cellular systems // *ChemComm.* – 2015. – T. 51, № 54. – C. 10875-10878.
57. Singh A. P., Murale D. P., Ha Y., Liew H., Lee K. M., Segev A., Suh Y.-H., Churchill D. G. A novel, selective, and extremely responsive thienyl-based dual fluorogenic probe for tandem superoxide and Hg<sup>2+</sup> chemosensing // *Dalton Transactions.* – 2013. – T. 42, № 10. – C. 3285-3290.
58. Liu H.-W., Zhu X., Zhang J., Zhang X.-B., Tan W. A red emitting two-photon fluorescent probe for dynamic imaging of redox balance mediated by a superoxide anion and GSH in living cells and tissues // *ANLST.* – 2016. – T. 141, № 20. – C. 5893-5899.
59. AltanBozdemir O. Proof of principle for a molecular 1: 2 demultiplexer to function as an autonomously switching theranostic device // *Chemical Science.* – 2013. – T. 4, № 2. – C. 858-862.
60. Ozlem S., Akkaya E. U. Thinking outside the silicon box: molecular and logic as an additional layer of selectivity in singlet oxygen generation for photodynamic therapy // *J AM CHEM SOC.* – 2009. – T. 131, № 1. – C. 48-49.
61. Erbas-Cakmak S., Akkaya E. U. Cascading of Molecular Logic Gates for Advanced Functions: A Self-Reporting, Activatable Photosensitizer // *Angew. Chem.* – 2013. – T. 52, № 43. – C. 11364-11368.

62. Guliyev R., Ozturk S., Kostereli Z., Akkaya E. U. From virtual to physical: integration of chemical logic gates // *Angew. Chem.* – 2011. – T. 50, № 42. – C. 9826-9831.
63. de Silva A. P. AND Logic Gates Based on Small Molecules with Chemical Inputs and Luminescence Output // *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience.* – 2011. – T. 8, № 3. – C. 409-421.
64. Dai J., Ma C., Zhang P., Fu Y., Shen B. Recent progress in the development of fluorescent probes for detection of biothiols // *Dyes and Pigments.* – 2020. – C. 108321.
65. Wang L., Ding H., Ran X., Tang H., Cao D. Recent progress on reaction-based BODIPY probes for anion detection // *Dyes and Pigments.* – 2020. – T. 172. – C. 107857.
66. Kowada T., Maeda H., Kikuchi K. BODIPY-based probes for the fluorescence imaging of biomolecules in living cells // *Chemical Society Reviews.* – 2015. – T. 44, № 14. – C. 4953-4972.
67. Kaur P., Singh K. Recent advances in the application of BODIPY in bioimaging and chemosensing // *Journal of Materials Chemistry C.* – 2019. – T. 7, № 37. – C. 11361-11405.
68. Wu D., Sedgwick A. C., Gunnlaugsson T., Akkaya E.U., Yoon J., James T. D. Fluorescent chemosensors: the past, present and future // *Chemical Society Reviews.* – 2017. – T. 46, № 23. – C. 7105-7123.
69. Sfrazzetto G. T., Satriano C., Tomaselli G. A., Rizzarelli E. Synthetic fluorescent probes to map metallostatics and intracellular fate of zinc and copper // *Coordination Chemistry Reviews.* – 2016. – T. 311. – C. 125-167.
70. Mbatia H. W., Burdette S. C. Photochemical tools for studying metal ion signaling and homeostasis // *Biochemistry.* – 2012. – T. 51, № 37. – C. 7212-7224.
71. Vengaiyan K. M., Britto C. D., Sivaraman G., Sekar K., Singaravadivel S. Phenothiazine based sensor for naked-eye detection and bioimaging of Hg (II) and F<sup>-</sup> ions // *Rsc Advances.* – 2015. – T. 5, № 115. – C. 94903-94908.
72. Hamilton G. R., Sahoo S. K., Kamila S., Singh N., Kaur N., Hyland B. W., Callan J. F. Optical probes for the detection of protons, and alkali and alkaline earth metal cations // *Chemical Society Reviews.* – 2015. – T. 44, № 13. – C. 4415-4432.
73. Jiang P., Guo Z. Fluorescent detection of zinc in biological systems: recent development on the design of chemosensors and biosensors // *Coordination Chemistry Reviews.* – 2004. – T. 248, № 1-2. – C. 205-229.
74. da Silva J. F., Williams R. *The Biological Chemistry of the Elements*, Clarendon // *Book The Biological Chemistry of the Elements*, Clarendon / Editor Oxford, 1991.
75. Zhao Y., Zhang X.-B., Han Z.-X., Qiao L., Li C.-Y., Jian L.-X., Shen G.-L., Yu R.-Q. Highly sensitive and selective colorimetric and off-on fluorescent chemosensor for Cu<sup>2+</sup> in aqueous solution and living cells // *Analytical Chemistry.* – 2009. – T. 81, № 16. – C. 7022-7030.

76. Barranguet C., van den Ende F. P., Rutgers M., Breure A. M., Greijdanus M., Sinke J. J., Admiraal W. Copper-induced modifications of the trophic relations in riverine algal-bacterial biofilms // *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. – 2003. – T. 22, № 6. – C. 1340-1349.
77. Quinonero J., Mongay C., De la Guardia M. Determination of aluminum at the parts per billion level by solvent extraction and flame atomic emission spectrometry // *Microchemical journal*. – 1991. – T. 43, № 3. – C. 213-221.
78. Fairman B., Sanz-Medel A., Jones P., Evans E. H. Comparison of fluorimetric and inductively coupled plasma mass spectrometry detection systems for the determination of aluminium species in waters by high-performance liquid chromatography // *Analyst*. – 1998. – T. 123, № 4. – C. 699-703.
79. Bozdemir O. A., Guliyev R., Buyukcakir O., Selcuk S., Kolemen S., Gulseren G., Nalbantoglu T., Boyaci H., Akkaya E. U. Selective manipulation of ICT and PET processes in styryl-bodipy derivatives: applications in molecular logic and fluorescence sensing of metal ions // *Journal of the American Chemical Society*. – 2010. – T. 132, № 23. – C. 8029-8036.
80. Que E. L., Chang C. J. Responsive magnetic resonance imaging contrast agents as chemical sensors for metals in biology and medicine // *Chemical Society Reviews*. – 2010. – T. 39, № 1. – C. 51-60.
81. Zhang J. F., Zhou Y., Yoon J., Kim J. S. Recent progress in fluorescent and colorimetric chemosensors for detection of precious metal ions (silver, gold and platinum ions) // *Chemical Society Reviews*. – 2011. – T. 40, № 7. – C. 3416-3429.
82. Ma Z., Jacobsen F. E., Giedroc D. P. Coordination chemistry of bacterial metal transport and sensing // *Chemical reviews*. – 2009. – T. 109, № 10. – C. 4644-4681.
83. Ma Z., Jacobsen F. E., Giedroc D. P. Metal transporters and metal sensors: how coordination chemistry controls bacterial metal homeostasis // *Chemical reviews*. – 2009. – T. 109, № 10. – C. 4644.
84. Fabbrizzi L., Poggi A. Sensors and switches from supramolecular chemistry // *Chemical Society Reviews*. – 1995. – T. 24, № 3. – C. 197-202.
85. Xing X., Zhao Y. Aromatically functionalized pseudo-crown ethers with unusual solvent response and enhanced binding properties // *Organic & biomolecular chemistry*. – 2018. – T. 16, № 10. – C. 1627-1631.
86. Qi X., Jun E. J., Xu L., Kim S.-J., Joong Hong J. S., Yoon Y. J., Yoon J. New BODIPY derivatives as OFF– ON fluorescent chemosensor and fluorescent chemodosimeter for Cu<sup>2+</sup>: cooperative selectivity enhancement toward Cu<sup>2+</sup> // *The Journal of organic chemistry*. – 2006. – T. 71, № 7. – C. 2881-2884.

87. He Q., Miller E. W., Wong A. P., Chang C. J. A selective fluorescent sensor for detecting lead in living cells // *Journal of the American Chemical Society*. – 2006. – T. 128, № 29. – C. 9316-9317.
88. Shannon R. D. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides // *Acta crystallographica section A: crystal physics, diffraction, theoretical and general crystallography*. – 1976. – T. 32, № 5. – C. 751-767.
89. Carter K. P., Young A. M., Palmer A. E. Fluorescent sensors for measuring metal ions in living systems // *Chemical reviews*. – 2014. – T. 114, № 8. – C. 4564-4601.
90. Anand T., Sivaraman G., Mahesh A., Chellappa D. Aminoquinoline based highly sensitive fluorescent sensor for lead (II) and aluminum (III) and its application in live cell imaging // *Analytica chimica acta*. – 2015. – T. 853. – C. 596-601.
91. Fang X., Zhang S., Zhao G., Zhang W., Xu J., Ren A., Wu C., Yang W. The solvent-dependent binding modes of a rhodamine-azacrown based fluorescent probe for  $\text{Al}^{3+}$  and  $\text{Fe}^{3+}$  // *Dyes and Pigments*. – 2014. – T. 101. – C. 58-66.
92. Mergu N., Singh A. K., Gupta V. K. Highly sensitive and selective colorimetric and off-on fluorescent reversible chemosensors for  $\text{Al}^{3+}$  based on the rhodamine fluorophore // *Sensors*. – 2015. – T. 15, № 4. – C. 9097-9111.
93. Maity A., Sil A., Nad S., Patra S. K. A highly selective, sensitive and reusable BODIPY based 'OFF/ON' fluorescence chemosensor for the detection of  $\text{Hg}^{2+}$  Ions // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2018. – T. 255. – C. 299-308.
94. Amat-Guerri F., Liras M., Carrascoso M. L., Sastre R. Methacrylate-tethered Analogs of the Laser Dye PM567—Synthesis, Copolymerization with Methyl Methacrylate and Photostability of the Copolymers // *Photochemistry and photobiology*. – 2003. – T. 77, № 6. – C. 577-584.
95. Karolin J., Johansson L. B.-A., Strandberg L., Ny T. Fluorescence and absorption spectroscopic properties of dipyrrometheneboron difluoride (BODIPY) derivatives in liquids, lipid membranes, and proteins // *Journal of the American Chemical Society*. – 1994. – T. 116, № 17. – C. 7801-7806.
96. Oshikawa Y., Ojida A. PET-dependent fluorescence sensing of enzyme reactions using the large and tunable pK<sub>a</sub> shift of aliphatic amines // *Chemical Communications*. – 2013. – T. 49, № 97. – C. 11373-11375.
97. Song X., Han X., Yu F., Zhang J., Chen L., Lv C. A reversible fluorescent probe based on C=C [double bond, length as m-dash] N isomerization for the selective detection of formaldehyde in living cells and in vivo // *Analyst*. – 2018. – T. 143, № 2. – C. 429-439.
98. Lincoln R., Greene L. E., Bain C., Flores-Rizo J. O., Bohle D. S., Cosa G. When push comes to shove: unravelling the mechanism and scope of nonemissive meso-unsaturated BODIPY dyes // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2015. – T. 119, № 13. – C. 4758-4765.

99. Tian M., Peng X., Feng F., Meng S., Fan J., Sun S. Fluorescent pH probes based on boron dipyrromethene dyes // *Dyes and Pigments*. – 2009. – T. 81, № 1. – C. 58-62.
100. Dickinson B. C., Chang C. J. Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses // *Nature chemical biology*. – 2011. – T. 7, № 8. – C. 504.
101. Marschner P. Marschner, s mineral nutrition of higher plants., 3rd edn (Academic Press: London) // . – 2012.
102. Cui L., Zhong Y., Zhu W., Xu Y., Du Q., Wang X., Qian X., Xiao Y. A new prodrug-derived ratiometric fluorescent probe for hypoxia: high selectivity of nitroreductase and imaging in tumor cell // *Organic letters*. – 2011. – T. 13, № 5. – C. 928-931.
103. Filipovic M. R., Zivanovic J., Alvarez B., Banerjee R. Chemical biology of H<sub>2</sub>S signaling through persulfidation // *Chem. Rev.* – 2018. – T. 118, № 3. – C. 1253-1337.
104. Jiménez D., Martínez-Mañez R., Sancenón F., Ros-Lis J. V., Benito A., Soto J. A new chromo-chemodosimeter selective for sulfide anion // *J. Am. Chem. Soc.* – 2003. – T. 125, № 30. – C. 9000-9001.
105. Shahrokhian S. Lead phthalocyanine as a selective carrier for preparation of a cysteine-selective electrode // *Anal. Chem.* – 2001. – T. 73, № 24. – C. 5972-5978.
106. Refsum H., Ueland P., Nygård O., Vollset S. Homocysteine and cardiovascular disease // *Annu. Rev. Med.* – 1998. – T. 49, № 1. – C. 31-62.
107. Seshadri S., Beiser A., Selhub J., Jacques P. F., Rosenberg I. H., D'Agostino R. B., Wilson P. W., Wolf P. A. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – T. 346, № 7. – C. 476-483.
108. Armstrong J., Steinauer K., Hornung B., Irish J., Lecane P., Birrell G., Peehl D., Knox S. Role of glutathione depletion and reactive oxygen species generation in apoptotic signaling in a human B lymphoma cell line // *Cell Death Differ.* – 2002. – T. 9, № 3. – C. 252-263.
109. Tapiero H., Townsend D., Tew K. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds // *BIOMED. PHARMACOTHER.* – 2003. – T. 57, № 3-4. – C. 134-144.
110. Sun X., Niu G., Chan N., Shen B., Chen X. Tumor hypoxia imaging // *Molecular Imaging and Biology*. – 2011. – T. 13, № 3. – C. 399-410.
111. Vaupel P., Schlenger K., Knoop C., Höckel M. Oxygenation of human tumors: evaluation of tissue oxygen distribution in breast cancers by computerized O<sub>2</sub> tension measurements // *Cancer research*. – 1991. – T. 51, № 12. – C. 3316-3322.
112. Lopci E., Grassi I., Rubello D., Colletti P. M., Cambioli S., Gamboni A., Salvi F., Cicoria G., Lodi F., Dazzi C. Prognostic evaluation of disease outcome in solid tumors investigated with <sup>64</sup>Cu-ATSM PET/CT // *Clinical Nuclear Medicine*. – 2016. – T. 41, № 2. – C. 87-92.

113. Elmes R. B. Bioreductive fluorescent imaging agents: applications to tumour hypoxia // *Chemical Communications*. – 2016. – T. 52, № 58. – C. 8935-8956.
114. Garg K., Ghosh M., Eliash T., van Wonderen J. H., Butt J. N., Shi L., Jiang X., Zdenek F., Blumberger J., Pecht I. Direct evidence for heme-assisted solid-state electronic conduction in multi-heme c-type cytochromes // *Chemical science*. – 2018. – T. 9, № 37. – C. 7304-7310.
115. He L., Dong B., Liu Y., Lin W. Fluorescent chemosensors manipulated by dual/triple interplaying sensing mechanisms // *Chemical Society Reviews*. – 2016. – T. 45, № 23. – C. 6449-6461.
116. Yin C. X., Xiong K. M., Huo F. J., Salamanca J. C., Strongin R. M. Fluorescent probes with multiple binding sites for the discrimination of Cys, Hcy, and GSH // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2017. – T. 56, № 43. – C. 13188-13198.
117. Zhang C., Wei L., Wei C., Zhang J., Wang R., Xi Z., Yi L. A FRET-ICT dual-quenching fluorescent probe with large off-on response for H<sub>2</sub>S: synthesis, spectra and bioimaging // *Chemical Communications*. – 2015. – T. 51, № 35. – C. 7505-7508.
118. Wei C., Wang R., Zhang C., Xu G., Li Y., Zhang Q. Z., Li L. Y., Yi L., Xi Z. Dual-Reactable Fluorescent Probes for Highly Selective and Sensitive Detection of Biological H<sub>2</sub>S // *Chemistry—An Asian Journal*. – 2016. – T. 11, № 9. – C. 1376-1381.
119. Yi L., Xi Z. Thiolysis of NBD-based dyes for colorimetric and fluorescence detection of H<sub>2</sub>S and biothiols: design and biological applications // *Organic & Biomolecular Chemistry*. – 2017. – T. 15, № 18. – C. 3828-3839.
120. Liu Z.-R., Tang Y., Xu A., Lin W. A new fluorescent probe with a large turn-on signal for imaging nitroreductase in tumor cells and tissues by two-photon microscopy // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2017. – T. 89. – C. 853-858.
121. Cai Q., Yu T., Zhu W., Xu Y., Qian X. A turn-on fluorescent probe for tumor hypoxia imaging in living cells // *Chemical Communications*. – 2015. – T. 51, № 79. – C. 14739-14741.
122. Roldán M. D., Pérez-Reinado E., Castillo F., Moreno-Vivián C. Reduction of polynitroaromatic compounds: the bacterial nitroreductases // *FEMS microbiology reviews*. – 2008. – T. 32, № 3. – C. 474-500.
123. Guo T., Cui L., Shen J., Zhu W., Xu Y., Qian X. A highly sensitive long-wavelength fluorescence probe for nitroreductase and hypoxia: selective detection and quantification // *Chemical communications*. – 2013. – T. 49, № 92. – C. 10820-10822.
124. Li Z., He X., Wang Z., Yang R., Shi W., Ma H. In vivo imaging and detection of nitroreductase in zebrafish by a new near-infrared fluorescence off-on probe // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2015. – T. 63. – C. 112-116.

125. Qin W., Xu C., Zhao Y., Yu C., Shen S., Li L., Huang W. Recent progress in small molecule fluorescent probes for nitroreductase // *Chinese Chemical Letters*. – 2018. – T. 29, № 10. – C. 1451-1455.
126. Xu J., Sun S., Li Q., Yue Y., Li Y., Shao S. A rapid response “Turn-On” fluorescent probe for nitroreductase detection and its application in hypoxic tumor cell imaging // *Analyst*. – 2015. – T. 140, № 2. – C. 574-581.
127. Gawande M. B., Goswami A., Asefa T., Guo H., Biradar A. V., Peng D.-L., Zboril R., Varma R. S. Core-shell nanoparticles: synthesis and applications in catalysis and electrocatalysis // *Chemical Society Reviews*. – 2015. – T. 44, № 21. – C. 7540-7590.
128. Fan Y., Lu M., Yu X.-a., He M., Zhang Y., Ma X.-N., Kou J., Yu B.-Y., Tian J. Targeted myocardial hypoxia imaging using a nitroreductase-activatable near-infrared fluorescent nanoprobe // *Analytical chemistry*. – 2019. – T. 91, № 10. – C. 6585-6592.
129. Kim T.-I., Kim H., Choi Y., Kim Y. meso-ester BODIPYs for the imaging of hypoxia in tumor cells // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2017. – T. 249. – C. 229-234.
130. Gao J., Yin X., Li M., Chen J.-A., Tan J., Zhao Z., Gu X. Rational Design of Fluorescent Probes for Targeted in vivo Nitroreductase Visualization // *Organic & Biomolecular Chemistry*. – 2020.
131. Bartelmess J., Weare W. W. Preparation and characterization of multi-cationic BODIPYs and their synthetically versatile precursors // *Dyes and Pigments*. – 2013. – T. 97, № 1. – C. 1-8.
132. Tang Y., Lee D., Wang J., Li G., Yu J., Lin W., Yoon J. Development of fluorescent probes based on protection-deprotection of the key functional groups for biological imaging // *Chemical Society Reviews*. – 2015. – T. 44, № 15. – C. 5003-5015.
133. Wu X., Shi W., Li X., Ma H. Recognition moieties of small molecular fluorescent probes for bioimaging of enzymes // *Accounts of chemical research*. – 2019. – T. 52, № 7. – C. 1892-1904.
134. Wagner R. W., Lindsey J. S. Boron-dipyrromethene dyes for incorporation in synthetic multi-pigment light-harvesting arrays // *Pure and applied chemistry*. – 1996. – T. 68, № 7. – C. 1373-1380.
135. Maeda H., Yamamoto K., Kohno I., Hafsi L., Itoh N., Nakagawa S., Kanagawa N., Suzuki K., Uno T. Design of a practical fluorescent probe for superoxide based on protection-deprotection chemistry of fluoresceins with benzenesulfonyl protecting groups // *Chemistry—A European Journal*. – 2007. – T. 13, № 7. – C. 1946-1954.
136. Guan Z., Chai X., Yu S., Hu H., Jiang Y., Meng Q., Wu Q. Synthesis, molecular docking, and biological evaluation of novel triazole derivatives as antifungal agents // *Chemical biology & drug design*. – 2010. – T. 76, № 6. – C. 496-504.
137. Fan K. W., Peterson M. B., Ellersdorfer P., Granville A. M. Expanding the aqueous-based redox-facilitated self-polymerization chemistry of catecholamines to 5, 6-dihydroxy-1 H-benzimidazole and its 2-substituted derivatives // *RSC advances*. – 2016. – T. 6, № 30. – C. 25203-25214.

138. Hayyan M., Hashim M. A., AlNashef I. M. Superoxide ion: generation and chemical implications // *Chemical reviews*. – 2016. – T. 116, № 5. – C. 3029-3085.
139. Hu J. J., Wong N.-K., Ye S., Chen X., Lu M.-Y., Zhao A. Q., Guo Y., Ma A. C.-H., Leung A. Y.-H., Shen J. Fluorescent probe HKSOX-1 for imaging and detection of endogenous superoxide in live cells and in vivo // *Journal of the American Chemical Society*. – 2015. – T. 137, № 21. – C. 6837-6843.
140. Hu J. J., Wong N.-K., Lu M.-Y., Chen X., Ye S., Zhao A. Q., Gao P., Kao R. Y.-T., Shen J., Yang D. HKOCl-3: a fluorescent hypochlorous acid probe for live-cell and in vivo imaging and quantitative application in flow cytometry and a 96-well microplate assay // *Chemical science*. – 2016. – T. 7, № 3. – C. 2094-2099.
141. Chen Y., Yang C., Yu Z., Chen B., Han Y. A highly sensitive hemicyanine-based fluorescent chemodosimeter for mercury ions in aqueous solution and living cells // *RSC Advances*. – 2015. – T. 5, № 100. – C. 82531-82534.
142. Chen L., Xu H. H., Yin B. L., Xiao C., Hu T. S., Wu Y. L. Synthesis and biological activity of tonghaosu analogs containing phenoxy-phenyl moiety // *Chinese Journal of Chemistry*. – 2004. – T. 22, № 9. – C. 984-989.
143. Zeng L., Miller E. W., Pralle A., Isacoff E. Y., Chang C. J. A selective turn-on fluorescent sensor for imaging copper in living cells // *Journal of the American Chemical Society*. – 2006. – T. 128, № 1. – C. 10-11.
144. Tanaka M., Nakamura M., Ikeda T., Ikeda K., Ando H., Shibutani Y., Yajima S., Kimura K. Synthesis and metal-ion binding properties of monoazathiacrown ethers // *The Journal of organic chemistry*. – 2001. – T. 66, № 21. – C. 7008-7012.
145. Deng H., Jung J.-K., Liu T., Kuntz K. W., Snapper M. L., Hoveyda A. H. Total synthesis of anti-HIV agent chloropectin I // *Journal of the American Chemical Society*. – 2003. – T. 125, № 30. – C. 9032-9034.
146. Xiao H., Wu C., Li P., Tang B. Simultaneous fluorescence visualization of endoplasmic reticulum superoxide anion and polarity in myocardial cells and tissue // *Analytical chemistry*. – 2018. – T. 90, № 10. – C. 6081-6088.
147. Peng H., Chen W., Cheng Y., Hakuna L., Strongin R., Wang B. Thiol reactive probes and chemosensors // *Sensors*. – 2012. – T. 12, № 11. – C. 15907-15946.
148. Principles of fluorescence spectroscopy. / Lakowicz J. R.: Springer science & business media, 2013.
149. Zhu D., Xue L., Li G., Che Y., Jiang H. A turn-on fluorescent probe for detection of hydrogen sulfide in aqueous solution and living cells // *Organic Chemistry Frontiers*. – 2014. – T. 1, № 5. – C. 501-505.



150. Lin S.-W., Sun Q., Ge Z.-M., Wang X., Ye J., Li R.-T. Synthesis and structure–analgesic activity relationships of a novel series of monospirocycloperazinium salts (MSPZ) // *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. – 2011. – T. 21, № 3. – C. 940-943.
151. Saha S. K., Ghosh K. R., Hao W., Wang Z. Y., Ma J., Chiniforooshan Y., Bock W. J. Highly sensitive and selective fluorescence turn-on detection of lead ion in water using fluorene-based compound and polymer // *Journal of Materials Chemistry A*. – 2014. – T. 2, № 14. – C. 5024-5033.
152. Wu C.-S., Lin Y.-J., Chen Y. A fluorene-based material containing triple azacrown ether groups: synthesis, characterization and application in chemosensors and electroluminescent devices // *Organic & Biomolecular Chemistry*. – 2014. – T. 12, № 9. – C. 1419-1429.
153. Gabe Y., Urano Y., Kikuchi K., Kojima H., Nagano T. Highly sensitive fluorescence probes for nitric oxide based on boron dipyrromethene chromophore rational design of potentially useful bioimaging fluorescence probe // *Journal of the American Chemical Society*. – 2004. – T. 126, № 10. – C. 3357-3367.
154. Yin J., Hu Y., Yoon J. Fluorescent probes and bioimaging: alkali metals, alkaline earth metals and pH // *Chemical Society Reviews*. – 2015. – T. 44, № 14. – C. 4619-4644.
155. Maruyama T., Fujie Y., Oya N., Hosaka E., Kanazawa A., Tanaka D., Hattori Y., Motoyoshiya J. Control of peroxyoxalate chemiluminescence by nitrogen-containing ligand quenching: turning off and on by ligand–metal ion host–guest interactions // *Tetrahedron*. – 2011. – T. 67, № 36. – C. 6927-6933.
156. Maeda H., Furuyoshi S., Nakatsuji Y., Okahara M. Synthesis of monoaza crown ethers from N, N-di [oligo (oxyalkylene)] amines and oligoethylene glycol di (p-toluenesulfonates) or corresponding dichlorides // *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. – 1983. – T. 56, № 1. – C. 212-218.
157. Collins C. G., Baumes J. M., Smith B. D. Thermally-activated chemiluminescent squaraine rotaxane endoperoxide with green emission // *Chemical Communications*. – 2011. – T. 47, № 45. – C. 12352-12354.
158. Zhang Y., Yan Y., Chen S., Gao Z., Xu H. ‘Naked-eye’quinoline-based ‘reactive’ sensor for recognition of Hg<sup>2+</sup> ion in aqueous solution // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2014. – T. 24, № 23. – C. 5373-5376.
159. Cronin T. H., Hess H.-J. Some new 3-amino-2H-1, 2, 4-benzothiadiazine 1, 1-dioxides // *Journal of medicinal chemistry*. – 1968. – T. 11, № 1. – C. 136-138.
160. Dumas-Verdes C., Miomandre F., Lépicier E., Galangau O., Vu T. T., Clavier G., Méallet-Renault R., Audebert P. BODIPY-Tetrazine Multichromophoric Derivatives // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2010. – T. 2010, № 13. – C. 2525-2535.
161. Schmidt M., Ungvári J., Glöde J., Dobner B., Langner A. New 1, 3-dioxolane and 1, 3-dioxane derivatives as effective modulators to overcome multidrug resistance // *Bioorganic & medicinal chemistry*. – 2007. – T. 15, № 6. – C. 2283-2297.

162. Lu X., Yi J., Zhang Z. Q., Dai J. J., Liu J. H., Xiao B., Fu Y., Liu L. Expedient Synthesis of Chiral  $\alpha$ -Amino Acids through Nickel-Catalyzed Reductive Cross-Coupling // *Chemistry—A European Journal*. – 2014. – T. 20, № 47. – C. 15339-15343.
163. Zhang T., She G., Qi X., Mu L. A BODIPY-based sensor for Hg<sup>2+</sup> in living cells // *Tetrahedron*. – 2013. – T. 69, № 34. – C. 7102-7106.
164. Li G. Y., Zheng G., Noonan A. F. Highly Active, Air-Stable Versatile Palladium Catalysts for the C–C, C–N, and C–S Bond Formations via Cross-Coupling Reactions of Aryl Chlorides // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2001. – T. 66, № 25. – C. 8677-8681.
165. Fokin A., Kolomiets A., Rudnitskaya L., Shevchenko V. Reaction for nucleophilic opening of thiirane ring by thiols // *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR, Division of chemical science*. – 1975. – T. 24, № 3. – C. 582-584.

Au cours de ma thèse, j'ai développé de nouvelles méthodes pour la synthèse de dérivés BODIPY fonctionnalisés par des motifs de type pseudo éther couronne. Pour la première fois, la relation entre la structure et les propriétés spectrales de ces agents chélatants pro-fluorescents a été étudiée. La nature du "linker" entre le coeur fluorescent et le motif chélatant influence fortement la sélectivité de la sonde pour un cation métallique donné. Il a été démontré qu'un dérivé dipicolylamine de BODIPY pouvait être utilisé avec succès pour imager les cations  $Zn^{2+}$  accumulés au sein de tissus végétaux. La fonctionnalisation d'un coeur BODIPY par deux motifs chélatants distincts a permis d'obtenir une sonde de type "dual" permettant la détection simultanée des cations  $Al^{3+}$  et  $Zn^{2+}$  en solution. Dans la seconde partie de cette thèse, le potentiel de dérivés poly-phénoliques de BODIPY dans la conception de sondes fluorescentes de type "dual" a été évalué. A la lumière des résultats obtenus, on peut préciser que la conception de sondes de type "dual" à coeur BODIPY n'est pas une tâche triviale. Un choix judicieux des motifs de reconnaissance et une optimisation de la structure du coeur fluorescent doivent être faits. Il est en outre compliqué de prévoir le comportement spectral des composés. Nous avons néanmoins réussi à développer deux sondes fluorescentes distinctes qui permettent respectivement la détection simultanée de la paire  $Al^{3+}/Zn^{2+}$  dans l'acétonitrile et la détection séquentielle de  $Hg^{2+}$  et  $HS^-$  en milieu physiologique simulé.

Mots-clés : cation métallique, colorant BODIPY, fluorescence, sonde intelligente

---

During my Ph. D. work, I have developed methods for the synthesis of BODIPY derivatives modified with pseudo-crown ethers groups, which are synthetically accessible analogs of crown chelating groups. The structure-spectral property relationships for pseudo-crown-substituted BODIPY derivatives were systematically studied for the first time. The nature of the linker between the fluorophore and the chelating group was shown to have a significant effect on the selectivity of the binding of the dyes to metal cations. It was demonstrated that the dipicolylamine derivative of BODIPY can be employed for the selective imaging of  $Zn^{2+}$  accumulation in plant tissues. The simultaneous modification of the BODIPY scaffold with the pseudo-crown group and the dipicolylamine moiety allowed the preparation of a dual-mode probe suitable for the detection of the simultaneous presence of  $Al^{3+}$  and  $Zn^{2+}$  in solution. Within the framework of the second part of the research work, the potential of polyphenol-substituted BODIPY derivatives was examined for the first time as a universal platform for the design of off-on fluorescent chemosensors for different bioanalytes. Summarizing the results of the study, it can be mentioned that the design of BODIPY-based dual-mode probes is a non-trivial problem, which requires the accurate selection of receptor groups and the optimization of the structure of the fluorescent core. High molecular complexity of BODIPY functionalized by two different receptor groups and their synthetic inaccessibility interfere with the accumulation and prediction of the properties of such compounds. Nevertheless, we succeeded in developing two previously unknown BODIPY-based dual-mode probes for the detection of the simultaneous presence of  $Al^{3+}$  and  $Zn^{2+}$  in acetonitrile solutions and the successive appearance of  $Hg^{2+}$  and  $HS^-$  in simulated physiological media.

Keywords: BODIPY dye, fluorescence, metal cation, smart probe