

Горбатов Сергей Александрович

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

Шифр специальности – 02.00.03 Органическая химия

Химические науки

Шифр диссертационного совета Д 002 222 01

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

119991, Москва, Ленинский проспект, 47

Тел.:(499) 137-13-79

E-mail: sci-secr@ioc.ac.ru

Дата размещения полного текста диссертации на сайте Института
<http://zioc.ru/>

13 октября 2020 года

Дата приема к защите

14 октября 2020 года

Дата размещения автореферата на сайте ВАК <https://vak.minobrnauki.gov.ru>

16 октября 2020 года

**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

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Москва – 2020

Работа выполнена в лаборатории химии стероидных соединений №22
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН)

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

Заварзин Игорь Викторович

д.х.н., заведующий Лабораторией химии
стероидных соединений (№22) ФГБУН ИОХ
им. Н. Д. Зелинского РАН (ИОХ РАН)

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Шихалиев Хидмед Сафарович

д.х.н., профессор кафедры органической
химии химического факультета
Воронежского государственного
университета (ВГУ)

Райтман Олег Аркадьевич

к.х.н., с.н.с. Лаборатории физической химии
супрамолекулярных систем Института
физической химии и электрохимии имени
А.Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН)

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ:

ФГБУН Институт элементоорганических
соединений им. А.Н. Несмеянова РАН
(ИНЭОС РАН)

Защита диссертации состоится «16» декабря 2020 г. в 12³⁰ часов на заседании Диссертационного совета Д 002.222.01 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН по адресу: 119991, Москва, Ленинский проспект, 47.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН и на официальном сайте Института <http://zioc.ru>

Автореферат разослан ____ октября 2020 г.

Ваш отзыв в двух экземплярах, заверенный гербовой печатью, просим направлять по адресу: 119991, Москва, Ленинский проспект, 47, ученому секретарю Диссертационного совета ИОХ РАН.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Д 002.222.01 ИОХ РАН

доктор химических наук

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 РЕТ- или ИСТ-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, острой формой линий в спектрах флуоресценции, относительно высокие значения квантовых выходов, устойчивость при физиологических значениях рН 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 дипиколиламиново-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 реакционноспособными 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 в раствор 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 Юлии 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.

Основное содержание работы

Работа была направлена на разработку двумодальных сенсоров ряда *БОДИПИИ*. В качестве общего принципа создания таких сенсоров в настоящей работе было предложено использовать объединение в одной молекуле флуорофора *БОДИПИИ* и двух рецепторных групп, подавляющих флуоресценцию ядра *БОДИПИИ* в свободном, т.е. несвязанном с анализируемой частицей, состоянии. Одновременное селективное взаимодействие подобных сенсоров с двумя различными детектируемыми частицами (аналитами) могло бы сопровождаться полным снятием гашения флуоресценции и приводить, как следствие, к значительному увеличению её интенсивности (принцип «Off-On»). В качестве аналитов интерес представляло изучение катионов тяжелых металлов и различных биоаналитов (биотиолов, активных форм кислорода (АФК) и ферментов).

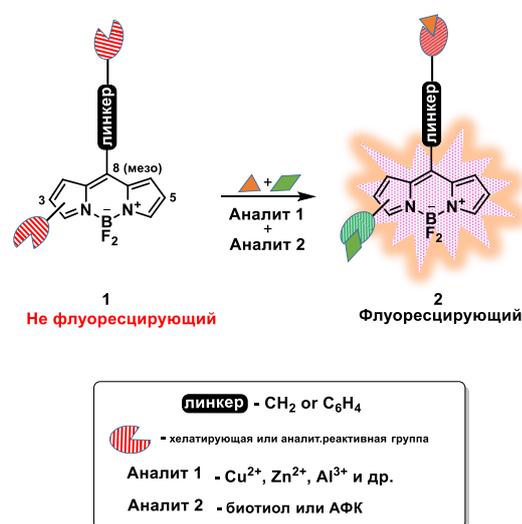


Рисунок 1. Дизайн двумодального сенсора на основе БОДИПИИ.

1. Разработка сенсоров для детектирования катионов тяжелых металлов

1.1. Разработка мономодального флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы Al^{3+}

Нами был реализован многостадийный синтез неизвестных ранее в литературе соединений **S1**, **S2**, **S3**, **S4**, **S5**, продемонстрировавших селективность в отношении Al^{3+} и представляющих собой красители *БОДИПИИ*, модифицированные по *мезо*-положению каркаса «псевдо-азакраун» эфирными остатками (Схема 1).

На первом этапе для введения «псевдо-краун» эфирных остатков [(2-(2-ацетоксиэтокси)этил)(2-ацетоксиэтил)]амина и бис(2-ацетоксиэтил)амина к флуорофору *БОДИПИИ* в качестве основных реагентов были получены замещенные бензальдегиды **4a**, **4b**. Диолы **2a**, **2b** были синтезированы по реакции S_N^2 замещения *N*-(2-гидроксиэтил)анилина с 2-(2-хлорэтокси)этанолом. Реакцией с уксусным ангидридом в пиридине по концевым ОН-группам соединений **2a**, **2b** были введены ацетатные защитные группы. Формилирование по Вильсмейеру-Хааку *para*-положения полученных соединений **3a**, **3b** привело к целевым альдегидам **4a**, **4b** с выходами 83% и 89%

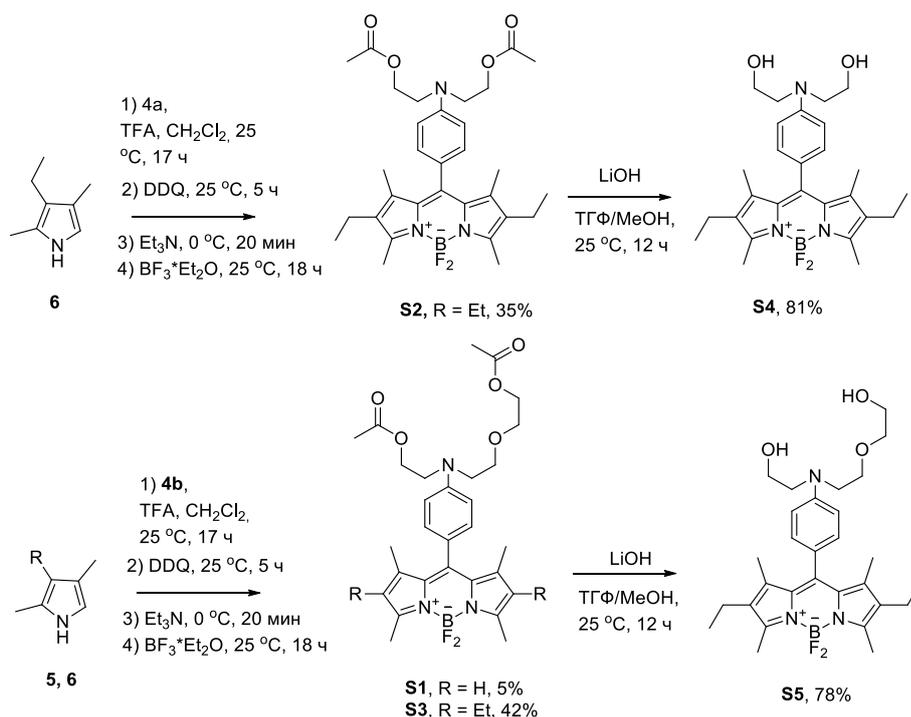
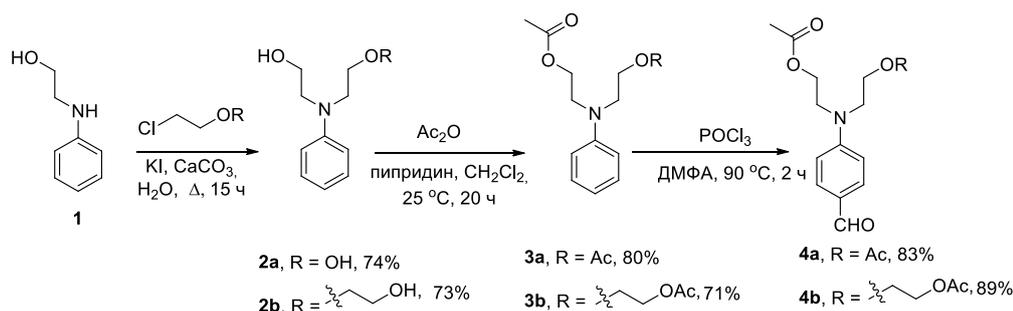


Схема 1. Синтез соединений **S1-S5**.

One-pot синтез **S1**, **S2** и **S3** был осуществлен конденсацией альдегидов **4a**, **4b** с пирролами **5**, **6** в CH₂Cl₂ путем поэтапной обработки трифторуксусной кислотой (TFA), 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохиноном (DDQ), триэтиламинем и эфиратом 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), что в свою очередь могло бы 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%).

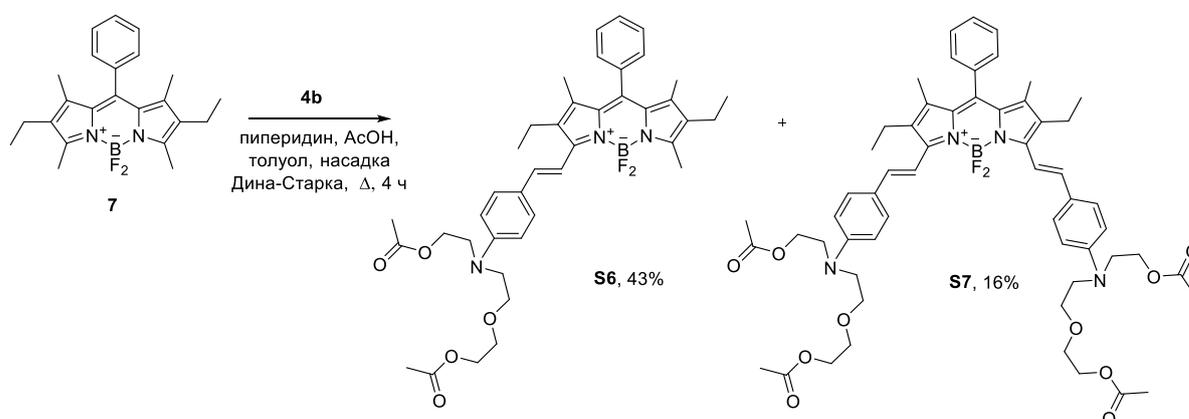


Схема 2. Синтез соединений **S6**, **S7**.

1.2. Исследование фотофизических свойств соединений **S1**, **S3**, **S5**, **S6**, **S7** и их способности детектировать катионы Al^{3+}

Для соединений **S1-S7** в MeCN была проведена оценка фотофизических свойств. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Исследование фотофизических свойств соединений **S1**, **S3**, **S5**, **S6**, **S7** в присутствии катионов металлов показали, что соединение **S1** с ядром 2,6-Н-БОДИПИИ и соединение **S5**, не содержащие ацетильные группы в хелаторе, малоэффективны для обнаружения Al^{3+} . Эти соединения были не селективны по отношению к Al^{3+} в присутствии катионов Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} и обладали умеренными флуоресцентным откликом. Самым перспективным соединением для детектирования Al^{3+} в растворах оказалось **S3** (Таблица 1). Соединения **S6**, **S7** уступали **S3** по интенсивности разгорания флуоресценции.

Таблица 1. Фотофизические свойства соединений **S1-S7**.^{a,б}

Сенсор	λ_{abs} [нм]	ε [$\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$]	λ_{em} [нм]	Φ [%]	Стоксов сдвиг [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 CH_3CN при 298 К. [б] Сульфат хирина был использован в качестве эталона $\Phi = 0.55$ в 0.1 М H_2SO_4 , $\lambda_{\text{ex}} = 310$ нм. Все значения Φ_{em} скорректированы с учетом изменений показателя преломления.

Интенсивность максимума поглощения постепенно уменьшалась при добавлении Al^{3+} к раствору **S3** (15 μM в MeCN) наряду с образованием новой bathochromносдвинутой полосы при 527 нм. Изобестическая точка наблюдалась при 524 нм (Рисунок 2а).

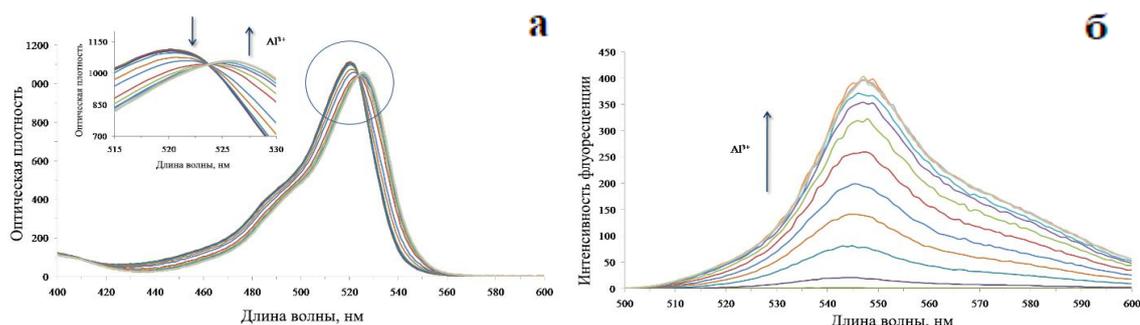


Рисунок 2. Спектры поглощения (а) и испускания (б) раствора **S3** (15 μM) в MeCN с различной концентрацией Al^{3+} , 4.5 – 15.0 μM ($\lambda_{\text{ex}} = 504$ нм).

При добавлении Al^{3+} к раствору **S3** (15 μM в MeCN , $\lambda_{\text{ex}} = 504$ нм) снималось гашение флуоресценции из-за координации Al^{3+} с аминогруппой, и раствор **S3** приобретал интенсивную флуоресценцию (Рисунок 2б). Максимум испускания флуоресценции комплекса **S3** с Al^{3+} был зафиксирован при 547 нм. При этом разгорание флуоресценции наблюдалось невооруженным глазом. Квантовый выход комплекса составил $\Phi = 0.18$. Эксперимент Job's plot подтвердил, что соединение **S3** образует комплекс с Al^{3+} состава 1:1. Эксперименты по титрованию **S3** раствором Al^{3+} позволили определить константу ассоциации (K_s), которая составила $3.2 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$. Предел обнаружения Al^{3+} с помощью **S3** был равен 3.8 μM , что свидетельствует о высокой чувствительности сенсора.

Флуоресцентный отклик **S3** был исследован в присутствии различных катионов металлов с целью выявления селективности этого соединения в отношении Al^{3+} . Существенные спектральные изменения для сенсора **S3** наблюдались только в случае Al^{3+} . Так, добавление Al^{3+} к сенсору **S3** вызвало 1200-кратное усиление флуоресценции. В тех же условиях добавление Cr^{3+} привело только к 90-кратному разгоранию флуоресценции. Другие катионы, такие как 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+} и Ba^{2+} не влияли на спектры испускания соединения **S3**.

Таким образом, мы синтезировали и охарактеризовали пять новых «Off-On» соединений ряда *БОДИПИИ*, замещенных «псевдо-краун» эфирными остатками. Исследования показали, что краситель **S3** с ядром 2,6-Et-*БОДИПИИ* может рассматриваться, как флуоресцентный «Off-On» сенсор селективный к катионам Al^{3+} .

1.3. Разработка флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы Cu^{2+}

На следующем этапе нашей работы интерес представляло создание соединений, в которых «псевдо-краун» эфирная группа вводилась в *мезо*-положение ядра *БОДИПИИ* 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 *БОДИПИИ*, модифицированные по *мезо*-положению каркаса «псевдо-краун» эфирными группами через CH_2 -линкер (Схема 3). Конденсацией этаноламина (**8**) с 2,2-хлорэтоксигетаном (**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 1,4-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 Hg^{2+} .

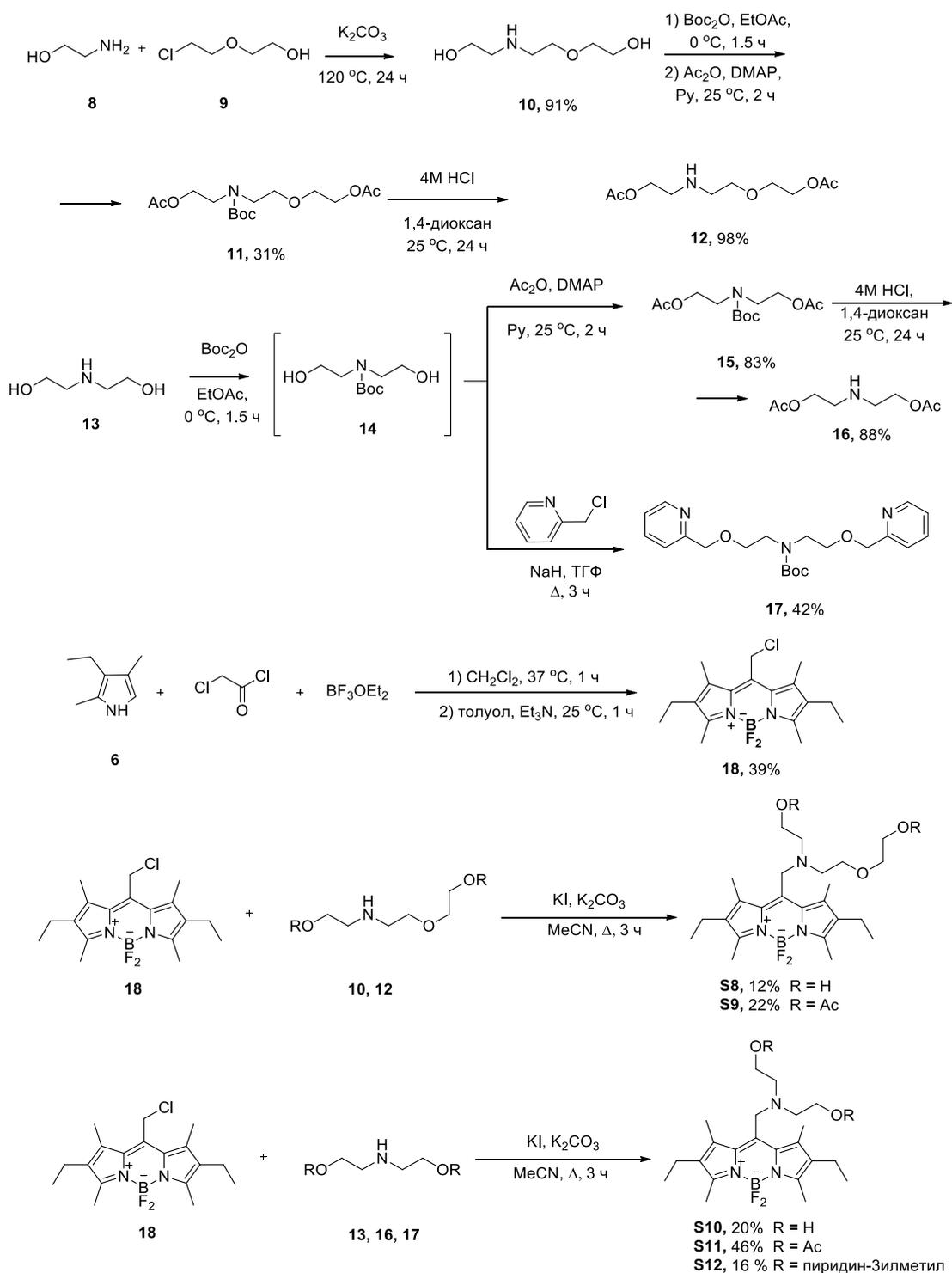


Схема 3. Синтез целевых соединений S8-S12.

Необходимый в синтезе 8-хлорметил *БОДИПИИ* **18** был получен с выходом 39%, последовательной конденсацией криптопиррола **6** с хлорацетилхлоридом и комплексообразованием получившегося дипиррометена с эфиром трехфтористого бора. Реакции нуклеофильного замещения между Cl-*БОДИПИИ* **18** и хелаторами **10**, **12**, **13**, **16**, **17** позволили получить серию соединений **S8-S12** с выходами 16-46%.

1.4. Исследование фотофизических свойств соединений **S8-S12** и их способности детектировать Cu^{2+}

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

Таблица 2. Фотофизические свойства соединений **S8-S12**.^{а,б}

Сенсор	λ_{abs} [нм]	ϵ [$\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$]	λ_{em} [нм]	Φ [%]	Стоксов сдвиг [cm^{-1}]
S8	535	61925	556	1.2	708
S9	537	74533	557	0.6	668
S10	534	53566	556	1.1	741
S11	537	73792	555	2.9	663
S12	534	60613	555	1.2	708

^[а] Спектры записывали в CH_3CN при 298 К. ^[б] Сульфат хирина был использован в качестве эталона $\Phi = 0.55$ в 0.1 М H_2SO_4 , $\lambda_{\text{ex}} = 310$ нм. Все значения Φ_{em} скорректированы с учетом изменений показателя преломления.

Было изучено влияние различных катионов металлов на фотофизические свойства синтезированных красителей **S8-S12**. Исследование соединений **S8**, **S9** и **S11** показало, что они не обладали селективностью к Cu^{2+} в присутствии Al^{3+} , Fe^{3+} и Cr^{3+} . Напротив, соединение **S10**, полученное с использованием 2,2'-бис(этан-1-ол)амина, в качестве хелатирующей группы, проявило себя как перспективное для селективного определения Cu^{2+} за счет разгорания флуоресценции. Спектр поглощения раствора **S10** не изменялся при добавлении 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+} и Ba^{2+} . При добавлении Cu^{2+} к раствору **S10** (15 μM в MeCN) интенсивность максимума поглощения постепенно снижалась и наблюдалось образование батохромной полосы с максимумом при 547 нм (Рисунок 3). При связывании Cu^{2+} молярный коэффициент поглощения изменился от 53000 до 26000 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

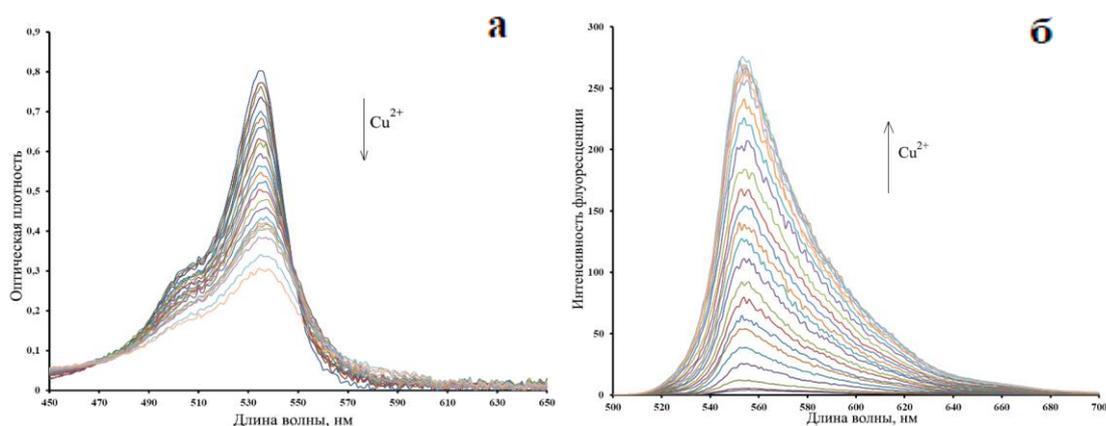


Рисунок 3. Спектры поглощения (а) и испускания (б) раствора **S10** (15 μM) в MeCN при различных концентрациях Cu^{2+} , 0-2.0 экв. ($\lambda_{\text{ex}} = 515 \text{ nm}$).

Флуоресцентные свойства раствора сенсора **S10** сильно изменялись в присутствии Cu^{2+} . В эксперименте можно было наблюдать, что добавление одного эквивалента Cu^{2+} вызывает усиление интенсивности флуоресценции **S10** (Рисунок 3б) (от $\Phi = 1.1\%$ для **S10** до $\Phi = 14\%$ для комплекса **S10** с ионами Cu^{2+}). Другие катионы металлов добавления 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+} и Ba^{2+} не вызывают изменение интенсивности испускания даже в 10-ти кратном избытке.

Таким образом, было показано, что природа линкера, связывающего флуорофорное ядро *БОДИПИИ* с хелатирующими группами существенным образом влияет на селективность комплексообразования с катионами металлов, в том числе на основе 2,2'-бис(этан-1-ол)амина был предложен флуоресцентный сенсор «Off-On» на Cu^{2+} .

1.5. Разработка флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы Zn^{2+}

Флуоресцентные сенсоры на основе ди(2-пиколил)аминовых производных (DPA) обладают высоким потенциалом для детектирования Zn^{2+} . В связи с этим, на следующем этапе работы нами было получено ранее не известное соединение **S13**, представляющее собой каркас 2,6-этил-*БОДИПИИ*, модифицированный DPA по *мезо*-положению с использованием метиленового линкера (Схема 4).

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

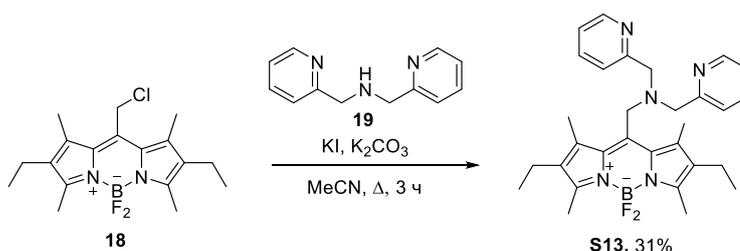


Схема 4. Синтез соединения **S13**.

Для соединения **S13** были сняты спектры испускания и поглощения в сухом MeCN. Свободный сенсор характеризовался основным максимумом поглощения при 538 нм и дополнительным максимумом при 506 нм. Было показано, что соединение **S13** обладает достаточно высоким коэффициентом экстинкции ($\epsilon = 22000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Квантовый выход свободного сенсора **S13** не превысил 0.06 (MeCN/ H_2O , 1:3), что указывает на эффективное тушение флуоресценции по PET-механизму при участии неподеленной пары азота аминного заместителя.

Добавление Zn^{2+} к раствору **S13** приводило к сильным изменениям в спектрах поглощения и флуоресценции. Максимум поглощения комплекса **S13** с Zn^{2+} смещался в длинноволновую область вплоть до 556 нм. После добавления 1 экв. Zn^{2+} к раствору наблюдалось 21-кратное разгорание флуоресценции при 610 нм (Рисунок 4).

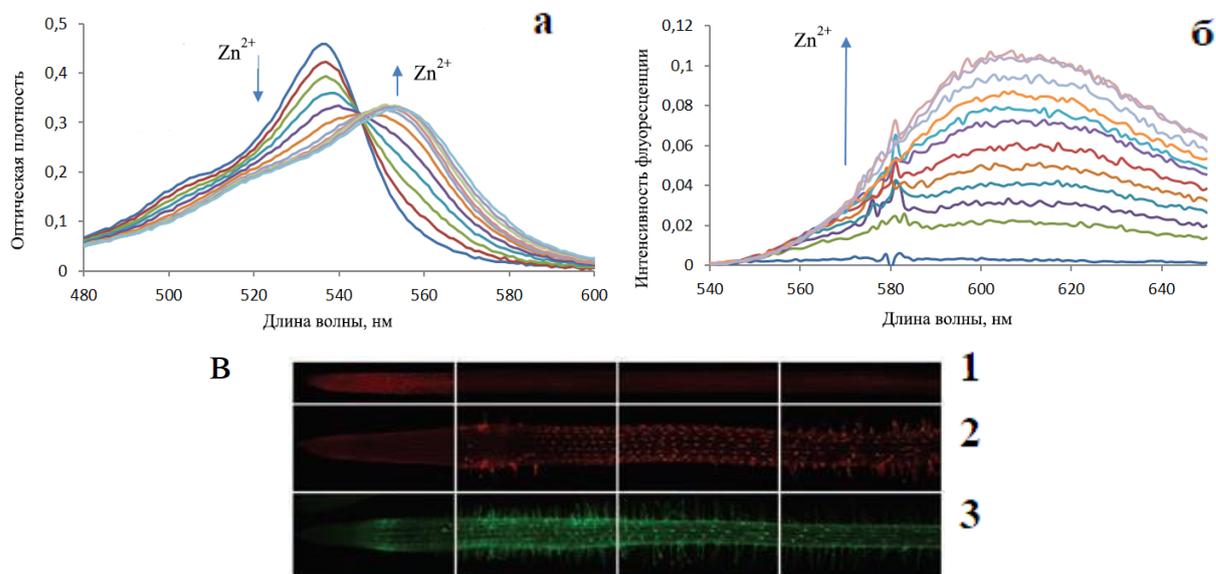


Рисунок 4. Спектры поглощения (а) и испускания (б) раствора **S13** ($10 \mu\text{M}$) в MeCN с различной концентрацией Zn^{2+} , 0 - 1.1 экв. ($\lambda_{\text{ex}} = 580 \text{ nm}$) (в) Окрашивание корней *Brassica napus* L., обработанных (1) **S13** (контроль), (2) **S13** и Zn^{2+} , (3) сенсор Newport GreenTM DCF и Zn^{2+} .

При добавлении катионов Li^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} и Mn^{2+} к раствору сенсора **S13** в MeCN не наблюдалось изменение интенсивности флуоресценции. Катионы переходных металлов, а именно Fe^{2+} , Pb^{2+} и Cd^{2+} , связываясь с **S13**, приводили к незначительному разгоранию флуоресценции. Ионы Ni^{2+} и Cu^{2+} вызывали полное гашение флуоресценции.

Способность сенсора **S13** селективно связывать ионы цинка *in vivo* была продемонстрирована на корнях растения *Brassica napus* (Рисунок 4в). Сенсор показал хорошее диффузное окрашивание клеток корня. Обработка раствором сенсора корней, выращенных в течение 3 дней в присутствии избытка Zn^{2+} ($250 \mu\text{M}$), привела к яркому окрашиванию с хорошо видимыми скоплениями металла в цитоплазме. Сравнение окрашивание корней сенсором **S13** и коммерческого Newport GreenTM выявило ряд преимуществ **S13**, а именно сенсор **S13** показал более низкое фоновое окрашивание тканей и лучшую фотостабильность. Таким образом **S13** с высокой специфичностью способен выявлять избыток цинка в корнях растений.

Таким образом мономодальные красители **S3**, **S10** и **S13** были нами отобраны как перспективные для создания на их основе двумодальных сенсоров для детектирования различных катионов металлов.

1.6. Разработка двумодального флуоресцентного «Off-On» сенсора на катионы Al^{3+} и Zn^{2+}

Для получения двумодальных сенсоров на катионы металлов нами была изучена возможность модификации исследованных нами мономодальных сенсоров **S10** и **S13** в 3-м положении молекулы *БОДИПИИ* хелатирующей группой. В силу их лабильности синтез двумодальных сенсоров на основе соединений **S10** и **S13** реализовать не удалось. В то же время в три стадии из соединения **S3** и анилина **20** нами был синтезирован двумодальный сенсор **S14** (Схема 5), содержащий в 3-м положении дипикколиламинный 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 после выделения колоночной хроматографией составил 3%.

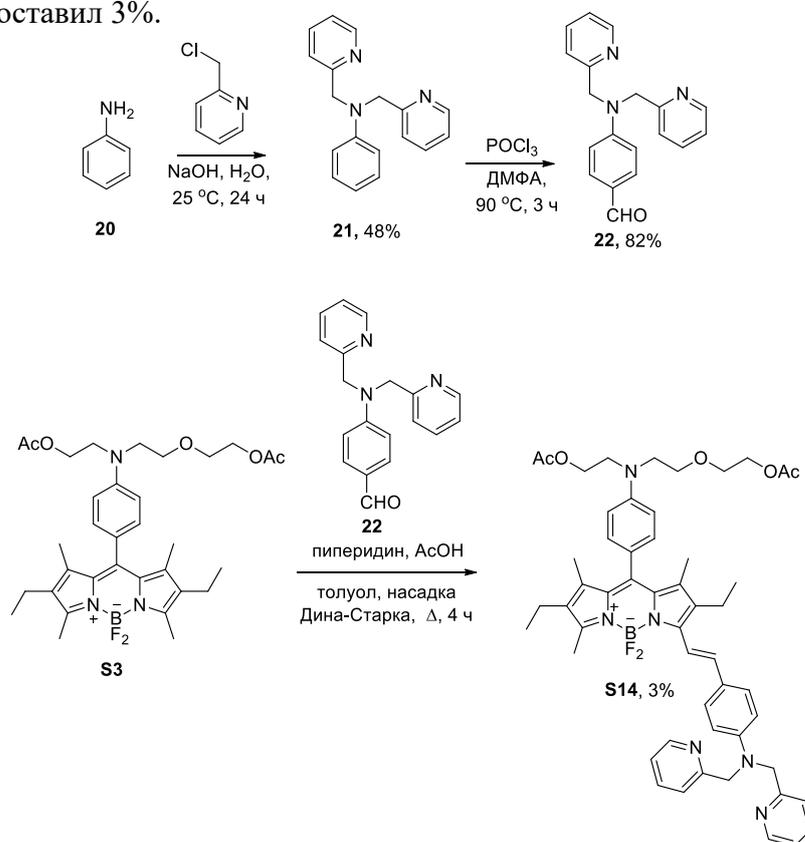


Схема 5. Синтез соединения **S14**.

1.7. Исследование фотофизических свойств соединения **S14**

Соединение **S14** имело высокий молярный коэффициент поглощения ($\epsilon = 94000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Спектр флуоресценции **S14** демонстрировал широкую полосу испускания низкой интенсивности при 678 нм. Квантовый выход свободного сенсора, был рассчитан в MeCN составил $\Phi \leq 0.15\%$. Добавление 1 экв. Zn^{2+} и 1 экв. Al^{3+} к раствору **S14** (15 μM в MeCN) сопровождалось

образованием новых полос поглощения со сдвигом до 575 нм и до 595 нм соответственно (Рисунок 5а). При одновременном присутствии Zn^{2+} и Al^{3+} в растворе **S14**, наблюдалось образование полосы поглощения при 586 нм, свидетельствующей об одновременном связывании соединения **S14** с 1 экв. Zn^{2+} и 1 экв. Al^{3+} . Исследование способности соединения **S14** детектировать Zn^{2+} и Al^{3+} откликом флуоресценции проводилось при волне возбуждения равной 580 нм (Рисунок 5б).

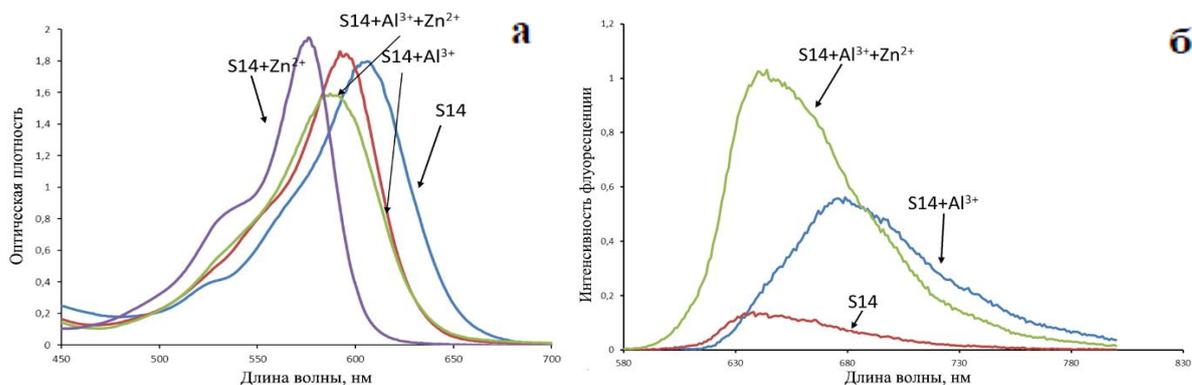


Рисунок 5. Спектры поглощения (а) и испускания (б) раствора **S14** (15 μ M) в MeCN в присутствии ионов Zn^{2+} (1 экв.) и Al^{3+} (1 экв.) и при одновременном присутствии Zn^{2+} и Al^{3+} (1 экв.).

Неожиданным оказался тот факт, что добавление 1 экв. Zn^{2+} к раствору соединения **S14** (15 μ M в MeCN) приводило к полному гашению флуоресценции. При добавлении 1 экв. Al^{3+} к раствору соединения **S14** (15 μ M в MeCN) гашение флуоресценции снималось в результате координации Al^{3+} аминогруппой, а раствор **S14** начинал флуоресцировать красным цветом. Полоса флуоресценции связанного сенсора **S14** с Al^{3+} была сдвинута в коротковолновую область ($\lambda_{em} = 650$ нм) относительно свободного сенсора. Максимальное разгорание флуоресценции раствора сенсора **S14** наблюдалось только при одновременном присутствии 1 экв. Zn^{2+} и 1 экв. Al^{3+} . Данный факт подтверждает одновременную координацию Zn^{2+} и Al^{3+} разными хелатирующими группами соединения **S14**.

Таким образом, нам удалось разработать новый двумодальный сенсор «Off-On» в ряду красителей *БОДИПИИ* эффективный для фиксации одновременного присутствия в растворе Zn^{2+} и Al^{3+} .

2. Разработка сенсоров на основе полифенол-замещенного *БОДИПИИ*

Еще одним актуальным направлением органической химии является разработка флуоресцентных сенсоров для селективного совместного обнаружения ряда важных биоаналитов, таких как биотиолы, активные форм кислорода (АФК), а также ферментов, связанных с гипоксическим состоянием клеток. 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 Φ , близким к 100% с максимумом испускания при 600 нм (в смеси фосфатный буфер (РВ) + 50% EtOH). Максимумы поглощения **ВРВ** находятся при 335 и 583 нм и имеют значения коэффициентов экстинкции $\epsilon = 22300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ и $66250 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ соответственно. Реализация двух различных механизмов гашения (ICT и PET) при дизайне двуомодальных сенсоров на основе **ВРВ** возможна благодаря наличию двух концевых гидроксильных групп в 8-м и 3-м положениях флуоресцентного ядра. 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 6).

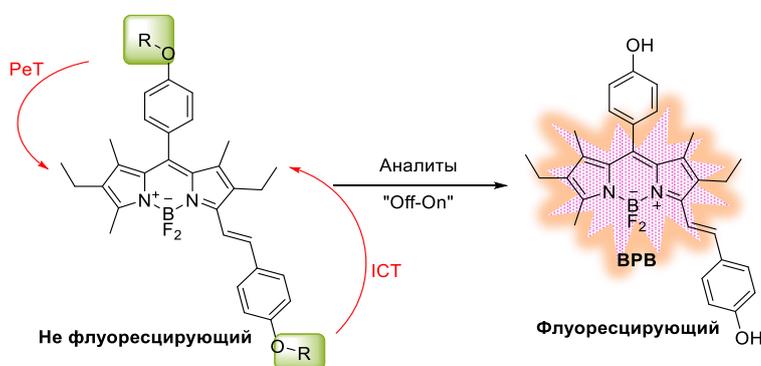


Рисунок 6. Схема работы двуомодального сенсора на основе **ВРВ**.

Синтез **ВРВ** представлен на схеме 6. На первой стадии флуорофор **БОДИПИИ 24** был получен конденсацией между *para*-гидроксибензальдегидом (**23**) с криптопирролом, с последующей обработкой DDQ и $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ соответственно. Для получения свободного бис-фенольного флуорофора **ВРВ** была проведена конденсация Кневенагеля с *para*-гидроксибензальдегидом (**23**).

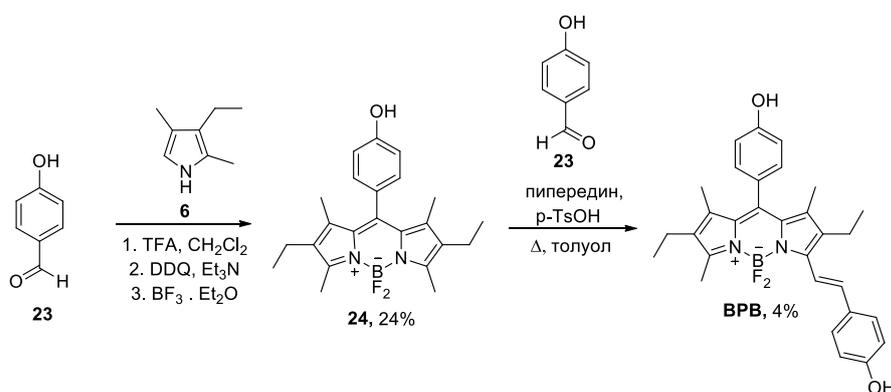


Схема 6. Синтез флуорофора **ВРВ**.

2.1. Разработка мономодального флуоресцентного «Off-On» сенсора на основе ВРВ для детектирования SO_3^{2-}

Первоначально мы решили оценить потенциал флуорогенного **ВРВ** для разработки флуоресцентных сенсоров, перспективных для обнаружения одного аналита. Чтобы доказать заявленную концепцию, были проведено изучение спектральных свойств и флуорогенной реакционной способности соединения **S15**, несущего два фрагмента NBD (7-нитро-1,2,3-бензоксадиазольную группу, реакционноспособных на S-нуклеофилы, включая SO_3^{2-}).

Синтез сенсора **S15** был проведен с использованием реакции O-арилации бисфенола **ВРВ** хлоридом NBD (NBD-Cl). Реакцию проводили в сухом CH_3CN в присутствии DIPEA (Схема 7).

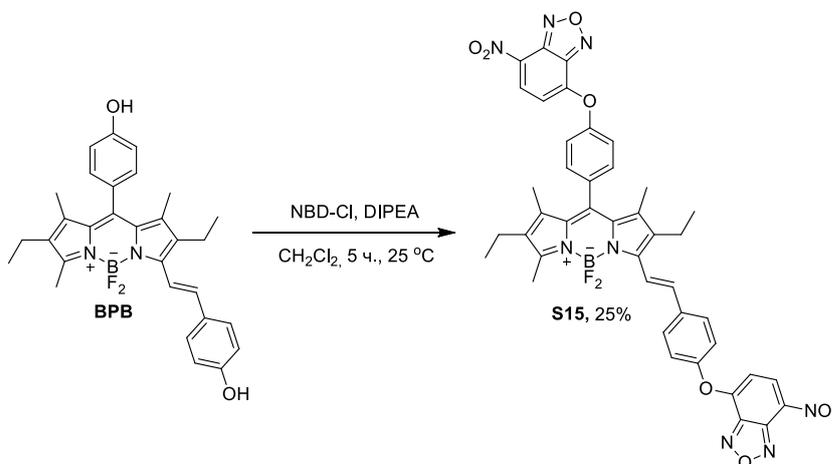


Схема 7. Синтез соединения **S15**.

Как и ожидалось, соединение **S15**, несущее два фрагмента NBD, оказалось не флуоресцирующим. Максимум поглощения соединения **S15** был зафиксирован при 590 нм (10 мМ РВ + 50 % EtOH, 25 °C), $\epsilon = 31800 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Была показано, что наибольшее разгорание флуоресценции наблюдается после активации Na_2SO_3 . На рисунке 7а показано наложение спектров испускания (волна возбуждения 540 нм) раствора **S15** до и после активации Na_2SO_3 (5 экв., инкубация в течение 3 часов в РВ + 50% EtOH при 25°C). Интенсивность флуоресценции **S15** при 600 нм увеличилась примерно в 25 раз при добавлении Na_2SO_3 (флуоресцентная активация завершилась в течение 18 минут (Рисунок 7б)), что указывает на то, что сенсор **S15** можно использовать для «Off-On» обнаружения сульфита.

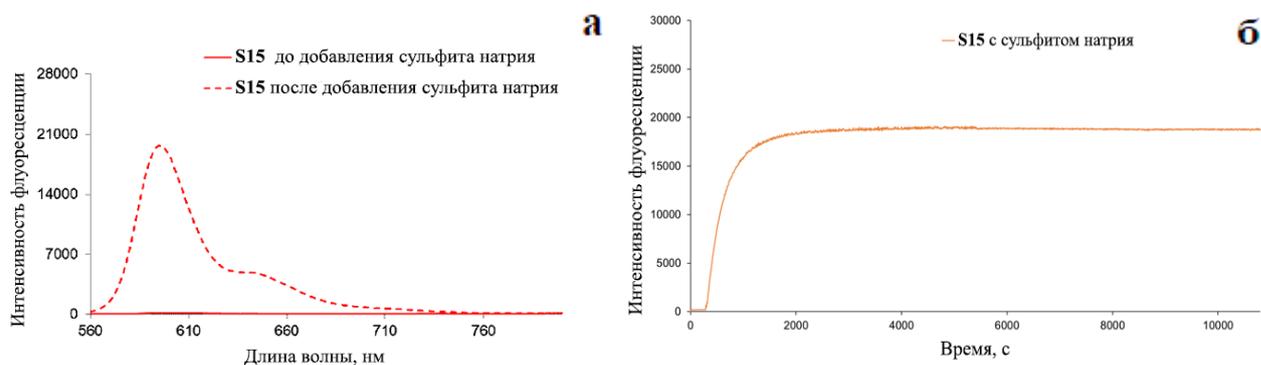


Рисунок 7. (а) Спектры испускания **S15** (0.25 μM) в PB + 50% EtOH до и после инкубации с Na₂SO₃ (5 экв.) (λ_{ex} = 540 нм) (б) Зависимость от времени изменения интенсивности флуоресценции **S15** (0.25 μM) в PB + 50% EtOH при добавлении Na₂SO₃ (5 экв.) (λ_{ex} = 540 нм).

Была исследована селективность и зависимость времени активации сенсора **S15** в отношении различных S-нуклеофилов. Различные аналиты, включая HS⁻, цистеин (Cys), глутатион (GSH) и бензолсульфиновая кислота, были добавлены к раствору сенсора **S15** в PB + 50% EtOH в количестве 1 экв. Самые значительные изменения в спектре испускания раствора сенсора были обнаружены при добавлении SO₃²⁻. Добавление HS, Cys и GSH приводило к увеличению интенсивности флуоресценции в 15-20 раз, но реакция с ними шла намного медленнее (около 2 часов) (Рисунок 8).

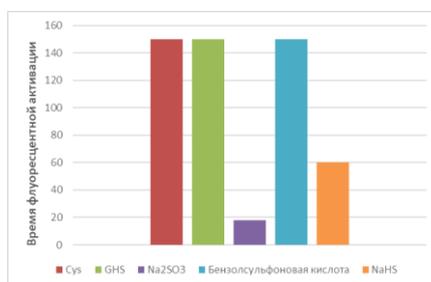


Рисунок 8. Зависимость времени активации сенсора **S15** (λ_{ex} = 540) с различными серосодержащими соединениям в PB + 50% EtOH при 25 °C.

Таким образом, сенсор **S15** убедительно доказал потенциал бис-фенольного флуорогенного каркаса **BPB** для создания флуоресцентных сенсоров для низкофонового детектирования S-нуклеофилов. Предел обнаружения для SO₃²⁻ составил 1.4×10^{-9} M, что свидетельствует о высокой чувствительности сенсора.

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

С использованием трисфенол-БОДИПИ в качестве платформы для разработки флуоресцентных сенсоров нами был получен водорастворимый флуоресцентный сенсор для

детектирования гипоксического статуса раковых клеток, работающий в дальней красной области спектра. При дизайне сенсора мы руководствовались следующими соображениями: 1) мезофенольный фрагмент молекулы сенсора регулирует флуоресценцию ядра *БОДИПИИ* после снятия с него защитной группы, селективной к нитроредуктазы (NTR), одному из ключевых ферментов гипоксического состояния клеток 2) два других фенольных фрагмента были использованы для ортогональной функционализации молекулы **S16** водорастворимыми группами (Рисунок 9).

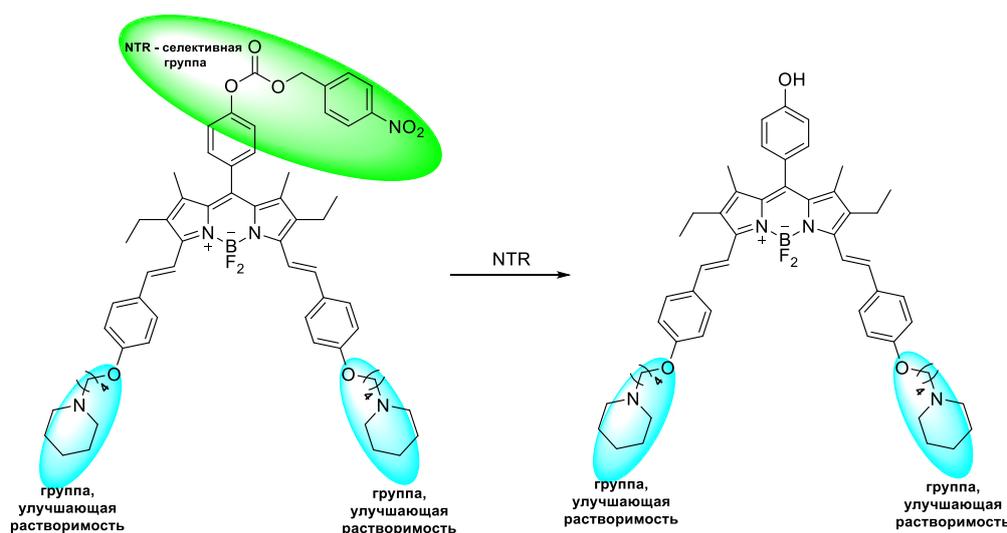


Рисунок 9. Предполагаемый механизм активации сенсора **S16**.

Соединение **S16** было синтезировано из коммерчески доступных реагентов в четыре стадии в соответствии с синтетической схемой 8. Сначала было получено производное бензальдегида **25**, несущего 4-бромбутоксигруппу. Затем соединение **24** ввели в конденсацию Кневенагеля с избытком бензальдегида **25** (5 экв.) в присутствии пиперидина и *para*-толуолсульфокислоты (TsOH) в кипящем сухом толуоле. Эти условия позволили нам получить соединение **26**. Реакция *O*-ацилирования фенольной группы *para*-нитробензилхлорформиатом в присутствии Et₃N привела к соединению **S16**, которое было выделено в чистом виде методом колоночной хроматографии на силикагеле с выходом в 40%.

Фотофизические свойства сенсора **S16** были изучены в воде, содержащей 10% ДМСО, чтобы минимизировать образование не флуоресцентных агрегатов *H*-типа. Спектр поглощения флуоресценции **S16** характеризуется широкой полосой испускания с максимумом при 686 нм. Интересно отметить, что гашение *para*-нитробензильным фрагментом было не так эффективно, как первоначально ожидалось. Относительный квантовый выход флуоресценции **S16** составил Ф

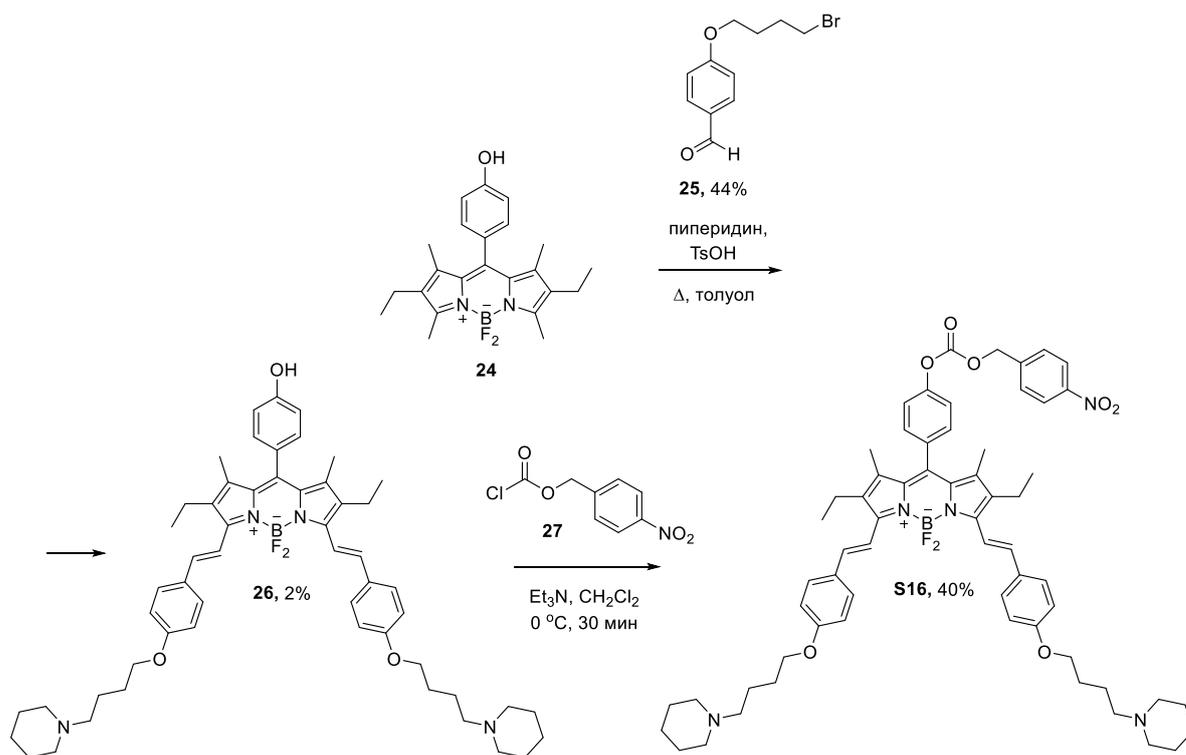


Схема 8. Синтез флуоресцентного сенсора **S16**.

На следующем этапе мы оценили потенциал **S16** *in vitro* биологической модели гипоксии. Совместно с РОНЦ им. Блохина сенсор **S16** был использован для визуализации гипоксии в живых клетках (клеточная линия A549, карцинома легкого) (Рисунок 10). Было продемонстрировано, что соединение **S16** может быть использовано для визуализации гипоксического статуса в клетках карциномы легких. Гипоксические образцы имели более слабую флуоресценцию по сравнению с нормоксическими образцами (Рисунок 10б).

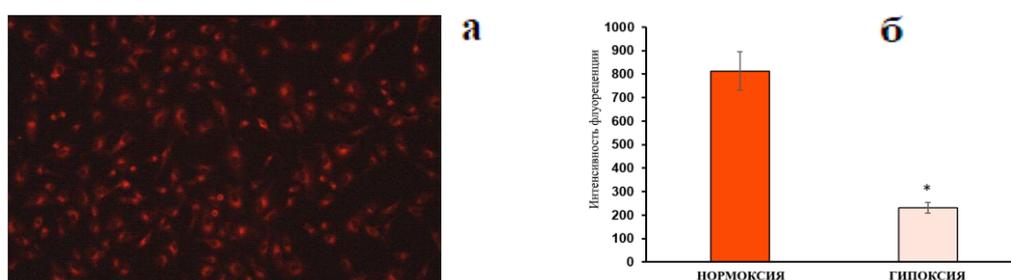


Рисунок 10. (а) Флуоресцентное изображение раковых клеток линии A549, инкубированных с сенсором **S16** (20 мМ) в течение 60 мин., $\lambda_{ex} = 530-585$ нм, $\lambda_{em} = 615$ нм. (б) Интенсивность флуоресценции нормоксических и гипоксических клеток A549, обработанных **S16** ($\lambda_{ex} / \lambda_{em} = 610/680$ нм).

2.3. Разработка двумодальных флуоресцентных «Off-On» сенсоров на основе ВРВ

На основе ВРВ нами были предложены соединения **S17–S19**, которые, как ожидалось, будут реагировать на Hg^{2+} в паре с АФК (такими как супероксидный анионный радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$) или гипохлорит-анион (OCl^-) или HS^-).

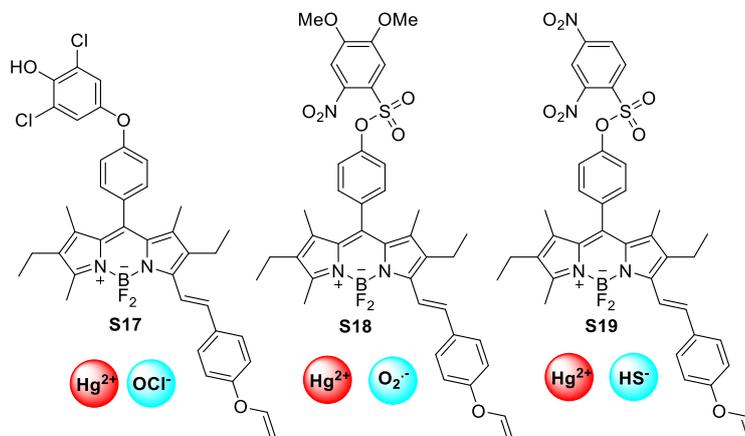


Рисунок 11. Структуры соединений **S17–S19**.

Поскольку известно, что Hg^{2+} способствуют гидролизу винилэфирной группы (в физиологических условиях), мы заменили этим алкеновым фрагментом гидроксил у стирилового фенола. Атом водорода второй фенольной группы (в мезоарильном положении) был замещен селективной к АФК/ HS^- группой. Синтез красителей **S17–S19** представлен на схемах 9 и 10. Синтез сенсора **S17** был реализован в 8 стадий из 2,6-дихлорфенола **28**. Ключевой являлась стадия конденсации БОДИПИИ **33** с альдегидом **34** при кипячении в сухом толуоле с насадкой Дина-Старка.

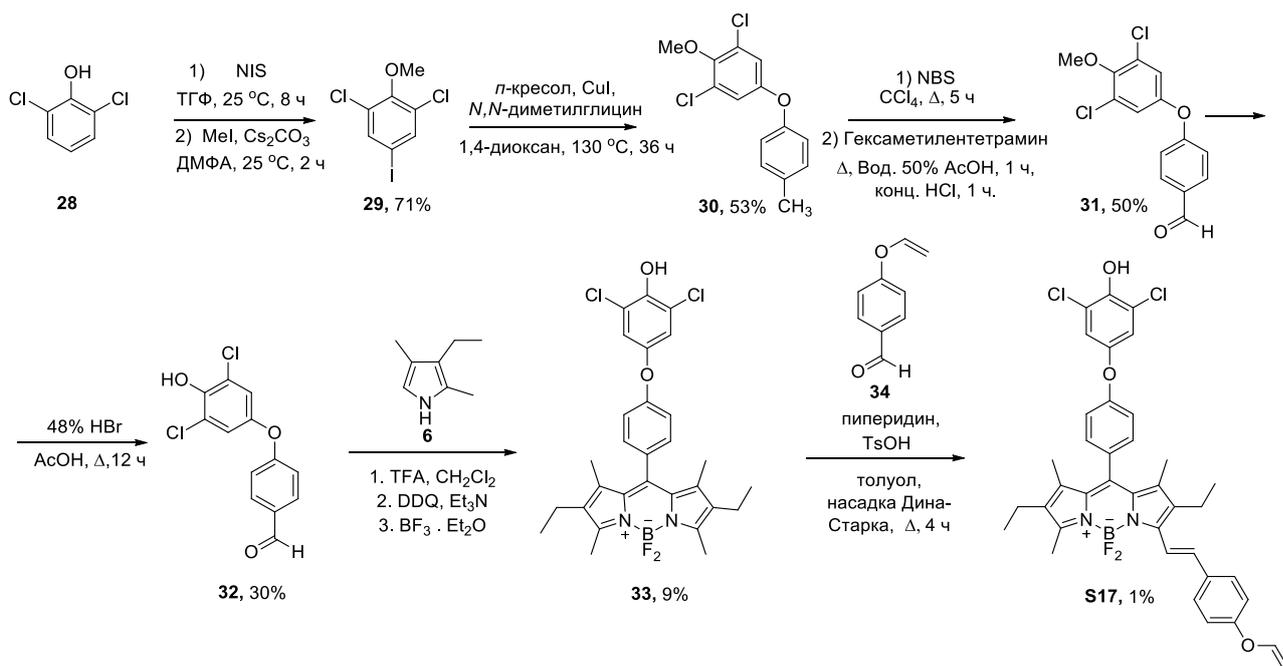


Схема 9. Синтез соединения **S17**.

Синтез соединений **S18**, **S19** был реализован из **БОДИПИ 24**, содержащего *para*-гидроксифенильную группу в качестве мезоарильного заместителя. По реакции Кневенагеля с винилоксиальдегидом **34** было получено соединение **35**, замещение фенольного гидроксида которого на 4,5-диметокси-2-нитробензосульфонил и 2,4-динитробензосульфонил позволило получить соединения **S18** и **S19** (Схема 10).

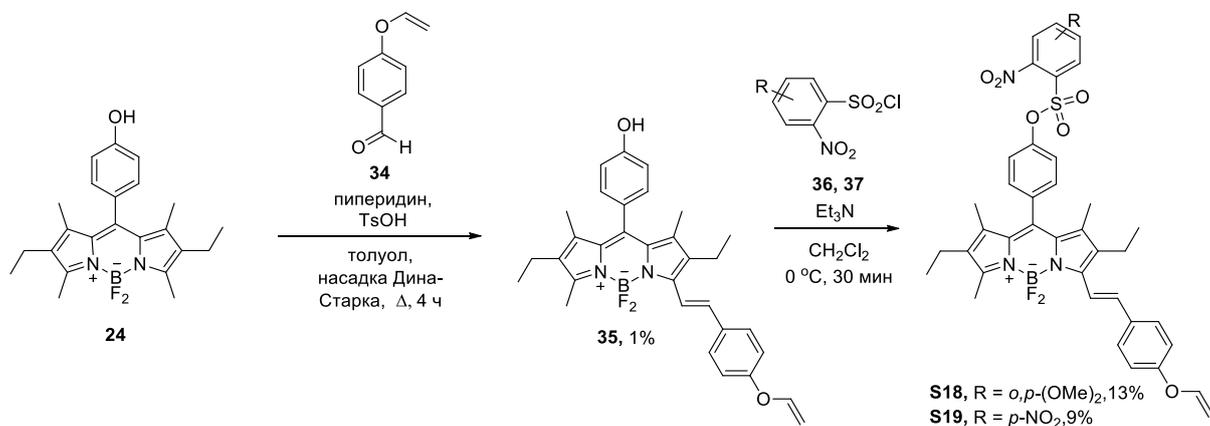


Схема 10. Синтез соединения **S18**, **S19**.

Анализ спектральных характеристик **S17–S19** показал, что только соединение **S19** может рассматриваться, как двумодальный флуоресцентный сенсор, перспективный для двойного детектирования. Соединение **S19** оказалось почти не флуоресцирующим (определить остаточный квантовый выход флуоресценции было невозможно из-за отсутствия линейной зависимости между флуоресценцией и поглощением на длине волны возбуждения 540 нм). Спектр раствора соединения **S19** имел максимум поглощения при 599 нм (PB + 10% MeCN, 25 °C), $\epsilon = 41200 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

Далее мы исследовали флуорогенную реакционную способность **S19** по отношению к Hg^{2+} и HS^- (преобладающая форма H_2S при физиологическом pH, NaHS был использован в качестве источника гидросульфидного аниона). Были изучены зависимые от времени изменения интенсивности флуоресценции раствора сенсора с парой аналитов. Результаты показаны на рисунке 12. При последовательном добавлении Hg^{2+} (5 экв., 10 мин. инкубации) и HS^- анионов (50 экв., около 85 мин. инкубации) раствор **S19** показал постепенное и умеренное увеличение интенсивности флуоресценции при 595 нм. Для достижения плато потребовалось 60 мин. Поскольку аналиты Hg^{2+} и HS^- способны реагировать вместе с образованием осадка HgS , активация **S19** при одновременной инкубации с этой парой аналитов не рассматривалась.

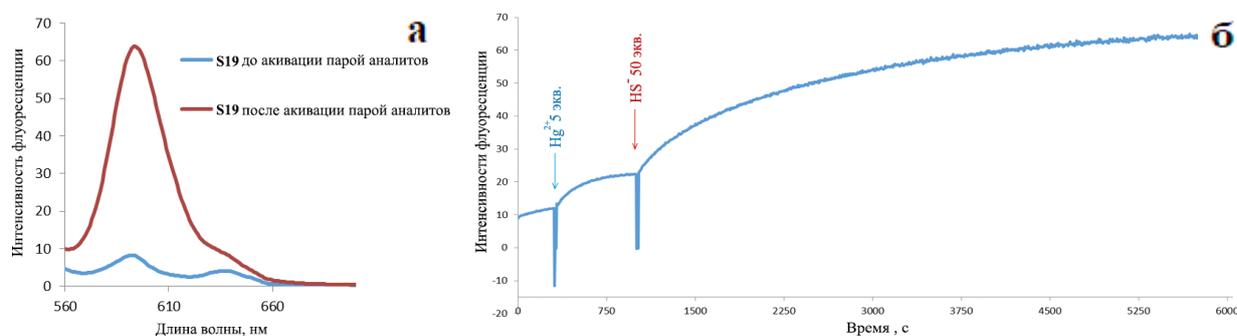


Рисунок 12. (а) Спектры испускания раствора **S19** ($1.7 \mu\text{M}$) в $\text{PB} + 10\% \text{CH}_3\text{CN}$ до и после активации HS^- и Hg^{2+} ($\lambda_{\text{ex}} = 540 \text{ nm}$). (б) Зависимость от времени изменения интенсивности флуоресценции ($\lambda_{\text{ex}} = 540 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 595 \text{ nm}$) **S19** ($1.7 \mu\text{M}$) в $\text{PB} + 10\% \text{CH}_3\text{CN}$ при $25 \text{ }^\circ\text{C}$. HgCl_2 (5 экв.) добавляли через 5 мин. инкубации сенсора в буфере, через 10 мин. инкубации добавили NaHS (50 экв.).

Таким образом, в ходе выполнения первой части работы нами были предложены методы получения производных *БОДИПИ* модифицированных «псевдо-краун» эфирными остатками, являющимися синтетически доступными аналогами краун-эфирных хелатирующих групп. Впервые систематически изучены закономерности структура-спектральные свойства для «псевдо-краун» эфир-замещенных *БОДИПИ*. Показано, что природа линкера, связывающего флуорофор и хелатирующую группу существенно влияет на селективность связывания полученных красителей с катионами металлов. Впервые показано, что дипиколиламиновое производное *БОДИПИ* может быть использовано для селективной визуализации накопления Zn^{2+} в тканях растений. При этом одновременная модификация каркаса *БОДИПИ* «псевдо-краун» эфирным остатком и дипиколиламиновым фрагментом позволила получить двумодальную пробу, позволяющую детектировать одновременное присутствие в растворе Al^{3+} и Zn^{2+} . В рамках второй части выполнения работы нами впервые был изучен потенциал полифенол-замещенных *БОДИПИ* в качестве универсальной платформы для разработки «Off-On» флуоресцентных сенсоров на различные биоаналиты. Подводя общий итог выполнения работы можно отметить, что разработка двумодальных проб в ряду *БОДИПИ* является нетривиальной задачей, требующей тщательного подбора рецепторных групп и оптимизации структуры флуоресцентного ядра. Высокий уровень молекулярной сложности *БОДИПИ*, функционализированных двумя различными рецепторными группами, наряду с их синтетической труднодоступностью, затрудняет накопление и прогнозирование свойств подобных соединений. Тем не менее, нам удалось разработать две ранее неизвестные двумодальные пробы на основе *БОДИПИ*, позволяющие детектировать одновременное присутствие Al^{3+} и Zn^{2+} в ацетонитрильных растворах, и последовательное появление Hg^{2+} и HS^- в физиологических средах.

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 дипиколиламиную 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 реакционноспособными 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 реакционноспособных 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.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

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. Water-soluble red-emitting nitroreductase-responsive Bodipy-based fluorescent probe for the detection of hypoxic status in A549 non-small-cell lung cancer cells 10.1016/j.mencom.2020.11.02.
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 $Hg(II)/O_2^-$ - 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.