

На правах рукописи



Дорошенко Ирина Андреевна

**ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗАМЕЩЕННЫЕ КАРБОЦИАНИНЫ КАК
ОСНОВА ДЛЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ДИЗАЙНА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ
МЕТОК**

02.00.16 – Медицинская химия

02.00.03 – Органическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание научной степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

к.х.н., доцент Т.А. Подругина

Оглавление

1. Введение	4
2. Литературный обзор	10
1.1. Направления использования карбоцианинов в терапии рака	10
2.1 Карбоцианины как инструмент для визуализации	15
2.1.1 Нековалентносвязанные флуорофоры с исследуемой молекулой	15
2.1.2 Ковалентно связанные конъюгаты карбоцианинов	19
2.1.2.1 Конъюгаты, образованные через амидную связь	19
2.1.2.1.1 Создание конъюгатов проникающих пептидов с карбоцианинами.....	24
2.1.2.2 Создание конъюгатов с использованием клик-реакции	28
2.2 Другие направления использования трикарбоцианинов как перспективных флуорофоров в медицине.....	30
2.3 Синтез карбоцианинов.....	31
2.3.1 Синтез гетероциклических солей	31
2.3.2 Синтез несимметричных карбоцианинов	33
2.3.3 Синтез симметричных карбоцианинов	36
3. Обсуждение результатов.....	39
3.1 Синтез карбоцианинов.....	40
3.1.1 Синтез исходных соединений	40
3.1.1.1 Синтез исходных карбонильных компонент	40
3.1.1.2 Синтез исходных гетероциклов и алкилирующих агентов	42
3.1.2 Синтез кватернизированных гетероциклических систем в качестве метиленовых компонент.	44
3.1.2.1 Алкилирование метилхинолинов, замещенных пиридинов и бензотиазола	44
3.1.2.2 Гетероциклические соли на основе индоленина и бензоиндоленина	46
3.1.2.2.1 Гетероциклические соли с алкилфосфонатной группой у атома азота	48
3.1.3 Синтез несимметричных карбоцианинов	51
3.1.3.1 Синтез монокарбонильных компонент	52
3.1.3.2 Синтез несимметричных карбоцианинов.....	58
3.1.4 Синтез симметричных карбоцианиновых красителей.....	63
3.1.5 Модификация трикарбоцианинов по мезо-положению	71
3.1.5.1 Введение O-нуклеофила по мезо-положению	71
3.1.5.2 Введение N-нуклеофила по мезо-положению	73
3.2 Спектрально-кинетические свойства карбоцианинов	76
3.3 Анализ взаимодействия синтезированных красителей с биомакромолекулами	85
3.3.1 Молекулярный докинг красителей с ЧСА и АФП и анализ их взаимодействий.....	85
3.3.2 Изучение связывания конъюгата цианинового красителя с пентапептидом с ЧСА	89

3.3.3	Спектрально-кинетические свойства комплексов цианиновых красителей с биомакромолекулами	91
3.4	Исследование накопления трикарбоцианинов в опухолевых клетках и оценка цитотоксичности.....	94
3.5	Визуализация низкомолекулярных аналитов.....	100
3.6	Синтез ковалентных конъюгатов на основе карбоцианинов 60, 61 и 85 с антибиотиками.....	110
3.7	Исследование взаимодействия флуорофоров, модифицированных ω - аминокислотами, и конъюгатов на их основе с клетками	113
4.	Экспериментальная часть	121
4.1	Общие сведения	121
4.2	Синтез исходных соединений.....	124
4.3	Синтез четвертичных солей	129
4.4	Синтез монокарбонильных компонент.....	145
4.5	Синтез несимметричных карбоцианинов	155
4.6	Синтез симметричных карбоцианиновых красителей	170
4.7	Синтез модифицированных конформационно закрепленных трикарбоцианиновых красителей по мезо-положению.....	189
4.8	Синтез конъюгатов трикарбоцианинов с пептидами	201
5.	Выводы	206
6.	Список литературы.....	208
7.	Приложение.....	219

1. Введение

Актуальность работы.

Современный уровень исследования процессов, происходящих в живых системах требует эффективного мониторинга изменений в режиме реального времени. Такой подход к решению задач разного уровня сложности предполагает в качестве наиболее эффективного метода использование визуализации. С этой точки зрения удобным является использование молекул, способных к флуоресценции. Структура таких молекул должна определять свойства флуорофора, позволяющие регистрировать состояние системы и локализацию объекта визуализации в ходе эксперимента. Методы визуализации можно разделить на две группы, в зависимости от способа связывания флуорофора с целевым объектом: визуализация, подразумевающая предварительное ковалентное связывание флуорофора с наблюдаемой молекулой, и визуализация, при которой флуорофор нековалентно взаимодействует с целевыми молекулами. С этой точки зрения перспективными флуорофорами для визуализации являются карбоцианины. Карбоцианиновые красители представляют собой важный класс π -полиеновых сопряженных структур, сочетающих в своей структуре ароматические гетероциклические фрагменты и полиеновый фрагмент с делокализованным положительным зарядом. Уникальные фотофизические свойства карбоцианинов в различных средах и широком диапазоне длин волн поглощения и флуоресценции привели к их использованию в самых разнообразных областях аналитической химии, биологии и медицины для количественного мониторинга процессов в тканях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*. Еще одним фактором, определяющим эффективность использования карбоцианинов – их структурные особенности, позволяющие проводить разнообразные модификации структурных фрагментов, тем самым изменяя их фотофизические свойства. Несмотря на большую востребованность карбоцианиновых красителей, до настоящего времени единственным допущенным в клиническую практику карбоцианином является кардиогрин (ICG), что несомненно делает актуальным поиск перспективных карбоцианиновых красителей и создание основ структурного дизайна этого класса соединений для синтеза флуорофоров с заданными фотофизическими свойствами.

Цель работы.

Цель работы заключалась в синтетическом дизайне карбоцианиновых красителей за счет введения гидрофобных и гидрофильных заместителей, в том числе содержащих функциональные группы, в различные структурные фрагменты молекулы и изучении

спектрально-кинетических и фотофизических свойств, способности проникновения через клеточную мембрану и цитотоксичности синтезированных карбоцианинов, а также ковалентных и нековалентных конъюгатов на их основе.

Достижение данной цели предполагало необходимость решения следующих задач:

- Разработка методологии синтеза карбоцианинов с учетом направления их структурной модификации: природы гетероцикла, длины полиметиновой цепи и природы заместителей в различных структурных фрагментах;

- Синтез на основе выбранной методологии нескольких серий новых три-, пента- и гептаметиновых карбоцианинов и их конформационно закрепленных производных на основе гетероциклов разной природы: хинолинов, индоленинов, бензоиндоленинов и бензотиазолов, содержащих гидрофобные и гидрофильные заместители при кватернизированных атомах азота;

- Исследование влияния проведенной направленной модификации структуры на фотофизические и спектрально-кинетические свойства карбоцианинов;

- Изучение эффективности нековалентного взаимодействия целевых красителей с транспортными белками и низкомолекулярными анализитами для определения их потенциала в качестве инструмента для визуализации;

- Создание ковалентных конъюгатов на основе синтезированных карбоцианинов с пептидами и антибиотиками для дальнейшего использования при изучении процессов их взаимодействия с клетками, а также в диагностике и тераностике.

Научная новизна.

Впервые синтезирована серия симметричных и несимметричных карбоцианинов либо принадлежащих разным гетероциклическим системам, либо имеющих общее гетероциклическое ядро, но разные заместители при кватернизированном атоме азота, либо имеющих различную длину полиметиновой цепи, в том числе конформационно закрепленных. Осуществлена модификация конформационно закрепленных трикарбоцианинов по мезо-положению полиметинового фрагмента с участием O- и N-нуклеофилов, синтезированы конъюгаты на их основе с нефункциональными пептидами и показана возможность создания конъюгатов с проникающими пептидами. Впервые синтезированы симметричные и несимметричные трикарбоцианины, содержащие алкинильный фрагмент, как основа для создания конъюгатов с модифицированными антибиотиками с использованием клик-реакций.

Исследованы фотофизические свойства целевых карбоцианинов. Впервые с помощью полужесткого докинга определены сайты связывания синтезированных

карбоцианинов с транспортными белками – сывороточными альбуминами и альфа-фетопротеином.

Впервые было показано, что эффективное нековалентное связывание с малыми молекулами хорошо обеспечивают карбоцианины бензоиндоленинового ряда, содержащие как гидрофильные группы COOH и SO_3^- , так и гидрофобный алкильный фрагмент, что делает возможным их использование в аналитических целях в качестве инструмента визуализации.

Установлено, что пентаметиновый карбоцианин с додецилкарбоксылными заместителями при кватернизированных атомах азота гетероциклов может быть успешно использован в качестве селективного флуоресцентного сенсора.

Найден путь создания перспективной основы для конъюгирования трикарбоцианинов с пептидными векторами. Установлено, что необходимой структурной базой для создания целевых конъюгатов с проникающими пептидами являются трикарбоцианины, модифицированные ω -аминокислотами по мезо-положению конформационно закрепленной полиметиновой цепи и содержащие не менее двух сульфонатных групп в заместителях при кватернизированных атомах азота индоленинового скаффолда.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Разработан подход к созданию широкого спектра структурных модификаций карбоцианинов с целью направленного синтеза флуорофоров как для ковалентного связывания с биомолекулами, так и для нековалентного взаимодействия с низкомолекулярными аналитами и транспортными белками. Выявлена зависимость способности целевых карбоцианинов к проникновению в клетки от природы заместителей в различных структурных фрагментах молекулы. Найден оптимальные комбинации липофильных и гидрофильных заместителей в карбоцианинах, определяющие цитотоксичность последних и селективность к проникновению в опухоли.

Впервые на основании определения спектрально-кинетических характеристик, установлена возможность образования двух типов комплексов целевых карбоцианинов с транспортными белками и вычислены их константы связывания.

Впервые синтезированы серии индотрикарбоцианинов, конформационно закрепленных и со свободной полиметиновой цепью, содержащих фосфонатные заместители при кватернизированных атомах азота гетероцикла и установлено, что замена гидрофильных сульфонатных групп на фосфонатные не приводит к существенному

изменению спектрально-кинетических характеристик. Установлено, что возможность поэтапного гидролиза фосфонатных групп влияет на возможность накопления в клетках: эффективность накопления уменьшается при переходе от диэтилфосфонатных производных к моноэфирам и затем к свободной фосфоновой кислоте.

На основании метода импульсного фотолиза было определено значение квантового выхода триплетного состояния Φ_T ($\Phi_T < 10^{-5}$) и показано, что все целевые карбоцианины не могут сенсibilизировать фотохимические процессы, то есть могут быть использованы как эффективные флуорофоры для визуализации.

Разработан подход к созданию конъюгатов на основе конформационно закрепленных индотрикарбоцианов с пептидами, обладающими антипролиферативной активностью.

Положения, выносимые на защиту.

- Выявленная зависимость методологии сборки карбоцианинов от направления их структурной модификации позволяет синтезировать три-, пента- и гептаметиновые флуорофоры и их конформационно закрепленные производные на основе гетероциклов разной природы: хинолинов, индоленинов, бензоиндоленинов и бензотиазолов, содержащих гидрофобные и гидрофильные заместители при кватернизованных атомах азота.

- Оптимальной последовательностью для синтеза несимметричных карбоцианинов является проведение на первой стадии процесса конденсации с метиленовой компонентой, содержащей алкилсульфонатную группу при кватернизованном атоме азота, метиленовая компонента с гидрофобным заместителем вводится на второй стадии процесса.

- Разработанная методология синтеза ковалентных конъюгатов с пептидами на основе индоленина и бензоиндоленина за счет нуклеофильного замещения атома хлора по мезоположению полиметиновой цепи конформационно закрепленных карбоцианинов является основой для создания конъюгатов карбоцианинов с проникающими пептидами.

- Конъюгаты с нефункциональными пептидами, содержащие не менее двух алкилсульфонатных групп в заместителях при атоме азота гетероцикла не способны проникать через клеточную мембрану, что позволяет использовать их в качестве маркеров при исследовании механизмов действия проникающих пептидов.

- Анализ фотофизических и спектрально-кинетических характеристик карбоцианинов, проведенный на нескольких сериях карбоцианинов, в которых варьировались природа гетероцикла, величина полиметиновой цепи и природа

заместителей в разных структурных фрагментах свидетельствует о том, что данные параметры существенно зависят от природы гетероциклического скаффолда и от длины полиметиновой цепи, и практически не зависят от характера заместителя при кватернизированном атоме азота, что и определяет направления модификации их структуры.

- Нековалентное связывание целевых карбоцианинов с транспортными белками происходит за счет неспецифических взаимодействий и приводит к образованию двух типов комплексов – со свободным флуорофором и с его агрегатом, причем взаимодействие со свободным карбоцианином является преобладающим. Величины констант связывания и времени жизни двух типов комплексов в большей степени зависят от природы заместителей в мезо-положении полиметиновой цепи, чем от природы заместителей при атоме азота гетероцикла.

- Нековалентное взаимодействие целевых красителей с низкомолекулярными аналитами эффективно осуществляется за счет процессов агрегации в мицеллярных растворах и может служить основой для создания инструментов визуализации малых молекул.

Личный вклад автора состоит в проведении анализа мировой литературы по основным направлениям работы, постановке синтетического эксперимента, решении актуальных задач оптимизации процессов модификации целевых соединений, включающих планирование, проведение синтеза и очистки карбоцианинов. Автор принимала непосредственное участие в постановке цели и задач исследования, обработке и интерпретации полученных результатов, представлении ключевых результатов работы на конференциях, в подготовке материалов к публикации в научных журналах и в формулировании выводов. Также автор принимала участие в определении основных физико-химических параметров, в изучении сайтов связывания выбранных мишеней с помощью соответствующего ПО, в исследовании констант связывания с транспортными белками и анализе проведенных физико-химических экспериментов, в изучении взаимодействия карбоцианинов, содержащих карбоксильную группу, с низкомолекулярными аналитами, в проведении экспериментов по взаимодействию целевых конъюгатов с клетками и в исследовании биологической активности флуорофоров.

Апробация работы и публикации.

Основное содержание работы изложено в 19 публикациях в виде 7 статей в международных рецензируемых научных изданиях, индексируемых виртуальными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных ВАК для публикации результатов

диссертационных работ, а также 12 тезисов докладов на международных и российских научных конференциях.

Основные материалы работы были представлены в виде стендовых и устных докладов на следующих конференциях: Международные научные конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2016», «Ломоносов – 2017», «Ломоносов-2020», «Ломоносов-2021» (Москва, Россия, 2016, 2017, 2020, 2021 гг.), Кластер конференций по органической химии «Оргхим-2016» (Санкт-Петербург, Россия, 2016), XX Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (Нижний Новгород, Россия, 2017), 3-я Российская конференция по медицинской химии (Казань, Россия, 2017), V Всероссийская конференция с международным участием по органической химии (Владикавказ, Россия, 2018), 4th Russian Conference on Medicinal Chemistry «MedChem Russia 2019» (Екатеринбург, Россия, 2019).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда - проект №14-13-00698, Гранта Президента РФ для поддержки ведущих научных школ № НШ-5130.2014.3, № НШ-10268.2016.3, государственного задания № 121021000105-7 и гранта РФФИ № 20-03-00334.

Структура и объем работы.

Материал диссертации изложен на 230 страницах машинописного текста и состоит из 7 разделов: включает введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы, список цитируемой литературы и приложение. Диссертационная работа содержит 67 рисунков, 40 таблиц и 102 схемы. Список литературы включает 149 наименований.

2. Литературный обзор

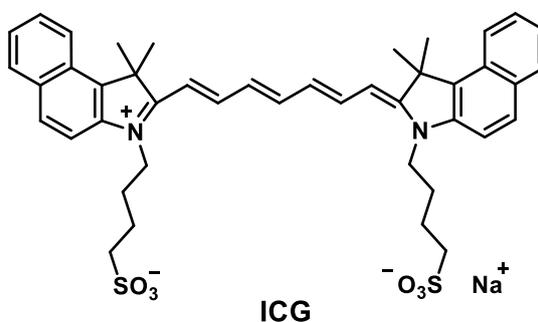
Создание структур, имеющих несколько центров для функционализации молекулы является одним из актуальных направлений тонкого органического синтеза с целью решения разнообразных задач диагностики и терапии. Удобной базовой структурой для таких исследований являются карбоцианины, обладающие большим структурным разнообразием и уникальными фотофизическими и спектрально-кинетическими свойствами. Синтез огромного количества соединений обусловлен необходимостью выявить закономерности влияния структуры флуорофоров на их свойства для создания концепции структурного дизайна карбоцианинов для эффективного использования в биологии и медицине. В рамках данного обзора проанализированы основные современные направления синтеза и использования карбоцианинов в анализе, биологии и медицине.

1.1. Направления использования карбоцианинов в терапии рака

В последнее время одно из самых важных направлений использования карбоцианинов лежит в области терапии и диагностики рака. Возможность выполнения одновременно нескольких задач обусловлена природой заместителей в различных структурных фрагментах флуорофоров.

Наиболее известный карбоцианиновый краситель – индоцианиновый зеленый (ICG) (Схема 1) – это полиметиновый краситель ближнего ИК-диапазона (700–1000 нм), широко используемый в качестве контрастного вещества для оптической визуализации. Он является одобренным FDA препаратом и используется в клинической практике для оптической визуализации, в том числе для ангиографии [1], для визуализации лимфатической, билиарной и кишечной систем и как визуализатор в стоматологии и в онкологической хирургии [2].

Схема 1

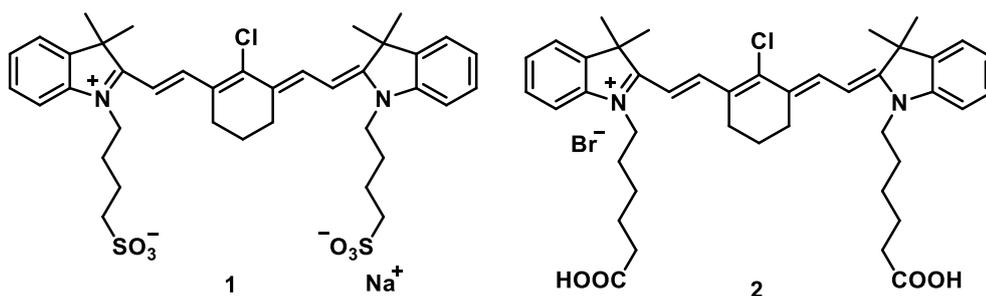


Перспективным направлением применения трикарбоцианинов является их использование в качестве средств визуализации и адресной доставки за счет способности

специфично накапливаться в опухолевых клетках, что позволяет увеличивать эффективность доставки лекарства в составе конъюгата с флуорофором [3; 4].

Способность селективно аккумулироваться в онкоклетках позволяет использовать карбоцианины для обнаружения метастазов и онкоцитов в крови. Например, для флуорофоров **1** и **2** (Схема 2) было установлено, что они способны накапливаться в митохондриях и лизосомах опухолевых клеток, по всей видимости, за счет анион-транспортных пептидов [5].

Схема 2



Эффективность нацеливания на гипоксичные онкоциты зависит как от природы гетероцикла, так и от природы функциональных групп при четвертичном атоме азота. При переходе к бензоконденсированным аналогам гетероцикла, флуорофор в некоторых случаях становится неселективным к раковым клеткам [6].

Слишком сильное увеличение липофильности красителей на основе индоленинового гетероциклического скелета за счет модификации заместителей при кватернизированных атомах азота путем введения больших гидрофобных групп (увеличение длины алкильного линкера) приводит к утрате селективности к опухоли. Введение водорастворимых групп (алкилсульфонатная, алкилкарбоксильная группа) также не увеличивает селективность к раковым клеткам (Схема 3). Приемлемой моделью выступают карбоцианины с умеренной липофильностью ($\log P \approx 6$), обеспечиваемой, в частности, оптимальной длиной алкильного заместителя (Таблица 1) [3; 7].

Схема 3

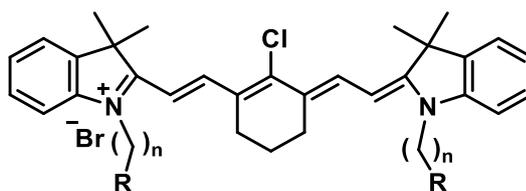
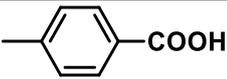
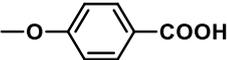
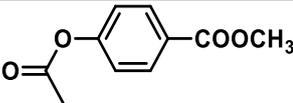
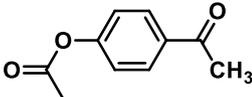
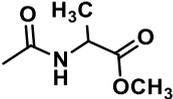
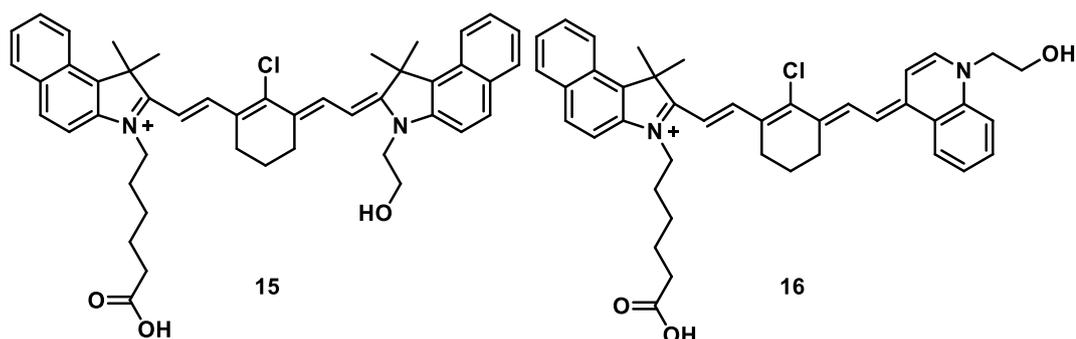


Таблица 1. Коэффициенты липофильности флуорофоров **3-14**.

№	n	R	logP
3	1		6.98
4	2	-CH ₃	6.01
5	2	-COOH	-
6	2	-SO ₃ Na	-
7	2	-OH	2.91
8	3	-COOH	4.34
9	3		6.76
10	4	-COOH	6.02
11	5	-COOPh	-
12	5		9.65
13	5		7.97
14	5		4.91

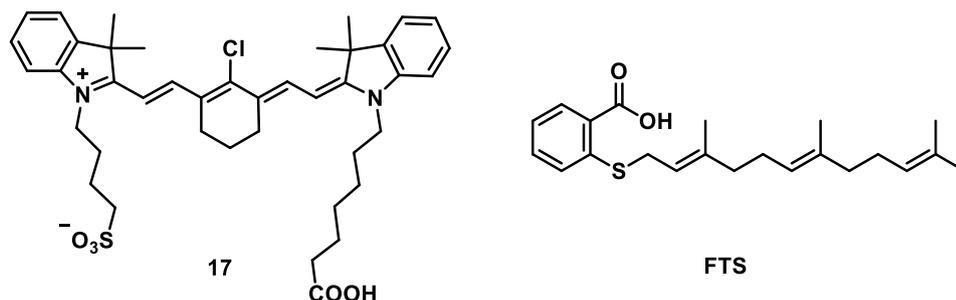
Использование несимметричных красителей **15**, **16** (Схема 4), обладающих более высокой липофильностью (**15** = 3.62, **16** = 0.90) по сравнению с ICG (log P – 1.69), позволяет визуализировать опухолевые клетки путем инкапсулирования красителя в гидрофильных лактосомах [8].

Схема 4



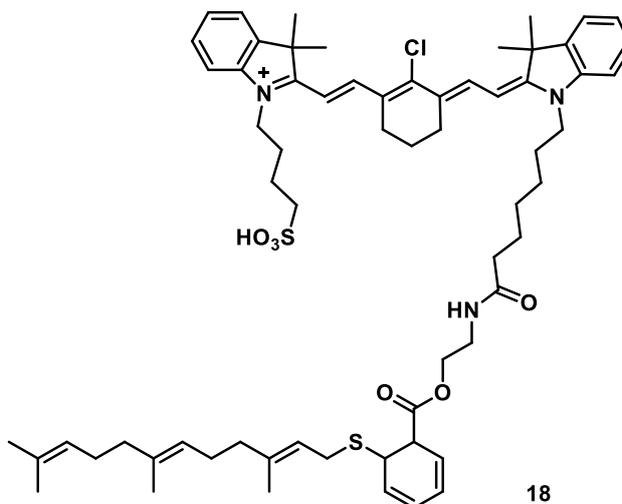
На примере несимметричного трикарбоцианина **17** (Схема 5) была показана возможность разработки конъюгата с липофильным лекарством, что позволяет решить проблему биодоступности. Перспективным химиотерапевтическим агентом, проходящим в настоящее время клинические испытания, является ингибитор RAS и mTOR S-транс-транс-фарнезилтиосалициловая кислота (FTS).

Схема 5



Однако, данный препарат показывает лишь умеренную эффективность за счет высокой гидрофобности и, как следствие, плохого фармакокинетического профиля. Введение FTS в комплекс с красителем **17** (Схема 6) позволило увеличить биодоступность FTS. Конъюгат FTS-краситель **18** показал более высокую активность ($IC_{50} = 16.8 \pm 0.5 \text{ мкМ}$), чем исходный FTS ($IC_{50} = \sim 51.3 \pm 1.8 \text{ мкМ}$), и подавил активность mTOR в раковых клетках при более низкой концентрации (1.5 мкМ). Также было показано, что соединение **18** специфически накапливается в опухолевых клетках.

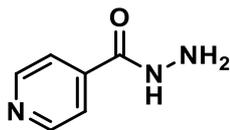
Схема 6



Конъюгат **18** (схема 6), содержащий гидрофильную сульфатную группу и карбоксильную группу, способную к ковалентному связыванию с FTS, повысил биодоступность последнего, тем самым преодолел препятствия для его продвижения в клинику [4].

Еще одним примером использования карбоцианинов в составе конъюгата с противораковым агентом является конъюгирование нацеленных на опухолевые клетки трикарбоцианиновых красителей с изониазидом (Схема 7), который является коммерчески доступным противотуберкулезным препаратом.

Схема 7



Данное соединение также способно ингибировать моноаминоксидазу А, которая экспрессируется при раке предстательной железы.

Была синтезирована серия конъюгатов трикарбоцианинов, содержащих гидрофильные группы, с производным изониазида, соединенных через рН-чувствительный фрагмент гидразона. На серии полученных конъюгатов (**19-28**) (Схема 8, Таблица 2) была продемонстрирована более высокая противоопухолевая активность ($IC_{50}=10.34-43.71 \mu M$) по сравнению с изониазидом ($IC_{50}>200 \mu M$) за счет эффективной адресной доставки в онкоциты. В качестве контроля использовался доксорубин ($IC_{50}=0.48 \mu M$) [9].

Схема 8

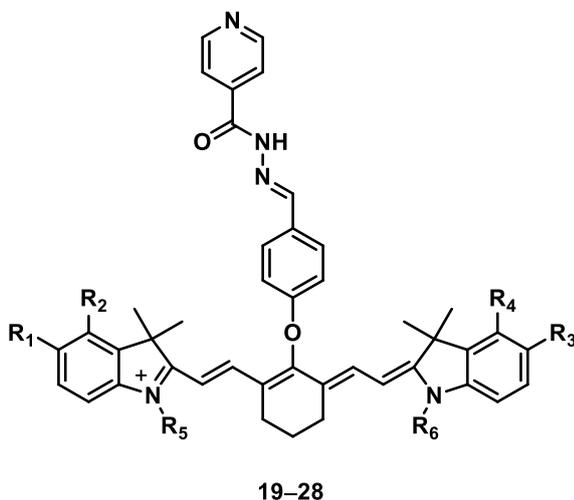
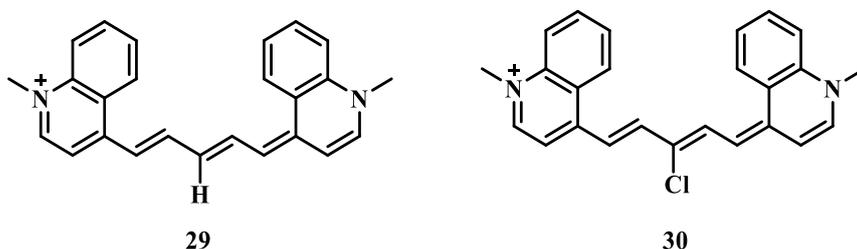


Таблица 2. Противоопухолевая активность конъюгатов **19-28**.

№	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	IC ₅₀ , μM
19	H	H	H	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-
20	H	H	H	H	(CH ₂) ₅ COOH	(CH ₂) ₅ COOH	24.57
21	CH ₃	H	CH ₃	H	(CH ₂) ₅ COOH	(CH ₂) ₅ COOH	-
22	OCH ₃	H	OCH ₃	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	43.71
23	CH ₃	H	CH ₃	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	38.04
24	Br	H	Br	H	(CH ₂) ₅ COOH	(CH ₂) ₅ COOH	11.35
25	H	H	Br	H	(CH ₂) ₅ COOH	(CH ₂) ₅ COOH	16.02
26	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	12.54
27	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	H	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	21.42
28	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	CH ₃	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	10.34

Несмотря на хорошую противоопухолевую активность хинолиновых красителей (сравнимую с индолениновыми), они имеют недостаток: подвергаются автоокислению в водных средах. Частично решить данную проблему позволяет введение в мезо-положение атома хлора [10]. Пентаметиновые карбоцианины на основе 4-метилхинолина **29** и **30** (Схема 9) способны к фотоиндуцированному расщеплению ДНК за счет однофотонного возбуждения хромофора при рекордных длинах волн до 830 нм (на 100 нм больше, чем для индолениновых красителей). Данный факт обуславливает потенциал хинолиновых карбоцианинов в фотодинамической терапии рака [10].

Схема 9



Таким образом, трикарбоцианины обладают значительным потенциалом для использования в терапии рака.

2.1 Карбоцианины как инструмент для визуализации

2.1.1 Нековалентносвязанные флуорофоры с исследуемой молекулой

Биополимеры, такие как белки и нуклеиновые кислоты, могут быть помечены флуоресцентным маркером за счет нековалентного связывания с флуорофором. Нековалентное связывание является результатом сильных гидрофобных и/или ионных взаимодействий между маркером и биомолекулой. Основное преимущество нековалентной маркировки состоит в том, что она в меньшей степени влияет на функциональную активность биомолекулы [11].

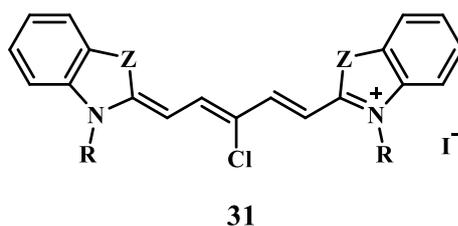
Нековалентное связывание красителя с биомолекулами может включать ионные, электростатические, гидрофобные и взаимодействия за счет образования водородных связей. Взаимодействие красителей с биомолекулами — это равновесный процесс, сопровождающийся образованием комплексов, основной характеристикой которых является константа связывания. Комплексы, образованные за счет нековалентного связывания, менее стабильны, но их образование проходит с большей скоростью и при физиологическом диапазоне pH. Стадии очистки обычно не нужны, если известна стехиометрия комплекса или если нековалентное связывание используется в сочетании с

методами разделения, например, капиллярным электрофорезом. Для такого типа комплексов спектр используемых красителей достаточно широк, диапазон поглощения и флуоресценции лежит в красной (600-700 нм) или ближней инфракрасной (>700 нм) областях спектра. Обнаружение на дальней длине волны использует преимущества низкого уровня помех со стороны растворителей и биологических тканей в этой области [11]. При высокой степени агрегации карбоцианина визуализация усложняется уширением полосы в спектре флуоресценции [12].

Цианиновые красители могут эффективно нековалентно связываться с биомолекулами. Например, с молекулой ДНК связывание может осуществляться двумя способами: интеркаляцией или связываться с малыми бороздками ДНК. Плоские гетероциклы на обоих концах красителя способствуют интеркаляции, в то время как полугибкий полиметиновый мостик может допускать скручивание, необходимое для связывания с кривой малой бороздкой. Незначительные изменения в структуре красителя или последовательности ДНК могут вызвать переход от одного режима связывания к другому [13].

На основании результатов исследований абсорбции карбоцианина **31** был сделан вывод, что цианиновые красители способны связываться с биомембранами, ДНК и белками, что приводит к изменению потенциала агрегации. Заметные изменения агрегации при связывании с ДНК позволяют использовать данные флуорофоры для обнаружения нуклеиновых кислот [14].

Схема 10



Еще один вариант нековалентного связывания красителей с биологическими системами, является введение флуорофора в коллоидную систему – кватсомы, включающих цетилтриметиламмонийбромид (ЦТАБ) в качестве ПАВ и холестерина в соотношении 1:1. Для таких комплексов используют липофильные, нерастворимые в воде карбоцианины, например, **32a-c**, тем самым получая флуоресцентные органические

наночастицы, которые связываются с клеточной мембраной, а затем попадают в клетку (Рисунок 1) [15].

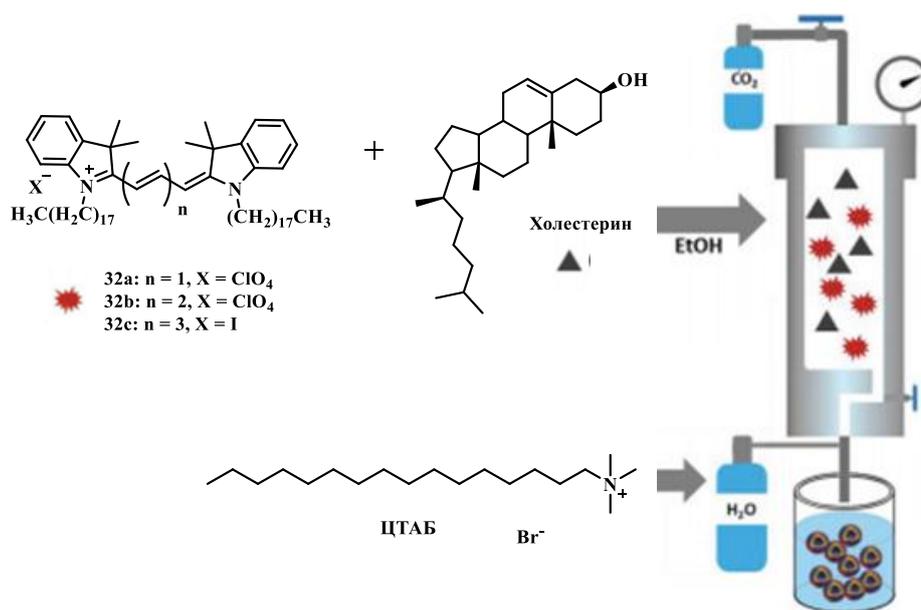


Рисунок 1. Образование кватсом.

Методом молекулярной динамики была установлена конфигурация красителя в мембране и показано, что заместители при атоме азота **32a** находятся внутри гидрофобного слоя, а индолениниевые гетероциклы – в гидрофильной области бислоя кватсомы (гетероциклы контактируют с водой) (Рисунок 2). При этом установлено, что красители отдельно от коллоидного раствора не попадают внутрь клеток HeLa. Эти наноструктуры являются стабильными и не агрегируют внутри клетки, что делает их перспективными для терапии.

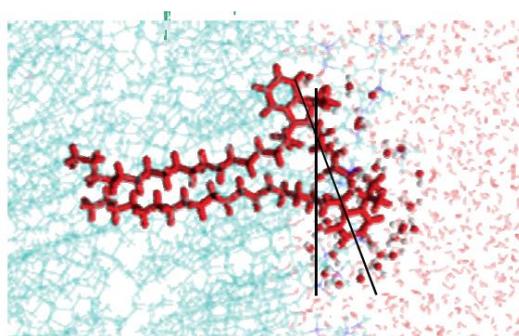


Рисунок 2. Расположение красителя внутри кватсомы.

Другим видом наноносителя могут быть мицеллы способные нековалентно связываться с красителем. Система мицелл на основе полиаспартамида обладает множеством преимуществ, таких как малый размер, хорошая стабильность, замедленное высвобождение карбоцианина и высокое поглощение внутри клетки. Такие наносистемы (красители **ICG** и **33**, инкапсулированные в мицеллы) могут быть использованы для

визуализации и фототермического эффекта на раковые клетки, поскольку могут проникать внутрь клетки [16].

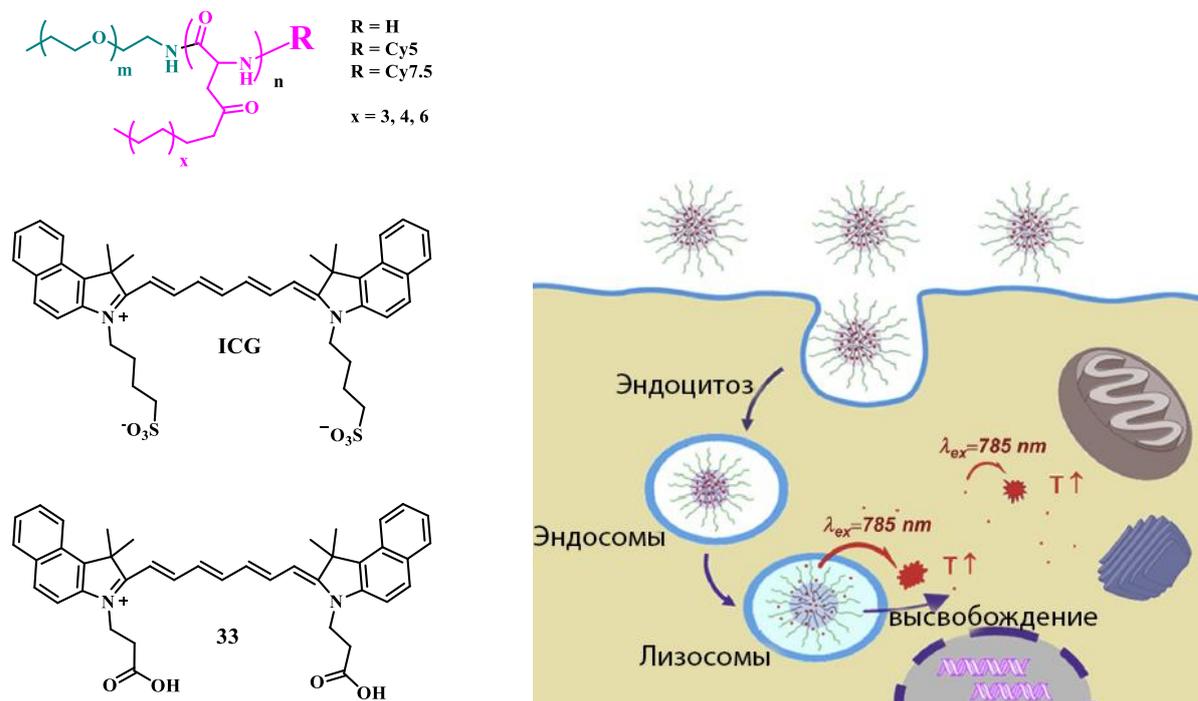
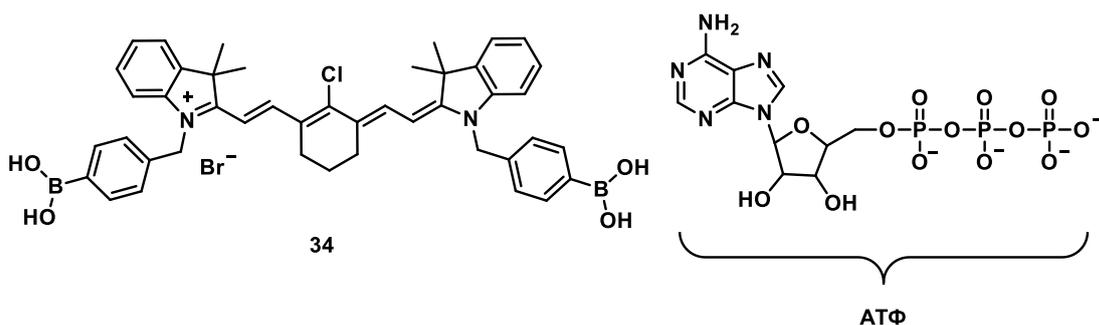


Рисунок 3. Схема проникновения нанонесителя в клетку.

Для определения низкомолекулярного вещества – АТФ, использовали цианиновый краситель **34**. Карбоцианин **34** способен образовывать H- или J-агрегаты, что препятствует разгоранию флуоресценции. Использование катионного ПАВ (додецилтриметиламмоний-бромид) при его критической для агрегации концентрации приводит к H-агрегации анионных красителей, в результате происходит тушение флуоресценции красителя. Взаимодействие такого комплекса с чувствительной мишенью АТФ способствует образованию надмолекулярных везикул, в которых флуоресцентные частицы хорошо диспергированы и защищены, тем самым усиливают сигнал флуоресценции [17].



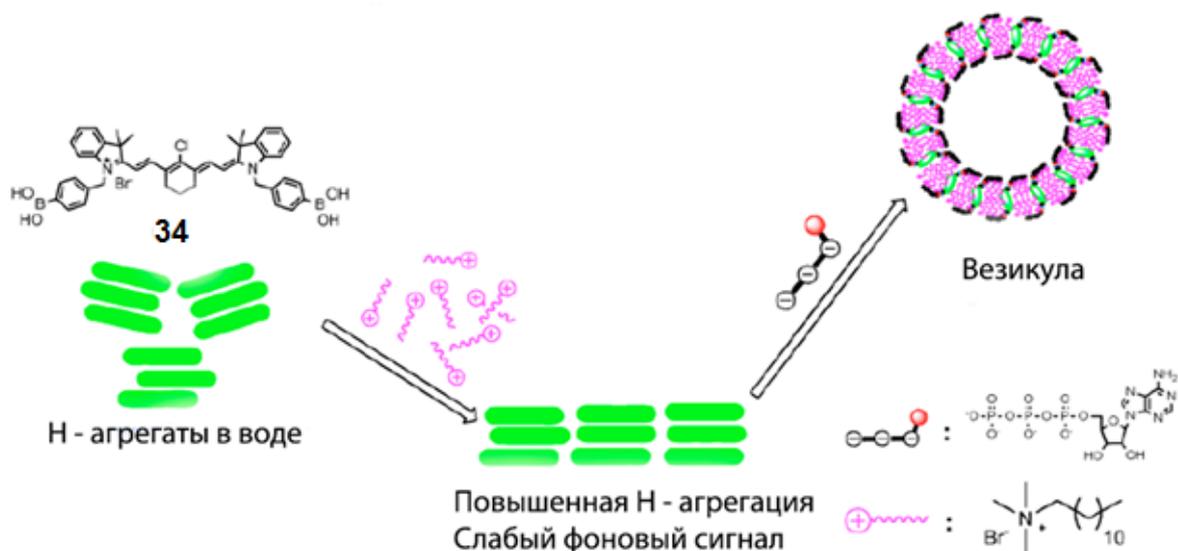


Рисунок 4. Механизм флуориметрического детектирования АТФ.

Таким образом очевидно, что на сегодняшний день создание аналитических способов визуализации биологических молекул с участием карбоцианинов представляет собой перспективное направление.

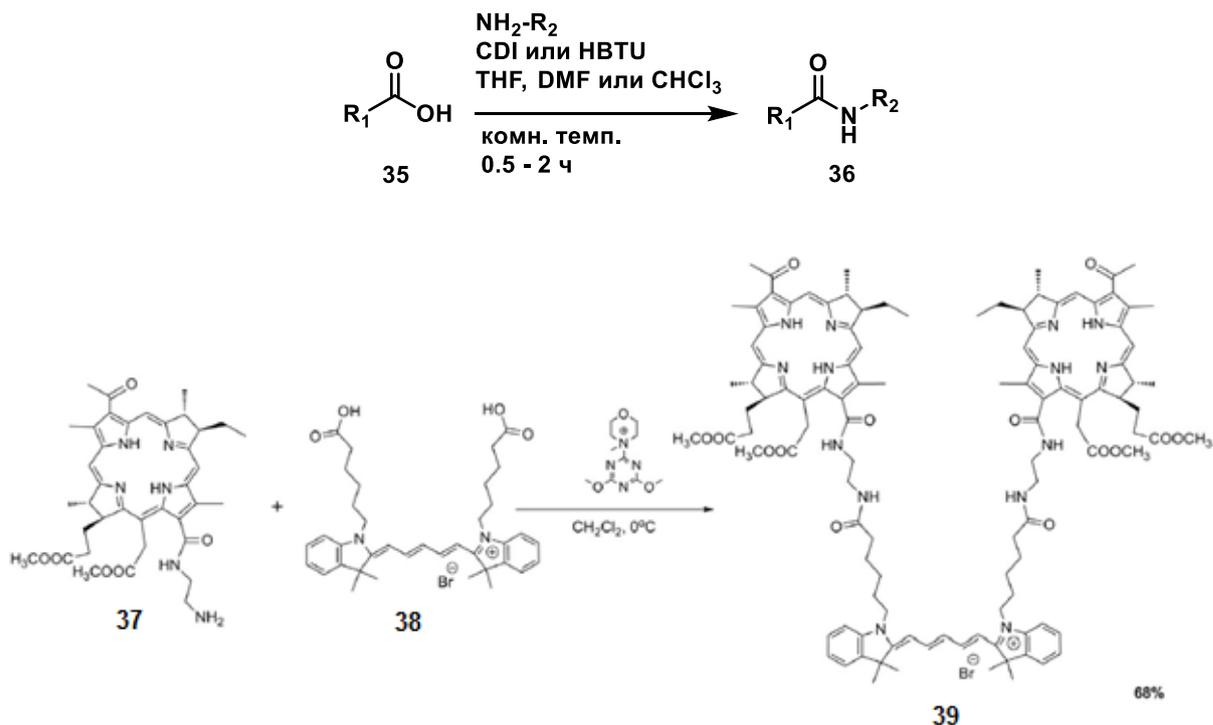
2.1.2 Ковалентно связанные конъюгаты карбоцианинов

Создание ковалентных конъюгатов на основе карбоцианинов позволяет найти решения для очень многих задач медицины и биологии, например, для визуализации биологических процессов и фотодинамической терапии рака (ФДТ). Ковалентная конъюгация карбоцианинов с терапевтическими агентами не только повышает эффективность лекарства, но и расширяет области его использования. Сценарии применения таких конъюгатов охватывают общие терапевтические методы лечения рака, включая химиотерапию, фототерапию и таргетную терапию.

2.1.2.1 Конъюгаты, образованные через амидную связь

В литературе представлено достаточно много примеров конъюгатов, образованных через амидную связь. Такой способ связывания стал популярен, поскольку осуществляется в мягких условиях (комнатная температура, недолгое перемешивание 0.5-2 часа, растворитель – ТГФ, ДМФА или хлороформ [18]), что благоприятно для работы с неустойчивыми веществами. Амидная связь образуется чаще всего методом активации эфиров (Схема 11). Такая ковалентная связь применяется для изучения нахождения лекарств в организме, а также их внутриклеточную активность.

Схема 11



Возможность отслеживания эндотоксинов (липоолигосахарид - ЛОС и липополисахарид – ЛПС) в организме может помочь узнать информацию о молекулярных механизмах, с помощью которых кишечные микробные вещества влияют на другие органы и взаимодействуют с мозгом. Визуализация TLR4-опосредованного транспорта (Толл-подобный рецептор 4) эндотоксинов в клетках может использоваться для выяснения молекулярных механизмов активации и передачи сигналов TLR4. Было установлено, что ковалентно связанный трикарбоцианин **Cy7N** с липоолигосахаридом также способен взаимодействовать с TLR4 (Рисунки 5, 6) [19].

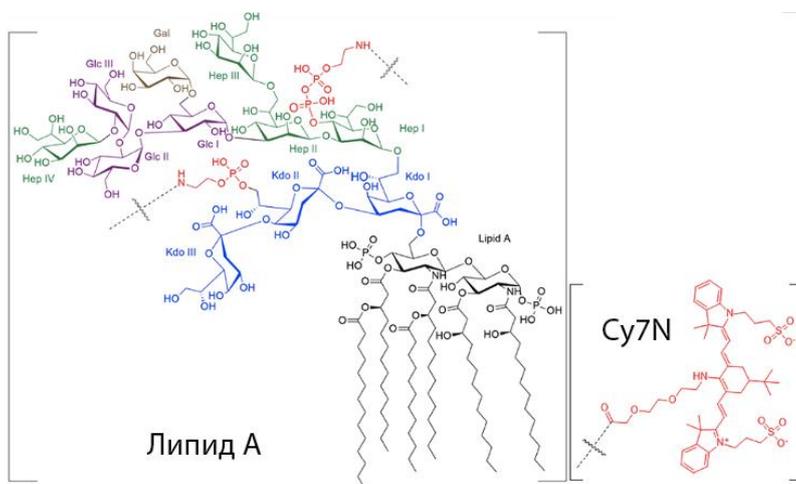


Рисунок 5. Структура ЛОС, конъюгированного с флуорофором и рецептором.

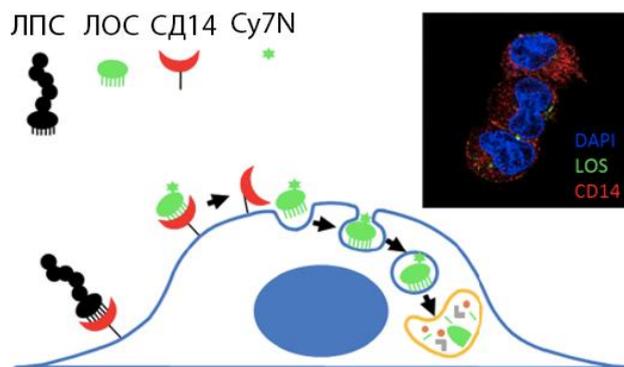


Рисунок 6. Механизм проникновения флуоретрически меченного ЛОС.

Описано создание и применение конъюгата на основе комплекса родия и карбоцианина для нацеливания на несовпадающие сайты ДНК с люминесцентным индикатором специфического связывания. Наблюдается чрезвычайно высокая чувствительность конъюгата с родиевым комплексом к фенотипу с дефицитом MMR (репарация ошибочно спаренных нуклеотидов), что указывает на применение конъюгата в качестве нового инструмента в ранней диагностике злокачественных опухолей, дефицитных по репарации несовпадений. Для визуализации репарации ошибочно сшитых нуклеотидов используют конъюгат **44** комплекса родия **43**, связывающего несовпадающие пары оснований в ДНК с высокой селективностью, и модифицированного карбоцианина **42** (Схема 12) [20]. Такой конъюгат демонстрирует слабую флуоресценцию в растворе или при связывании с правильно сшитыми нуклеотидами. Однако, если в ДНК присутствуют неправильно сшитые нуклеотиды, при взаимодействии с комплексом **44** будет происходить разгорание флуоресценции (Рисунок 7). Это позволяет обнаруживать ошибочно сшитые участки ДНК, тем самым предотвращая развитие рака.

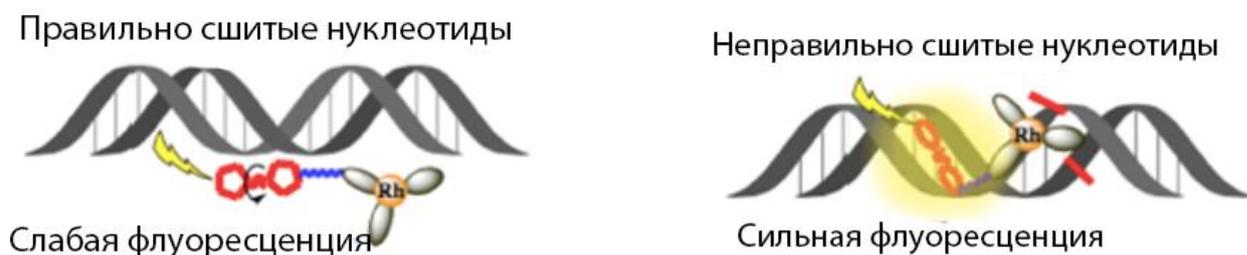
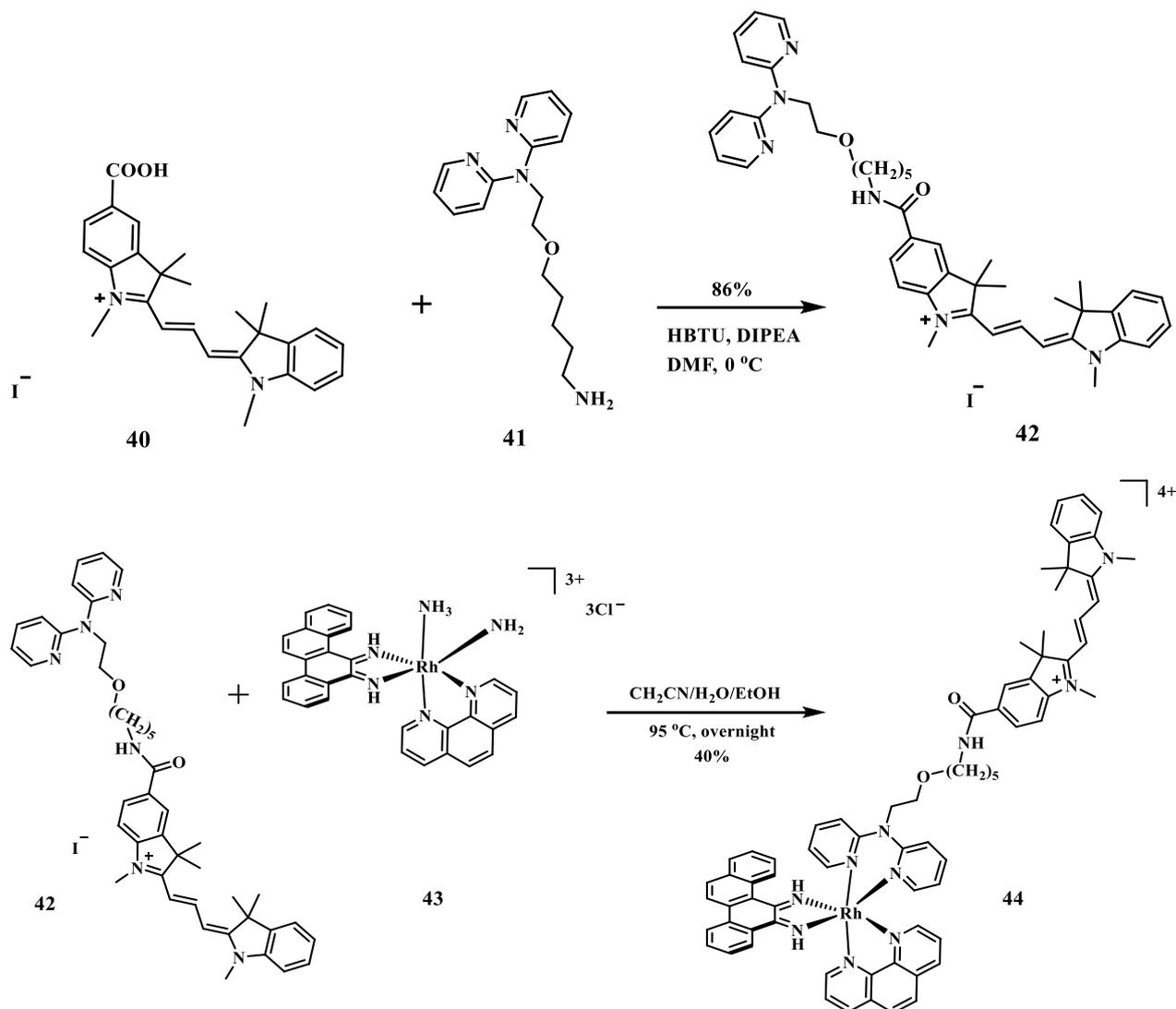


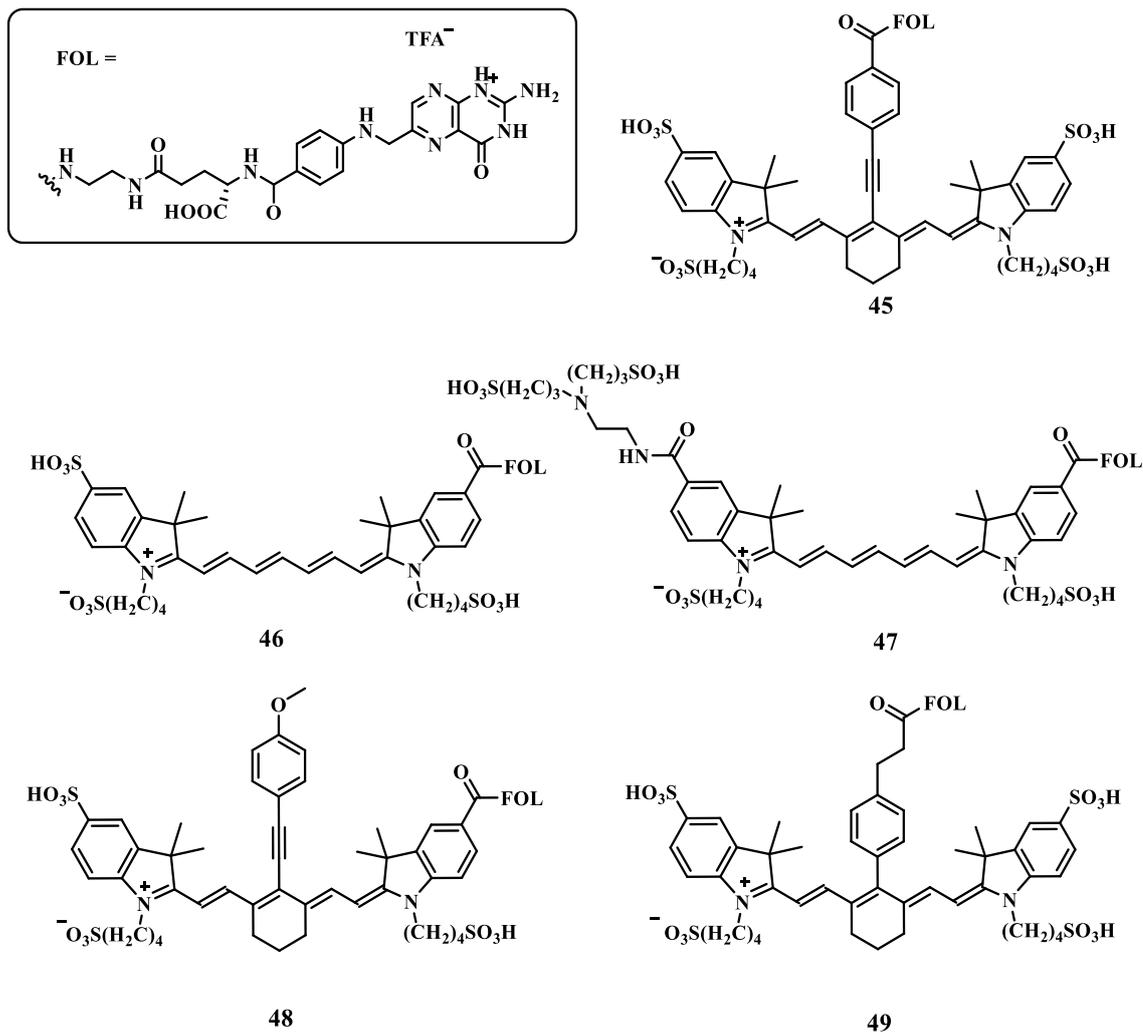
Рисунок 7. Схема взаимодействия конъюгата и ДНК.

Схема 12



Разработка агентов, нацеленных на рецепторы фолиевой кислоты (Fr) является одной из многообещающих стратегий визуализации рака. В качестве нацеливающегося комплекса выступает конъюгат, состоящий из цианинового красителя и фолата (нацеливающий лиганд), поскольку он сверхэкспрессируется на поверхности раковых клеток. Образование конъюгатов с фолатом **45–49** осуществлялось за счет карбоксильной группы в карбоцианине (Схема 13) [21]. Экспериментами *in vitro* было показано, что конъюгаты индотрикарбоцианин-фолат взаимодействуют с онкоклетками.

Схема 13



Способность карбоцианиновых красителей к агрегации часто используется для визуализации и терапии рака, так как процессы агрегации – дезагрегации сопровождаются фототермическими эффектами [22].

Были разработаны модульные конъюгаты, содержащие пептид и карбоцианиновый краситель, которые самособираются внутри клетки в одномерные столбчатые надстройки с контролируемой агрегацией карбоцианина.

Функциональные комплексы P-2Cu, которые расщепляются в опухолевых клетках каспазой-3/7, образуют агрегаты с более высокой эффективностью фототермического преобразования *in situ* и селективно накапливаются в опухолевом участке, что может вызывать локальную сверхвысокую температуру на участках опухоли. Таким образом, точная фототермическая терапия снижает повреждение окружающих нормальных тканей. При этом пептидный остов расщепляется каспазой-3/7, а затем самоорганизующийся остаток, замещенный двумя цианинами (P-2Cu) образует P-спиральную колонку, в которой

образование Н-агрегатов происходит с термическим эффектом в 3.4 раза большим, чем для свободного карбоцианина. Самособирающийся остаток, замещенный одним цианиновым красителем (P-1Cy) образует рыхлую колонку. Из-за большого расстояния между соседними цианиновыми красителями в самосборке P-1Cy практически не взаимодействуют друг с другом, поэтому флуорофор может излучать флуоресценцию для визуализации опухоли (Рисунок 8) [22].

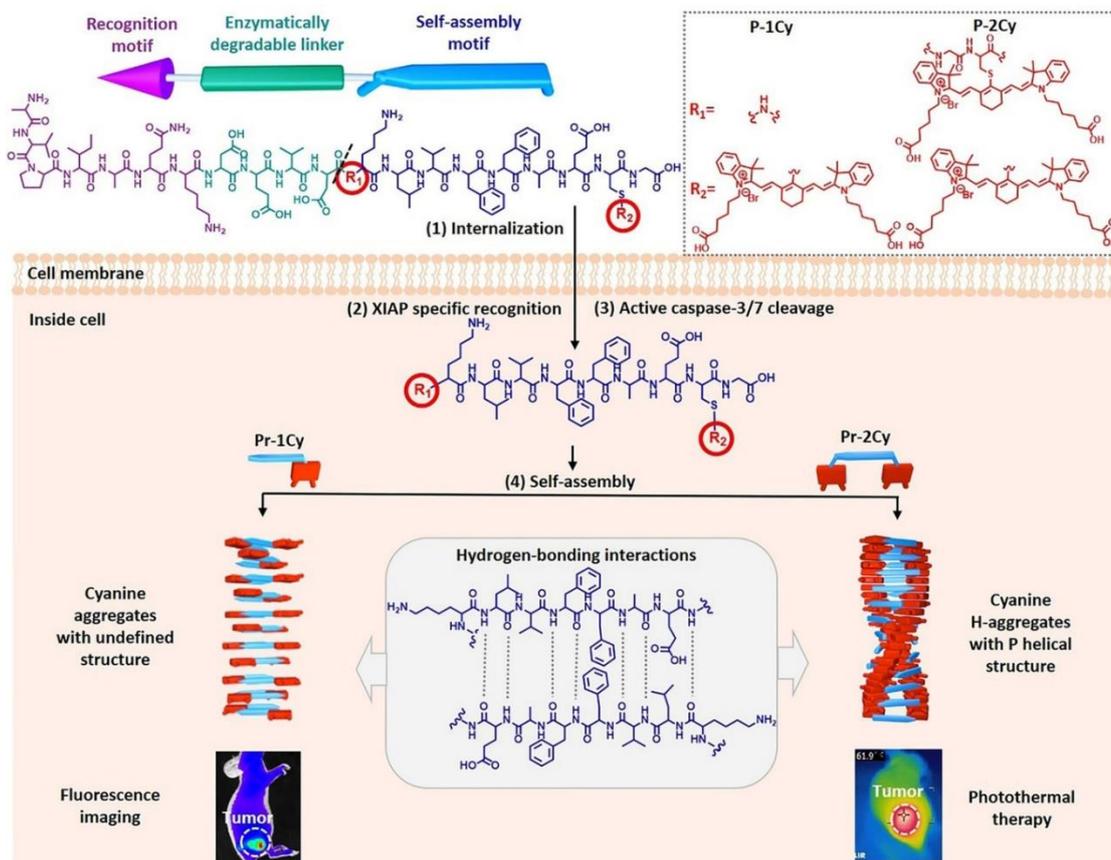


Рисунок 8. Комплексы P-2Cy.

2.1.2.1.1 Создание конъюгатов проникающих пептидов с карбоцианинами

Одним из существенных недостатков многих терапевтических агентов является неспособность проникать через клеточную мембрану. Одним из инструментов прохождения биомолекул через мембрану клетки является введение их в комплекс с проникающими в клетку пептидами (CPP) [23]. Проникающие пептиды с красителями могут быть ковалентно связаны двумя способами: через наночастицу или напрямую друг с другом, с помощью линкера.

Разработанные многофункциональные наночастицы, состоящие из ядра суперпарамагнитных наночастиц оксида железа (SPION), цианинового флуоресцентного красителя, излучающего в дальнем ИК-диапазоне, покрытия из полиэтиленгликоля (PEG5000) и мембранотропного пептида gH625, который одновременно является CPP,

могут быть использованы для визуализации с использованием МРТ. Карбоцианиновый краситель скрыт внутри полимерного слоя наночастицы, к которой прикреплен нацеливающийся лиганд. Последовательность СРР была модифицирована вставкой цистеина, чтобы способствовать специфической для этой последовательности конъюгации СРР на полимерной поверхности наночастицы, которая должна сохранять свою мембранотропную способность. Все это делает эту «наноплатформу» многофункциональным средством для визуализации, способным находить раковые клетки как с помощью оптического обнаружения в дальнем красном свете, так и с помощью МРТ (Рисунок 9) [24].

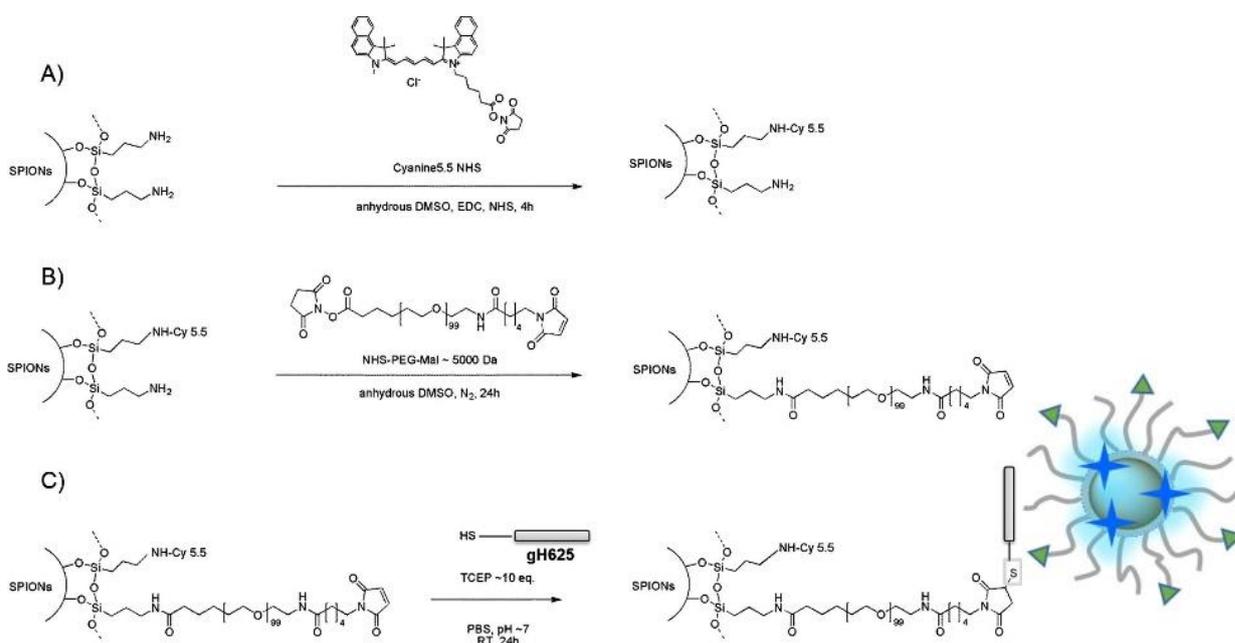


Рисунок 9. Схема работы «многофункциональной наноплатформы».

Для увеличения функциональности полимерных наночастиц было разработано тераностическое наноустройство, основанное на стратегии ортогональной конъюгации. Такая частица состоит из трех компонентов: химиотерапевтического препарата (доксорубицина (DOX)), флуорофора (трикарбоцианином (Cy7)) и самонаводящегося пептида CRGDK (Рисунок 10) [25]. Благодаря флуоресцентной метке в ближнем ИК-диапазоне (Cy7) можно отслеживать механизм прохождения наноустройства *in vivo*. Кроме того, эта многофункциональная тераностическая платформа является мощным кандидатом для лечения опухолей со сверхэкспрессией нейропилина-1, а также является хорошей системой, позволяющей избежать побочных эффектов, связанных с традиционной химиотерапией.

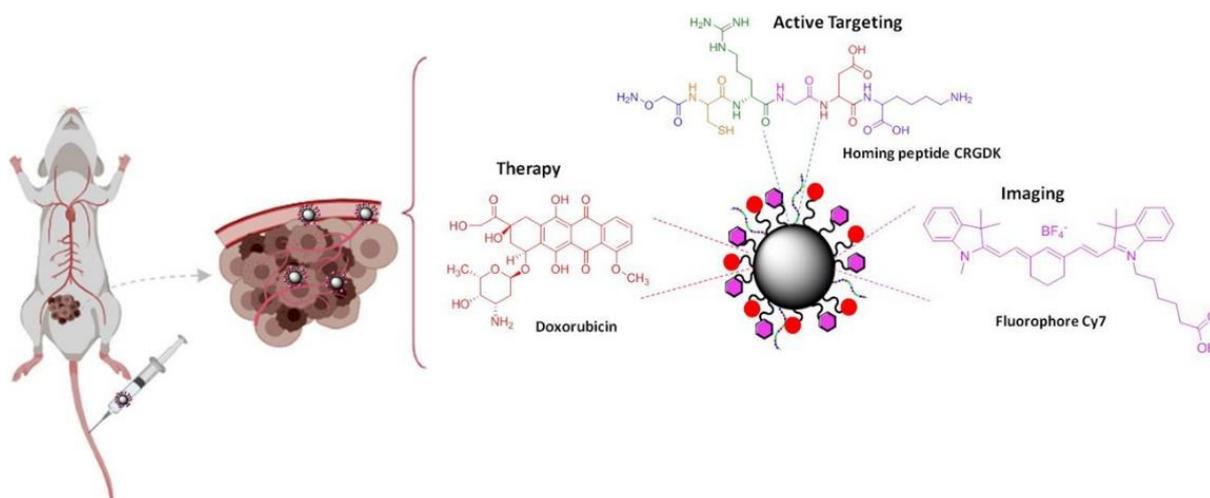
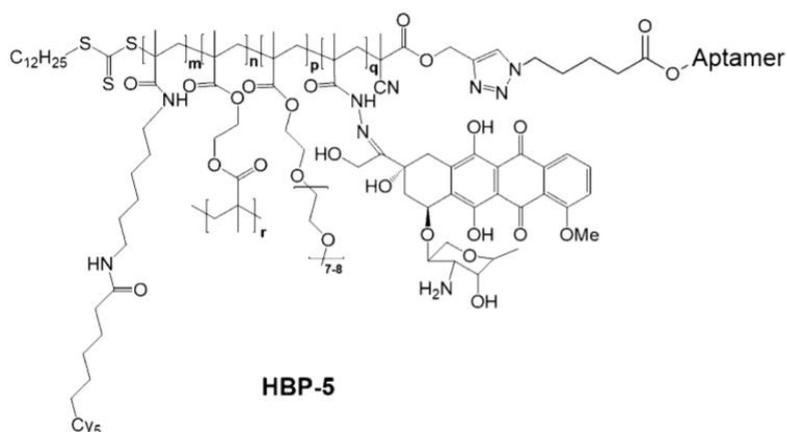


Рисунок 10. Трехкомпонентное наноустройство (доксорубицин (DOX), флуорофор трикарбоцианин (Cy7) и самонаводящегося пептида CRGDK).

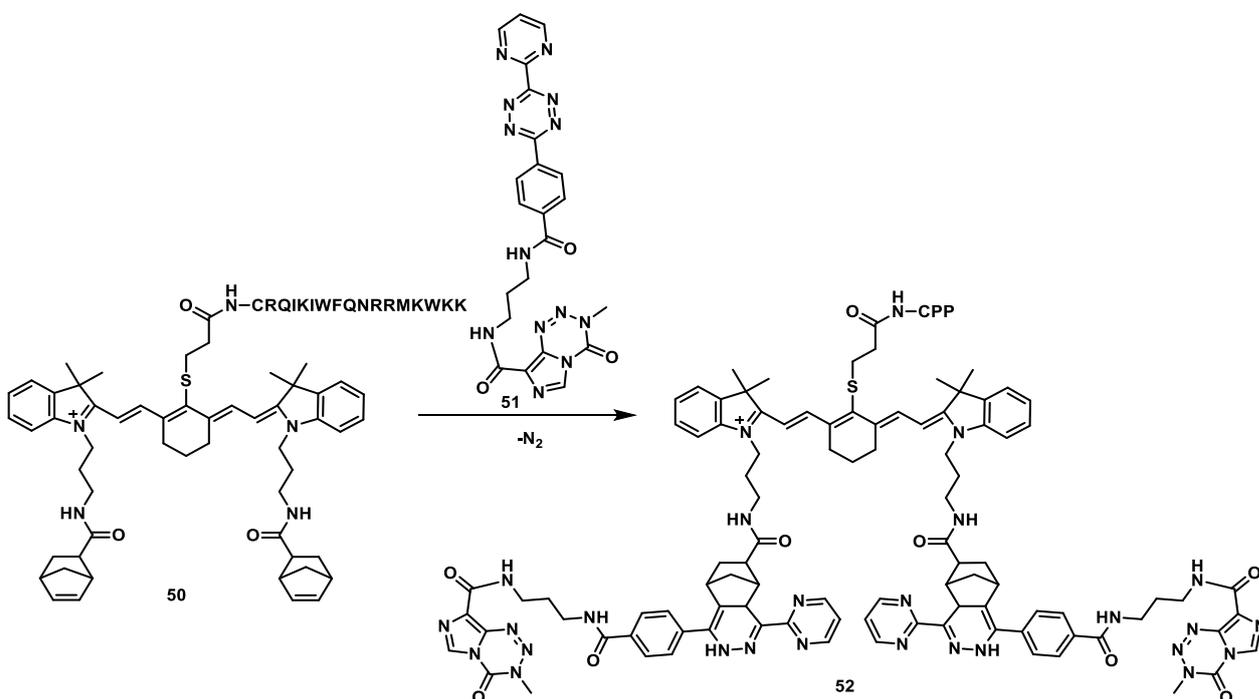
Краситель, связанный с пептидом и доксорубицином через полимерный линкер может сочетать несколько функций: направленное действие, высвобождение лекарственного средства в ответ на стимул и визуализацию. Восьмимерный пептидный аптамер обеспечивал в качестве лиганда как нацеливание, так и терапевтические функции против белка теплового шока 70 (Hsp70). Доксорубицин также был связан с полимерным носителем в качестве модельного химиотерапевтического препарата через разлагаемую гидразоновую связь, обеспечивая контролируемое pH, высвобождение в умеренно кислых условиях, которые обнаруживаются в опухолевых клетках. Цианиновый краситель (Cy5) был включен в полимер в качестве агента оптической визуализации (Схема 14). Полученный полимерный наноноситель является многообещающим веществом для лечения рака, поскольку селективен к онкоклеткам и одновременно способен высвобождать лекарственный препарат [26].

Схема 14



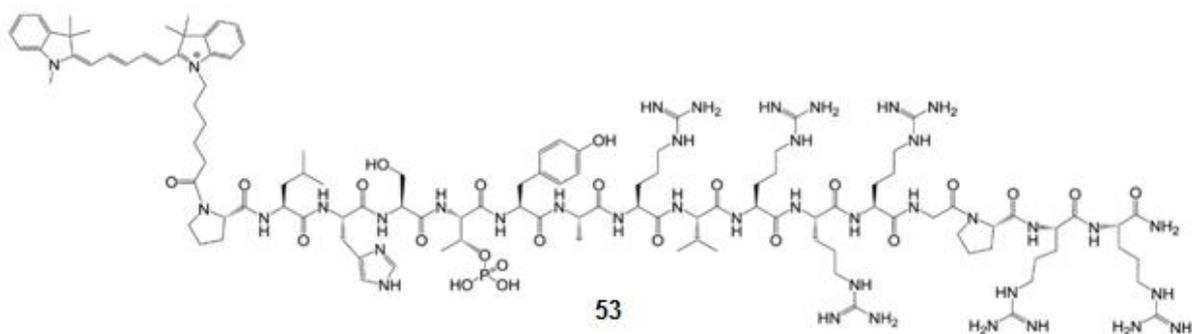
Для образования конъюгатов красителей напрямую с проникающими пептидами удобно использовать карбоцианины, модифицированные по мезо-положению полиметиновой цепи заместителем, содержащим карбоксильную группу. Образование конъюгата в этом случае происходит за счет создания пептидной связи. В таких конъюгатах карбоцианиновый краситель может выступать в роли связующего агента, где проникающий пептид связан с ним с помощью линкера через мезо-положение, а лекарство прикреплено к линкерам при кватернизованных атомах азота (Схема 15) [27]. Такая комбинация CPP, флуорофора и лекарства представляет собой вариант тераностического препарата, позволяющего наряду с визуализацией осуществлять и терапию опухоли.

Схема 15



Отдельно комплекс красителя с проникающим пептидом служит хорошим визуализатором раковых клеток *in vivo*. Один из примеров такого конъюгата представляет собой комбинацию ингибитора киназы 1 (Pro-Leu-His-Ser-Th) - флуоресцентного пентаметинового карбоцианина (Cy5), и проникающего пептида в роли транскриптора транскрипции (ТАТ). Конъюгат **53** привлекает внимание в качестве потенциального зонда для обнаружения и диагностики раковых клеток (Схема 16) [28].

Схема 16

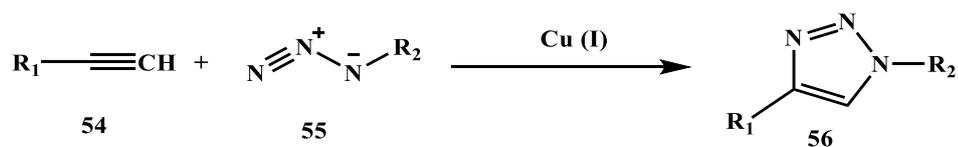


Анализ литературы по созданию конъюгатов карбоцианинов с проникающими пептидами показывает, что это направление начало активно развиваться в последние годы, однако уже сейчас очевидно, что это один из самых перспективных векторов развития химии конъюгатов.

2.1.2.2 Создание конъюгатов с использованием клик-реакции

Универсальным методом создания ковалентной связи между макромолекулами выступает процесс 1,3-диполярного циклоприсоединения монозамещенных алкинов **54** с азидами **55**, приводящий к 1,2,3-триазолам **56** (Схема 17). Это наиболее яркий пример активно развивающейся в последние годы клик-химии. Данный процесс протекает региоселективно и в мягких условиях, и позволяет вводить в реакцию субстраты, содержащие различные функциональные группы. Наиболее эффективно клик-реакция протекает при катализе солями меди [29].

Схема 17



Клик-химия служит в качестве удобного инструмента в создании конъюгатов трикарбоцианиновых красителей с биомолекулами (Рисунок 11). В приведенном примере красители, содержащие конформационно закрепленный фрагмент полиметиновой цепи, модифицированы по мезо-положению этиланилилазидом, а циклодекстрины – алкинильной группой. Флуорофор в структуре конъюгата отвечает за визуализацию в ближнем ИК-диапазоне. Эти конъюгаты продемонстрировали благоприятные фармакокинетические характеристики и предлагается их применение для неинвазивной оценки функции почек [30].

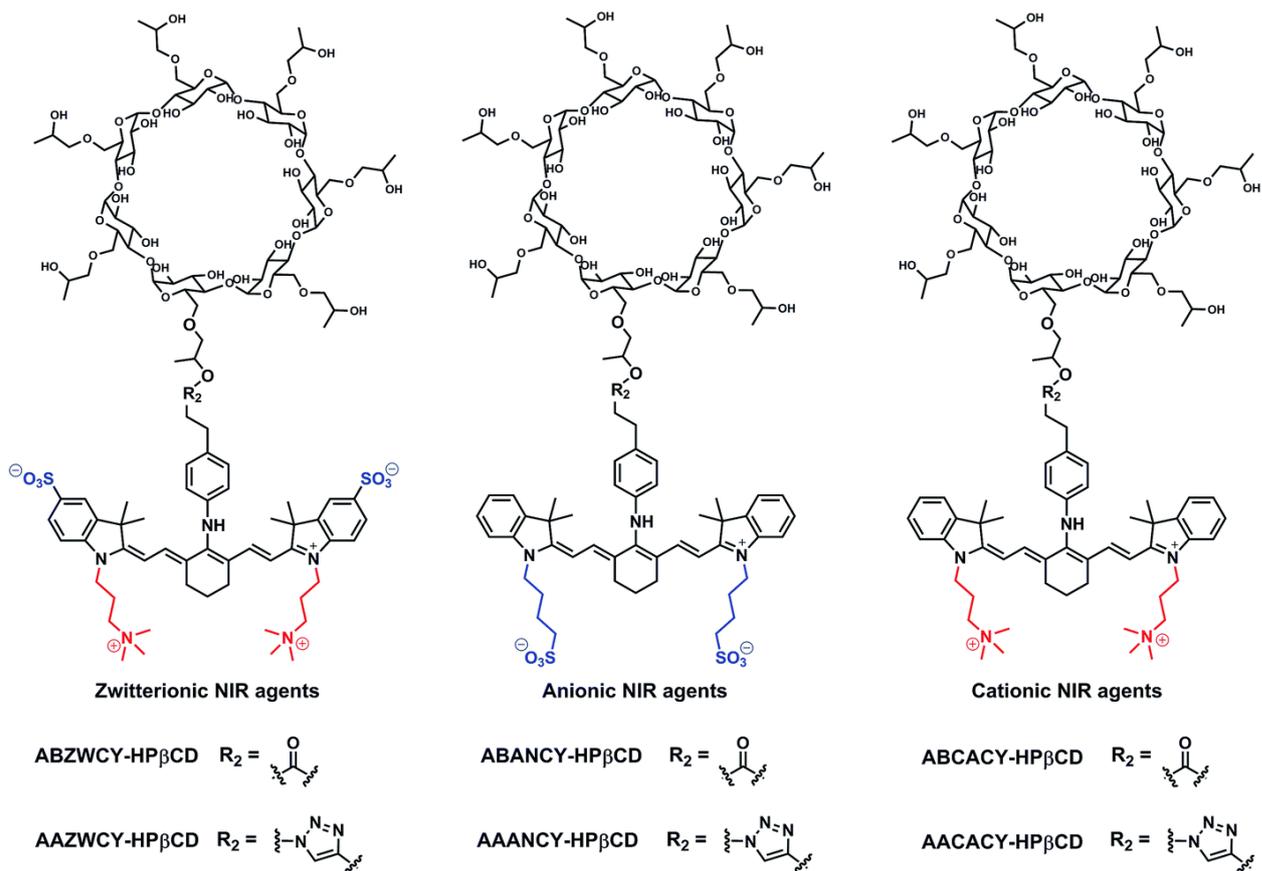


Рисунок 11. Структуры конъюгатов, использованных для оценки функции почек в ближнем ИК-диапазоне.

Конъюгаты флуорофоров с азид- или алкинилмодифицированными липидами позволяют исследовать функции липидов *in vivo* и отслеживать их нахождение внутри клетки (Рисунок 12) [31].

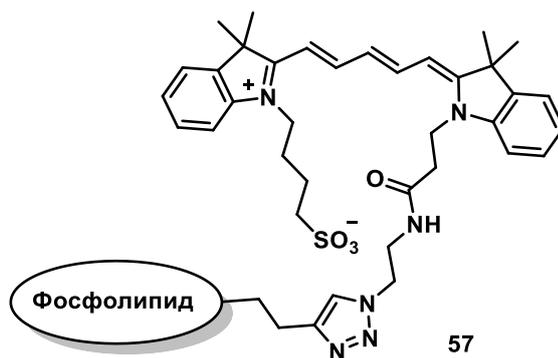


Рисунок 12. Общий вид комплекса трикарбоцианина с фосфолипидом, созданного с помощью клик-химии.

Клик-реакция позволяет связывать карбоцианиновые красители, содержащие азидный линкер, с синтезированной *in vitro* РНК для изучения факторов, влияющих на усиление трансляции [32] (Рисунок 13).

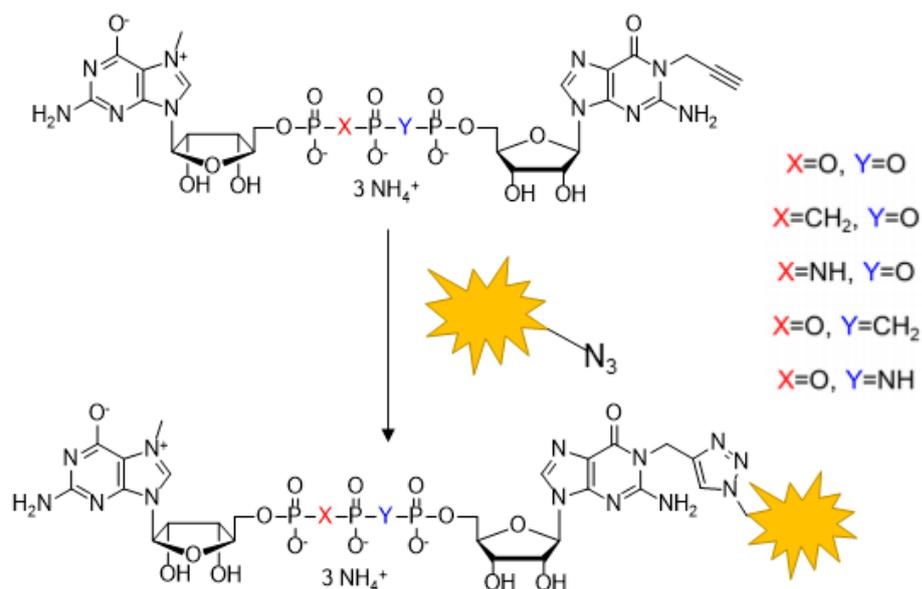


Рисунок 13. Схема синтеза конъюгата РНК и трикарбоцианинового красителя.

Таким образом, клик-химия выступает эффективным методом создания конъюгатов красителей с различными биомолекулами, что существенно расширяет возможности визуализации сложных биологических процессов.

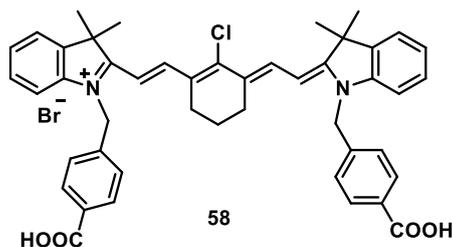
Анализ литературных данных показал, что основным направлением применения карбоцианиновых красителей является визуализация за счет ковалентного связывания. Примеров нековалентного связывания гораздо меньше. Такие комплексы используются для визуализации фрагментов ДНК или высокомолекулярных соединений.

Таким образом, направленный дизайн карбоцианиновых красителей является актуальной задачей, позволяющей расширить круг визуализируемых аналитов.

2.2 Другие направления использования трикарбоцианинов как перспективных флуорофоров в медицине

Карбоцианины также могут использоваться в регенеративной медицине. При пересадке клеток существует проблема выживания клеток, что уменьшает эффективность этой процедуры. Митохондриальный конформационно закрепленный трикарбоцианиновый краситель, содержащий 4-карбоксибензильный заместитель у четвертичного атома азота, способен решить данную задачу (Схема 18) [33].

Схема 18



В качестве митохондриального агента карбоцианин **58** защищает клетки от повреждения, вызванного острым окислительным стрессом после трансплантации. Флуоресцентный агент может использоваться как для отслеживания клеток, так и для цитопротекции со значительно повышенным терапевтическим потенциалом для восстановления и регенерации тканей [33].

2.3 Синтез карбоцианинов

2.3.1 Синтез гетероциклических солей

Стадия получения кватернизованных гетероциклических солей является одним из основных методов функционализации карбоцианинов. Сама реакция представляет собой реакцию алкилирования атома азота в составе гетероциклов (хинолин, пиридин, бензотиазол, индоленин и бензоиндоленин) алкилирующими агентами разной природы (алкилгалогениды, сульфон и др.).

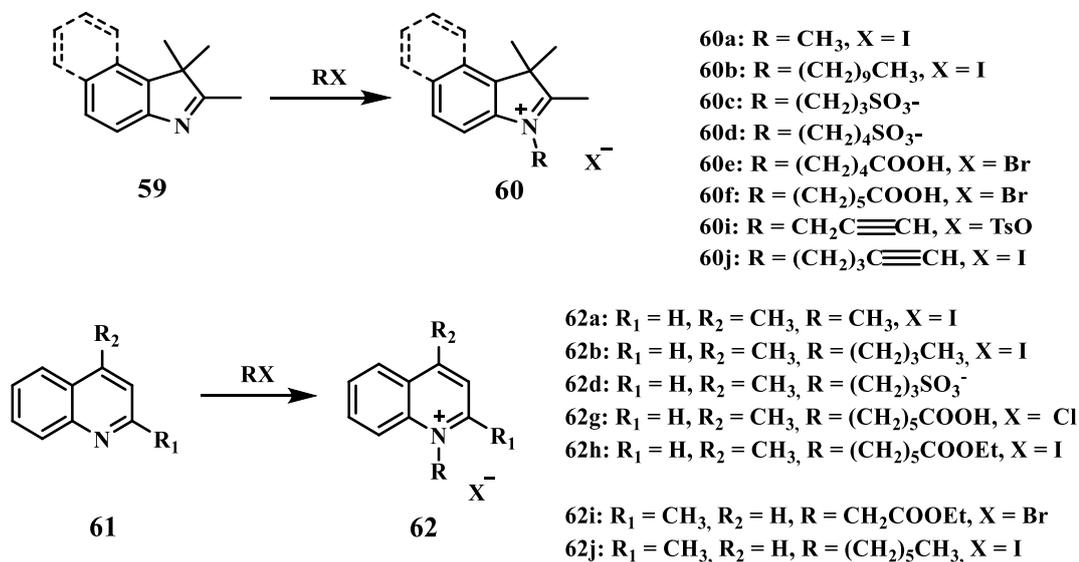
Гетероцикл, который является метиленовой компонентой должен содержать заместитель при кватернизованном атоме азота и метильную группу либо во втором положении бензотиазольного или индоленинииевого гетероцикла, либо во втором или четвертом положениях пиридииниевого и хинолинииевого гетероцикла.

У гетероциклической соли функциональный центр может быть расположен либо в самом гетероциклическом ядре, либо в линкере у атома азота. Условия реакции для большинства солей подбираются в зависимости от исходных соединений. Чаще всего это жесткие условия: длительное (до двух дней) нагревание или кипячение в растворителе (ацетонитрил, о-дихлорбензол, толуол, этанол, хлороформ, бутанон, нитрометан, и оксилон) или без него. Иногда реакцию катализируют незначительным количеством иодида калия. Выделяют продукт обычно с помощью осаждения диэтиловым эфиром или этилацетатом.

Чаще всего в качестве алкилирующего агента выступают алкилгалогениды с различной длиной углеродной цепи [34; 35], сульфон [36–38], ω-галогензамещенные

карбоновые кислоты [39] и их эфиры [40]. Меньше примеров с заместителями, содержащими терминальную тройную связь. В этом случае в качестве алкилирующего агента используют ω -галогеналкины (Схема 19) [41; 42].

Схема 19



В отличие от индолениниевых, гетероциклические соли на основе пиридина, содержащие алкинильную функцию представлены только на примере алкилирования 4-метилпиридина 4-бромбутином-1 и 3-бромпропином-1 (Схема 20, Таблица 3) [43; 44].

Схема 20

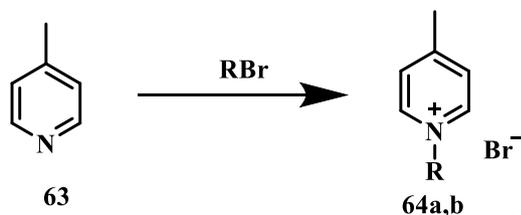
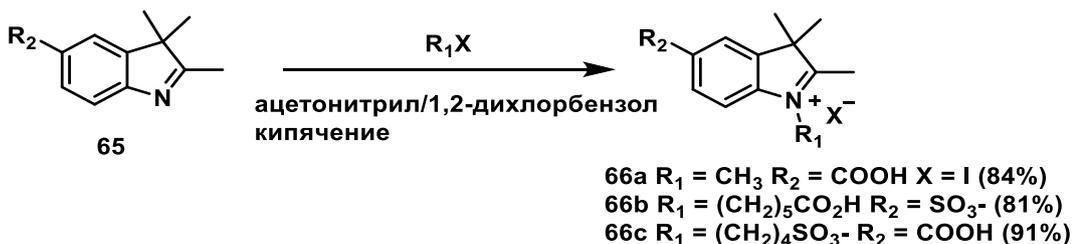


Таблица 3. Алкилирование 4-метилпиридина.

№	R	Условия реакции	Выход, %
64a	CH ₂ C≡CH	CH ₂ Cl ₂ , Т комн., 12 ч	70 [44]
64b	(CH ₂) ₂ C≡CH	CH ₃ CN, 82 °С, 12 ч	65 [43]

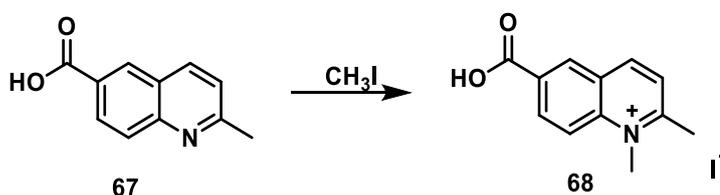
Наименее распространенным в литературе является алкилирование гетероцикла с функциональной группой в ароматическом ядре. Больше всего примеров таких реакций описано для 2,3,3-триметил-3*H*-индола (Схема 21).

Схема 21



В случае 2-метил-6-карбоксихинолина в литературе описано лишь его метилирование (Схема 22) [45; 46].

Схема 22



Одним из современных методов синтеза гетероциклических солей являются реакции с применением микроволнового излучения. Преимущество данного метода состоит в значительном сокращении времени реакции (с 24 часов до 40-20 минут) и получении высоких препаративных выходов [47; 48].

2.3.2 Синтез несимметричных карбоцианинов

Создание несимметричных красителей - способ максимально функционализировать молекулу. Синтез таких структур дает возможность использовать две разные гетероциклические базы и разнообразные заместители при кватернизованных атомах азота. Такая стратегия позволяет варьировать липофильность и водорастворимость молекулы и обеспечивать конъюгацию красителя с лекарственным препаратом.

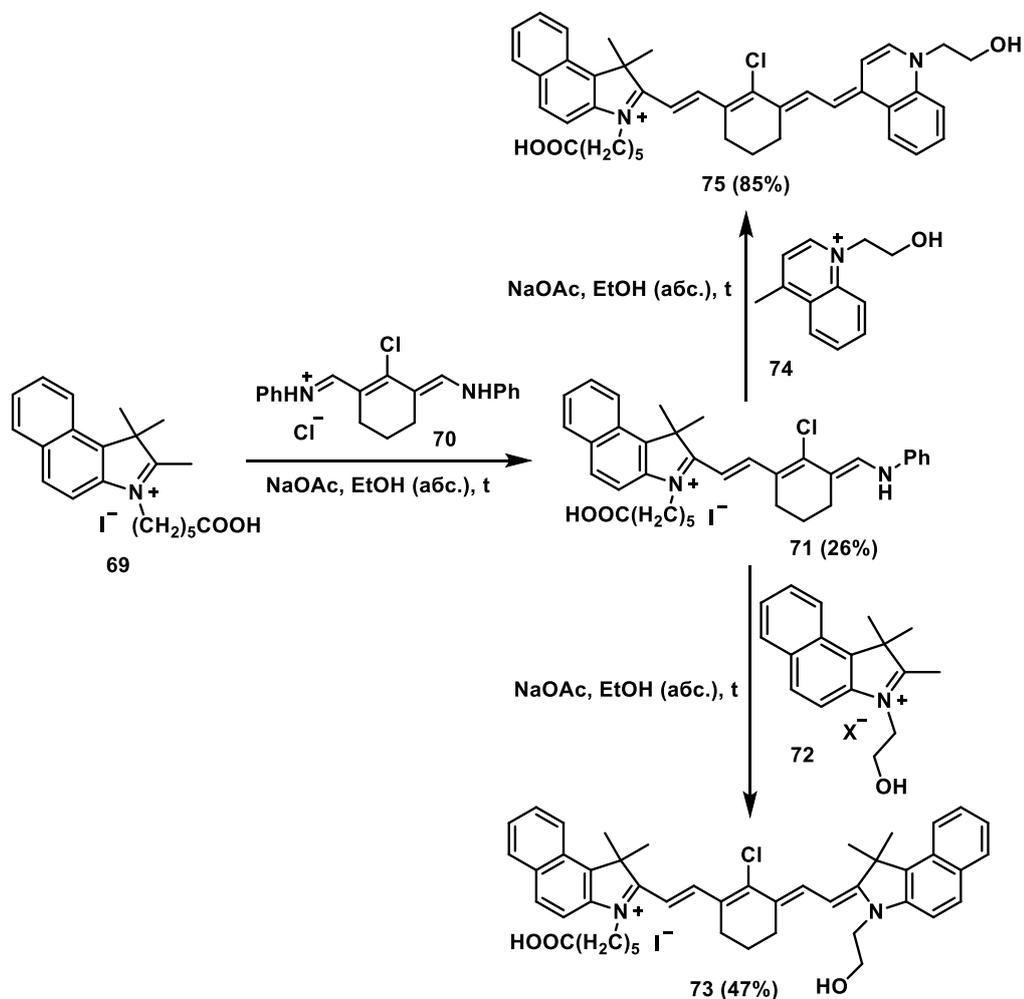
Подход к созданию несимметричного карбоцианина подразумевает две последовательные альдольно-кетоновые конденсации с разными гетероциклическими солями. Для создания несимметричных флуорофоров наиболее популярной основой является сопряженный дианил, поскольку производные непредельных диальдегидов не стабильны и реакция конденсации сразу проходит по двум функциональным центрам.

В большинстве, предложенных в литературе методов, промежуточный моноанил не выделяют и синтезируют нужный флуорофор в «one-pot» процессе последовательно добавляя разные гетероциклические соли в реакционную смесь. Стоит отметить, что при

таким проведением синтеза неизбежно образуется симметричный продукт, что осложняет выделение целевого соединения.

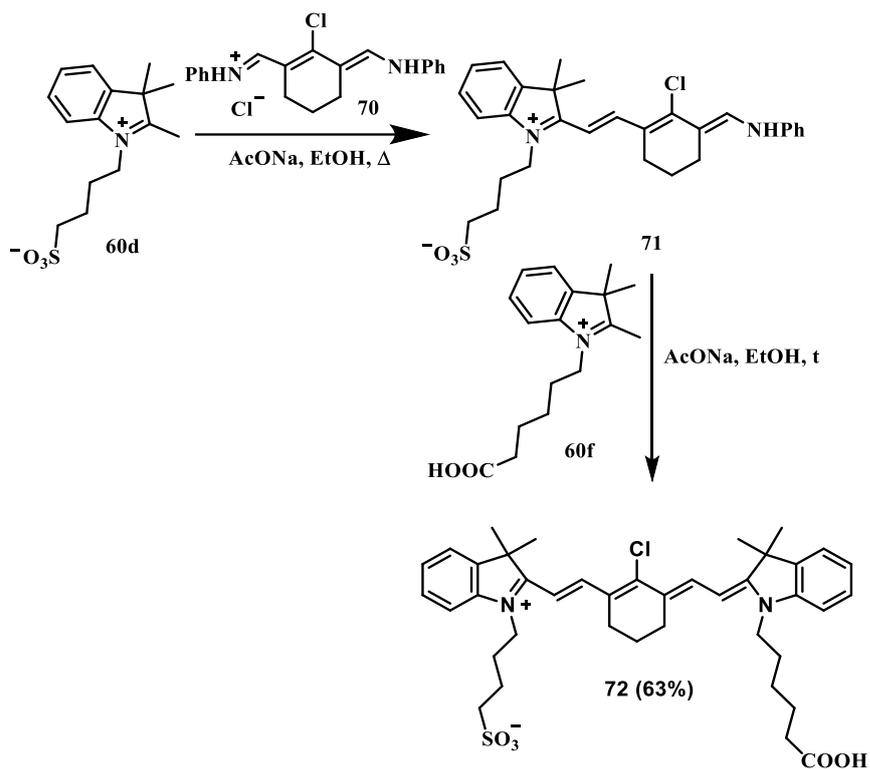
На примере карбоцианинов **73** и **75** на схеме 23 показаны примеры синтеза несимметричных карбоцианинов с выделением промежуточных соединений [8].

Схема 23



Еще один пример двустадийного процесса синтеза несимметричного красителя **72** представлен на схеме 24 [4].

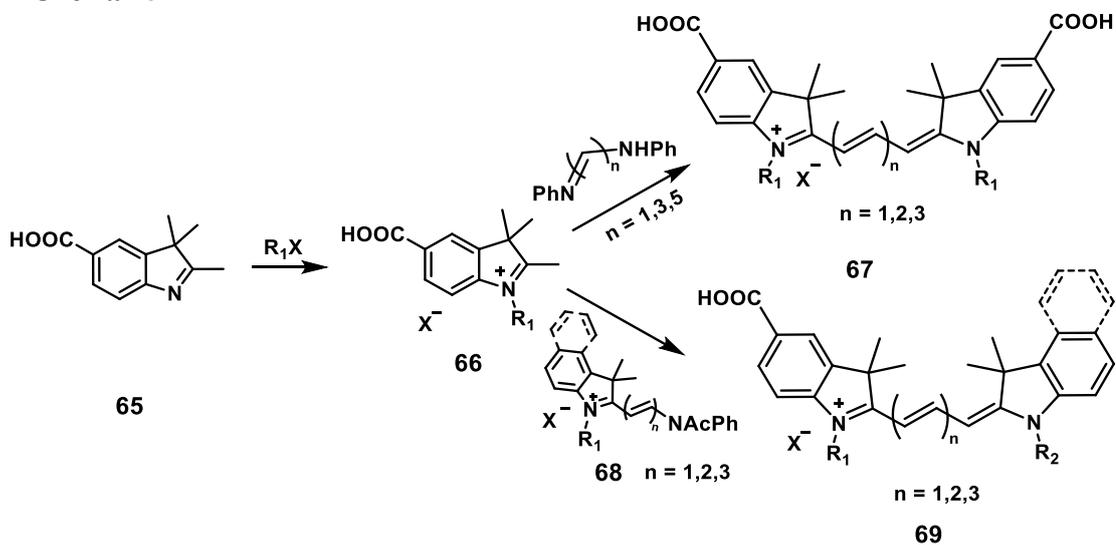
Схема 24



Значительное количество примеров в литературе приводится для синтеза промежуточных моноанилов на основе солей, не содержащих функциональную группу в гетероциклическом ядре. В таком случае гетероциклическая соль с модифицированным ароматическим ядром вводится на следующей стадии.

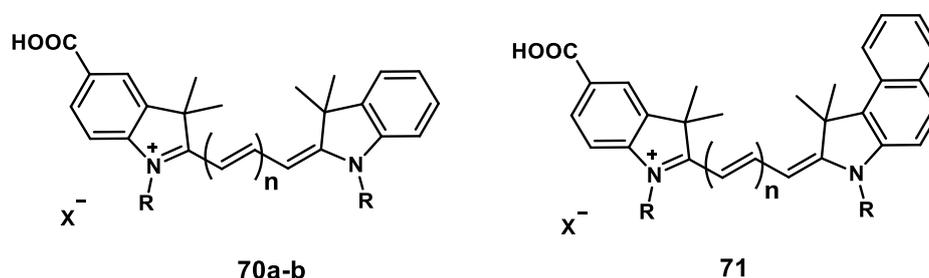
Карбоцианины, содержащие карбоксильную группу в гетероциклическом ядре, описаны в литературе только на примере индоленинииевого гетероцикла (Схема 25) [20; 49–51].

Схема 25



На схеме 26 представлены некоторые примеры несимметричных карбоцианинов, содержащих карбоксильную группу в гетероциклическом ядре.

Схема 26



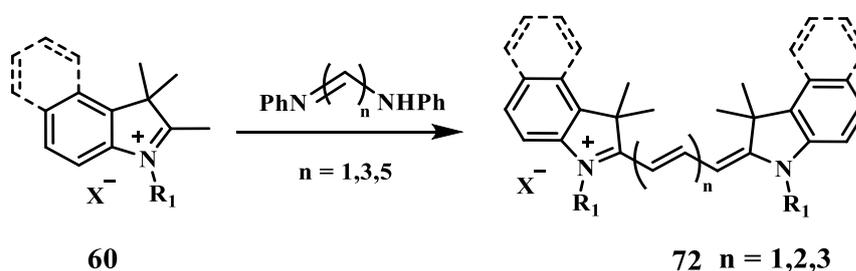
70a: $n = 1$, $R = \text{CH}_2\text{CH}_3$, $X = \text{ClO}_4$ (72%) 71a: $n = 1$, $R = \text{CH}_2\text{CH}_3$, $X = \text{ClO}_4$ (75%)
 70b: $n = 1$, $R = \text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (61%)

Таким образом прослеживается общая стратегия синтеза несимметричных карбоцианинов, однако порядок введения гетероциклических солей остается индивидуальным в каждом рассматриваемом случае и определяется природой заместителя в метиленовой компоненте и условиями проведения реакций, выделения и очистки.

2.3.3 Синтез симметричных карбоцианинов

Симметричные карбоцианины синтезируют по универсальной методике конденсацией двух эквивалентов азотсодержащих гетероциклических солей с одним эквивалентом непредельного диальдегида или соответствующего дианила. Условия реакции зависят от характера заместителей в исходных компонентах (температура: 50°C – 120°C, время: 2 – 24 часа, в уксусном ангидриде) (Схема 27).

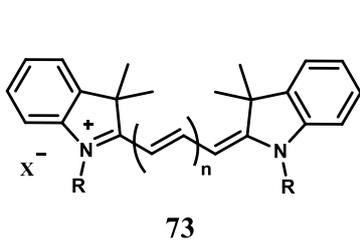
Схема 27



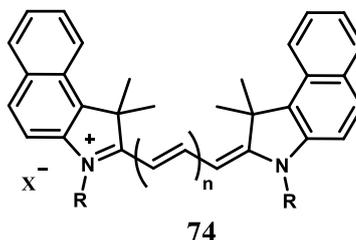
В качестве оснований чаще всего используют ацетат натрия [52; 53] или пиридин [54; 55]. Иногда обеспечить приемлемый препаративный выход и сократить время реакции удастся с помощью микроволновой активации [56]. Способ выделения и очистки флуорофоров в каждом случае индивидуален и, как правило, требует хроматографии.

Ниже приведено несколько примеров красителей на основе индоленина и бензоиндоленина (Схема 28) [52; 53; 55; 56; 56–68].

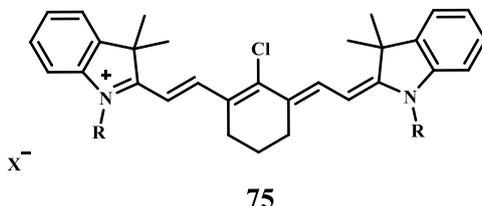
Схема 28



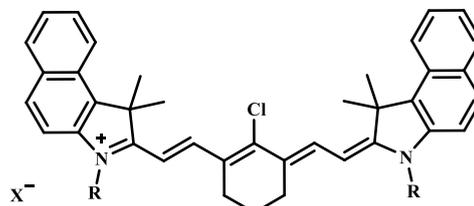
- 73a: $n = 1$, $R = (\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (74%)
 73b: $n = 2$, $R = (\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{CH}$, $X = \text{ClO}_4$ (86%)
 73c: $n = 2$, $R = \text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (98%)
 73d: $n = 2$, $R = \text{CH}_2\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (96%)
 73e: $n = 1$, $R = (\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$ (90%)



- 74a: $n = 1$, $R = (\text{CH}_2)_2\text{COOCH}_3$, $X = \text{Br}$
 74b: $n = 1$, $R = (\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$
 74c: $n = 1$, $R = \text{CH}_2\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (66%)
 74d: $n = 2$, $R = (\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_3$, $X = \text{Br}$ (60%)
 74e: $n = 2$, $R = (\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$, $X = \text{Br}$ (74%)
 74f: $n = 2$, $R = \text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (80%)



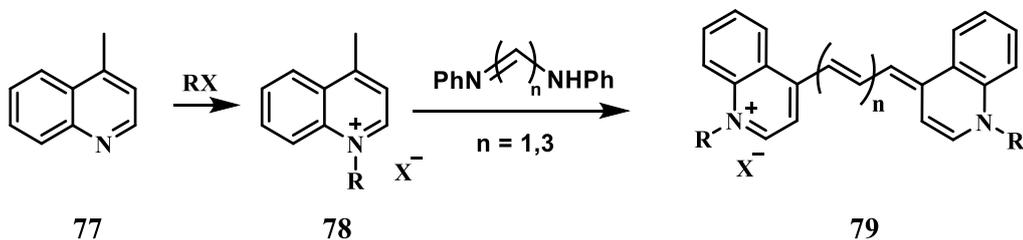
- 75a: $R = (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (96%)
 75b: $R = \text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (91%)
 75c: $R = (\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$ (68%)
 75d: $R = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $X = \text{I}$ (77%)
 75e: $R = (\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (91%)



- 76a: $R = (\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$ (42%)
 76b: $R = \text{CH}_2\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (90%)
 76c: $R = \text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (47%)

Карбоцианины на основе 4-метилхинолинового гетероцикла представлены в литературе в значительно меньшей степени и преимущественно триметиновым рядом. Получение пентаметинового красителя описано только на одном примере **79d** (Схема 29) [10].

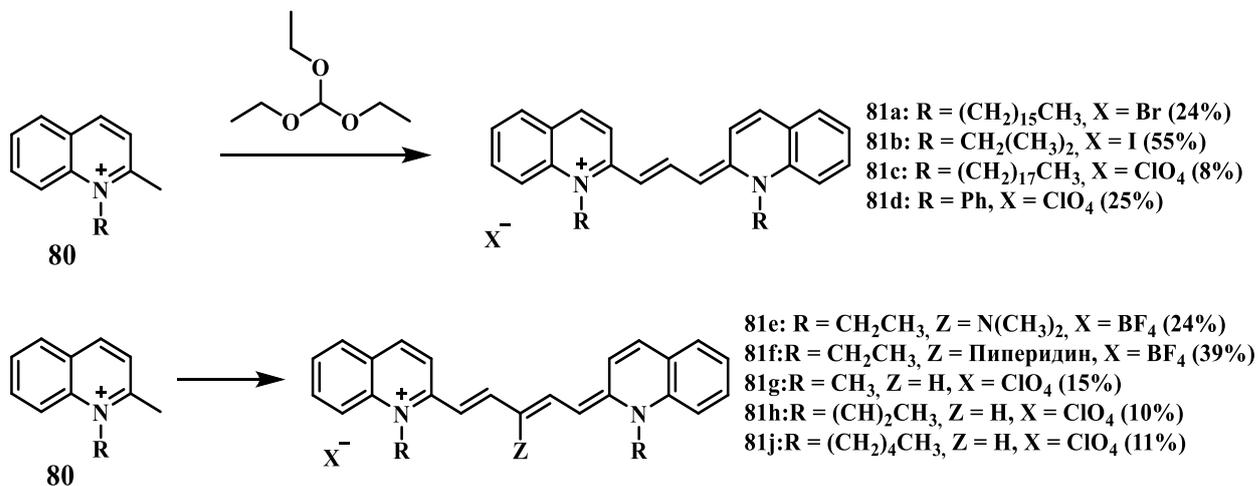
Схема 29



- 79a: $n = 1$, $R = \text{CH}_2\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (64%)
 79b: $n = 1$, $R = (\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (59%)
 79c: $n = 1$, $R = (\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (63%)
 79d: $n = 2$, $R = \text{CH}_3$, $X = \text{I}$ (73%)

Красители на основе 2-метилхинолина в последние годы практически не встречаются в литературе. Большая часть исследований приходится на 60-80-е годы прошлого столетия (Схема 30).

Схема 30



Как правило реакции проводят в уксусном ангидриде или без участия растворителя, с использованием либо пиридина, либо ацетата натрия в качестве основания. Продукт реакции выделяют высаживанием ацетоном или диэтиловым эфиром [69–73].

На основе проанализированной литературы можно сделать вывод, что существует единая концепция создания карбоцианинов, однако, в каждом конкретном случае требуется подбор условий, выделения и очистки продукта реакции.

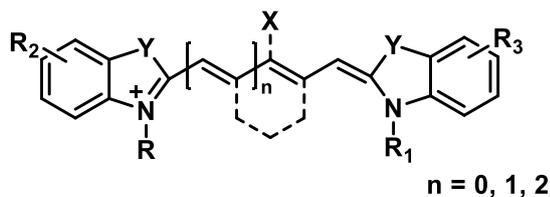
3. Обсуждение результатов

Использование флуоресцентных маркеров для визуализации процессов, происходящих как в живых системах, так и при аналитическом определении малых молекул является удобным инструментом для эффективного решения многих задач диагностики, тераностики и аналитики. Расширение спектра задач, решаемых с использованием визуализации, свидетельствует о том, что проблема поиска наиболее эффективных флуорофоров не становится менее актуальной. С этой точки зрения модификация универсального скафолда карбоцианинов позволяет, варьируя те или иные структурные фрагменты молекулы флуорофора, существенно менять как его фотофизические свойства, так и направленно создавать системы, способные за счет ковалентного и нековалентного связывания с целевыми молекулами образовывать конъюгаты и агрегаты, позволяющие эффективно визуализировать сложные процессы. Разнообразие задач, решаемых с использованием уникальных свойств карбоцианинов, предполагает широкий спектр направлений их структурного дизайна. Наименее изучены в этом классе соединений красители, модифицированные структурными фрагментами, содержащими функциональные группы, обеспечивающие возможность дальнейшего ковалентного связывания с целевыми макромолекулами, либо способствующие нековалентной координации красителя с белками и аналитами.

Принцип создания хромофоров, представляющих собой катионные системы, включающие два гетероциклических фрагмента, связанных полиметиновой цепью, практически универсален. Конденсация гетероциклических четвертичных аммониевых солей с карбонильной компонентой, представляющей сопряженный диальдегид или его азааналог, приводит в зависимости от длины полиметинового фрагмента к созданию хромофоров с большим диапазоном спектральных возможностей. Несмотря на универсальность и простоту общего подхода к созданию такого типа флуорофоров, в каждом конкретном случае модификация того или иного фрагмента приводит к необходимости поиска условий проведения реакции конденсации и последующего выделения целевых флуорофоров.

Задача настоящего исследования состояла в направленном синтезе симметричных и несимметричных три-, пента- и гептаметиновых карбоцианинов со свободной полиметиновой цепью, конформационно закрепленных трикарбоцианинов с заместителями различной природы (схема 1), исследование их спектрально-кинетических характеристик и зависимости их свойств от структурных модификаций.

Схема 1



3.1 Синтез карбоцианинов

В зависимости от того, какие требования предъявляются к структуре карбоцианина с точки зрения возможностей дальнейшего ковалентного либо нековалентного связывания с целевыми молекулами и мишенями, необходимо направленно модифицировать его структуру, вводя необходимые функции в различные структурные фрагменты флуорофора. С точки зрения вариантов структурных модификаций карбоцианины представляют собой крайне перспективные модели, поскольку имеют несколько потенциальных центров модификации: введение функционального заместителя возможно в гетероциклическое ядро, к атому азота гетероцикла при его кватернизации и для конформационно закрепленных трикарбоцианинов – в мезоположение полиметиновой цепи. Варьирование длины сопряженной системы флуорофора за счет длины полиметинового фрагмента карбонильных компонент, природы гетероцикла и гетероатома в мезоположении позволяет менять область поглощения и флуоресценции в широких пределах. Природа функциональных заместителей уже предполагает выстраивание стратегии сборки метиленовой (гетероциклическая соль) и карбонильной компоненты (анилов или альдегидов).

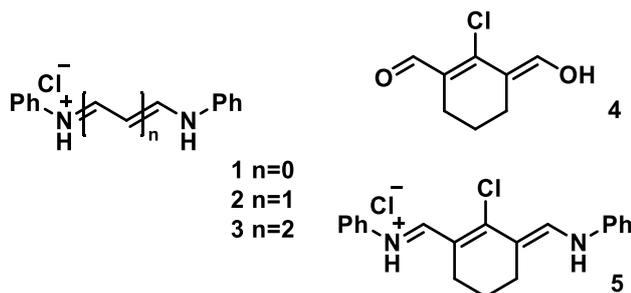
3.1.1 Синтез исходных соединений

Часть исходных соединений для создания метиленовых и карбонильных компонент являются коммерчески доступными, такие как индоленин, бензоиндоленин и бензотиазол, использующиеся как основа для гетероциклических солей, и дианилы, необходимые для синтеза триметиновых и пентаметиновых красителей. Однако введение дополнительной функции в ароматическое кольцо гетероцикла и карбонильная компонента для трикарбоцианинов требуют синтеза исходных соединений.

3.1.1.1 Синтез исходных карбонильных компонент

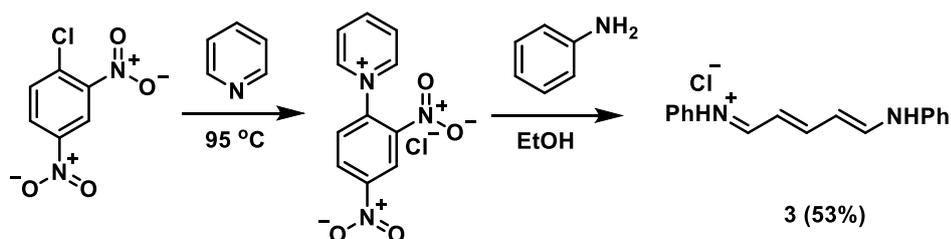
В данной работе для получения карбоцианиновых красителей использовали несколько видов дианилов **1-3**, **5** и диальдегид **4** (Схема 2).

Схема 2



Коммерчески недоступные дианилы **3**, **5** и диальдегид **4** были синтезированы по описанному в литературе методикам. При получении трикарбоцианинов с незакрепленной полиметиновой цепью (гептаметины) в качестве карбонильной компоненты использовали гидрохлорид дианила глутаконового альдегида **3**, который синтезировали с выходом 53% [74] (Схема 3).

Схема 3



Для создания конформационно закрепленных трикарбоцианинов использовали 2-хлорциклогексен-1,3-дикарбальдегид **4**, синтезированный формилированием циклогексанона по Вильсмайеру-Хааку [75; 76] (Схема 4) и дианил **5** [77–79] (Схема 5).

Схема 4

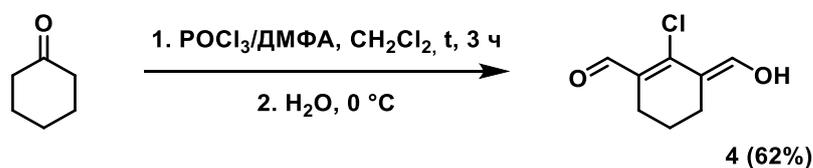
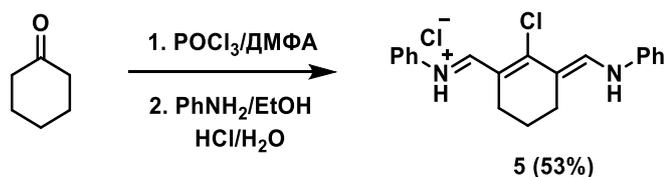


Схема 5



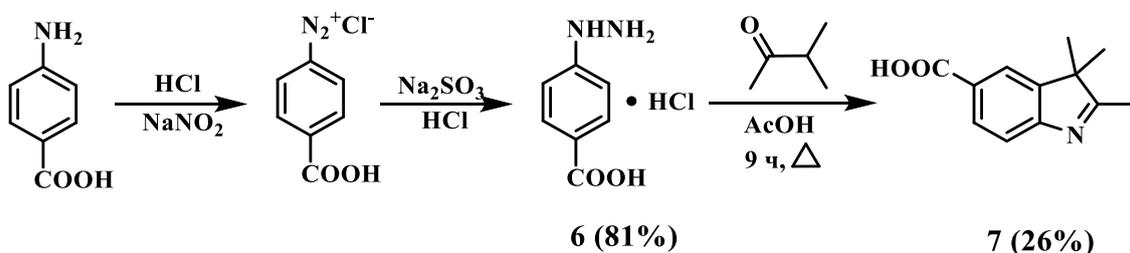
В результате данных реакций помимо процесса формилирования в мезо-положение карбоцикла происходит введение атома хлора. Спектры ЯМР ^1H соединений **4** и **5** соответствуют приведенным в литературе.

3.1.1.2 Синтез исходных гетероциклов и алкилирующих агентов

На следующем этапе мы синтезировали некоторые необходимые гетероциклы и другие исходные соединения.

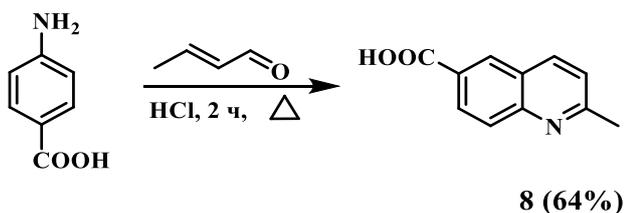
Содержащие карбоксильную группу в ароматическом кольце гетероциклы 2,3,3-триметил-3Н-индол-5-карбоновая кислота **7** и 2-метилхинолин-6-карбоновая кислота **8** были получены по описанным в литературе методикам (Схемы 6 и 7) [80–82].

Схема 6



Получение 2-метилхинолин-6-карбоновой кислоты **8** проводили по оптимизированной методике (схема 7) [82]. Использование концентрированной соляной кислоты вместо 6N и уменьшение времени реакции с 12 до 2 часов позволило увеличить выход с 44 до 64 %.

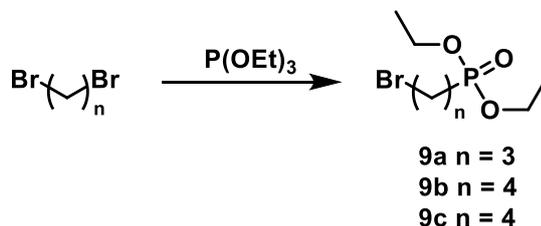
Схема 7



Поскольку одним из способов модификации красителей является введение функциональных групп в заместители при атоме азота гетероцикла, мы получили серию алкилирующих агентов для синтеза фосфонатзамещенных гетероциклических солей: ω -бромалкилфосфонатов **9a-c** и бутанфостона **10**.

ω -Бромалкилфосфонаты **9a-c** были синтезированы с выходами 60-65% по классической реакции Арбузова между триэтилфосфитом и соответствующим дибромалканом (схема 8).

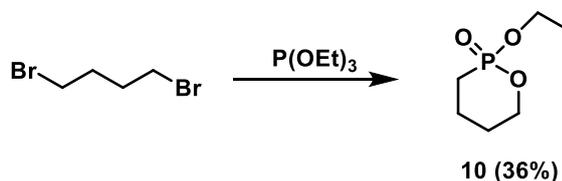
Схема 8



Спектры ЯМР ^1H и ^{31}P полученных ω -бромалкилфосфонатов **9a-c** соответствуют литературным данным. Подтверждением является смещение сигнала атома фосфора в спектре ЯМР ^{31}P в область 30-32 м.д. по сравнению с 138 м.д. у триэтилфосфита [83].

По аналогии с бутилсульфонатными производными, являющимися продуктами алкилирования по атому азота гетероцикла циклическим сультоном, для получения гетероциклического производного моноэфира алкилфосфоновой кислоты синтезировали фостон **10** с выходом 36% [84] (Схема 9).

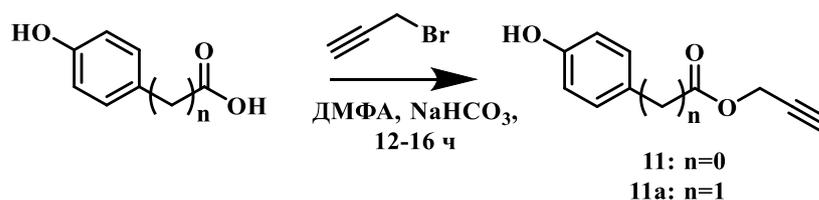
Схема 9



Спектры ЯМР полученного фостона **10** соответствуют литературным данным. В спектре ЯМР ^{31}P сигнал атома фосфора находится при 24.3 м.д.

Один из вариантов модификации красителя – введение нуклеофила по мезо-положению. Синтез пропаргиловых эфиров *m*-гидроксибензойной и *m*-гидроксифенилуксусной кислот **11** [85] и **11a** [86] в качестве необходимых *O*-нуклеофилов осуществляли по описанной методике (Схема 10).

Схема 10



Спектральные данные соединений **11** и **11a** соответствуют литературным данным.

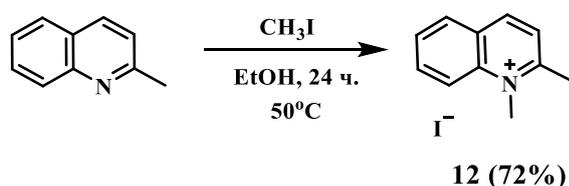
3.1.2 Синтез кватернизированных гетероциклических систем в качестве метиленовых компонент.

Процесс алкилирования азотсодержащих гетероциклов является удобным методом создания активных метиленовых компонент, как ключевых исходных соединений при создании карбоцианиновых красителей. В рамках данного исследования были синтезированы гетероциклические соли на основе различных азотсодержащих гетероциклических систем, содержащих у атома азота алкилкарбоксилатные, алкилфосфонатные, алкилсульфонатные гидрофильные группы, липофильные алкильные группы и алкильные заместители, включающие $-C\equiv C-$ фрагмент для дальнейшего использования в клик-процессах.

3.1.2.1 Алкилирование метилхинолинов, замещенных пиридинов и бензотиазола

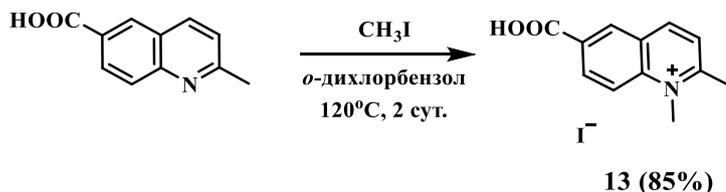
Соли на основе метилхинолинов **12-15** получали реакцией алкилирования хинолинов соответствующими алкилгалогенидами с хорошими препаративными выходами [45; 87–90] (Схема 11-14).

Схема 11



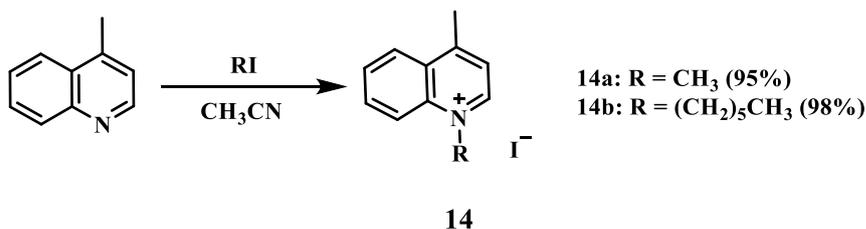
Мы установили, что алкилирование 2-метилхинолин-6-карбоновой кислоты **13** в более жестких условиях, в герметичном реакторе при использовании дихлорбензола вместо ацетонитрила и увеличении времени прохождения реакции до 2 суток, позволяет повысить выход реакции с 34 до 85% (Схема 12) по сравнению с литературными данными [45].

Схема 12



Алкилированием 4-метилхинолина метил- и гексил-иодидами были получены соответствующие соли **14a** и **14b** с выходами близким к количественным (Схема 13).

Схема 13

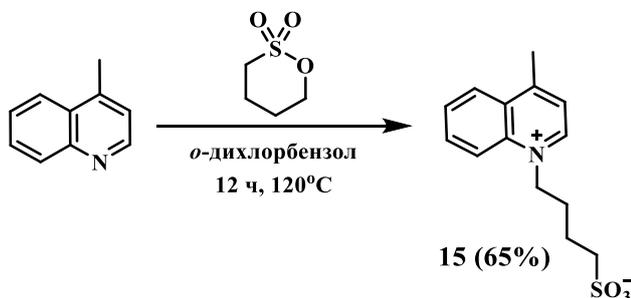


В случае соли **14a** удалось оптимизировать методику, представленную в литературе [88], увеличив избыток иодметана (1:4), снизив температуру до 50°C и проводя реакцию при меньшем разбавлении.

Ранее неописанную хиолиниевую соль **14b** синтезировали с высоким препаративным выходом (98%) кипячением 4-метилхиолина с 1-иодгексаном в ацетонитриле.

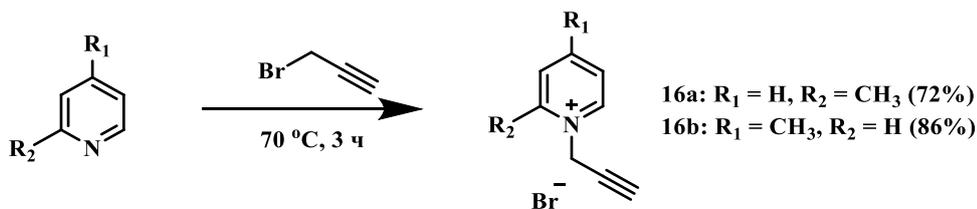
Соль **15** получена по описанной в литературе методике [89; 90], однако данная соль была охарактеризована только спектрами ЯМР ¹H и MALDI-TOF, поэтому для этого соединения был зарегистрирован спектр ЯМР ¹³C. Соль **15** выделена осаждением из реакционной смеси диэтиловым эфиром с выходом 65% (Схема 14).

Схема 14



Алкилирование соответствующих метилпиридинов проводили взаимодействием с 3-бромпропином. Были выделены соли **16a-b** с хорошими препаративными выходами (Схема 15).

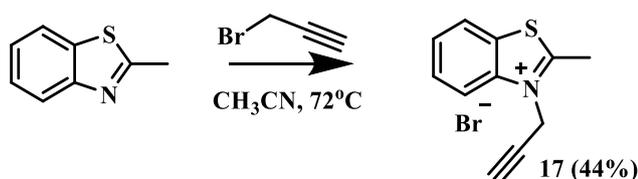
Схема 15



Для соли **16b** в отличие от описанной в литературе [44] методики мы проводили реакцию в отсутствие растворителя, что позволило сократить время реакции и повысить выход для описанной в литературе соли **16b** и для вновь полученной **16a**.

Получение пропаргилзамещенной соли **17** проводили также, как и описано в литературе [91; 92], нагреванием 2-метилбензотиазола с пропаргилбромидом с выходом 44% (Схема 16).

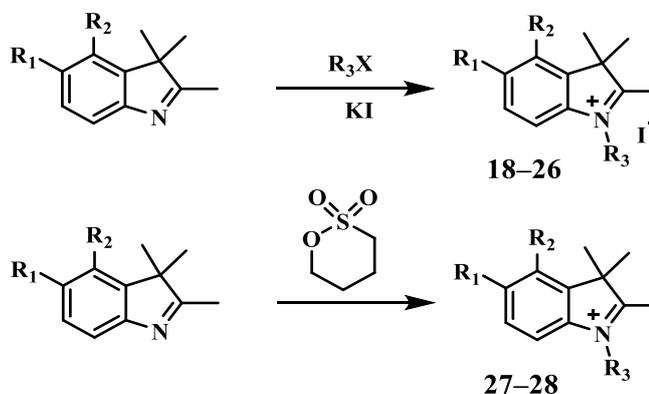
Схема 16



3.1.2.2 Гетероциклические соли на основе индоленина и бензоиндоленина

В литературе описаны синтезы достаточно большого количества кватернизированных солей на основе 2,3,3-триметил-3*H*-индола и 1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индола. В зависимости от природы алкилирующего агента выходы целевых солей колеблются в достаточно широких пределах. В рамках данного исследования нами был осуществлен синтез как соединений, описанных в литературе **18-20**, **22** и **24-28**, так и неописанных ранее солей (Схема 17).

Схема 17



Для солей **18**, **20**, **22**, **24**, **27** и **28** удалось оптимизировать условия процесса. При использовании иодида калия в избытке, а не в качестве катализатора, как предлагалось в литературе, а также в ряде случаев меняя температуру процесса и растворитель, удалось значительно повысить выходы целевых соединений. Условия реакции и выходы солей представлены в таблице 1.

Таблица 1. Условия реакций алкилирования и выходы соединений **18–28**.

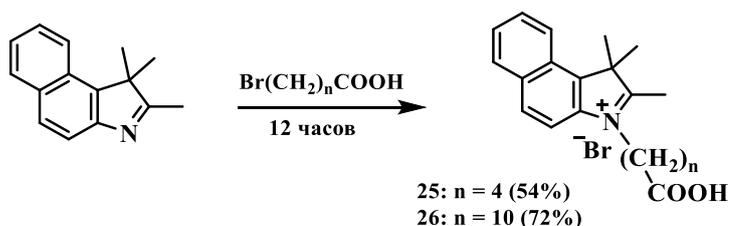
№	R ₁ , R ₂	R ₃	X	Растворитель	t, °C	Время, ч	Выход, %	Лит.
18	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	Br	Ацетонитрил	82	15	80	[93–96]
19	(-CH=CH-) ₂	CH ₃	I	Ацетонитрил	72	2	90	[54; 97]
20	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₂ CH ₃	Br	Ацетонитрил	75	24	78	[98; 99]
21	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₃ CH ₃	I	Ацетонитрил	72	24	88	-
22	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₉ CH ₃	Cl	Ацетонитрил	72	18	70	[100]
23	H	(CH ₂) ₄ COOEt	Br	Ацетонитрил	72	24	70	-
24	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ COOEt	Br	Ацетонитрил	72	24	60	[36]
25	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ COOH	Br	-	80	12	54	[101]
26	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₁₀ COOH	Br	-	100	12	72	[101]
27	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	Br	1,2-дихлорбензол	120	8	54	[89; 102; 103]
28	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	Br	1,2-дихлорбензол	120	8	97	[36; 95; 104]

Синтез соли **22** описан только в патенте [100] без приведения необходимых спектральных характеристик. Нами помимо условий реакции были изменены условия выделения, что привело к увеличению выхода с 23 до 70% и соль **22** была описана всеми необходимыми физико-химическими методами (Схема 17, Таблица 1).

В процессе синтеза соединений **21** и **28** было показано, что к увеличению выхода соли **28** приводит сокращение времени проведения реакции с 48 до 8 часов, а для соединения **21** увеличение с 2 до 72 часов.

Соединения **25** и **26** получены сплавлением бензоиндоленина с соответствующими карбоновыми кислотами с выходами 54 и 72%, соответственно (Схема 18). Для соли **25** литературная методика также была модифицирована [101]. Увеличение времени реакции и снижение температуры, с использованием эквимолярного соотношения реагентов привело к некоторому увеличению выхода и уменьшению количества плохо отделяемых примесей.

Схема 18



Для алкилирования 5-карбокси-2,3,3-триметил-3*H*-индоленина **7** иодистым метилом мы использовали аналогичные условия, что и для хинолинииевого аналога **13** (Схема 19). Кислота **29** образуется с хорошим препаративным выходом 85% [20; 105].

Схема 19



3.1.2.2.1 Гетероциклические соли с алкилфосфонатной группой у атома азота

Индолениниевые соли **30a-c**, содержащие фосфонатную группу при кватернизованном атоме азота получили алкилированием бензоиндоленина соответствующими ω-бромалкилфосфонатами **9a-c** (Схема 20, Таблица 2).

Схема 20

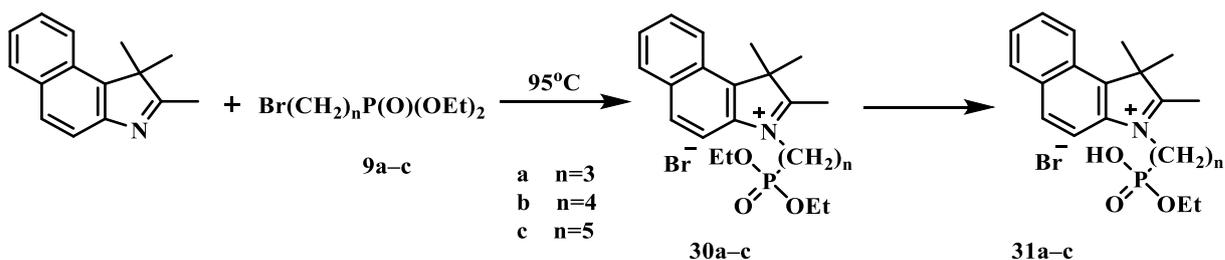


Таблица 2. Выходы соединений **30a-c**, **31a-c**.

№	R ₃	³¹ P	Выход, %
30a	(CH ₂) ₃ P(O)(OEt) ₂	30.27 (D ₂ O)	40
30b	(CH ₂) ₄ P(O)(OEt) ₂	31.44 (DMSO- <i>d</i> ₆)	40
30c	(CH ₂) ₅ P(O)(OEt) ₂	32.22 (CD ₃ CN)	30
31a	(CH ₂) ₃ P(O)(OH)(OEt)	27.73, 32.81 (D ₂ O)	23
31b	(CH ₂) ₄ P(O)(OH)(OEt)	34.72, 31.29 (D ₂ O)	12
31c	(CH ₂) ₅ P(O)(OH)(OEt)	30.93 (CD ₃ CN)	15

На этом этапе мы столкнулись с проблемами выделения и очистки четвертичных аммониевых солей **30**, **31** и **32**. Тщательный анализ реакционных смесей и продуктов реакции с помощью спектров ЯМР ³¹P позволил установить, что при практически полной конверсии исходного гетероцикла с использованием двукратного избытка алкилфосфоната соотношение сигналов ядер ³¹P продукт **30** : фосфонат **9** составляет 1:1, при выделении продуктов из реакционных смесей происходит частичное разложение целевых соединений.

Выделение солей **30a-c** удается осуществить с оптимальным выходом, последовательно экстрагируя примеси из водного раствора соли органическими растворителями. Однако дальнейшее удаление воды в вакууме при нагревании приводит к частичному гидролизу эфирных групп, что приводит к снижению выхода целевых соединений. Соли **30** были выделены в виде бежевых масел или светлой стеклообразной массы.

Следует отметить, что из реакционной массы, полученной при синтезе солей **30a-c** удалось выделить продукты частичного гидролиза **31a-c**. Примеры такого частичного гидролиза диэтилфосфонатных групп хорошо известны и описаны в литературе [106; 107]. Данные спектра ЯМР ^1H свидетельствуют о наличии только одной этоксигруппы, а сигналы атомов фосфора в спектре ЯМР ^{31}P смещаются в более сильное поле и представляют собой синглеты в области 27.73 - 30.92 м.д.

С целью увеличения водорастворимости фосфорсодержащих трикарбоцианинов нами был осуществлен гидролиз диэтилфосфонатной группы. Гидролиз второй эфирной группы в диалкилфосфонатах требует более жестких условий и полный гидролиз проводится нагреванием соответствующих эфиров в концентрированной бромоводородной кислоте.

Так, при нагревании солей **30a-c**, **31a-c** с концентрированной бромоводородной кислотой были получены соли **32a-c** (Схема 21, Таблица 3).

Схема 21

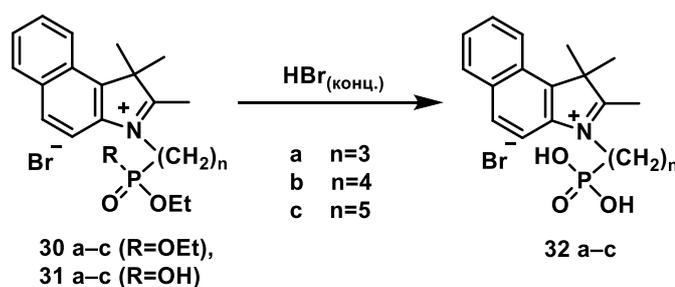


Таблица 3. Выходы гетероциклических солей **32a-c**.

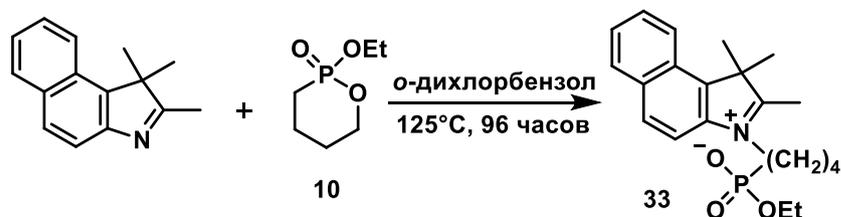
№	R ₃	^{31}P	Выход %
32a	$(\text{CH}_2)_3\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$	27.48, 29.06 (D_2O)	60
32b	$(\text{CH}_2)_4\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$	29.59, 30.67 (D_2O)	25
32c	$(\text{CH}_2)_5\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$	32.37, 32.98. (D_2O)	20

Контроль за ходом реакции осуществлялся с помощью спектроскопии ЯМР ^{31}P реакционной смеси. Выход неочищенных солей был практически количественным. Выделение и очистка солей **32a-c** переосаждением из метанола диэтиловым эфиром

проходит с очень низким выходом (20%). Однако было показано, что использование солей **32a-c** в конденсации без дальнейшей очистки не влияет на выход красителя.

Образование соли **33**, представляющей собой, с одной стороны, моноэфир, а с другой стороны, цвиттер-ион, идет в более жестких условиях (Схема 22).

Схема 22



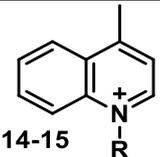
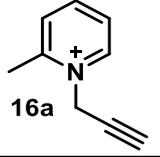
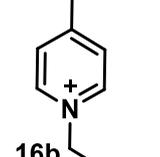
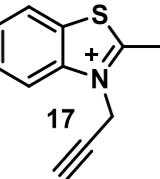
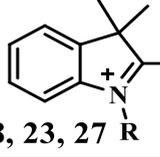
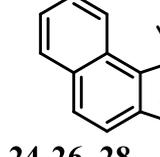
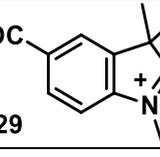
При мониторинге реакционной смеси с помощью ЯМР ^{31}P было установлено, что при практически полной конверсии фостона (исчезает сигнал ^{31}P при 24.3 м.д.) в спектре реакционной смеси появляется сигнал ^{31}P 22.9 м.д. (при использовании CD_3CN) продукта **33**. В D_2O сигнал ^{31}P расположен при 26.1 м.д., что возможно связано с образованием водородных связей с растворителем. Однако при выделении целевого вещества, которое проходит с крайне низким выходом до 10% в зависимости от разных способов выделения, этот метод в совокупности с жесткими условиями и длительностью процесса оказался не перспективным, поэтому в дальнейшем нами не использовался.

В спектрах ЯМР ^{31}P сигналы атомов фосфора солей **30a-c** расположены в интервале 30 - 32 м.д., что соответствует области алкилфосфонатов. При этом для соединений **32a-c** при регистрации в D_2O в спектре ЯМР ^{31}P мы наблюдали два сигнала в области 27.7 - 33.0 м.д., что, очевидно, связано с возможной диссоциацией алкилфосфоновых кислот в растворе.

Все кватернизированные соли **12-30** были охарактеризованы спектрами ЯМР ^1H , а неописанные ранее соли **14b**, **16a**, **21**, **23**, **30a-c**, **31a-c** и **32a-c** были также охарактеризованы ЯМР ^{13}C и масс-спектрометрией высокого разрешения. Ключевые сигналы ЯМР ^1H и ^{13}C представлены в таблице 4.

Таблица 4. Данные ЯМР ^1H и ^{13}C синтезированных гетероциклических солей.

Структура	^1H (δ , м.д.)			^{13}C (δ , м.д.)
	$\text{C}(\text{CH}_3)_2$	CCH_3	$\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{X}$	N^+-CH_2
<p>12-13</p>	-	2.96-3.37, с	4.43-4.77, с	-

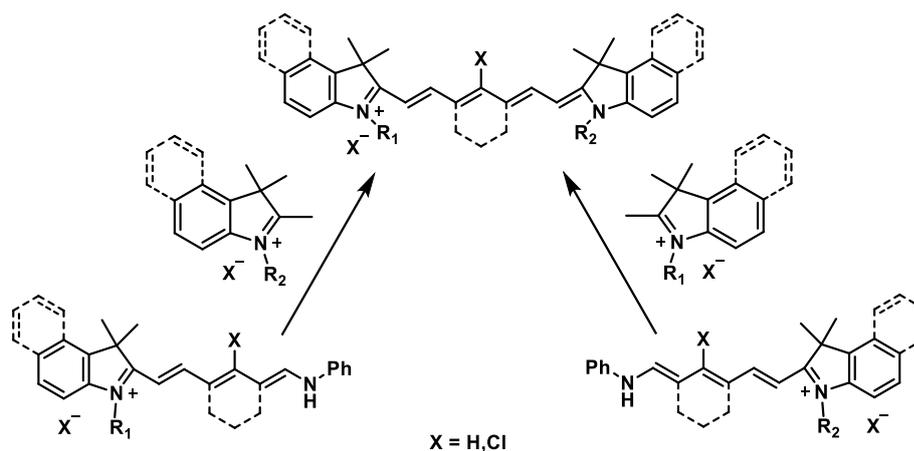
 14-15	-	2.89-3.04, с	4.90 с 4.89-5.26 (т, $^3J_{HH} = 7.6$ Гц)	57.96-56.96
 16a	-	2.91	5.64 (д, $^3J_{HH} = 5.64$ Гц)	47.4
 16b	-	2.63	5.66 (д, $^3J_{HH} = 2.5$ Гц)	-
 17	-	3.26	5.76, с	-
 18, 23, 27 R	1.50-1.65	2.73-3.13	4.46-4.71 (т, $^3J_{HH} = 7.67-7.8$ Гц)	49.58
 19-22, 24-26, 28, 30a-c, 31a-c, 32a-c	1.33-1.90	2.87-3.22	4.09 с 4.35-4.84 (т, $^3J_{HH} = 7.1-7.8$ Гц)	45.19-61.16
 29	1.57	2.81	3.99 с	-

3.1.3 Синтез несимметричных карбоцианинов

Синтез несимметричных карбоцианинов предполагает проведение последовательно двух конденсаций дикарбонильной компоненты с двумя различными солями, либо принадлежащими разным гетероциклическим системам, либо имеющими общее гетероциклическое ядро, но разные заместители при кватернизированном атоме азота. Безусловно, наиболее удобно было бы проводить эти конденсации как one-pot процесс. Однако, далеко не всегда это препаративно оправданно, поскольку в качестве побочного продукта происходит образование симметричного карбоцианина, что затрудняет разделение реакционных смесей. Гораздо эффективнее получение несимметричного

красителя и его дальнейшая очистка проходит при предварительном получении и выделении моноанила после проведения первой конденсации. На этом этапе необходимо отделить моноанил от сопутствующего симметричного компонента. Для каждой комбинации солей необходимо определить, на основе какой из солей моноанил образуется с наибольшим выходом. Для неописанных в литературе несимметричных красителей в данном исследовании проводили синтез с использованием обеих возможных последовательностей с целью выбора оптимального сочетания реагентов (Схема 23).

Схема 23



3.1.3.1 Синтез монокарбонильных компонент

Монокарбонильную компоненту синтезировали на основе индолениновых, бензоиндолениновых, тиазольных и метилхинолиновых гетероциклических солей.

Удобным способом мониторинга реакций образования анилов является регистрация электронных спектров поглощения реакционных смесей, поскольку образующиеся анилы представляют собой хромофоры с максимумом поглощения в области 390-500 нм.

Схема 24

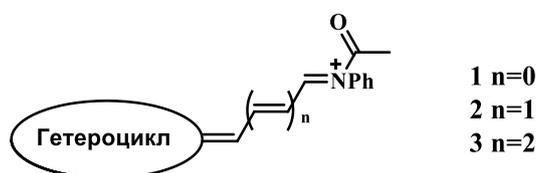
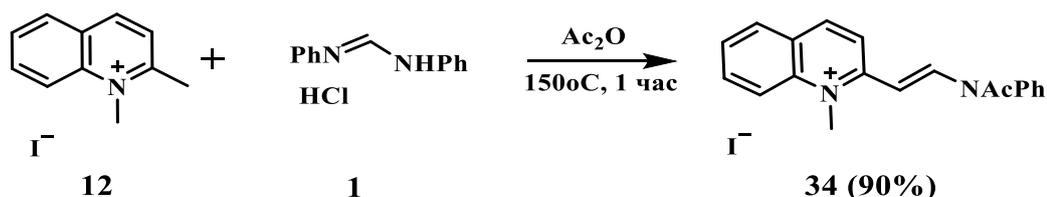


Таблица 5. Максимум поглощения моноанилов на основе различных гетероциклов в метаноле.

№	Гетероцикл	n	λ_{max} , нм
34-35	Хинолин	0	390-396
37	Бензоиндоленин	0	408
36	Хинолин	1	440
38-41	Бензоиндоленин	1	455-460
42	Индоленин	2	485
43-44	Безоиндоленин	2	500
45	Бензотиазол	2	485

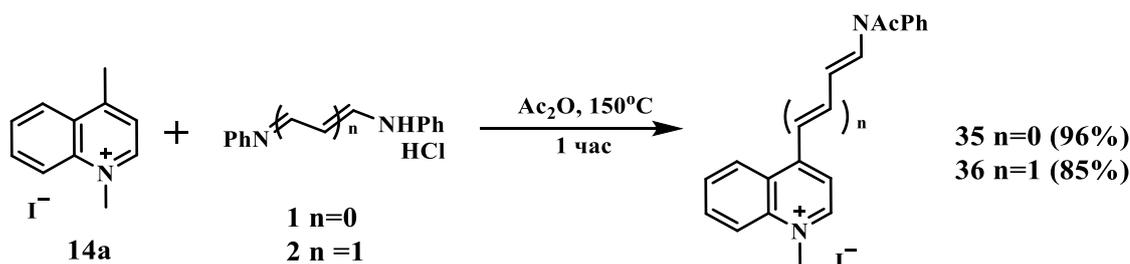
Сопряженные анилы **34-36** были синтезированы на основе хинолиниевых солей **12** и **14a**. Моноанил **34** для дальнейшего создания триметинового флуорофора получили по описанной в литературе методике [108] (Схема 25).

Схема 25



Анилы **35, 36**, представляющие собой основу для синтеза пента- и гептаметиновых красителей, были получены с хорошими препаративными выходами из соли **14a** (Схема 26).

Схема 26



Предшественники три-, пента- и гептаметиновых красителей **37-44** были получены по общей методике, приведенной в литературе для анилов **37, 41, 43** [54; 109], взаимодействием четвертичных солей **18-21, 26, 28** с дианилами **1-3**. Анилы **38-40, 42, 44** представляют собой неописанные ранее соединения (Схема 27, Таблица 6).

Схема 27

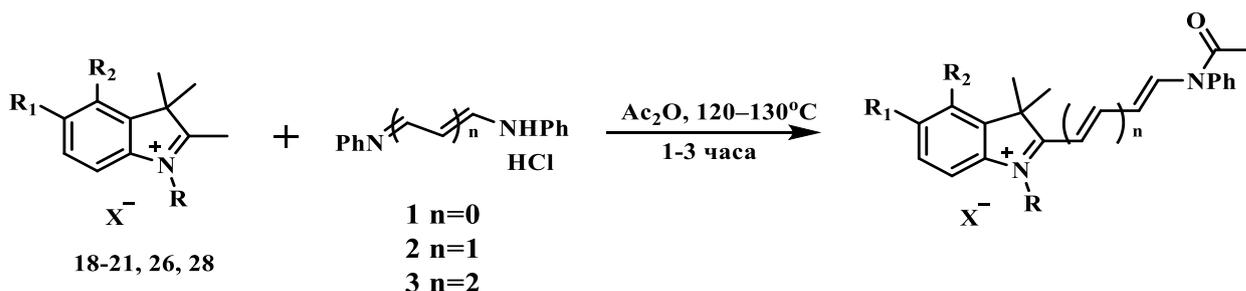


Таблица 6. Синтез моноанилов 37-44.

№	R ₁ , R ₂	R	n	X	Температура, °C	λ _{max} , нм	Выход, %
37	(-CH=CH-) ₂	CH ₃	0	Γ	110	408	91
38	(-CH=CH-) ₂	CH ₃	1	Γ	120	460	90
39	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₅ CH ₃	1	Γ	120	455	56
40	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₁₀ COOH	1	Γ	120	460	29
41	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	1	-	120	460	45
42	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	2	Γ	130	485	75
43	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	2	-	110	500	96
44	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₅ CH ₃	2	Γ	110	500	90

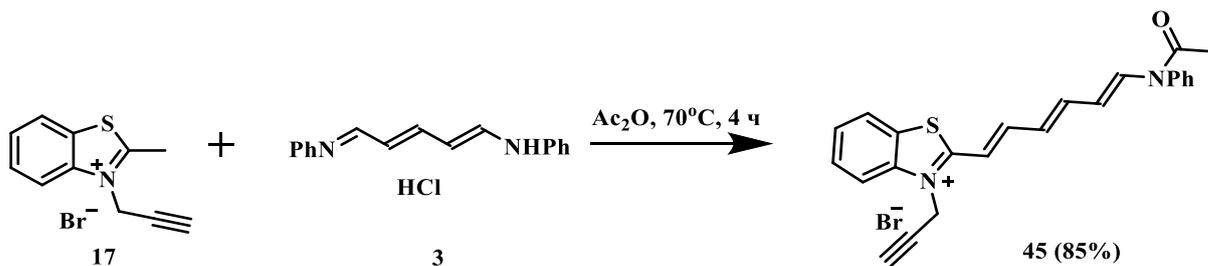
Очистка анилов **39-41** и **43** осуществлялась в два этапа. После переосаждения из насыщенного раствора в дихлорметане диэтиловым эфиром проводилась флеш-хроматография в системе CH₂Cl₂:MeOH с разным градиентом концентраций. Соединения **37-38**, **42**, **44** дополнительной хроматографической очистки не требовали.

Новые соединения **38-40**, **42**, **44** были охарактеризованы всеми необходимыми физико-химическими методами. Состав был подтвержден данными масс-спектрометрии высокого разрешения, а строение – данными ЯМР ¹H и ¹³C.

Наличие сигнала группы C(O)CH₃ в спектрах ЯМР свидетельствует о том, что при проведении реакции в уксусном ангидриде концевой атом азота дианилов подвергается ацилированию, что в данных условиях в значительной степени предотвращает прохождение реакции конденсации по второму концу исходного дианила и тем самым препятствует образованию побочного продукта диконденсации.

Неописанный ранее анил **45** на основе бензотиазола получили с хорошим препаративным выходом (85%) нагреванием соли **17** с дианилом **3** в уксусном ангидриде в более мягких условиях, чем индолениновые аналоги (Схема 28).

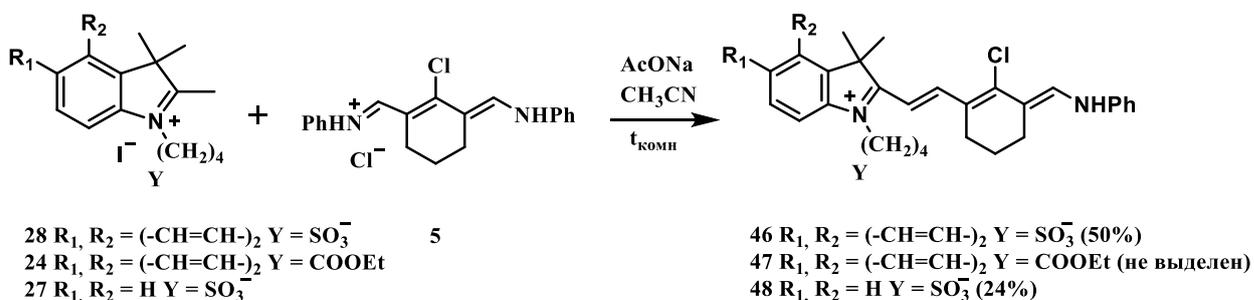
Схема 28



Структура и чистота соединения **45** были подтверждены необходимым набором физико-химических методов. В электронном спектре поглощения максимум поглощения соединения **45** находится при 485 нм.

Монозамещенные анилы **46-48**, используемые в качестве карбонильных компонент в синтезе конформационно закрепленных трикарбоцианинов были получены из дианила **5**.

Схема 29



Было показано, что использование литературной методики для получения моноанилов **46-48** [4; 110], заключающейся в кипячении соответствующих солей **24**, **27** и **28** в этаноле с 10% избытком карбонильной компоненты, приводит к преобладающему образованию симметричного красителя за счет последовательной диконденсации дианила **5** с одной и той же солью. Проведение реакции в мягких условиях при комнатной температуре в течение 17 часов в ацетонитриле с использованием двух эквивалентов дианила **5**, позволило оптимизировать данный процесс, увеличив выход целевых соединений **46** и **48**, который составил 24 и 50%, и снизить выход симметричных продуктов до 35% (Схема 29).

Полноту протекания процесса контролировали по изменению максимума поглощения в области 645 нм у соединения **46** и 665 нм у **48** в электронных спектрах поглощения.

Использование двукратного избытка дианила подавляет процесс диконденсации, однако, полностью исключить процесс образования симметричного красителя не удастся. Очистку проводили методом колоночной хроматографии. Однако, моноанил **47**, содержащий карбоэтоксикальильный заместитель при кватернизованном атоме азота,

выделить не удалось. Процесс осложняется разложением продуктов реакции как при синтезе, так и в процессе выделения целевых соединений, о чем свидетельствует электронный спектр поглощения. Несмотря на то, что при обработке реакционной смеси диэтиловым эфиром был выделен продукт **47** в виде порошка, но после хроматографирования целевой моноанил подвергся деструкции на силикагеле. Об образовании этого продукта в реакционной смеси свидетельствует спектр ЯМР ^1H осадка после первичной очистки, в котором присутствуют сигналы в виде дублетов метиновых групп винильного фрагмента на ^1H при 6.29 м.д. и на ^1H при 8.47 м.д. и синглета метиновой группы при атоме азота на ^1H при 8.56 м.д., соответствующие структуре **47** (Рисунок 1).

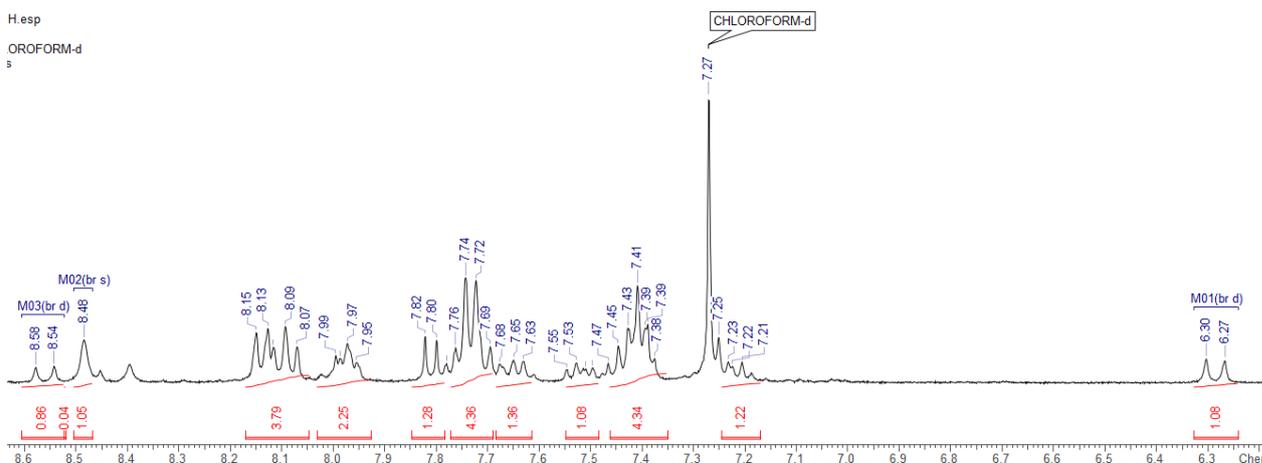
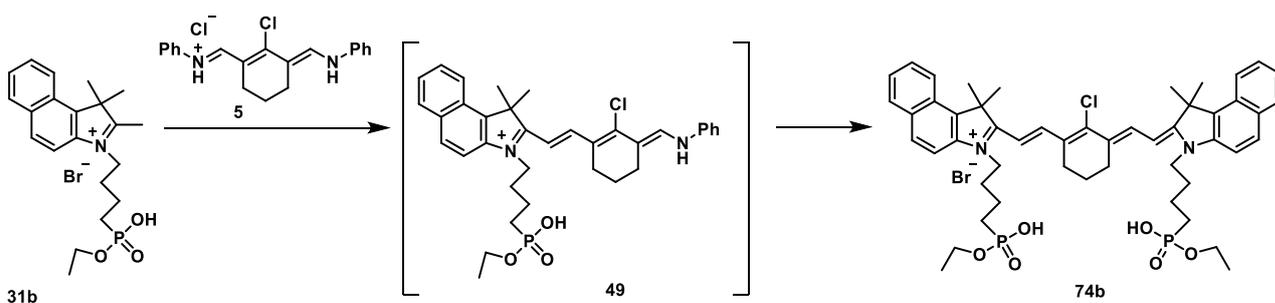


Рисунок 1. Спектр ЯМР ^1H соединения **47**.

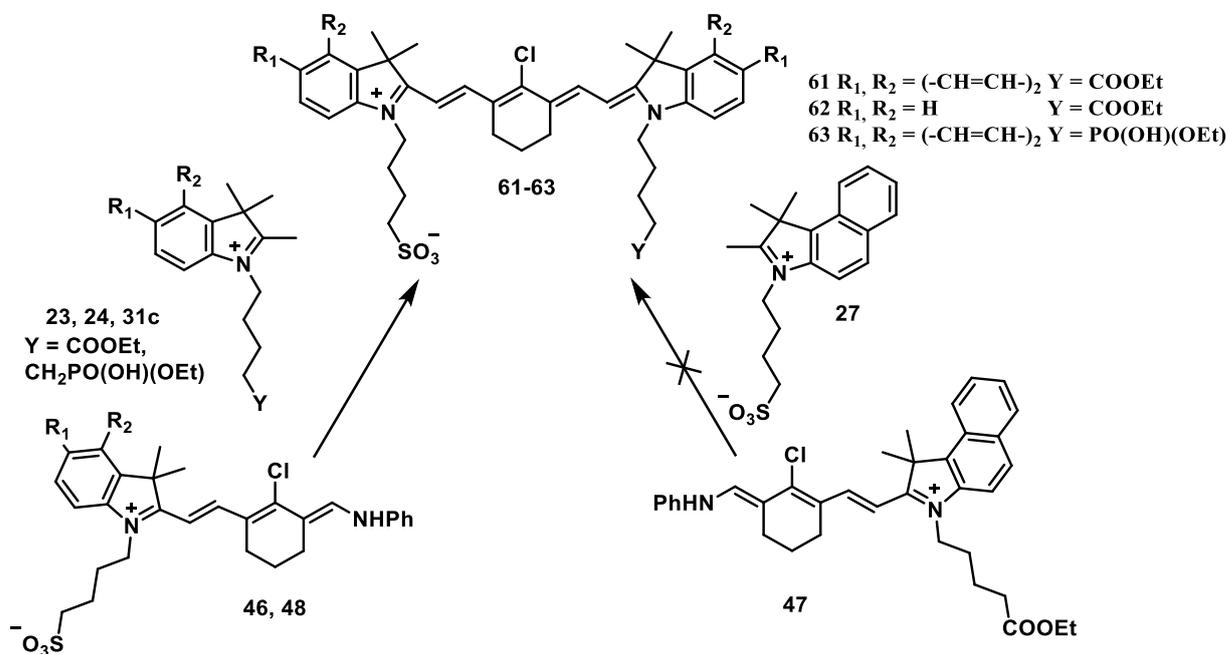
Попытки получить продукт моноконденсации дианила **5** с солями, содержащими алкилфосфонатный заместитель при атоме азота также, как и для карбоэтоксипроизводного к успеху не привели. Ни варьирование растворителей и оснований, ни изменение концентраций и соотношения реагентов не привело к нужному результату (Схема 30). Во всех случаях вместо моноанила **49** из реакционной смеси был выделен симметричный трикарбоцианин **74b**. Целевое соединение фиксировалось лишь в следовых количествах при мониторинге реакционных смесей с помощью электронных спектров поглощения.

Схема 30



Таким образом мы показали, что для синтеза несимметричных красителей **61-63** из двух возможных комбинаций метиленовых и карбонильных компонент единственный реализуемый вариант с использованием моноанилов **46** и **48** (Схема 31).

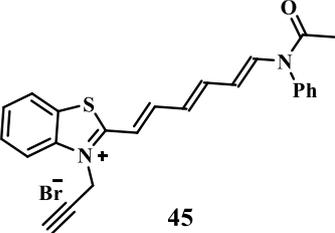
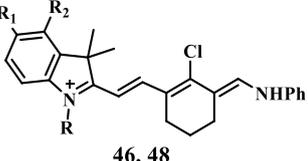
Схема 31



Все соединения **34, 35, 37, 41, 43, 46, 48** были охарактеризованы спектрами ЯМР 1H , а неописанные ранее моноанилы **36, 38-40, 42, 44, 45** были также охарактеризованы ЯМР ^{13}C и масс-спектрометрией высокого разрешения. Ключевые сигналы ЯМР 1H и ^{13}C представлены в таблице 7.

Таблица 7. Данные ЯМР 1H и ^{13}C карбонильных компонент **34-48**.

Структура	1H (δ , м.д.)			^{13}C (δ , м.д.)
	N^+-CH_2-X	$=CH$	$C(O)CH_3$	$N^+=C$
 34	4.05, с	5.63 (д, $^3J_{HH} = 13.9$ Гц), 8.84 (д, $^3J_{HH} = 13.9$ Гц)	2.10, с	-
 35-36 n = 0,1	4.39-4.40, с	5.46-5.98 ($^3J_{HH} = 11.1-13.9$ Гц) и 7.36-8.81 ($^3J_{HH} = 11.1-15.0$ Гц)	1.92 -2.04, уш. с	-
 37-44	3.73-3.96, с 4.33-4.57 (т, $^3J_{HH} = 7.3-7.9$ Гц)	5.38-6.94 ($^3J_{HH} = 11.4-15.3$ Гц), 7.53-9.15 ($^3J_{HH} = 11.2-15.3$ Гц)	1.96-2.18, с	178.8-181.52

 <p style="text-align: center;">45</p>	5.79, уш. с	6.41 ($^3J_{HH} = 12.0$ Гц), 7.37-8.63 ($^3J_{HH} = 11.6$ Гц)	1.97, с	178.6
 <p style="text-align: center;">46, 48</p>	4.33-4.55, м	6.59-6.66 ($^3J_{HH} = 14.49-14.98$ Гц), 8.09-8.52 (14.61-15.22 Гц)	-	-

Таким образом, было установлено, что на устойчивость карбонильной компоненты влияет длина полиметиновой цепи и природа заместителя. Конформационно закрепленные моноанилы на основе индоленина и бензоиндоленина наиболее устойчивы при наличии алкилсульфонатной группы при атоме азота. Для гетероциклических солей на основе индоленина и бензоиндоленина, содержащими при четвертичном атоме азота гетероцикла алкилцианогруппу, или содержащими COOH группу в гетероцикле, соответствующие моноанилы со свободной полиметиновой цепью в основном получают с низким выходом.

3.1.3.2 Синтез несимметричных карбоцианинов

Синтезированные моноанилы **34-48** были введены в реакцию конденсации с кватернизированными солями пиридинов, хинолинов, индоленинов и бензоиндоленинов с целью получения несимметричных красителей с различной длиной полиметиновой цепи (карбоцианины, дикарбоцианины и трикарбоцианины).

В настоящее время примеров карбоцианинов на основе метиленовых компонент с метилхинолиновым гетероциклом описано очень мало, а для алкилированных метилпиридинов есть примеры только стироловых красителей.

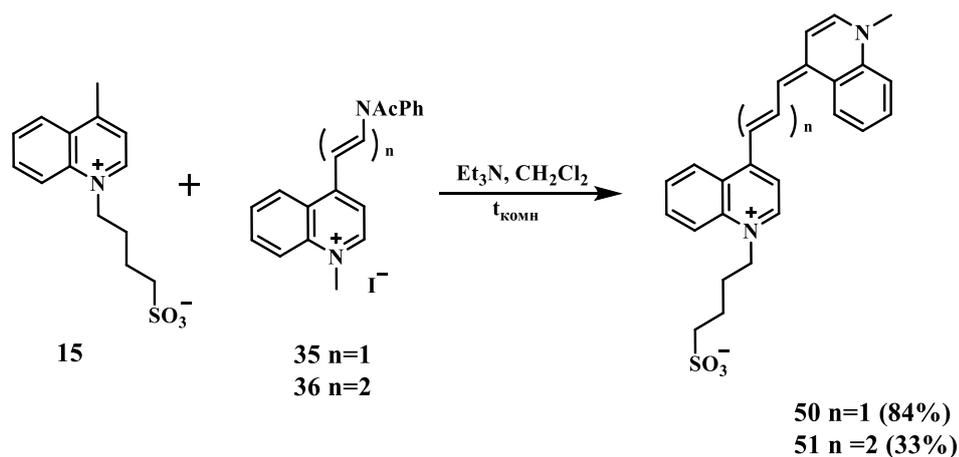
В рамках данной работы были исследованы возможности синтеза карбоцианинов на основе 2- и 4-метилхинолинов и 2- и 4-метилпиридинов, которые в реакции конденсации с образованием соответствующих карбоцианинов крайне неактивны. Например, при исследовании реакции 2-метилхинолинкарбоновой кислоты **13** реакции с моноанилом **34** с помощью электронных спектров поглощения мы фиксировали только следовые количества соответствующего красителя.

Введение в реакцию конденсации производных 2- и 4-метилпиридинов **16a,b** и 2- и 4-метилхинолинов **12,13,14a-b** и **15**, модифицированных гидрофобными заместителями при кватернизированных атомах азота, с анилами **3, 5, 35, 36, 43, 48** и диальдегидом **4** также приводит к образованию лишь следовых количеств соответствующих карбоцианинов, о чем свидетельствует мониторинг протекания реакции с помощью электронных спектров

поглощения. Варьирование основания (пиридин, ацетат натрия, триэтиламин), растворителя (уксусный ангидрид, о-дихлорбензол, ацетонитрил) и температуры реакции (25-130°C) к результату не привели.

Только на примере алкилсульфонатной соли 4-метилхинолина **15** при взаимодействии с моноанилами **35** и **36** удалось получить соответствующие неописанные ранее карбоцианины **50** и **51** с различной длиной полиметиновой цепи в достаточно мягких условиях (Схема 32).

Схема 32



Карбоцианиновые красители **50** и **51** выделены с выходами 84% и 33%, соответственно. Снижение выхода для соединения **51** возможно связано с удлинением полиметиновой цепи.

Карбоцианины, содержащие карбоксильную группу в гетероциклическом ядре, удалось получить только в ряду производных индоленина и бензоиндоленина. Неописанные ранее красители **52-56** были получены нагреванием гетероциклических солей **28-29** с карбонильными компонентами **37-41** в присутствии ацетата натрия в уксусном ангидриде при 120°C. Оптимизация условий реакций осуществлялась в ходе мониторинга с помощью электронных спектров поглощения реакционной смеси. (Схема 33, Таблица 8).

Схема 33

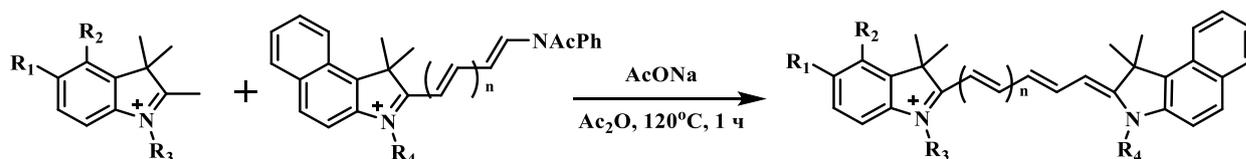


Таблица 8. Синтез карбоцианинов **52-56**.

№	R ₁ , R ₂	R ₃	n	R ₄	Y	Выход, %
52	R ₁ =H, R ₂ =COOH	CH ₃	0	CH ₃	I	25
53			1	CH ₃	I	28
54			1	(CH ₂) ₅ CH ₃	I	38
55			1	(CH ₂) ₁₀ COOH	I	61
56	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₅ CH ₃	1	(CH ₂) ₄ SO ₃	-	80

В отличие от хиолиновых карбоцианинов красители на основе индолениниевых и бензоиндолениниевых гетероциклов потребовали дополнительной очистки с использованием колоночной или флеш-хроматографии, где подбор элюентов в каждом случае выбирался индивидуально.

Неописанные ранее несимметричные гептаметиновые флуорофоры **57-59**, содержащие при кватернизованном атоме азота бензотиазольного цикла пропаргильный фрагмент были синтезированы взаимодействием карбонильных компонент **42-44** и метиленовой компоненты **17** (Схема 34). Условия реакции приведены в таблице 9.

Схема 34

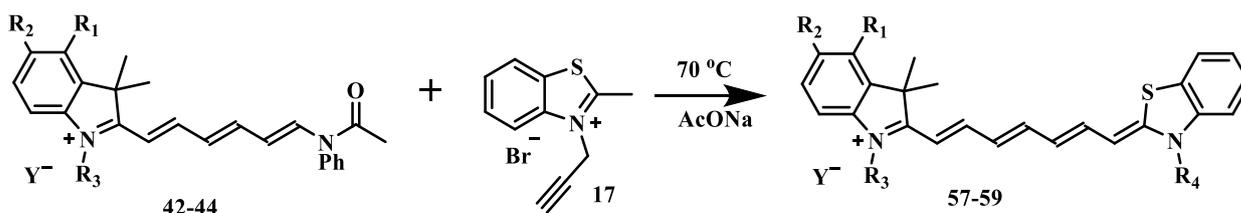


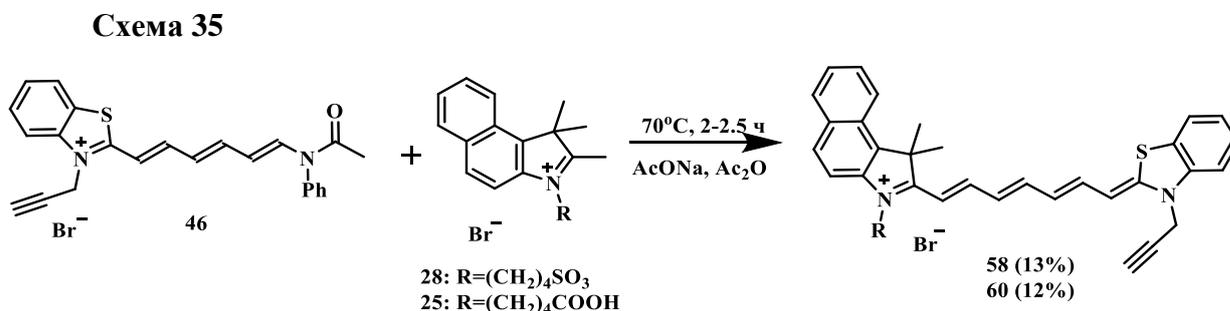
Таблица 9. Синтез пропаргилзамещенных трикарбоцианинов **57-59**.

№	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	Y	Условия реакции	Выход, %
57	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	CH ₂ C≡CH	I	EtOH, 2 ч	27
58	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	CH ₂ C≡CH	-	Ac ₂ O, 1 ч	21
59	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₅ CH ₃	CH ₂ C≡CH	I	CH ₃ CN, 4 ч	11

Для каждой пары реагентов условия реакции определялись с использованием электронных спектров поглощения реакционной смеси по исчезновению полосы поглощения исходных анилов **43-44** (460-500 нм) и появлению полосы поглощения целевых красителей **57-59** (750-780 нм). Условия реакции и выходы целевых соединений приведены в таблице 9.

На примере красителя **58** была показана возможность получения трикарбоцианина по другой методике, с использованием альтернативного сочетания карбонильной и метиленовой компонент (Схема 35). В данном случае фрагмент, содержащий концевую тройную связь, входит в состав карбонильной компоненты. Наряду с несимметричным

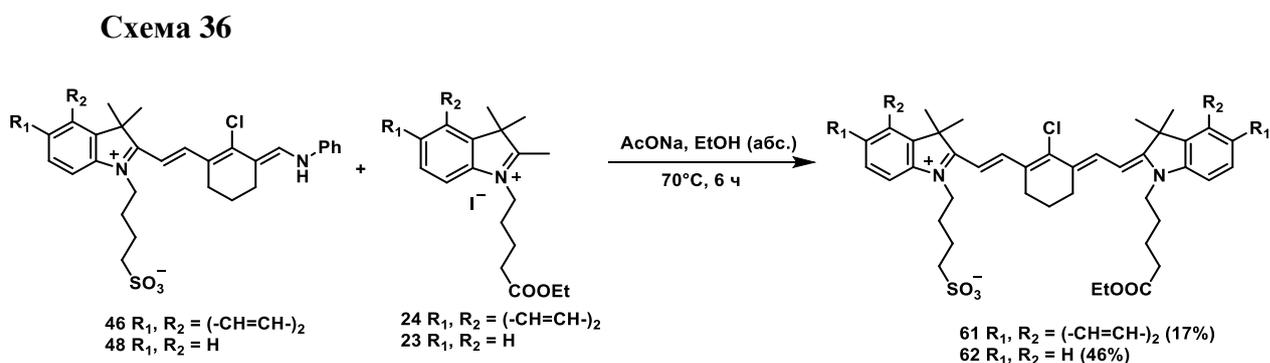
трикарбоцианиновым красителем **60**, карбоцианин **58** был получен с использованием в качестве карбонильной компоненты анила **45**, содержащего алкинильный фрагмент в заместителе при атоме азота, а в качестве метиленовой компоненты – соли **25** и **28** (Схема 35).



Для выделения конечных продуктов и очистки от примесей использовали колоночную хроматографию на силикагеле в системе $CH_2Cl_2:MeOH$. Из приведенного эксперимента на примере соединения **58** видно, что комбинация анила **43**, содержащего алкилсульфонатный заместитель, с бензотиазольной солью **17** приводит к целевому карбоцианину с гораздо лучшим препаративным выходом. Этот факт еще раз свидетельствует о том, что в каждом конкретном случае наилучшую последовательность сборки несимметричных карбоцианинов можно установить только экспериментальным путем.

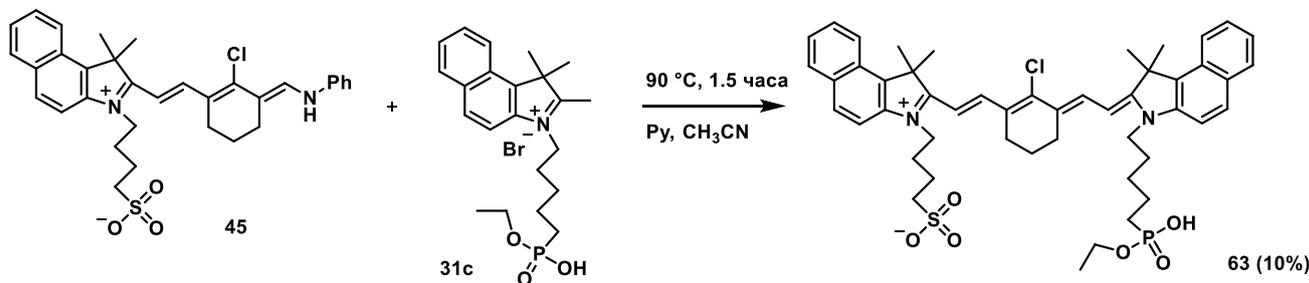
Трикарбоцианины имеют наиболее продолжительную цепь сопряжения, что приводит к увеличению вероятности процесса фотоизомеризации, приводящему уменьшению квантового выхода флуоресценции. Уменьшение возможности изомеризации полиметиновой цепи за счет включения в нее карбоциклического фрагмента делает конформационно закрепленные карбоцианины более фотостабильными.

На основе полученных конформационно закрепленных монокарбонильных компонент **46** и **48** были синтезированы несимметричные красители **61** и **62** конденсацией с индолениниевыми солями **24** и **23** с выходами после хроматографической очистки 17% и 46% соответственно (Схема 36).



Несимметричный краситель **63**, содержащий алкилфосфонатную группу у одного из кватренизированных атомов азота, был получен путем конденсации соответствующей карбонильной компоненты **45** с индолениниевой солью **31c** (Схема 37).

Схема 37



Соединение **45** было введено в конденсацию с фосфонатзамещенной метиленовой компонентой **31c** в смеси пиридина с ацетонитрилом (1:4). В результате получали несимметричный трикарбоцианин **63** с выходом после хроматографирования 10%.

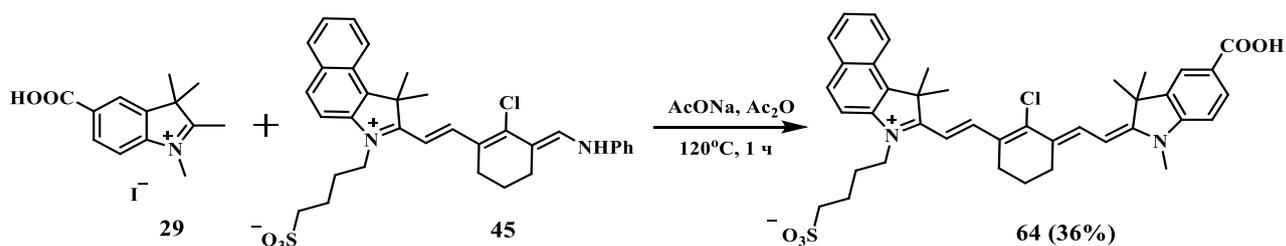
Максимум поглощения красителя **63** находится при 818 нм.

Сигнал атома фосфора ^{31}P представляет собой синглет в области 31.84 м.д.

В спектре ЯМР ^{13}C соединения **63** сигнал при атоме фосфора $\underline{\text{CH}}_2\text{P}$ группы представлен в виде дублета в области 27.60 м.д. ($^1J_{\text{CP}} = 144.9$ Гц), а в области 50.85 м.д. присутствует сигнал атома углерода, находящегося при атоме серы.

Конформационно закрепленный несимметричный трикарбоцианин **64**, содержащий карбоксильную группу в одном из гетероциклов, был синтезирован взаимодействием алкилсульфонатзамещенного анила **45** и соли **29** (Схема 38).

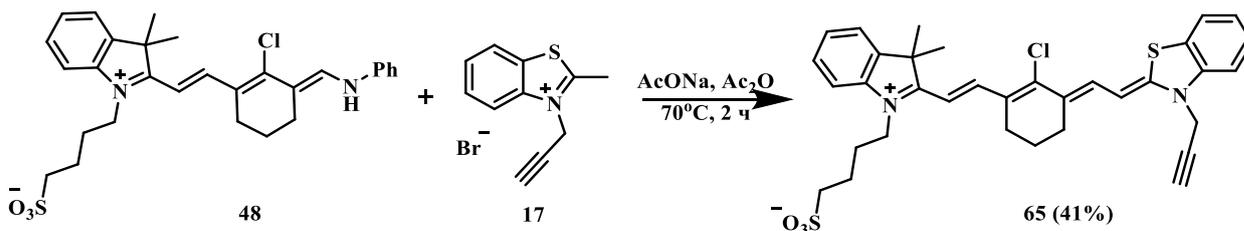
Схема 38



Краситель **64** выделяли осаждением диэтиловым эфиром с последующей флеш-хроматографией на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ с выходом 36%. Неописанный ранее трикарбоцианин **64** охарактеризовали спектром ЯМР ^1H и масс-спектром высокого разрешения.

Модифицированный алкинильной группой краситель **65** был синтезирован взаимодействием анила **48** и соли **17** с выходом 41% (Схема 39).

Схема 39



Структура и состав соединения **65** были подтверждены необходимым набором физико-химических методов.

Краситель **65** имеет максимум поглощения при 790 нм.

Все неописанные соединения **50-65** были охарактеризованы спектрами ЯМР ^1H , ЯМР ^{13}C и масс-спектрометрией высокого разрешения. Ключевые сигналы ЯМР ^1H и ^{13}C представлены в таблице 10.

Таблица 10. Данные ЯМР ^1H и ^{13}C несимметричных красителей **50-65**.

Структура	^1H (δ , м.д.)		^{13}C (δ , м.д.)
	$\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{X}$	$=\text{CH}$	$\text{N}^+=\text{C}$
 50-51	3.94-3.98, с 4.33-4.37 (т, $^3J_{\text{HH}} = 5.9-6.8$ Гц)	6.61-7.0 ($^3J_{\text{HH}} = 12.3-12.6$ Гц), 8.07-8.55 (т, $^3J_{\text{HH}} = 7.2-12.0$ Гц)	-
 52-56	3.62-3.78, с 4.18-4.24 (т, $^3J_{\text{HH}} = 6.2-6.4$ Гц)	6.23-6.65 ($^3J_{\text{HH}} = 13.5-15.1$ Гц), 8.38-8.51 ($^3J_{\text{HH}} = 12.5-13.4$ Гц)	160.59-183.77
 57-60	3.97-4.18 (т, $^3J_{\text{HH}} = 6.3-7.5$ Гц) 5.13-5.33 (д, $^3J_{\text{HH}} = 2.0$ Гц)	6.13-6.76 ($^3J_{\text{HH}} = 12.7-14.2$ Гц), 7.28-7.96 ($^3J_{\text{HH}} = 14.4$ Гц)	139.9-142.6 ($\text{N}^+=\text{CS}$) 188.5-194.5 ($\text{N}^+=\text{C}$)
 61-64	3.72, с R=CH ₃ 3.99-4.26 (т, $^3J_{\text{HH}} = 7.20$ Гц), 4.22-4.42, м	5.97-6.56 ($^3J_{\text{HH}} = 13.6-14.4$ Гц), 8.21-8.54 ($^3J_{\text{HH}} = 11.9-14.4$ Гц)	172.78-175.79
 65 (41%)	4.12 (т, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Гц), 5.36 уш.с.	6.20-6.66 ($^3J_{\text{HH}} = 13.7-13.9$ Гц), 7.44-8.17 ($^3J_{\text{HH}} = 13.60$ Гц)	143.9 ($\text{N}^+=\text{CS}$) 197.8 ($\text{N}^+=\text{C}$)

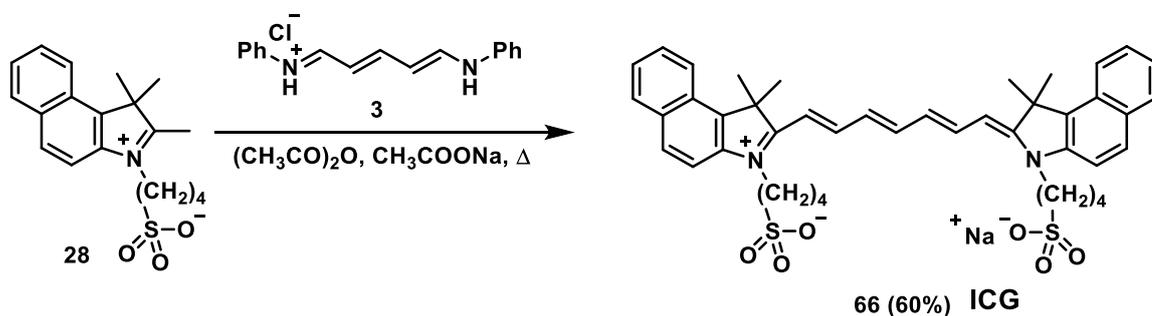
3.1.4 Синтез симметричных карбоцианиновых красителей

Симметричные карбоцианиновые красители в отличие от несимметричных синтезируются в один этап без выделения промежуточного моноанила.

Для дальнейшего изучения и анализа фотофизических свойств синтезированных серий новых карбоцианинов мы осуществили синтез ICG (Indocyanine green, cardiogreen) в качестве общепринятого модельного соединения в подобных исследованиях, так как

является единственным допущенным в клиническую практику. Индоцианиновый зеленый получили по описанной в литературе методике (Схема 40) [111].

Схема 40

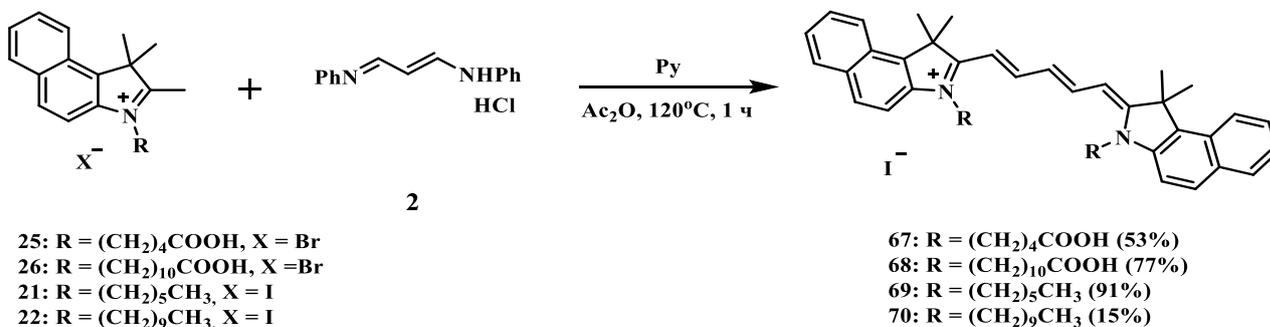


Очистку целевого соединения **66** проводили двукратным переосаждением из метанола диэтиловым эфиром с последующим промыванием осадка ацетоном и диэтиловым эфиром. Краситель **66** выделяли в виде натриевой соли с выходом 60%.

В электронном спектре поглощения присутствует максимум при 794 нм, что соответствует литературным значениям для данного соединения [111].

На основе бензоиндолениевых солей **21**, **22**, **25**, **26** с гидрофильными и гидрофобными группами были синтезированы симметричные пентаметиновые красители **67-70** для последующего изучения их комплексообразования с аналитами (Схема 41).

Схема 41



Неописанные ранее красители **67-70** были охарактеризованы всеми необходимыми физико-химическими методами.

Синтез серии неописанных ранее фосфонатных аналогов ICG **71a-f** осуществили взаимодействием четвертичных гетероциклических аммониевых солей **30a-c** и **32b,c** с гидрохлоридом дианила глутаконового альдегида в безводном пиридине с хорошими выходами (13-25%) (Схема 42, Таблица 11) [112].

Схема 42

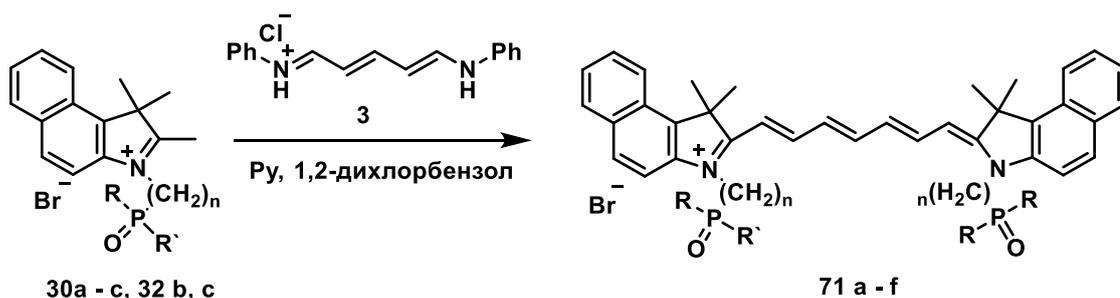


Таблица 11. Синтез фосфонатзамещенных гептаметиновых красителей **71a-f**.

Краситель	(CH ₂) _n	R	R'	Выход, %
71a	n=3	OEt	OEt	25
71b	n=4	OEt	OEt	20
71c	n=5	OEt	OEt	-
71d	n=4	OH	OH	13
71e	n=5	OH	OH	12
71f	n=5	OEt	OH	25

В результате варьирования растворителей, температуры и времени реакции было установлено, что оптимальными условиями образования фосфонатных аналогов кардиолина являются нагревание компонентов конденсации в смеси пиридина и дихлорбензола при 95°C в течение 2 ч. Конденсации гидролизованых солей **32b,c** проводили в тех же условиях в безводном пиридине, но выходы цианинов **71d,e** были меньше (12-13%).

После обработки реакционной смеси диэтиловым эфиром продукты реакции выделялись в виде фиолетовых масел. Выделение из этой смеси целевых соединений оказалось весьма проблематичным. Мы разработали многоступенчатый процесс очистки трикарбоцианинов, содержащих фосфонатные группы. Анализ реакционных смесей и продуктов реакции с помощью спектров ЯМР ³¹P и электронных спектров поглощения позволил установить, что в процессе выделения продуктов из реакционных смесей происходит частичное разложение целевых соединений, что приводит к резкому снижению выхода (до 15%). Хроматографирование на силикагеле с обращенной фазой (R-18) также не приводит к увеличению выхода, а сопровождается еще большей деструкцией целевых соединений. Мы установили, что оптимальным вариантом очистки соединений **71a-c** оказалось трехкратное переосаждение из метанола ацетоном и диэтиловым эфиром с

последующим хроматографированием на силикагеле. Соединение **71c** было зафиксировано нами с помощью спектров ЯМР ^{31}P , но не выделено в индивидуальном виде, что обусловлено частичным гидролизом одной из эфирных групп с образованием соединения **71f**. О чем и свидетельствуют данные спектроскопии ЯМР ^1H и масс-спектрометрии высокого разрешения.

Для трикарбоцианинов **71d,e** в результате многостадийной очистки удалось достичь выхода лишь 12%.

В электронном спектре поглощения трикарбоцианинов **71a-f** максимум поглощения находится в области 785 нм.

Сигналы атомов углерода алкилфосфонатных групп представлены в виде дублетов: в области 16.5 м.д. ($^3J_{CP} = 5.1$ Гц), принадлежащей OCH_2CH_3 связям, а также дублеты OCH_2 -групп при 61.7 м.д. ($^2J_{CP} = 5.1$ Гц). Сигналы CH_2P групп находится в области 26.2, 26.0 м.д. ($^1J_{CP} = 136.1$ Гц, $^1J_{CP} = 144.1$ Гц). Спектроскопия ЯМР для трикарбоцианинов **71a,b,d-f** оказалась не самым информативным методом, поскольку происходит агрегация красителя в растворах при концентрациях, необходимых для регистрации спектров ЯМР. Так, сигналы в спектрах ЯМР ^1H в некоторых случаях представляют собой плохо разрешенные мультиплеты, хотя их положение и не противоречит структуре синтезированных соединений. При регистрации спектров ЯМР ^{31}P в $\text{DMCO-}d_6$ при больших концентрациях исследуемых веществ мы наблюдали до трех сигналов атома фосфора. При регистрации спектров ЯМР ^{31}P в дейтерометаноле при более низкой концентрации целевого вещества наблюдается только один сигнал атома фосфора в области 29-32 м.д., но такой концентрации недостаточно для надежной регистрации спектров ЯМР ^{13}C . Подобное поведение карбоцианинов в концентрированных растворах может быть объяснено склонностью карбоцианинов к агрегации. В растворе $\text{DMCO-}d_6$ при более высокой концентрации возможно образование агрегатов двух типов: H-агрегатов и J-агрегатов, которые фиксируются и в электронных спектрах поглощения (полоса с гипсохромным и батохромным сдвигом относительно основного максимума поглощения). Агрегированные и неагрегированные формы существуют в растворе в равновесии. В спектрах ЯМР ^{31}P сигналы атомов фосфора фосфонатных красителей **71a-c** расположены при: 31.50, 31.63, 31.68 м.д. для **71a**, 30.29 для **71b** и 31.87, 22.69 м.д. в реакционной смеси для **71c**, соответственно.

По наличию нескольких сигналов атомов фосфора в спектрах ЯМР ^{31}P флуорофоров **71a**, **71c** и **71d** можно сделать вывод о сильной агрегации карбоцианинов в дейтерированных растворителях.

Таблица 12. Некоторые спектральные характеристики красителей **71a-f**.

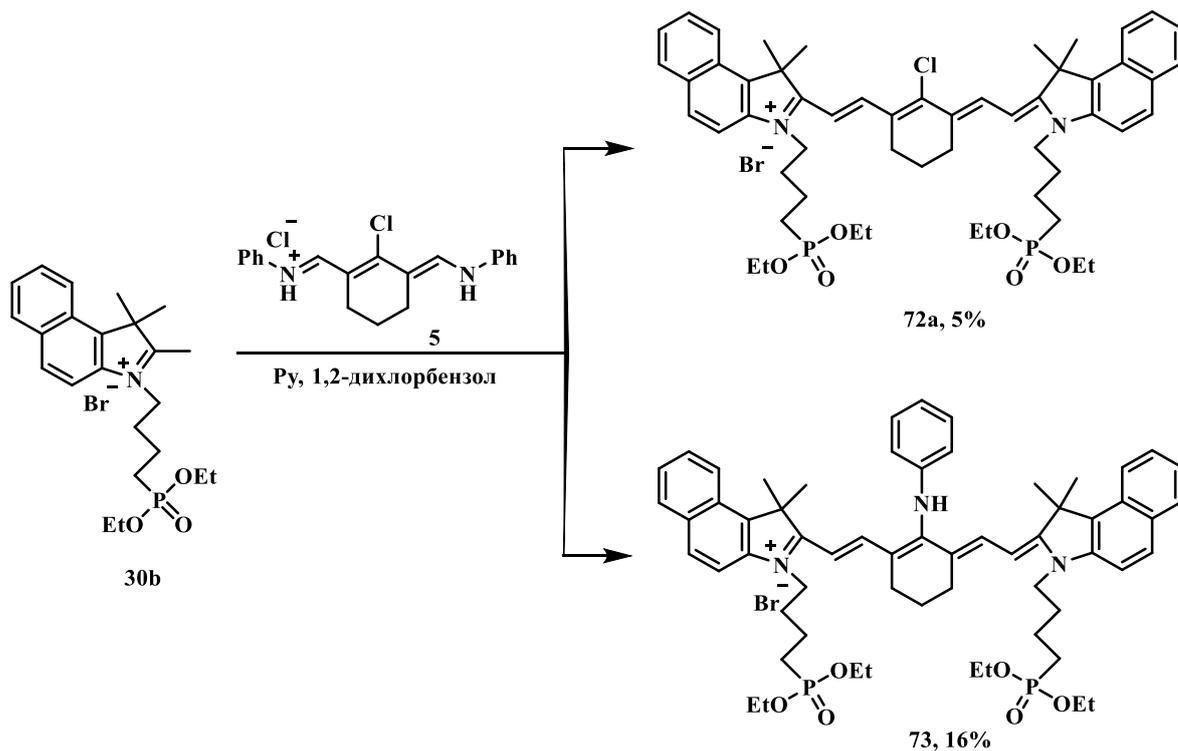
Краситель	³¹ P	Растворитель	λ_{abs} , нм (в CH ₃ OH)
71a	31.50, 31.63, 31.68	DMSO- <i>d</i> ₆	785
71b	30.29	CD ₃ OD	785
71c	31.87, 22.69	DMSO- <i>d</i> ₆	785
71d	28.66	CD ₃ OD	780
71e	28.41	CD ₃ OD	784
71f	31.87, 22.69	DMSO- <i>d</i> ₆	782

Анализ масс-спектров высокого разрешения показал, что эфиры **71a,b,d** регистрируются в виде положительных ионов $[M]^+$, а регистрация молекулярного иона для трикарбоцианинов **71e,f** со свободной фосфоновой группой возможна только в виде отрицательных ионов для соответствующих динатриевых солей.

В рамках данного исследования было показано, что конформационно закрепленные карбоцианины с фосфонатными группами, также, как и их аналоги со свободной полиметиновой цепью, образуются в более жестких условиях и с гораздо более низкими выходами.

На примере флуорофора **72a** показано, что уже при 95°C при использовании дианила альдегида **5** в качестве карбонильной компоненты наряду с целевым соединением **72a**, выделяемого с выходом 5%, происходит образование побочного продукта реакции **73** с выходом 16%, представляющего собой результат нуклеофильного замещения атома хлора в мезо-положении трикарбоцианина на выделяющийся в результате реакции анилин. Это приводит к снижению выхода целевого трикарбоцианина **72a** и осложняет процесс очистки (Схема 43). При увеличении температуры возрастает доля побочного продукта нуклеофильного замещения **73**, который был выделен и охарактеризован.

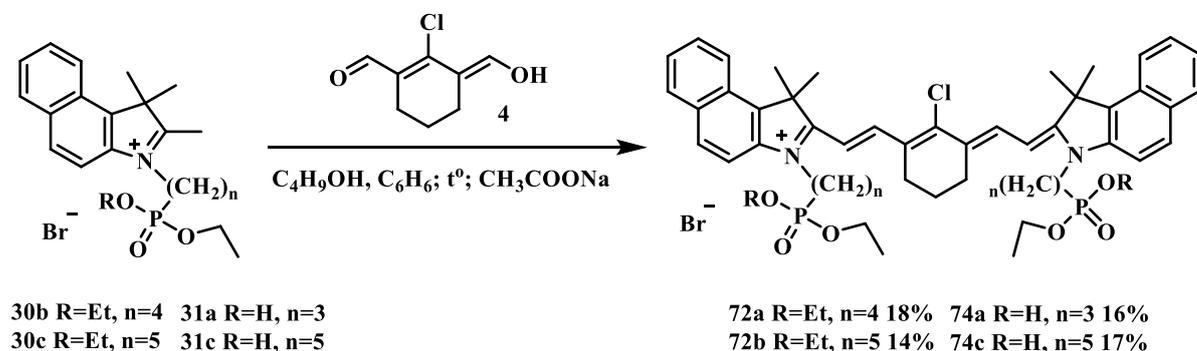
Схема 43



В результате использования в качестве карбонильной компоненты диальдегида **5** удается избежать образования продуктов нуклеофильного замещения хлора.

В литературе для конформационно закрепленных трикарбоцианинов приводятся разные варианты условий конденсации: кипячение диальдегида **4** и соответствующих солей в смеси бензол-бутанол [113; 114], либо кипячение в присутствии ацетата натрия в уксусном ангидриде, ДМФА, этаноле [115–117]. Для фосфонатзамещенных красителей **72a,b** **74a,c** наиболее эффективным вариантом является кипячение в смеси бензол-бутанол в присутствии ацетата натрия (Схема 44).

Схема 44



Использование диальдегида **4** позволяет для большинства целевых фосфонатзамещенных карбоцианинов существенно увеличить выход. Процесс выделения в этом случае существенно упрощен: однократная колоночная хроматография на окиси

алюминия. Ход реакции контролировался по электронным спектрам поглощения, по ТСХ и по спектрам ^{31}P реакционных смесей.

Таблица 13. Условия синтеза соединений **72a,b 74a,c**.

№	Карбонильная компонента	R	n	Время	Основание	Растворитель	Выход, %
72a	дианил	Et	4	1 час	Py	-	5
74a	дианил	H	3	2 часа		1, 2 – дихлорбензол	16
74b	дианил	H	4	2 часа			13
74c	дианил	H	5	1,5 часа			5
72a	диальдегид	Et	4	3 часа	CH_3OONa	Бутанол, бензол	18
72b	диальдегид	Et	5				14
74a	диальдегид	H	3				16
74c	диальдегид	H	5				17

В отличие от трикарбоцианинов со свободной полиметиновой цепью, их конформационно закрепленные аналоги с полностью гидролизованными фосфовыми группами выделить из реакционной смеси после гидролиза не удалось.

Эфиры **72a,b**, **74a-c** являются неописанными ранее соединениями и были охарактеризованы всеми необходимыми физико-химическими характеристиками. Сигналы атомов фосфора ^{31}P расположены при: 32.64 м.д. для трикарбоцианина **72a**, 33.22 м.д. для **72b**, 24.16, 26.09 м.д. для **74a**, 23.06 м.д. для **74b** и 25.29, 33.12 м.д. для **74c**.

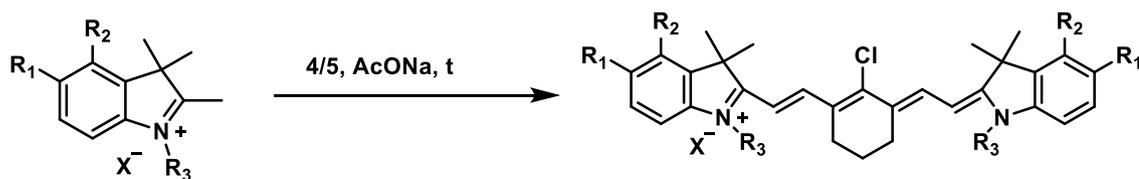
В спектрах ЯМР ^{13}C дублеты атомов углерода $\text{C}\text{H}_2\text{PO}(\text{OEt})(\text{OR})$ групп в соединениях **72a,b**, **74a-c** расположены в области 27.22-28.03 м.д. ($^1J_{\text{CP}} = 136.1-144.1$ Гц).

Характеристичные для этого класса соединений максимумы поглощения лежат в области $\lambda_{\text{abs}} = 815-824$ нм.

В отличие от фосфонатзамещенных трикарбоцианинов красители, содержащие алкильные, алкилсульфонатные, карбоэтоксиалкильные заместители при кватернизированном атоме азота, могут быть получены с хорошими препаративными выходами с использованием как дианила **5**, так и диальдегида **4** в качестве карбонильной компоненты.

На схеме 45 представлен синтез серии трикарбоцианинов **75-80** условия реакции и выходы приведены в таблице 14. Выбор карбонильной компоненты каждом конкретном случае определялся более высоким препаративным выходом.

Схема 45

Таблица 14. Условия синтеза симметричных трикарбоцианинов **75-80** и их выходы.

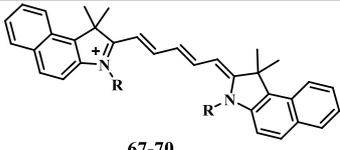
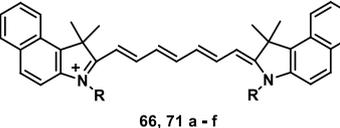
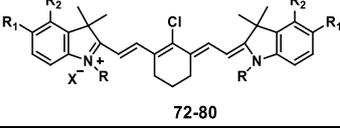
№	R ₁ , R ₂	R ₃	X	Карбонильная компонента	t, °C	Время, ч	Выход, %	Лит.
75	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	5	70	2.5	76	[93]
76	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	5	50	6	59	[118]
77	H	(CH ₂) ₄ COOEt	I	4	70	2.5	71	-
78	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ COOEt	I	4	95*	4.5	60	-
79	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	4	50	3	49	[75]
80	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	5	65	3.5	68	[119]

*Реакцию проводили в 1,2-дихлорбензоле

Оптимальным растворителем для синтеза большинства симметричных конформационно закрепленных трикарбоцианинов является этанол при температуре реакции 50-70°C. Для соединения **78** такая температура является недостаточной, поэтому вместо этанола использовали 1,2-дихлорбензол при температуре 95°C, что увеличило выход с 5% до 60%. Все целевые продукты очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле.

Описанные в литературе карбоцианины **66**, **75**, **76**, **79**, **80** были охарактеризованы спектрами ЯМР ¹H, а структура неописанных ранее соединений **67-74**, **77**, **78** была подтверждена необходимым набором физико-химических методов. Ключевые сигналы ЯМР ¹H и ¹³C представлены в таблице 15.

Таблица 15. Данные ЯМР ^1H и ^{13}C симметричных красителей 66-80.

Структура	^1H (δ , м.д.)		^{13}C (δ , м.д.)
	$\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{X}$	$=\text{CH}$	$\text{N}^+=\text{C}$
 <p>67-70</p>	4.15-4.26 (т, $^3J_{\text{HH}} = 6.4-6.8$ Гц)	6.24-6.74 ($^3J_{\text{HH}} = 12.1-13.9$ Гц), 8.47-8.57 ($^3J_{\text{HH}} = 12.7-13.3$ Гц)	174.05-178.07
 <p>66, 71 a-f</p>	4.15-5.12 (т, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Гц)	6.12-7.02 м, 7.20-8.32 м	168.53-189.50
 <p>72-80</p>	4.18-4.52 (т, $^3J_{\text{HH}} = 6.6-7.3$ Гц)	6.22-7.12 ($^3J_{\text{HH}} = 14.10-14.3$ Гц), 7.43-8.55 ($^3J_{\text{HH}} = 14.1-14.3$ Гц)	169.28-176.57

3.1.5 Модификация трикарбоцианинов по мезо-положению

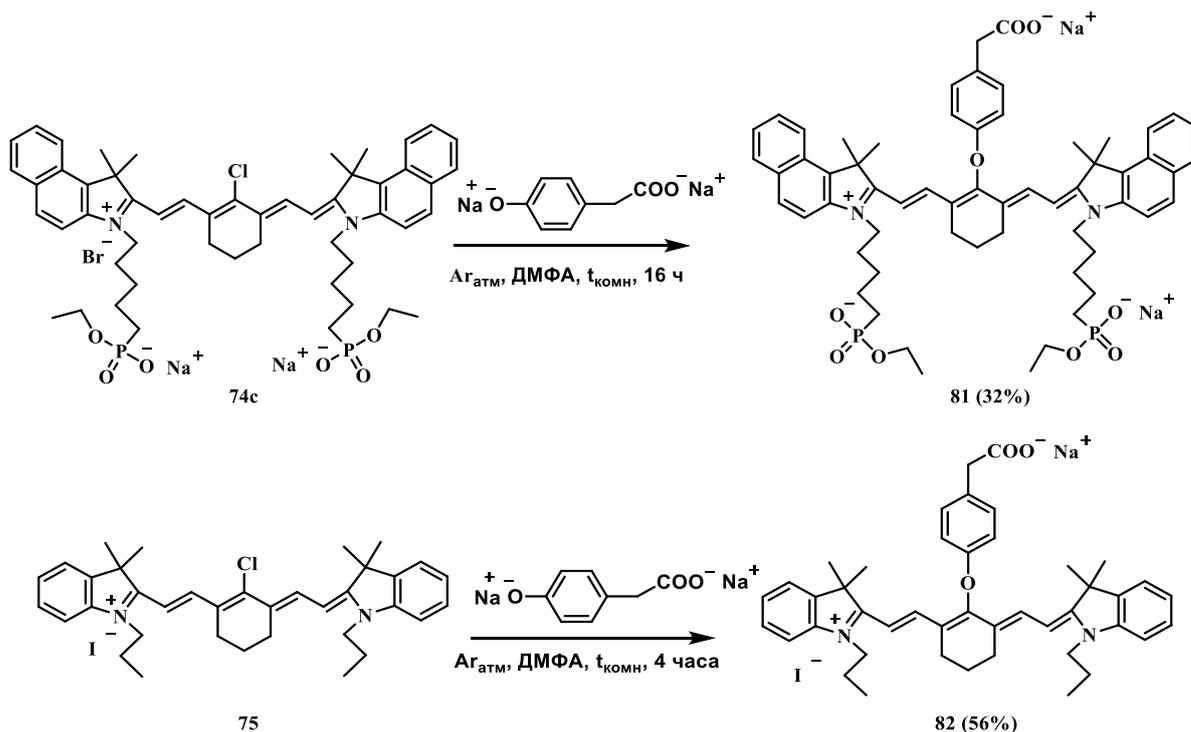
Еще одним удобным центром модификации конформационно закрепленных трикарбоцианинов является мезо-положение полиметиновой цепи. Вместо атома хлора в мезо-положение могут быть введены нуклеофилы разной природы. Такая модификация актуальна в случае необходимости дальнейшей функционализации красителя с целью создания ковалентных конъюгатов за счет образования пептидной связи, либо осуществления клик-реакции.

3.1.5.1 Введение О-нуклеофила по мезо-положению

Все известные варианты введения О-нуклеофилов в мезо-положение трикарбоцианинов связаны с использованием в качестве нуклеофила соответствующего замещенного фенолята [120]. Использование в этих реакциях алкоголятов невозможно, поскольку приводит к большому количеству побочных процессов. В настоящем исследовании синтезированные конформационно закрепленные флуорофоры **74с**, **75**, **79** были модифицированы по мезо-положению производными *n*-гидроксифенилуксусной и парагидроксibenзойной кислот.

Синтез неописанных ранее соединений **81** и **82** был осуществлён с выходом 32% и 56%, соответственно (Схема 46).

Схема 46



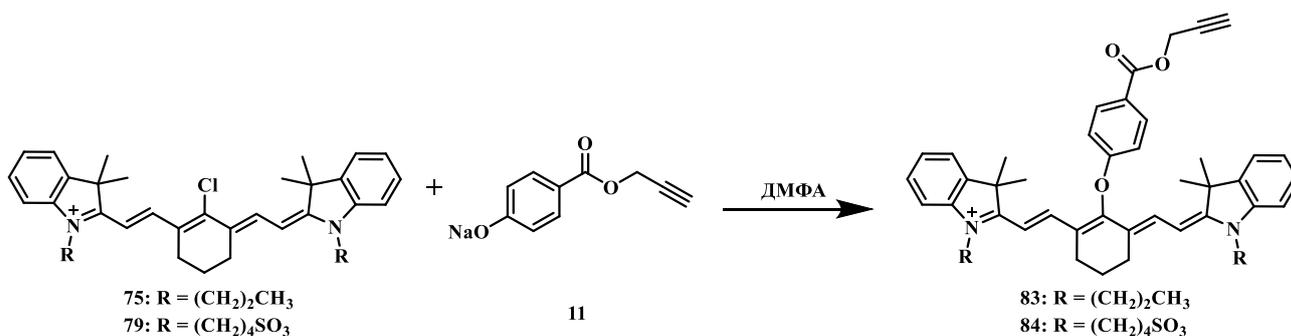
Для выделения и очистки соединения **81** понадобилось только последовательное двукратное переосаждением из ДМФА смесью гексана и диэтилового эфира и из метанола диэтиловым эфиром. В то время как для соединения **82** выделение и очистка проходила с последующей колоночной хроматографией на силикагеле в смеси элюентов $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$.

Сигналы атома фосфора в спектре ЯМР ^{31}P соединения **81** расположены при 33.19 и 25.81 м.д. (CD_3OD). В спектре ЯМР ^{13}C соединения **81** сигнал при атоме фосфора CH_2P группы представлен в виде дублета при 27.45 м.д. ($^1J_{\text{CP}} = 107.6$ Гц).

Максимумы поглощения полученных красителей в метаноле наблюдали при 765 нм для **82** и 810 нм для **81**.

Пропаргиловый эфир *n*-гидроксibenзойной кислоты **11** использовали в дальнейшей модификации красителей **75**, **79** по мезо-положению в виде фенолята (Схема 47).

Схема 47



Оптимальными условиями для синтеза красителя **84** оказалось нагревание соединения **79** с фенолятом **11** при 50°C в течение 3 часов. Для наилучшего выхода красителя **83** требовалось перемешивание соединения **75** с фенолятом **11** при комнатной температуре в течение суток. Однако, даже многократное варьирование условий реакции не позволило добиться полной конверсии исходных красителей, поэтому вещества **83**, **84** были выделены в смеси с исходными красителями **75** и **79**. Дальнейшее многократное хроматографирование существенно снижает выход модифицированных красителей **83**, **84** целевых соединений и при этом приводит лишь к незначительному обогащению смеси целевыми соединениями. Выход соединений **83** и **84** был оценен с помощью ЯМР спектроскопии выделенных смесей и составил 5% и 31%, соответственно.

Однако примесь исходных карбоцианинов не препятствует дальнейшему использованию этих смесей в клик-реакциях, поскольку соединения **75** и **79** не содержат в своей структуре концевой тройной связи. Поэтому использование смеси исходного и целевого продукта в клик-реакции без процедуры многократного хроматографирования, приводящей к большим потерям вещества, может быть вполне оправдано.

Строение модифицированных О-нуклеофилами конформационно-закрепленных трикарбоцианинов **81-84** подтверждено данными ИК, ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{31}P спектроскопии, а состав – масс-спектрометрией высокого разрешения. В спектрах ^1H , ^{13}C все ключевые сигналы, принадлежащие материнскому красителю, находятся в той же области.

3.1.5.2 Введение N-нуклеофила по мезо-положению¹

В литературе описан еще один удобный способ введения карбоксилсодержащих заместителей по мезо-положению с использованием N-нуклеофила, например, ω -аминокислот [120]. В рамках данного исследования мы синтезировали ряд симметричных и несимметричных красителей **85-92**, модифицированных по мезо-положению β -аланином или γ -аминомасляной кислотой и содержащих при кватернизованных атомах азота заместители разной природы, для установления влияния общего заряда молекулы и комбинации липофильных и гидрофильных групп на эффективность проникновения красителя через мембрану клетки (Схема 48, Таблица 16) [121]. Введение аминогруппы, как мезомерного донора в мезоположение полиметиновой цепи приводит к существенному гипсохромному сдвигу основной полосы поглощения (из области 780-825 нм в область 625-660 нм), что позволяет надежно контролировать

¹ Данная часть работы была выполнена в рамках дипломной работы К.Г. Аминуллы под руководством Т.А. Подругиной и И.А. Дорошенко

конверсию карбоцианинового красителя по изменению электронного спектра поглощения реакционной смеси.

Схема 48

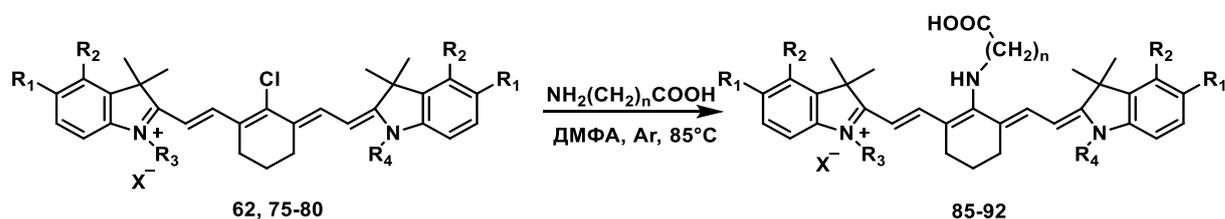


Таблица 16. Время реакции и выходы для соединений **85-92**.

№	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	X	n	Время, ч	Выход, %
85	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	2	2.5	21
86	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	2	12	47
87	H	(CH ₂) ₄ COOEt	(CH ₂) ₄ COOEt	I	2	12	19
88	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ COOEt	(CH ₂) ₄ COOEt	I	2	17	35
89	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	2	30	40
90	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	2	20	23
91	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ COOEt	-	2	22	41
92	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	3	10	35

При хроматографической очистке для каждого из соединений данной серии были подобраны метод и условия разделения, с использованием как препаративной, так и колоночной хроматографии.

Строение модифицированных аминокислотами конформационно закрепленных трикарбоцианинов **87-92** (из них только **89** и **92** являются соединениями, описанными в литературе) подтверждено данными ИК, ЯМР ¹H, ¹³C спектроскопии, а состав – масс-спектрометрией высокого разрешения. В спектрах ЯМР ¹H сигнал метиленовой группы при кватернизованном атоме азота сдвигается с 4.18 - 4.52 м.д. в более слабое поле (3.74 - 4.09 м.д.), все остальные ключевые сигналы находятся в той же области, что у исходных красителей.

На основе трикарбоцианина **89** был получен ряд конъюгатов с нефункциональными пептидами **93-96** (Схема 49, Таблица 17). Все соединения были получены в one-pot процессе при активации карбоксильной группы N-гидроксисукцинимидом с последующим добавлением пептида в присутствии триэтиламина. За счет наличия двух сульфатных групп конъюгаты **93-96** имеют суммарный отрицательный заряд молекулы.

Схема 49

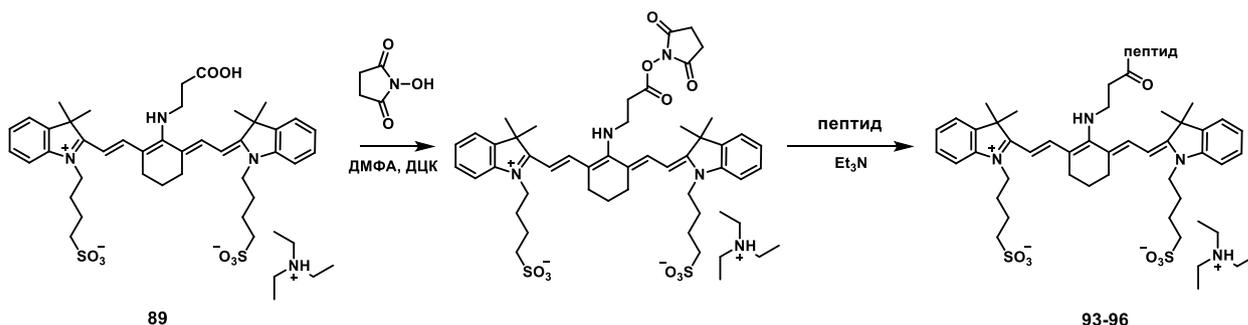
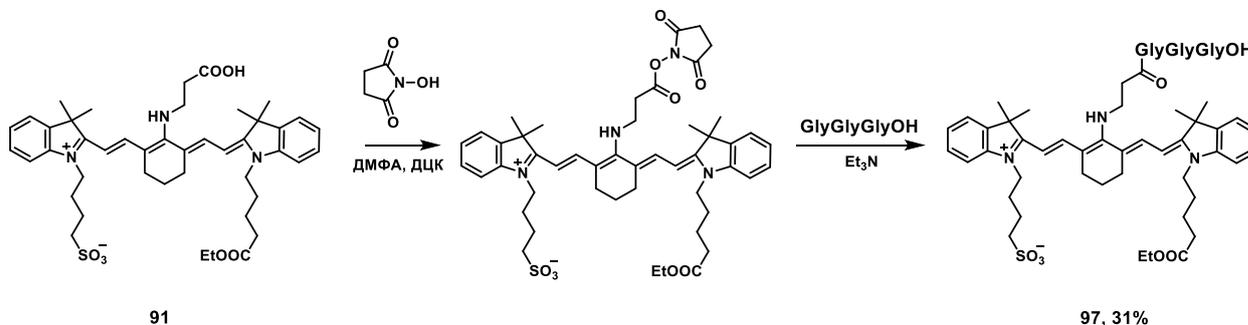


Таблица 17. Выходы соединений **93-96**.

№	пептид	Выход, %
93	GlyGlyGlyOAd	35
94	GlyGlyGlyOH	15
95	GlySarGlyGlyGlyOAd	33
96	GlyGlySarGlyGlyNH ₂	34

По той же методике из несимметричного красителя **91** был синтезирован еще один новый конъюгат **97** с компенсированным зарядом флуорофора за счет наличия одной сульфатной группы, с выходом 31% (Схема 50).

Схема 50



Очистка всех соединений **93-97** выполнялась методом колоночной хроматографии и в каждом конкретном случае условия хроматографирования подбирались индивидуально для каждого конъюгата. Конъюгаты **93** и **95** были получены в результате взаимодействия карбоцианина **89** со смесью трипептида GlyGlyGlyOAd и пентапептида GlySarGlyGlyGlyOAd. В результате хроматографического разделения реакционной смеси были получены конъюгаты **93** и **95** в индивидуальном виде. Этот путь оказался более эффективным, чем разделение самих пептидов на стадии их получения.

Строение конъюгатов **93-97** подтверждено данными ЯМР ¹H, ¹³C спектроскопии, а состав – масс-спектроскопией высокого разрешения.

3.2 Спектрально-кинетические свойства карбоцианинов

Основными параметрами, описывающими фотофизические свойства карбоцианинов являются значения максимумов поглощения и флуоресценции, коэффициент экстинкции, Стоксов сдвиг, квантовый выход и время жизни флуоресценции. Сумма этих параметров и определяет направление использования флуорофора для решения тех или иных задач.

Все структурные типы карбоцианинов, синтезированные в данном исследовании, были охарактеризованы основными спектрально-кинетическими параметрами.

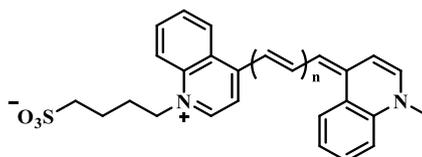
Основные количественные характеристики, описывающие фотофизические свойства карбоцианинов вычисляются с использованием электронных спектров поглощения и флуоресценции. Стоксов сдвиг вычисляется как разница между максимумами спектров поглощения и флуоресценции.

$$\frac{10^7}{\lambda_{abs}} - \frac{10^7}{\lambda_{fl}} = \Delta\lambda$$

На положение максимума поглощения и, соответственно, максимума флуоресценции карбоцианина влияет тип периферийных гетероциклических систем, длина сопряженной системы и природа заместителей в полиметиновой цепи. Заместители при атомах азота и в ароматической системе существенно не влияют на положение максимумов поглощения и флуоресценции. Несомненным преимуществом карбоцианинов является то, что они обладают одним из самых высоких среди органических красителей коэффициентом экстинкции, практически не зависящим от типа гетероциклической системы и длины полиметиновой цепи (10^4 - 10^5 л*моль⁻¹ * см⁻¹), что позволяет применять их в очень низких концентрациях.

Природа периферийного гетероцикла достаточно существенно влияет на область поглощения и флуоресценции карбоцианинов. Три- и пентаметиновые карбоцианины **50** и **51** на основе 4-метилхинолина, представленные на схеме 51 имеют максимумы поглощения при 705 и 814 нм, соответственно.

Схема 51



50 n=1 $\lambda_{abs} = 705$ нм, $\lambda_{fl} = 734$ нм, стоксов сдвиг 560 см⁻¹

51 n=2 $\lambda_{abs} = 814$ нм, $\lambda_{fl} = 839$ нм, стоксов сдвиг 366 см⁻¹

Максимумы поглощения триметиновых и пентаметиновых карбоцианинов на основе бензоиндоленина и индоленина расположены в более коротковолновой области спектра, по сравнению с хинолиновыми аналогами (Схема 52, Таблица 18).

Схема 52

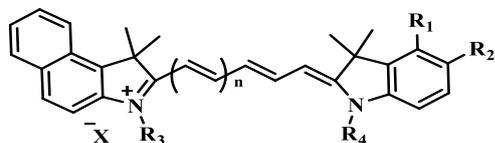


Таблица 18. Максимум поглощения и флуоресценции карбоцианинов 52-55, 68, 69 в этаноле.

№	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	n	λ _{abs} , нм	λ _{fl} , нм	Стоксов сдвиг, см ⁻¹
52	R ₃ =H, R ₄ =COOH	CH ₃	CH ₃	0	585	601	455
53	R ₃ =H, R ₄ =COOH	CH ₃	CH ₃	1	660	690	659
54	R ₃ =H, R ₄ =COOH	(CH ₂) ₅ CH ₃	CH ₃	1	663	695	694
55	R ₃ =H, R ₄ =COOH	(CH ₂) ₁₀ COOH	CH ₃	1	663	688	548
68	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₁₀ COOH	(CH ₂) ₁₀ COOH	1	684	730	921
69	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₅ CH ₃	(CH ₂) ₅ CH ₃	1	680	720	817

Увеличение цепи сопряжения на один виниленовый фрагмент приводит к bathochromному сдвигу максимума поглощения на 75-100 нм, а введение в гетероциклический фрагмент дополнительного конденсированного бензольного кольца сдвигает максимум поглощения в длинноволновую область только на 15-25 нм.

Для исследований в области медицины наиболее подходящими структурами являются гептаметиновые красители, поскольку они имеют максимум поглощения в более длинноволновой области, так называемое «терапевтическое окно».

До настоящего времени эталоном для сравнения при исследовании гептаметиновых красителей (трикарбоцианинов) является индоцианиновый зеленый (ICG) или «кардиогрин». Он до сих пор является единственным цианиновым красителем, допущенным в клиническую практику. В рамках данного исследования были синтезированы структурные аналоги ICG, содержащие вместо сульфонатных групп фосфонатные **71a,b,d-f**, как в виде диэтиловых эфиров, так и в виде свободных кислотных групп. (Схема 53, Таблица 19). Несмотря на то, что хромофорная система в карбоцианинах **71a,b,d-f** полностью идентична структуре ICG, мы наблюдаем небольшой гипсохромный сдвиг максимума поглощения на 10 нм при том же значении максимума флуоресценции, что в свою очередь привело к увеличению Стоксова сдвига в полтора раза, а коэффициента

экстинкции в два (1.2×10^5 для ICG и 2.7×10^5 для фосфонатных аналогов). Возможно это связано с разной способностью данных соединений к агрегации в растворе.

Схема 53

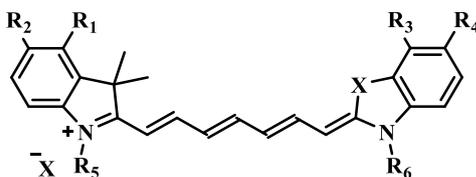


Таблица 19. Фотофизические свойства карбоцианинов **66**, **71a-f**, **57-60** в метаноле.

№	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄	X	R ₅	R ₆	λ _{abs} , нм	λ _{fl} , нм	Стоксов сдвиг, см ⁻¹
ICG (66)	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	C(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	794	808	218
71a-b	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	C(CH ₃) ₂	(CH ₂) _n P(O)(OEt) ₂		785	805	317
71d-e	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	C(CH ₃) ₂	(CH ₂) _n P(O)(OH) ₂		785	805	317
71f	(-CH=CH-) ₂	(-CH=CH-) ₂	C(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₅ P(O)(OEt)(OH)		785	805	317
57	H	H	S	(CH ₂) ₂ CH ₃	CH ₂ C≡CH	750	788	519
58	(-CH=CH-) ₂	H	S	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	CH ₂ C≡CH	775	807	469
59	(-CH=CH-) ₂	H	S	(CH ₂) ₅ CH ₃	CH ₂ C≡CH	775	807	468
60	(-CH=CH-) ₂	H	S	(CH ₂) ₄ COOH	CH ₂ C≡CH	780	807	429

Замена одного индолининового гетероцикла на бензотиазольный в гептаметиновых красителях дает лишь незначительный (на 10 нм) гипсохромный сдвиг, что является характерной областью поглощения для трикарбоцианинов (Схема 53, Таблица 19). При этом природа заместителей при четвертичном атоме азота гетероцикла не оказывает существенного влияния на смещение максимума поглощения. Коэффициенты экстинкции для всех флуорофоров **57-60** достаточно высокие и имеют одинаковый порядок - 10^5 . Максимум флуоресценции для полученной серии красителей находится в области 788-807 нм, что обеспечивает, в свою очередь и увеличение Стоксова сдвига.

Введение циклогексенового кольца в полиметиновую цепь увеличивает жесткость гептаметиновых красителей, что приводит к улучшению ключевых параметров, таких как фотостабильность, квантовый выход и время жизни флуоресценции. Это делает конформационно закрепленные флуорофоры более перспективными для дальнейшего использования. Фотофизические параметры симметричных и несимметричных конформационно закрепленных структур **80**, **72a,b**, **63-65** (Схема 54) представлены в таблице 20. Для этих соединений характерен батохромный сдвиг максимума поглощения по сравнению с трикарбоцианинами с незамещенной полиметиновой цепью, что обусловлено наличием электроотрицательного атома хлора в цепи сопряжения.

Схема 54

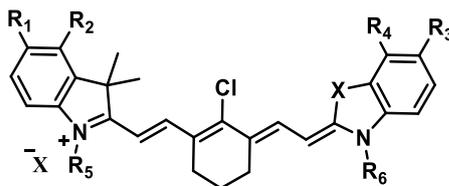


Таблица 20. Максимум поглощения и флуоресценции карбоцианинов **80**, **72a,b**, **63-65** в метаноле.

№	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄	X	R ₅	R ₆	λ _{abs} нм	λ _{fl} , нм	Стоксов сдвиг, см ⁻¹
80*	(-CH=CH-)₂	(-CH=CH-)₂	C(CH₃)₂	(CH₂)₄SO₃ ⁻	(CH₂)₄SO₃ ⁻	818	850	460
72a,b	(-CH=CH-)₂	(-CH=CH-)₂	C(CH₃)₂	(CH₂) _n P(O)(OEt)₂	(CH₂) _n P(O)(OEt)₂	819	835	233
63	(-CH=CH-)₂	(-CH=CH-)₂	C(CH₃)₂	(CH₂)₄SO₃ ⁻	(CH₂)₅P(O)(OH)(OEt)	818	835	233
64**	(-CH=CH-)₂	R ₃ =H, R ₄ =COOH	C(CH₃)₂	(CH₂)₄SO₃ ⁻	CH₃	790	830	610
65**	H	H	S	(CH₂)₄SO₃ ⁻	CH₂C=CH	790	812	343

*В роли модельного соединения для сравнения в данном случае выступал коммерчески доступный **IR-820** [119]

**значения для этих соединений измерены в этаноле

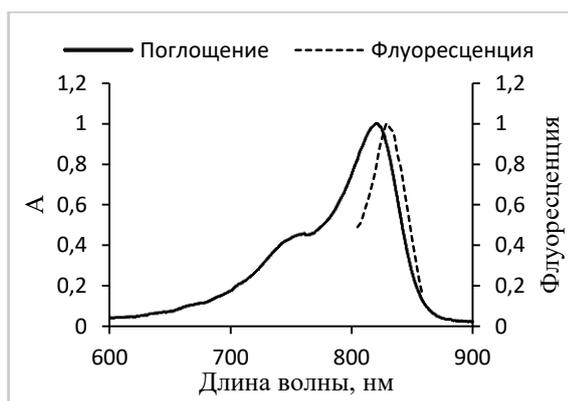


Рисунок 2. Нормированные спектры поглощения и флуоресценции соединений **80**, **72a,b**, **63-65** в метаноле.

Заместители в мезоположении конформационно замещенных трикарбоцианинов влияют на фотофизические свойства последних. Природа гетероатома в мезо-положении, определяет величину и направление смещения максимума поглощения карбоцианина. Так наличие атома хлора в полиметиновой цепи приводит к существенному батохромному сдвигу максимума поглощения, что мы и наблюдаем у соединений **80**, **72a,b**, **63-65**, однако для фосфонатзамещенных производных **72a,b** значение максимума флуоресценции смещено в более коротковолновую область, по сравнению с сульфонатным аналогом **80** и, как следствие, значение Стоксова сдвига меньше, чем у остальных закрепленных трикарбоцианинов. При введении О-нуклеофила (соединение **81**, **82**) наблюдается незначительное смещение максимума поглощения в коротковолновую область по сравнению с мезохлорзамещенным производным (схема 55, таблица 21). В то время как

введение аминогруппы в мезо-положение приводит к сильному гипсохромному сдвигу, что находится в соответствии с литературными данными для других типов конформационно закрепленных трикарбоцианинов [122; 123]. При этом не наблюдается колебательной структуры основной полосы поглощения в силу специфической сольватации полиметиновой цепи. В растворе метанола все красители в пределах исследованных концентраций (менее 5×10^{-6} М) находятся в молекулярной форме и не образуют ассоциатов.

Схема 55

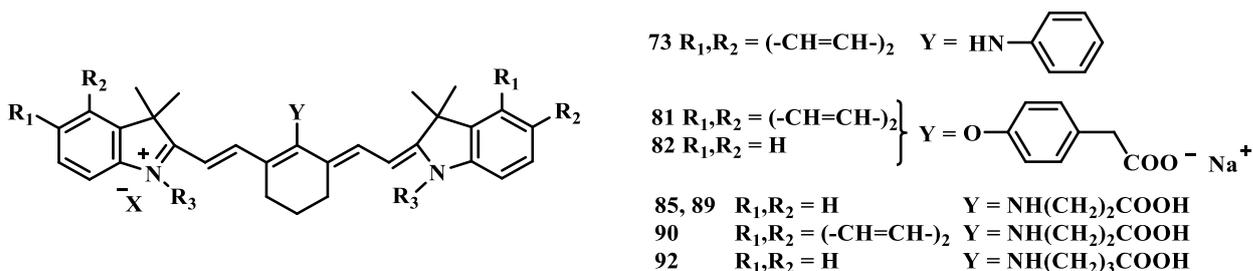


Таблица 21. Максимумы спектров поглощения (λ_{abs}) и флуоресценции (λ_{fl}) и Стоксов сдвиг красителей **73**, **81**, **82**, **89**, **90** и **92**.

№ соединения	R_3	λ_{abs} , нм	λ_{fl} , нм	Стоксов сдвиг, см^{-1}
73	$(\text{CH}_2)_4\text{P}(\text{O})(\text{OEt})_2$	782	815	518
81	$(\text{CH}_2)_5\text{P}(\text{O})(\text{OEt})(\text{O}^-)\text{Na}^+$	808	818	151
82	$(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	767	783	266
85	$(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	658	760	2039
89	$(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$	629	743	2439
90	$(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$	624	741	2530
92	$(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$	638	760	2516

Введение по мезо-положению аминогруппы, связанной с ароматическим кольцом (соединение **73**), смещает максимумы флуоресценции и поглощения на 20 нм и 37 нм, соответственно, что приводит к увеличению Стоксова сдвига на 285 см^{-1} (Рисунок 3).

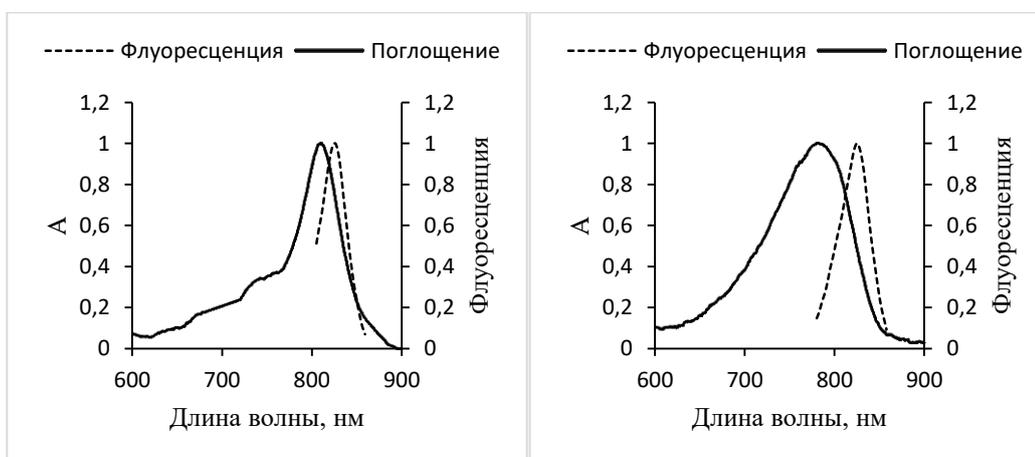


Рисунок 3. Нормированные спектры поглощения и флуоресценции соединений **81** (слева) и **73** (справа) в метаноле.

Красители, модифицированные β -аланином и γ -аминомасляной (**85, 89, 90, 92**) имеют максимум поглощения в диапазоне 625 - 660 нм. Введение алифатической аминогруппы значительно больше смещает максимум поглощения в коротковолновую область на 160 - 194 нм, что приводит к увеличению Стоксова сдвига более чем в 5 раз.

Соединения **85, 89, 90, 92** имеют интенсивную флуоресценцию как в спирте (EtOH) (Рисунок 4а), так и в водном растворе PBS (натрий-фосфатный буфер) (Рисунок 4б). Конформационно закрепленные красители, в отличие от гептаметиновых красителей со свободной полиметиновой цепью практически не подвергаются фотоизомеризации. Полярность среды оказывает прямое влияние на флуоресценцию трикарбоцианинов: увеличение полярности растворителя (этанол \rightarrow вода (водный раствор PBS)) приводит к смещению максимума флуоресценции в длинноволновую область.

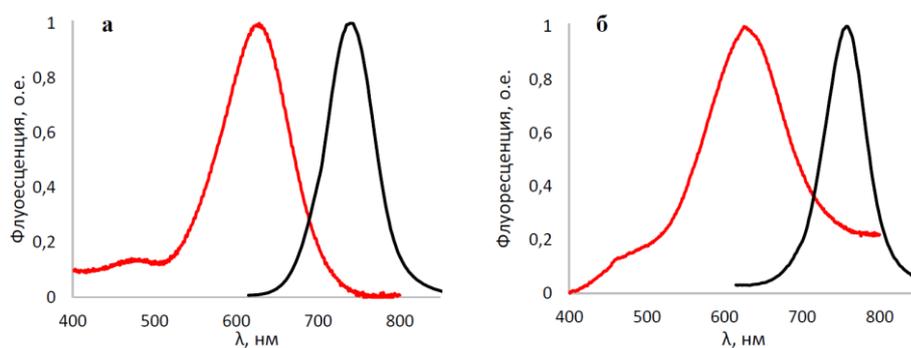


Рисунок 4. Спектры поглощения (красный) и флуоресценции (черный) соединения **91** в этаноле (а) и в растворе натрий-фосфатного буфера (б).

У карбоцианинов **89, 90, 92** не меняется профиль спектра поглощения при варьировании полярности растворителя (этанол \rightarrow вода), заместителей и гетероциклических фрагментов, что свидетельствует о том, что в водном растворе образования агрегатов не происходит (Рисунок 5).

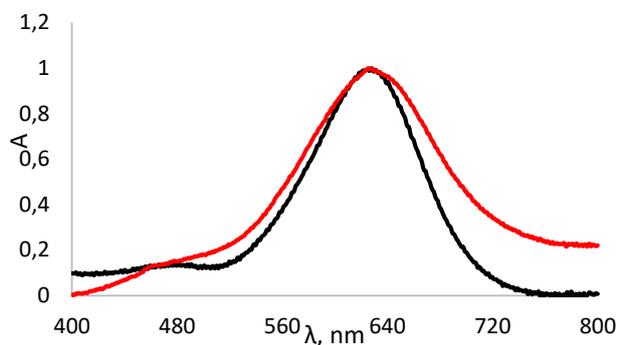


Рисунок 5. Нормированные спектры поглощения красителей **89, 90, 92** в этаноле (черный) и в PBS (красный).

Карбоцианины, которые используются для визуализации, должны обладать приемлемым квантовым выходом флуоресценции и хорошим Стоксовым сдвигом. На сегодняшний день коммерчески доступные красители обладают квантовым выходом 0.001-

0.078 (в метиловом спирте) и этих значений уже достаточно для их использования в качестве эффективных флуорофоров [119; 120; 124; 125]. Однако прямой корреляции между этими двумя параметрами до сих пор не выявлено.

Физико-химические исследования выполнены в ИБХФ РАН им. Н.М. Эмануэля.²

Синтезированные в настоящем исследовании карбоцианины имеют значения квантовых выходов флуоресценции и Стоксова сдвига в тех же пределах. Например, наиболее высокий квантовый выход флуоресценции (0.052) имеет симметричный конформационно закрепленный флуорофор, замещенный β -аланином по мезо-положению **85**, а самый большой Стоксов сдвиг у карбоцианина **92**, который отличается от флуорофора **85** длиной углеводородного линкера аминокислоты на одну CH_2 - группу (γ -аминомасляная кислота) и заместителями при кватернизированных атомах азота (Таблица 22).

Таблица 22. Значения квантовых выходов флуоресценции для ряда синтезированных карбоцианинов разных структурных типов.

№	λ , нм	Стоксов сдвиг, см^{-1}	Φ_f
53	690	659	0.021
54	695	694	0.009
55	688	548	0.018
68	730	921	0.011
69	720	817	0.006
80	850	460	0.044
72a-b	835	233	0.010
73	815	518	0.040
81	818	151	0.020
85	760	2039	0.052
89	743	2439	0.049
92	760	2516	0.036

Квантовые выходы флуоресценции для пентаметиновых красителей были определены по отношению к фталоцианину цинка (II) при возбуждении 660–700 нм в этаноле. Для гептаметиновых красителей и трикарбоцианиновых красителей, замещенных O-нуклеофилами, возбуждение осуществлялось при 760 нм, в качестве стандарта был использован раствор ICG. Для трикарбоцианинов замещенных по мезо-положению ω -аминокислотами и анилином (**73**, **85**, **89**, **90**, **92**) квантовые выходы флуоресценции определялись по отношению к коммерчески доступному красителю (дитиазанин) при возбуждении 647 нм в этаноле. Оптическая плотность была 0.1. Квантовый выход флуоресценции вычислялся при сравнении площадей скорректированных спектров флуоресценции.

² Работа выполнялась совместно с д.х.н., проф. В.А. Кузьминым.

Время жизни флуоресценции – это среднее время, когда молекула находится в состоянии возбуждения. В большинстве случаев этот параметр составляет от 0.1 до 2 наносекунд [126]. Значение времени жизни флуоресценции зависит от жесткости структуры в возбужденном состоянии, полярности, pH, температуры и вязкости среды.

На данный момент установить корреляцию между вязкостью растворителей и временем жизни флуоресценции карбоцианинов не удастся. Также на время жизни влияет полярность растворителей.

Спектры флуоресценции позволяют определить чистоту целевого флуорофора с более высокой точностью, чем ЯМР-спектры, поскольку этот метод является более чувствительным к флуоресцирующим примесям, содержащимся даже в следовых количествах. Стоит отметить, что в исследуемых соединениях мы не наблюдаем примеси других флуорофоров.

В данной работе было измерено время жизни флуоресценции для трикарбоцианиновых красителей разной структуры.

Для трикарбоцианинов со свободной полиметиновой цепью – структурных аналогов ICG, содержащих гидрофильные фосфонатные группы при кватренизированном атоме азота **66**, **71b** и **71d**, значения времени жизни флуоресценции обобщены в таблице 23 (Схема 56) [127].

Схема 56

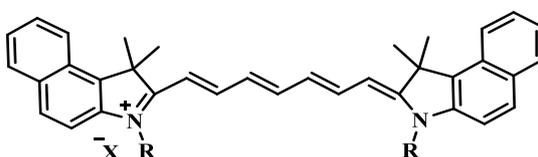


Таблица 23. Максимум поглощения и время жизни флуоресценции карбоцианинов **66**, **71b** и **71d** в этаноле и водном растворе PBS.

№	R	Растворитель	$\lambda_{\text{п}}$, нм	τ_{f} (I), нс (A, %)
ICG (66)	$(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$	EtOH	808	0.19 ± 20 (100)
71b	$(\text{CH}_2)_4\text{P}(\text{O})(\text{OEt})_2$	EtOH	810	0.59 ± 20 (100)
		PBS	800	0.20 ± 30 (100)
71d	$(\text{CH}_2)_4\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$	EtOH	810	0.59 ± 20 (100)
		PBS	800	0.24 ± 30 (100)

Замена сульфатной группы на фосфонатную привело к существенному увеличению времени жизни флуоресценции, что можно объяснить менее выраженными процессами агрегации для фосфонатных аналогов.

На примере соединений **57-60**, **65** было показано (Схема 57, Таблица 24), что наибольшее время жизни флуоресценции наблюдается для красителя **57** – практически в два раза больше, чем его бензоаналогов **58**, **59**, **60**, что свидетельствует об уменьшении

времени жизни флуоресценции при введении дополнительного конденсированного ароматического кольца в гетероцикл. К такому же снижению времени жизни флуоресценции приводит одновременная замена в соединении **57** гидрофобного алкильного заместителя на гидрофильный алкилсульфонатный и создание конформационно закрепленного полиметинового фрагмента.

Схема 57

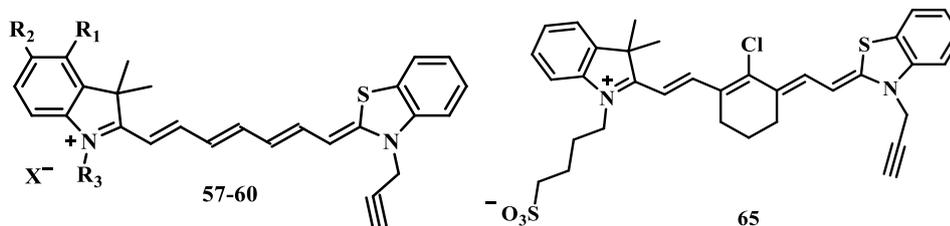
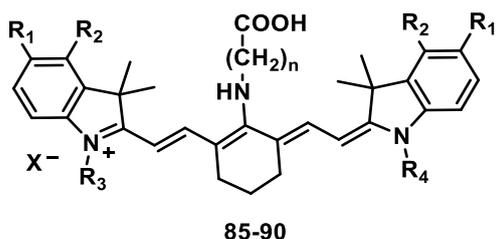


Таблица 24. Время жизни трикарбоцианинов **57-60** и **65** в метаноле.

№	R ₁ , R ₂	R ₃	X	λ _{fl} , нм	τ _i (I), нс(A, %)
57	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	788	1.11 (100)
58	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	807	0.59 (100)
59	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₅ CH ₃	I	807	0.64 (100)
60	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ COOH	Br	807	0.57 (100)
65	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	812	0.66 (100)

Время жизни флуоресценции карбоцианинов **85-90** в этиловом спирте, как минимум, на 0.5 нс больше значений в водном растворе PBS (Таблица 25). То есть, снижение полярности растворителя приводит к повышению времени жизни флуоресценции, что согласуется с литературными данными [128].

Схема 58



- 85**, n = 2, R₁ = R₂ = H, R₃ = R₄ = (CH₂)₂CH₃
86, n = 2, R₁ = R₂ = (-CH=CH-)₂, R₃ = R₄ = (CH₂)₂CH₃
87, n = 2, R₁ = R₂ = H, R₃ = R₄ = (CH₂)₄COOEt
88, n = 2, R₁ = R₂ = (-CH=CH-)₂, R₃ = R₄ = (CH₂)₄COOEt
89, n = 2, R₁ = R₂ = H, R₃ = R₄ = (CH₂)₄SO₃⁻
90, n = 2, R₁ = R₂ = (-CH=CH-)₂, R₃ = R₄ = (CH₂)₄SO₃⁻

Таблица 25. Время жизни флуоресценции красителей 85-90.

Краситель	Растворитель	λ_{fl} , нм	τ_1 , ns (A, %)
85	EtOH	760	0.88 (100)
	PBS	760	0.33 (100)
86	EtOH	739	1.10 (100)
	PBS	757	0.28 (100)
87	EtOH	765	0.94 (100)
	PBS	780	0.17 (100)
88	EtOH	765	0.92 (100)
	PBS	785	0.17 (100)
89	EtOH	743	1.18 (100)
	PBS	757	0.31 (100)
90	EtOH	741	1.13 (100)
	PBS	757	0.33 (100)

Другой важной характеристикой флуорофоров является значение квантового выхода триплетного состояния Φ_T . Методом импульсного фотолиза было показано, что при прямом импульсном фотовозбуждении растворов синтезированных красителей в отсутствие кислорода не было зарегистрировано короткоживущего поглощения, которое можно было бы связать с образованием триплетного состояния, что указывает на чрезвычайно малый вклад интеркомбинационной конверсии в процесс деградации энергии возбужденного синглетного состояния. Отсутствие триплет-триплетного поглощения при прямом фотовозбуждении позволяет предположить, что поглощение триплетов менее шумов системы регистрации сигнала поглощения. Это позволило оценить Φ_T синтезированных красителей при прямом фотовозбуждении в полосу поглощения в ближней ИК-области спектра (700-800 нм). Все синтезированные соединения имеют чрезвычайно низкий квантовый выход триплетного состояния $\Phi_T < 10^{-5}$ и не могут сенсibilизировать фотохимические процессы (например, по механизму фотопереноса электрона).

Таким образом, модификация мезо-положения и варьирование заместителей при кватернизованном атоме азота не приводит к увеличению квантового выхода триплетного состояния, что делает представленные в работе флуорофоры перспективными для детектирования биомакромолекул и визуализации клеточных структур.

3.3 Анализ взаимодействия синтезированных красителей с биомакромолекулами

3.3.1 Молекулярный докинг красителей с ЧСА и АФП и анализ их взаимодействий

В настоящее время одним из направлений использования карбоцианиновых красителей в медицинской практике является визуализация кровеносных сосудов

(ангиография). В основе возможности успешного использования карбоцианинов лежит способность их взаимодействия с белками плазмы (бычий сывороточный альбумин (БСА), человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) или альфа-фетопроtein (АФП)), что позволяет получать информацию о более глубоких кровеносных сосудах. АФП – белок, родственник альбумину, что определяет те же закономерности его связывания с карбоцианинами. В опухолевых клетках, в отличие от здоровых, происходит резкое повышение экспрессии рецепторов АФП. За связывание белка с поверхностью раковых клеток отвечает третий домен АФП [129; 130]. Образование комплекса красителя с белком сопровождается увеличением интенсивности флуоресценции за счет стабилизации красителя в комплексе и минимизации процесса деградации энергии возбужденного состояния за счет безызлучательных переходов [101; 131–134].

Эффективная оценка характера взаимодействия карбоцианинов с транспортными белками возможна с помощью молекулярного докинга. В рамках данного исследования был проведен молекулярный докинг синтезированных в работе трикарбоцианинов и их структурных модификаций с базовыми белками: ЧСА, БСА и АФП.³ Расчеты были выполнены в программе AutoDock Vina 1.1.2 [135]. Из банка данных белковых структур PDB ID (4L9Q) была получена кристаллическая структура ЧСА. Структура АФП была сконструирована посредством моделирования по гомологии.

Результаты молекулярного докинга свидетельствуют о том, что для карбоцианинов существует несколько способов связывания с молекулами ЧСА, БСА и АФП. При этом величины оценочной функции, полученные в результате молекулярного докинга, свидетельствуют об общих принципах расположения карбоцианинов в сайтах связывания.

Посредством молекулярного докинга было выяснено, что трикарбоцианины связываются с транспортными белками в широком, умеренно полярном кармане: БСА и ЧСА между субдоменами IIА и IIIА [127], либо между субдоменами IIА и IIВ. Для АФП связывание происходит преимущественно в более широком, чем в альбумине, кармане между субдоменами IIА и IIIА, очевидно, из-за большей его доступности.

На моделях **71b**, **85**, **89**, содержащими в своей структуре как гидрофобные, так и гидрофильные заместители было выполнено сравнительное исследование взаимодействия карбоцианинов с ЧСА, БСА и АФП. На рисунке 6 показано, что один гетероциклический фрагмент ориентирован внутрь кармана, а другой, наоборот, выходит из него. Установлено, что существуют и другие низкоэнергетические типы связывания за счет неспецифических взаимодействий карбоцианинов с альбуминами. Показано, что в гидрофильном сайте белка

³ Молекулярный докинг выполнен совместно с с.н.с. Е.В. Радченко и М.Г. Местергази на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза Химического факультета МГУ.

локализованы комплексы с более коротким временем жизни, которое является средним между величинами в этаноле и воде. Такая картина свидетельствует о высокой вероятности безызлучательной деградации энергии возбуждения. Результаты докинга свидетельствуют о существенном сходстве в оптимальных режимах связывания всех этих соединений в структурах исследуемых белков (Примеры расположения оптимальных конформаций трикарбоцианинов **85-87** и **89, 90** в сайтах связывания в структурах белков приведены на рисунке П1 в приложении).

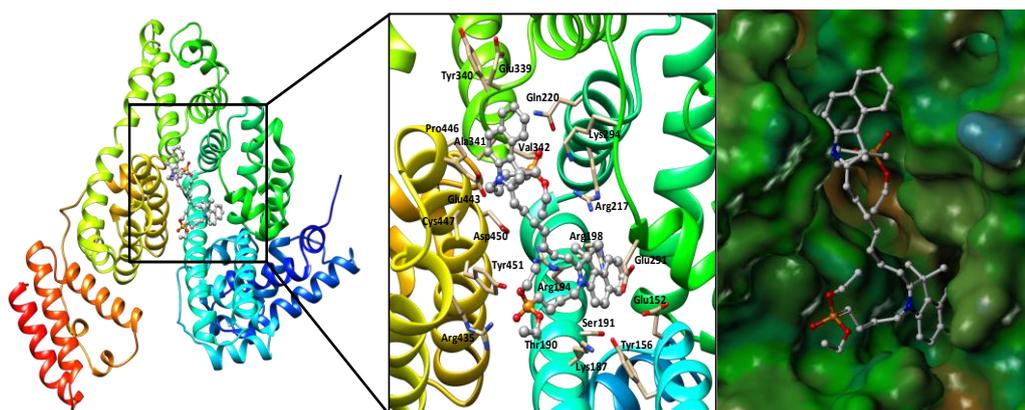


Рисунок 6. Оптимальный сайт связывания красителя **71b** в структуре БСА. Слева – общий вид структуры БСА и положения сайта связывания конформационно закрепленного гептаметинового красителя **71b**. В центре – детализированный вид сайта связывания. Аминокислотные остатки, расположенные в пределах 4 Å от лиганда, представлены бежевыми стержневыми моделями. Справа – вид поверхности кармана связывания соединения **71b**, окрашенной по величине молекулярного липофильного потенциала (MLP), где коричневым обозначены гидрофобные области, а синим – гидрофильные. Молекула лиганда - серая шаро-стержневая модель.

Анализ формы карманов связывания подтверждает, что аминокислотное окружение лигандов в сайтах связывания в основном содержит гидрофобные группы - алкильные и ароматические. Это обусловлено, очевидно, тем, что стерические и гидрофобные взаимодействия являются определяющими при связывании красителя в таком кармане. Этот факт подтверждается также распределением локальной гидрофобности на поверхности (Рисунок 7, 8). (Пример расположения сайта связывания красителя **89** в АФП приведен на рисунке П2 и П3 в приложении).

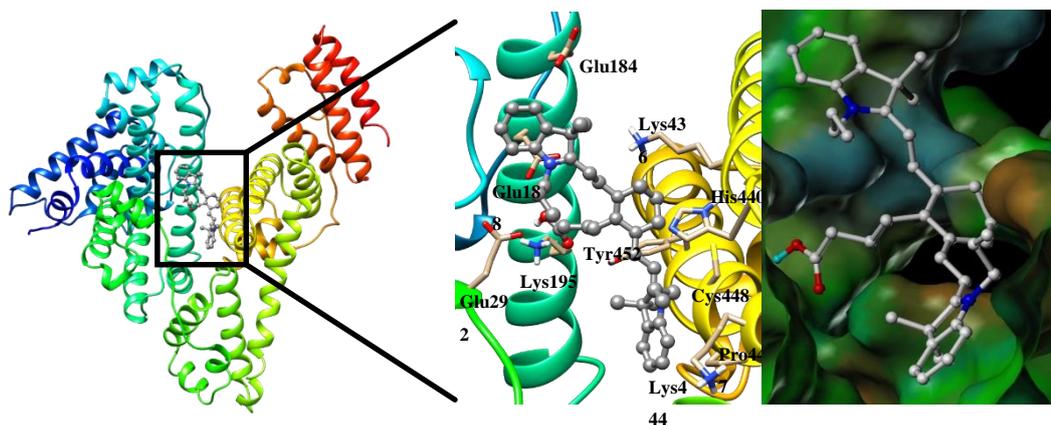


Рисунок 7. Общий вид структуры ЧСА и положения сайта связывания конформационно закрепленного трикарбоцианина **85**.

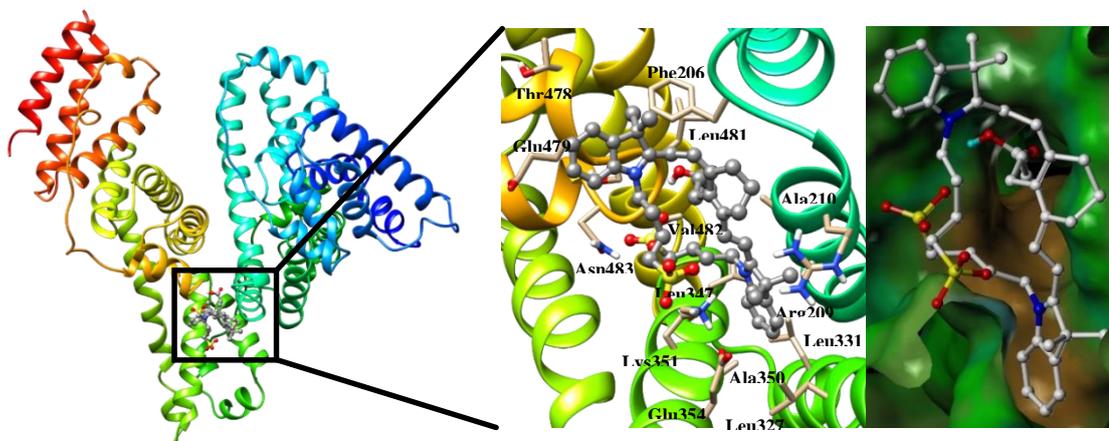


Рисунок 8. Общий вид структуры ЧСА и положения сайта связывания конформационно закрепленного трикарбоцианина **89**.

Несмотря на то, что гидрофильные группы уменьшают степень связывания красителя с белком, исключать такой тип взаимодействия нельзя. Анализируя ближайшее окружение лиганда (Рисунок 8), можно сделать вывод, что гидрофильные сульфонатные и карбоксильные группы окружены гидрофильными аминокислотными остатками (серин, аспаргин, лизин) и направлены к поверхности белка. Взаимодействие между гидрофильными группами белка и красителя осуществляется за счет водородных связей. Так, например, для красителя **89** карбоксильная группа β -аланина связывается с Ser480 (длина связи – 1.9 Å), а алкилсульфонатная группа заместителя при атоме азота с Lys351 (длина связи – 2.16 Å) (Рисунок 9).

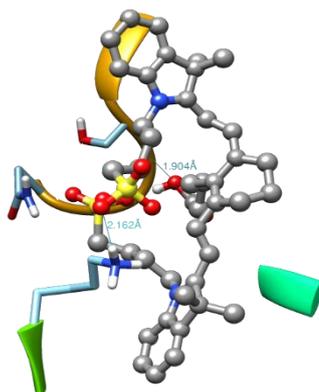


Рисунок 9. Водородные связи гидрофильных групп в структуре красителя **89** с гидрофильными аминокислотами (Ser 480 и Lys351).

3.3.2 Изучение связывания конъюгата цианинового красителя с пентапептидом с ЧСА

Анализ взаимодействия конъюгатов трикарбоцианинов с пептидами с биомакромолекулами транспортных белков проведен на примере конъюгата **96** карбоцианина **89** с модельным нефункциональным пентапептидом.

В результате выполненного докинга было установлено, что взаимодействие конъюгата **96** с альбумином осуществляется в тех же карманах (между субдоменами IIА и IIВ и между субдоменами IIА и IIIА), что и для немодифицированных карбоцианинов. Однако, при связывании конъюгата увеличивается вклад гидрофильных взаимодействий, поскольку при связывании с аминокислотами белка, помимо сульфонатной группы, эффективные водородные связи образует пентапептидная цепочка конъюгата. В этом случае в сайте между субдоменами IIА и IIIА молекула красителя вытянута вдоль кармана, а пентапептид направлен внутрь белка. В тоже время в кармане между субдоменами IIА и IIВ внутрь кармана направлены ароматические фрагменты гетероцикла, а во внешнюю сторону сульфонатная группа и пентапептидный фрагмент (Рисунок 10, 11). Подробные иллюстрации видов поверхностей обоих карманов связывания приведены в приложении (Рисунок 4, 5).

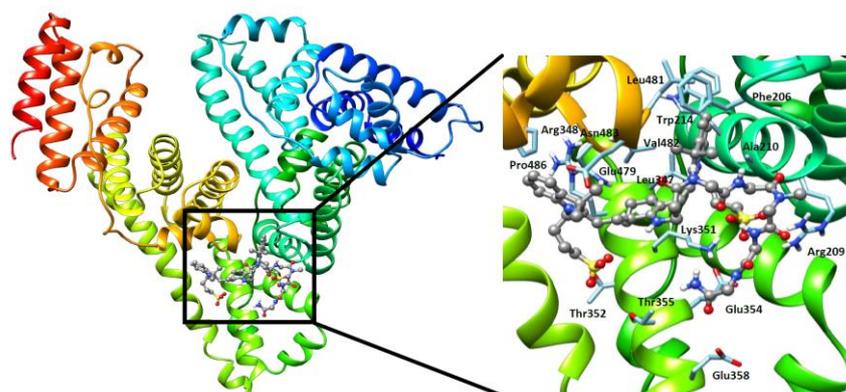


Рисунок 10. Слева – общий вид структуры ЧСА и положения первого сайта связывания конъюгата **96**.

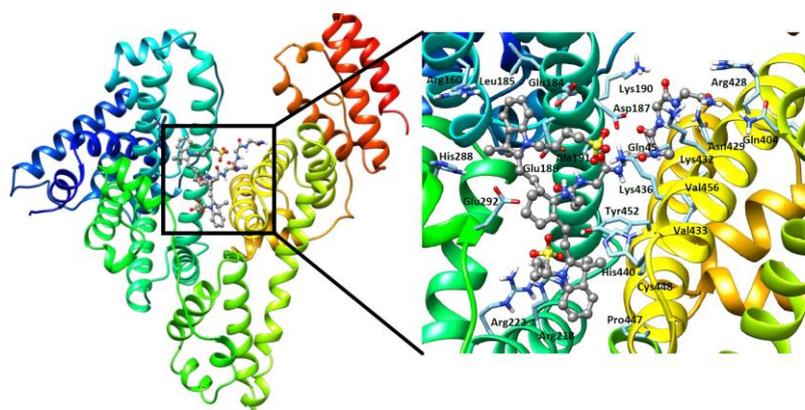


Рисунок 11. Слева – общий вид структуры ЧСА и положение второго сайта связывания конъюгата конформационно закрепленного трикарбоцианина с пентапептидом **96**.

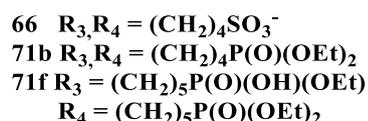
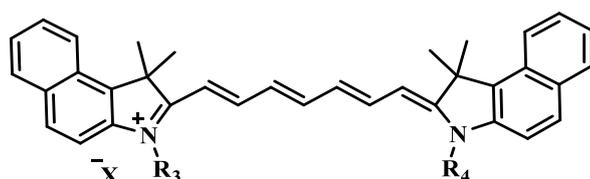
Таким образом, из анализа результатов молекулярного докинга для карбоцианинов и конъюгатов на их основе следует, что они имеют высокое сродство к транспортным белкам (БСА, ЧСА, АФП). Связывание осуществляется в нескольких сайтах, однако для структурно разных красителей характер связывания несколько отличается за счет влияния природы отдельных фрагментов, что свидетельствует о неспецифическом характере их связывания с белками. Основную роль в связывании как самих красителей, так и конъюгатов на их основе с белками играют гидрофобные и стерические взаимодействия. Комбинация заместителей и природа терминальных гетероциклов в карбоцианине определяет итоговую липофильность красителя, а соответственно, и его фармакокинетические свойства. В целом для формулирования надежных закономерностей, отражающих зависимость структура-свойства при прогнозировании взаимодействия карбоцианинов с биомолекулами необходимо проанализировать гораздо большую библиотеку соединений.

3.3.3 Спектрально-кинетические свойства комплексов цианиновых красителей с биомакромолекулами

Для серии трикарбоцианинов разных структурных типов было проведено экспериментальное определение констант связывания с БСА и ЧСА.⁴

Максимумы поглощения для соединений **71b** и **71f** в растворе фосфатного буфера находятся при 785 и 780 нм соответственно (Схема 59).

Схема 59



Увеличение концентраций БСА приводит к батохромному сдвигу максимумов поглощения (800 нм) и увеличению интенсивности поглощения (Рисунок 12А), благодаря образованию молекулярных комплексов красителя и БСА. При увеличении концентрации БСА происходит сдвиг равновесия в сторону образования комплекса. Константы связывания K_b были рассчитаны из кривых связывания (Рисунок 12Б) [136].

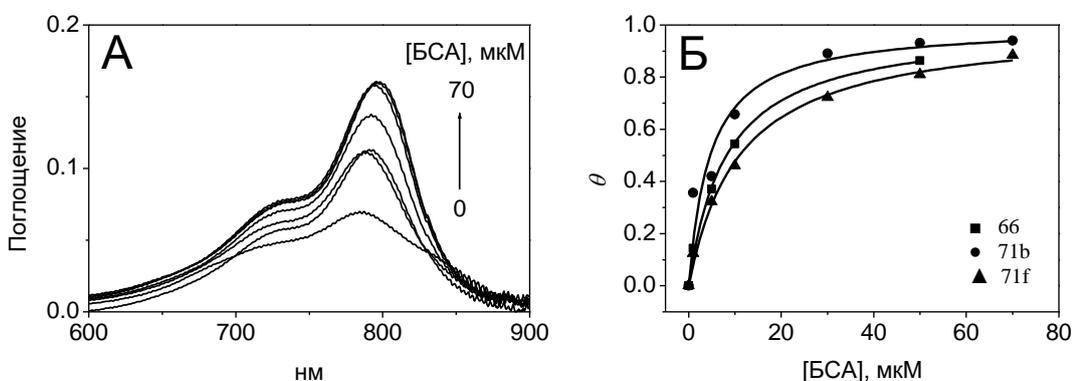


Рисунок 12. Спектры поглощения соединения **71b** (4.5×10^{-7} М) в отсутствие и в присутствии БСА (1×10^{-6} – 10^{-5} М) – (А). Кривые связывания для соединений **66**, **71b**, **f** – (Б). Точки на кривых – экспериментальные результаты, сплошные линии – аппроксимация экспериментальных данных с константами связывания, представленными в таблице 26.

⁴ Физико-химические исследования выполнены в ИБХФ РАН им. Н.М. Эмануэля совместно с д.х.н., проф. В.А. Кузьмина.

По этой же методике по спектрам поглощения для модельного кардиограина **68** была измерена константа комплексообразования с ЧСА, величина которой составила $(1.0 \pm 0.3) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, и с БСА – $(1.2 \pm 0.2) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ (Таблица 26).

Таблица 26. Константы связывания K_b , время (τ_1 и τ_2) жизни флуоресценции комплексов красителей **66**, **71b,f** с БСА (ошибка 10%, в скобках приведен вклад соответствующего комплекса во флуоресценцию) и растворов красителей (τ) в H_2O и EtOH .

Соединение	$K_b \times 10^{-5}, \text{M}^{-1}$	$\tau_1, \text{нс}$	$\tau_2, \text{нс}$	$\tau(\text{H}_2\text{O}), \text{нс}$	$\tau(\text{EtOH}), \text{нс}$
66	1.2±0.2	0.81 (62%)	0.37 (38%)	0.25	0.54
71b	2.2±0.8	0.74 (79%)	0.21 (21%)	0.26	0.59
71f	0.9±0.1	0.74 (78%)	0.21 (22%)	0.26	0.59

Полученные в настоящей работе близкие значения констант комплексообразования соединения **66** для ЧСА и БСА указывают на схожий характер взаимодействия в сайте связывания белков с красителем и на правомерность использования БСА в работах по моделям комплексообразования наряду с ЧСА. Это согласуется с данными молекулярного докинга.

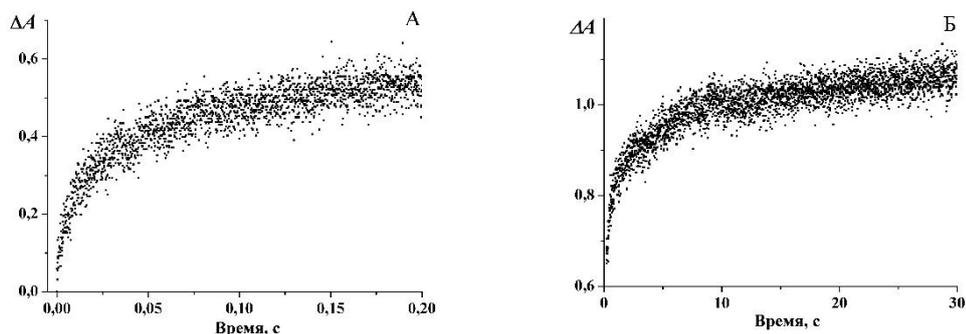


Рисунок 13. Кинетика образования комплексов при смешении растворов **66** ($3 \times 10^{-6} \text{ M}$) и HSA ($1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$), $\lambda_{\text{рег.}} = 800 \text{ нм}$, А – время 0 – 0.2 с; Б – время 0 – 30 с.

При проведении эксперимента было зафиксировано полное связывание карбоцианинов с БСА. Кривые затухания флуоресценции представляют собой две экспоненты с разными временами жизни флуоресценции - более коротким τ_2 , и более длинным τ_1 (Таблица 26, Рисунок 13), что свидетельствует об образовании двух типов комплексов с БСА: один из сайтов БСА взаимодействует с молекулярной формой красителя, приводя к ограничению процесса фотоизомеризации, обеспечивая более жесткую молекулярную структуру карбоцианина, тем самым увеличивая время жизни флуоресценции для флуорофоров. В другом сайте образуется комплекс с более коротким временем жизни (τ_2), близким к тому же показателю для агрегатов красителей в воде, что указывает на образование комплексов между гидрофобной поверхностью белка и

агрегатами красителя. Вклад комплексов второго типа значительно ниже, чем вклад комплексов с участием молекулярных форм красителя.

Конформационно закрепленный трикарбоцианин **74b** имеет максимум поглощения с батохромным сдвигом на 35 нм по сравнению с незакрепленными аналогами (785 нм), что обусловлено понижением синглетного возбужденного уровня из-за эффекта влияния электронно-акцепторного атома хлора в мезо-положении полиметиновой цепи, кроме того, введение цикла в полиметиновую цепь уменьшает внутреннюю конверсию путем крутильных колебаний, что увеличивает квантовый выход флуоресценции примерно в 1.5 раза.

Схема 60

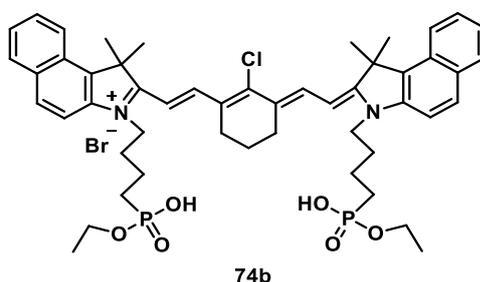


Таблица 27. Поглощение и флуоресценция красителя **74b** в EtOH, H₂O и комплекса **74b**+HSA.

	Поглощение (EtOH), нм	Испускание (EtOH), нм	Испускание (H ₂ O), нм	Испускание комплекса с HSA, нм
74b	821	834	825	840

В водных растворах (pH=7,0, фосфатный буфер 10 мМ) карбоцианин **74b** образует нековалентный комплекс с ЧСА. Величина константы комплексообразования составляет $1.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$.

Время жизни флуоресценции, определенное для карбоцианина **74b** в воде хорошо согласуется с полученными ранее значениями для кардиограина и других производных индотрикарбоцианинов и составляет 0.24 нс. Кинетика затухания флуоресценции комплекса соединения **74b** с ЧСА описывается двумя экспонентами с временами жизни 1.030 нс (44%) и 0.700 нс (56%), что свидетельствует об образовании двух типов комплексов (Таблица 28). Это согласуется с результатами, полученными нами для других примеров трикарбоцианинов, включая модельный ICG.

Таблица 28. Время жизни флуоресценции **74b** в EtOH, H₂O и комплекса **74b**+HSA.

	$\tau_1(\text{EtOH}), \text{нс}$	$\tau_1(\text{H}_2\text{O}), \text{нс}$	Комплекс (ЧСА), $\tau_{1,2}, \text{нс}$	
74b	0.57	0.24	1.03	0.70

Трикарбоцианины, модифицированные по мезо-положению ω -аминокислотами имеют значения констант связывания на порядок ниже, чем для описанных выше моделей

(Таблица 29). Полученные значения согласуются со значениями, полученным для аналогов, представленных в литературе [137].

Схема 61

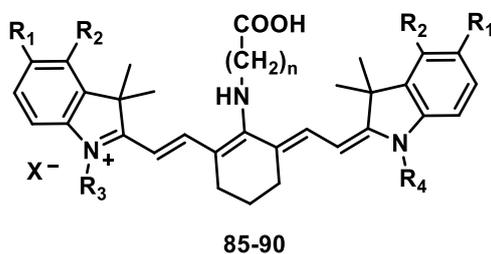


Таблица 29. Значения констант связывания красителей с ЧСА.

Конформационно закрепленные трикарбоцианины	K_b, M^{-1}
85	3.67×10^4
86	2.67×10^4
88	1.78×10^4
89	1.07×10^4
90	1.48×10^4

Таким образом, проведенные исследования эффективности связывания синтезированных нами новых трикарбоцианинов с биомакромолекулами транспортных белков крови показывают, что независимо от структурного типа карбоцианина происходит образование комплексов двух типов – с изолированными молекулами и с агрегатами карбоцианинов. Комплексообразование со свободными красителями является преобладающим. Введение циклического фрагмента и акцепторного заместителя в полиметиновую цепь не приводит к изменению величины константы связывания, однако, модификация мезо-положения алифатической аминогруппой в качестве сильного мезомерного донора приводит к уменьшению константы связывания в 10 раз.

3.4 Исследование накопления трикарбоцианинов в опухолевых клетках и оценка цитотоксичности

В связи с тем, что спектрально-кинетические параметры карбоцианинов и широкие возможности для функционализации делают эти структуры перспективными моделями для создания биомаркеров, важным этапом исследования их свойств является изучение взаимодействия с клетками. Оценка эффективности проникновения через клеточную мембрану и исследование световой и темновой токсичности позволяют определить область применения исследуемых карбоцианинов. Введение в структуры флуорофоров

функциональных групп для обеспечения ковалентного связывания с биомолекулами делают перспективным направление создания на их основе конъюгатов drug-delivery для создания противоопухолевых препаратов [138].

В связи с этим на серии синтезированных карбоцианинов **71b**, **72a** и **74c** было проведено исследование зависимости накопления в опухолевых клетках от концентрации и времени инкубации.⁵ Исследования проводили на клеточных линиях аденокарциномы толстой кишки (HTC116).

Так для красителей **71b**, **72a** и **74c**, содержащих фосфонатные группы (Схема 62), были измерены спектры поглощения (Рисунок 14а) и возбуждения (Рисунок 14б) для следующих концентраций: 0 мкМ; 0.007 мкМ; 0.014 мкМ; 0.07 мкМ; 0.35 мкМ; 0.7 мкМ.

Схема 62

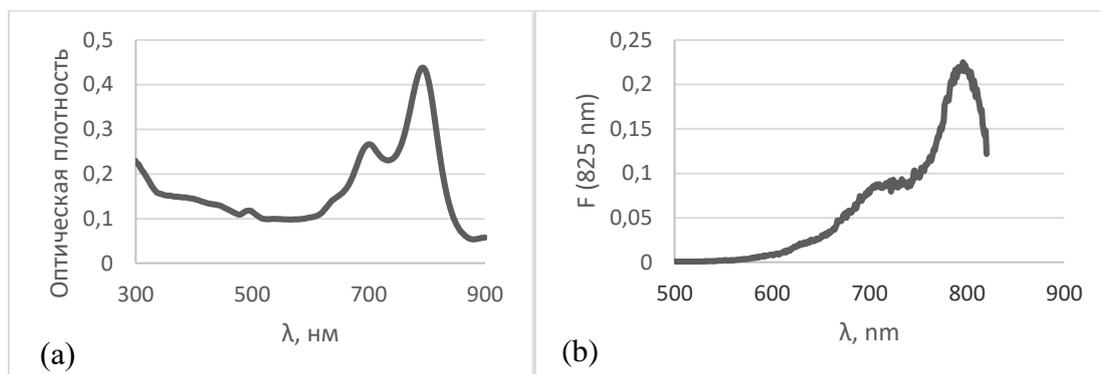
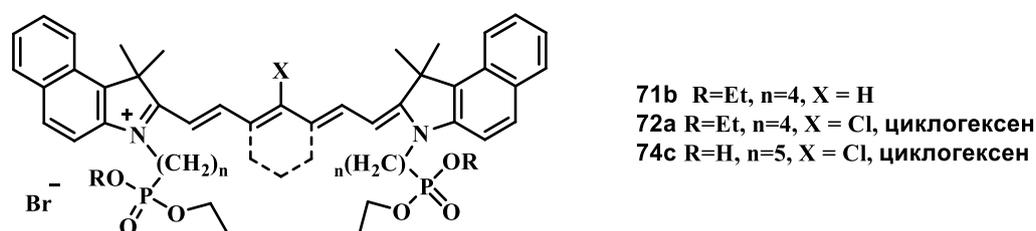


Рисунок 14. Спектр поглощения (а) и возбуждения флуоресценции (б) **71b** в ДМСО.

Для всех концентраций максимум флуоресценции определен при длине волны 822 нм. Для построения калибровочной зависимости использовали значения флуоресценции (условные единицы) при этой длине волны (Рисунок 15).

⁵ Эксперименты на клетках проводились совместно с с.н.с., д.м.н. А.А. Штилем на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза Химического факультета МГУ.

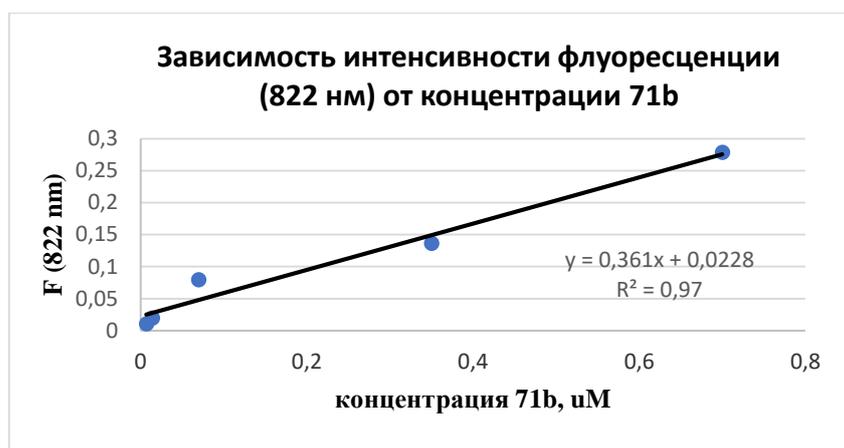


Рисунок 15. Калибровочная зависимость интенсивности флуоресценции **71b** от концентрации.

Интенсивность флуоресценции лизатов клеток НСТ116 измеряли после накопления красителей **71b**, **72a** и **74c**. В таблице 30 и на рисунке 16 представлены результаты измерений на примере карбоцианина **71b**.

Таблица 30. Значения интенсивности флуоресценции лизатов клеток рака толстой кишки (линия НСТ116) после инкубации с 10 мкМ **71b**.

Время инкубации, час	Показание спектрофлуориметра	Разведение в кювете	Интенсивность флуоресценции исходного лизата	Концентрация, мкМ
0	0	7	0	0
1	0.06	7	0.42	1.10
3	0.04	7	0.28	0.71
6	0.05	7	0.35	0.90
24	0.05	7	0.35	0.90

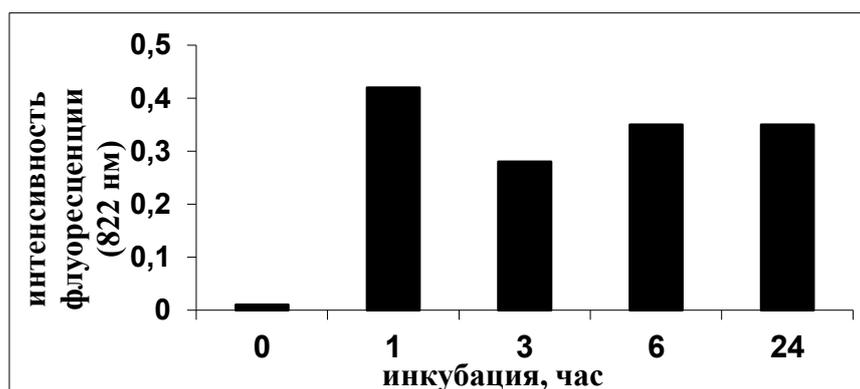


Рисунок 16. Значения интенсивности флуоресценции лизатов клеток рака толстой кишки (линия НСТ116).

Соединения **71b**, **72a** и **74c** накапливаются с различной интенсивностью. Наиболее эффективное накопление достигается в течение 1 часа инкубации и сохраняется таковым на протяжении до 24 часов у соединений **71b**, **72a**.

Этот факт находится в соответствии с данными для карбоцианинов, содержащих карбоксильные и сложноэфирные группы. Для них отмечено более выраженное накопление красителей, содержащих эфирные группы, по сравнению с содержащими кислотные группы [93]. Темновая токсичность **71b**, **72a** и **74c** для клеток HCT116 и MCF7 невысока, что позволяет использовать относительно высокие концентрации этих трикарбоцианинов для накопления в клетках.

Оценка цитотоксичности разных структурных типов карбоцианинов с целью выявления корреляции структура-активность были выполнены для соединений **52**, **54-56**, **64**, **68**, **82**, **85-87**, **89-96** (Схема 63). Были построены кривые выживаемости (Рисунок 17) и определены значения IC₅₀ (Таблица 31). Приведены средние величины IC₅₀ по результатам 3-х измерений (МТТ-тест после 72-часовой инкубации клеток с соединениями). Стандартные отклонения <10%.

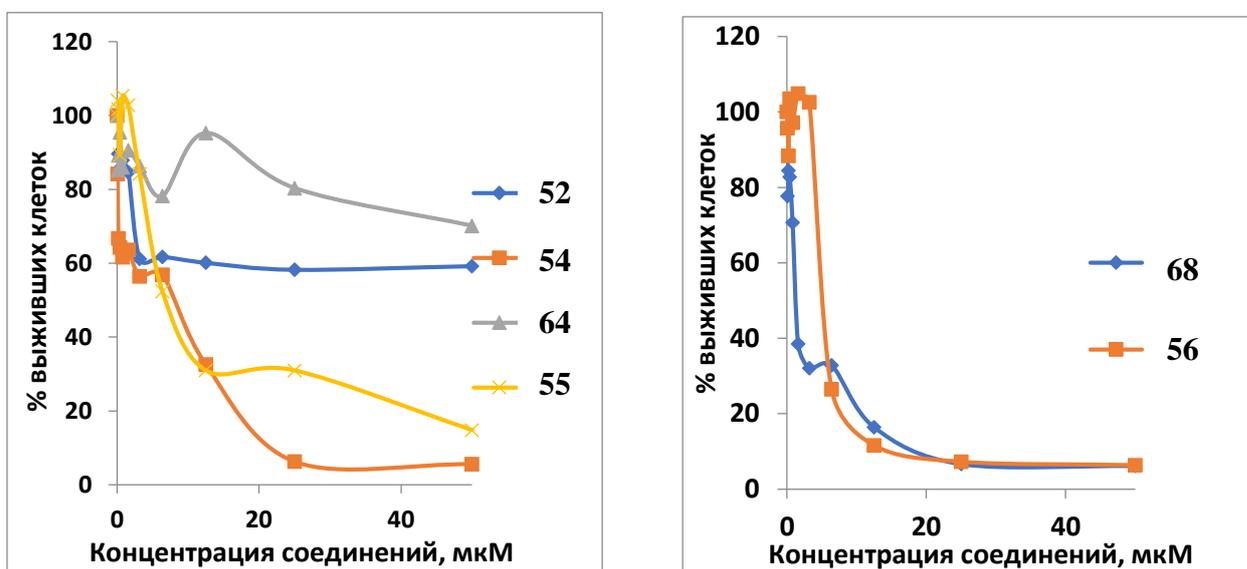


Рисунок 17. Кривые выживаемости для соединений **52**, **54-56**, **64**, **68** на клетках HCT116.

Схема 63

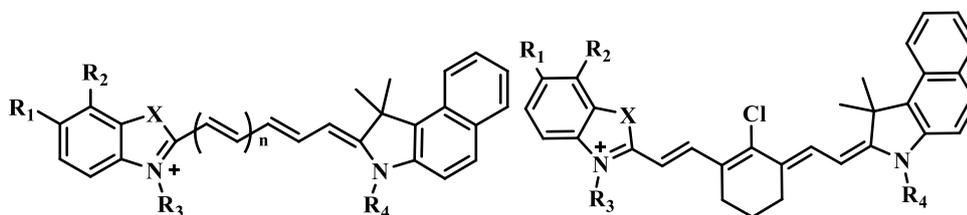


Таблица 31. Цитотоксичность соединений **52**, **54-56**, **64**, **68**.

№	R ₁ , R ₂	X	R ₃	R ₄	n	IC ₅₀ , мкМ НСТ116
52	R ₁ =COOH, R ₂ =H	C(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	0	>50
54	R ₁ =COOH, R ₂ =H	C(CH ₃) ₂	CH ₃	(CH ₂) ₅ CH ₃	1	8
55	R ₁ =COOH, R ₂ =H	C(CH ₃) ₂	CH ₃	(CH ₂) ₁₀ COOH	1	7
56	(-CH=CH-) ₂	C(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₅ CH ₃	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	1	5
68	(-CH=CH-) ₂	C(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₁₀ COOH	(CH ₂) ₁₀ COOH	1	1
64	R ₁ =COOH, R ₂ =H	C(CH ₃) ₂	CH ₃	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	2	>50

Данные, приведенные в таблице 31, свидетельствуют о том, что именно функциональные заместители, находящиеся в гетероциклическом ядре или у кватернизированного атома азота гетероцикла, значительно влияют на показатель цитотоксичности. Так, карбоцианины, включающие в свою структуру небольшие метильные или гидрофильные алкилсульфонатные группы не проявляют выраженной цитотоксичности, а увеличение липофильности заместителей за счет удлинения углеводородных линкеров приводит к резкому ее возрастанию.

Об этой же тенденции свидетельствуют результаты сравнительного анализа цитотоксичности флуорофоров **82**, **85-87**, **89-92**, модифицированных по мезо-положению производной *n*-гидроксифенилуксусной кислоты и ω-аминокислотами, который был проведен на клеточной линии НСТ116 и неопухолевых фибробластов (линия ПФЧ). Гибель обеих клеточных линий вызывали только соединения **85-87**, не содержащие сульфонатных групп (Таблица 32).

Схема 64

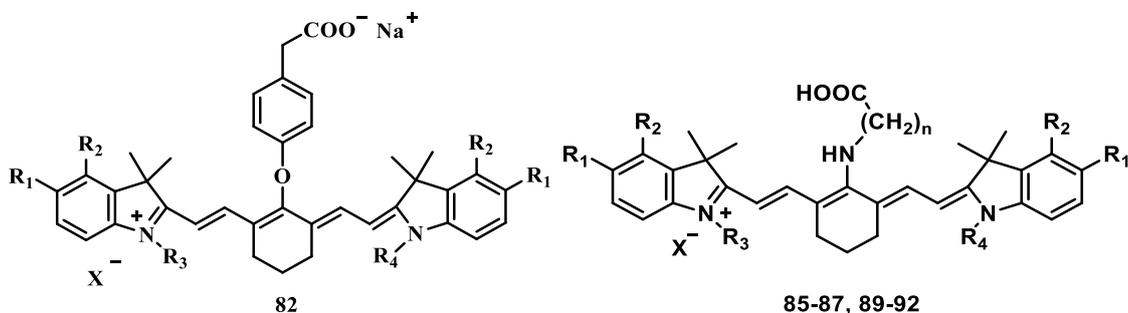


Таблица 32. Показатели цитотоксичности соединений **82, 85-87, 89-92.**

№	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	X	n	IC ₅₀ , мкМ НСТ116	IC ₅₀ , мкМ ПФЧ
82	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	-	0,03	-
85	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	2	2,7	3,4
86	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	2	5,5	2,5
87	H	(CH ₂) ₄ COOEt	(CH ₂) ₄ COOEt	I	2	2,3	4,6
89	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	2	>50	>50
90	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	2	>50	48,5
91	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ COOEt	-	2	>50	>50
92	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	3	>50	>50

В результате исследований серии конъюгатов **93-96**, содержащих сульфатные группы, на этой же группе клеток было установлено, что не обладали цитотоксичностью конъюгаты **94** и **96**. Для конъюгатов **93** и **95**, содержащих адмантильный заместитель у С-конца пептидного фрагмента, была зафиксирована цитотоксичность в микромолярных концентрациях, выраженная у соединения **93** и незначительная у соединения **95**, для клеточной линии НСТ116, но, в то же время, они остались не токсичными по отношению к ПФЧ (Таблица 33). То есть конъюгат **93**, содержащий гидрофобный адмантильный фрагмент, проявляет определенную селективность по отношению к раковым клеткам по сравнению с неопухолевыми фибробластами.

Схема 65

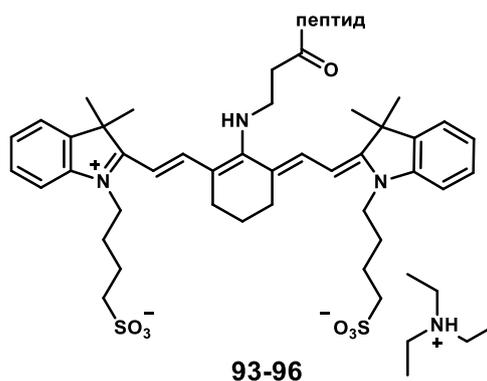


Таблица 33. Показатели цитотоксичности соединений **93-96.**

№	пептид	IC ₅₀ , мкМ НСТ116	IC ₅₀ , мкМ ПФЧ
93	GlyGlyGlyOAd	21,2	>50
94	GlyGlyGlyOH	>50	>50
95	GlySarGlyGlyGlyOAd	46	>50
96	GlyGlySarGlyGlyNH ₂	>50	>50

Из полученных данных можно сделать вывод о том, что за счет комбинации гидрофильных и липофильных заместителей в гетероциклических фрагментах карбоцианинов можно влиять на характер взаимодействия карбоцианинов с клетками.

3.5 Визуализация низкомолекулярных аналитов

Многие направления современных исследований систем, требующих мониторинга процессов с их участием, используют различные способы визуализации. Визуализация может подразумевать ковалентное связывание флуорофора с субстратом, либо флуорофор взаимодействует с определяемыми молекулами нековалентно. Выбор флуорофора в обоих случаях определяется структурой молекулы, с которой предполагается связывание.

Структурные особенности карбоцианинов позволяют в широких пределах варьировать фотофизические свойства и осуществлять модификацию путем введения функциональных групп в различные части молекулы. Тем не менее, методы визуализации, основанные на нековалентном связывании карбоцианинов с низкомолекулярными соединениями, представлены в литературе единичными примерами.

В рамках данного исследования карбоцианины разных структурных типов были изучены с точки зрения возможностей нековалентного взаимодействия с низкомолекулярными аналитами. Была выбрана серия триметиновых и пентаметиновых карбоцианинов **50-52, 54-56, 64, 67-70**, содержащих в различных структурных фрагментах, кроме алкильных и алкилсульфонатных групп, карбоксильную группу (Схема 66). Карбоксильная группа представляет собой удобную функцию для последующей модификации. С другой стороны, она влияет на степень гидрофильности соединения за счет образования водородных связей. Эксперимент был проведен на кафедре аналитической химии Химического факультета МГУ.⁶

Была исследована возможность визуального определения аминокликозидов с использованием стратегии амплификации флуоресценции карбоцианинов в растворах ПАВ (додецилсульфат натрия (ДДС), либо цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ)) в предмицеллярной концентрации. Эксперимент проводили на большой выборке известных антибиотиков, структуры которых представлены на рисунке 18.

В исследования помимо неописанных ранее карбоцианинов **50-52, 54-56, 64, 67-70** были включены два коммерчески доступных красителя **Cy5.5** и **Cy7** (Схема 66).

⁶ Исследования были проведены совместно с д.х.н. М.К. Беклемишевым.

Схема 66

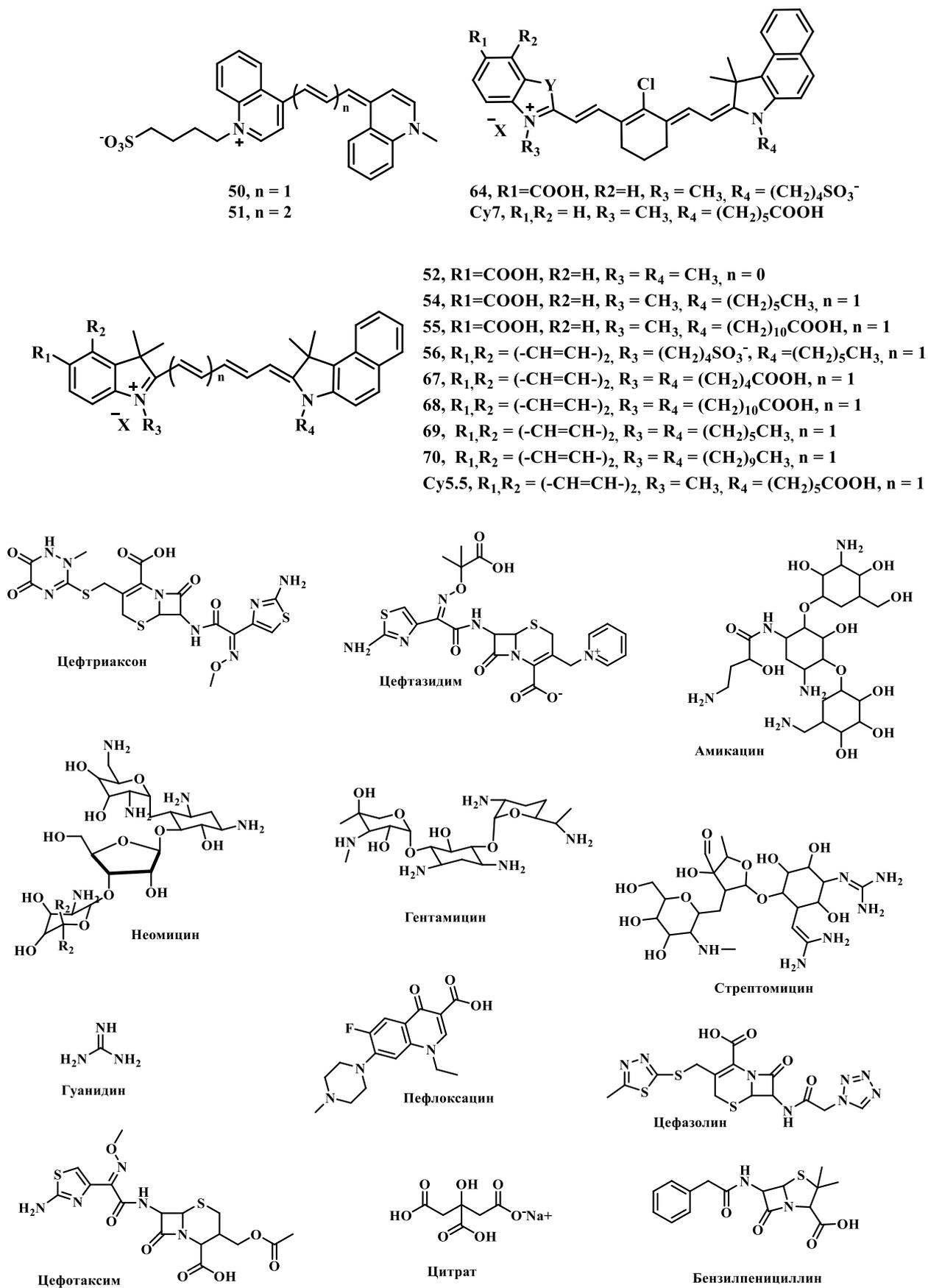


Рисунок 18. Структуры карбоцианинов и антибиотиков.

Взаимодействие целевых карбоцианинов с низкомолекулярными аналитами проводили в мицеллярных растворах ПАВ (ДДС и ЦТАБ). ПАВ добавляли в предмицеллярной концентрации, при которой еще не происходит разгорания флуоресценции карбоцианина. Выбор ПАВ определялся тем, что ДДС образовывал агрегаты с катионными аналитами, а ЦТАБ – с наночастицами красителя в водном растворе. В результате эксперимента был установлен механизм взаимодействия выбранных флуорофоров **50-52, 54-56, 64, 67-70** с катионными и анионными аналитами в растворе ПАВ. В одном случае агрегат ДДС с катионным аналитом на следующем этапе присоединял наночастицы красителя, а в другом – агрегат ЦТАБ с красителем взаимодействовал с анионным аналитом. И в том и другом случаях образовывался агрегат ПАВ/Краситель/Аналит и происходило разгорание флуоресценции (Рисунок 19).

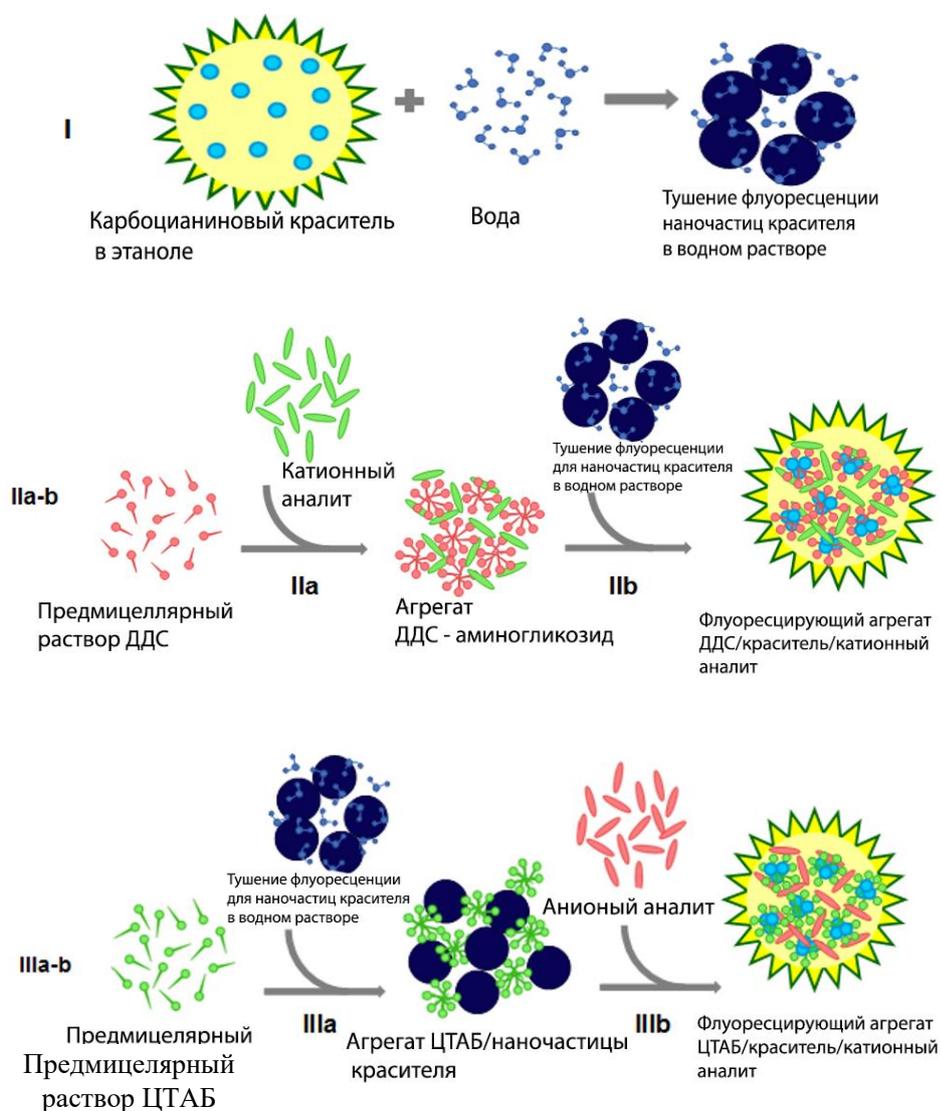
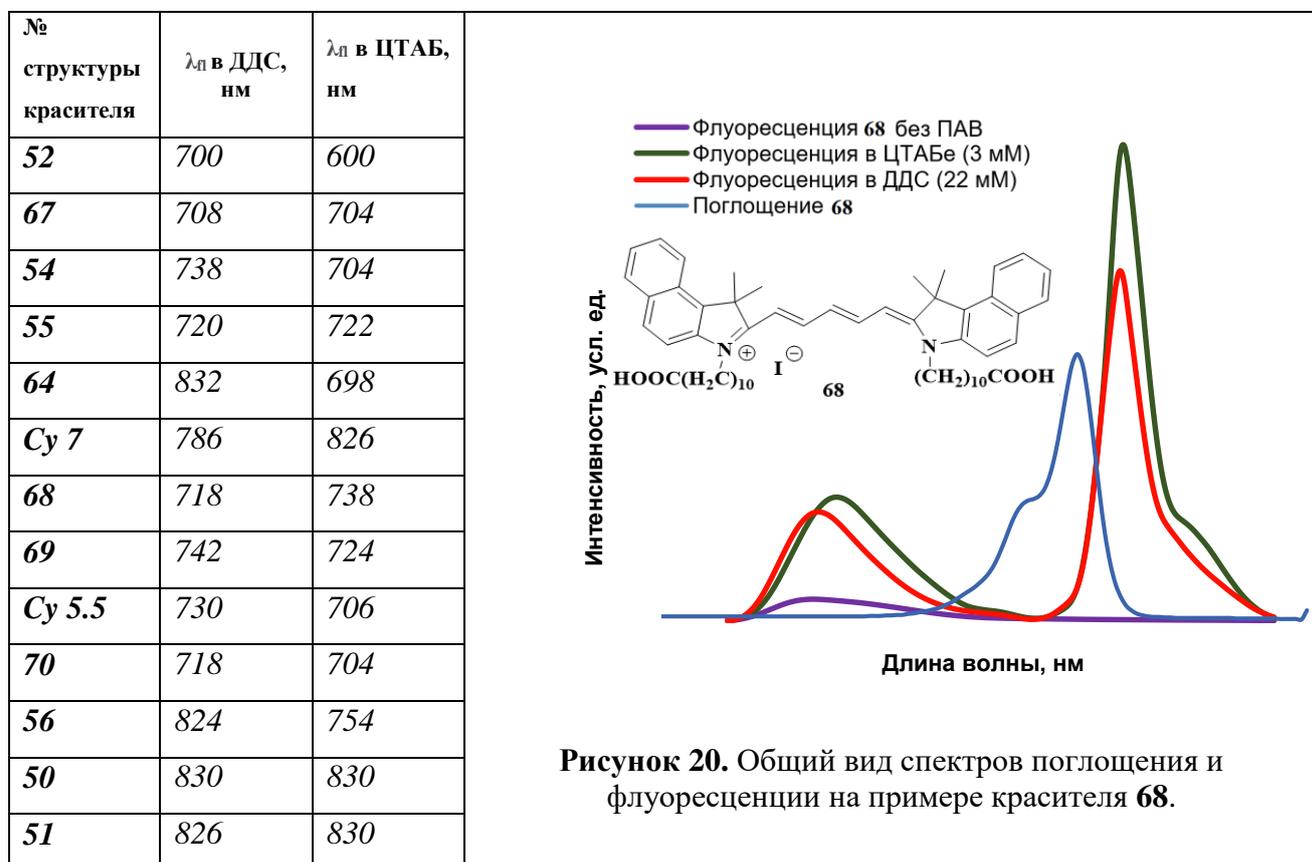


Рисунок 19. Механизм взаимодействия флуорофоров с катионными и анионными аналитами в растворе ПАВ.

На рисунке 20 представлен общий вид спектров поглощения и флуоресценции на примере соединения **68**, а в таблице 34 приведены максимумы флуоресценции для всех исследуемых карбоцианинов в растворах ПАВ.

Таблица 34. Значения максимумов флуоресценции для карбоцианинов **50-52, 54-56, 64, 67-70** растворах ПАВ.



На рисунке 21 представлены фотографии флуоресцирующих планшетов, полученные при скрининге модельных аналитов в предмицеллярных растворах ДДС и ЦТАБ.

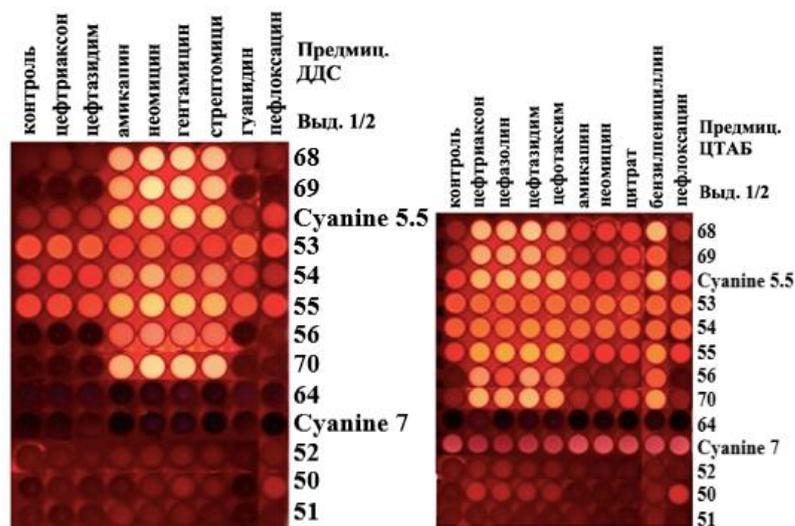


Рисунок 21. Скрининг модельных аналитов в предмицеллярных растворах.

Оцифровка фотографий была выполнена с помощью программы ImageJ. На рисунках 22 и 23 катионные аналиты отмечены синим, анионные – красным, «малые» модельные вещества – желтым, а цвиттер-ион – зеленым.

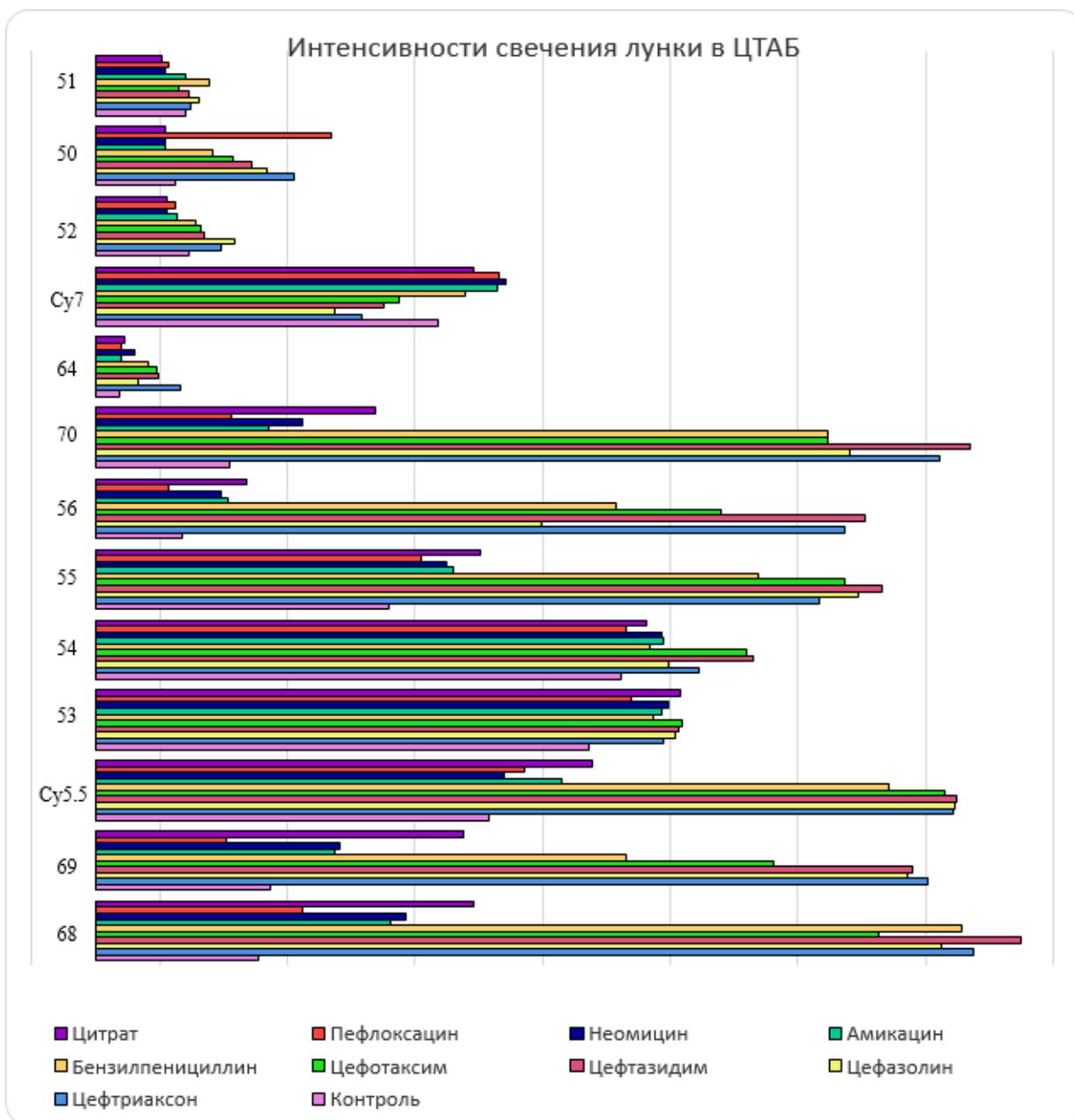


Рисунок 22. Интенсивности сигналов в катионном ПАВ (ЦТАБ).

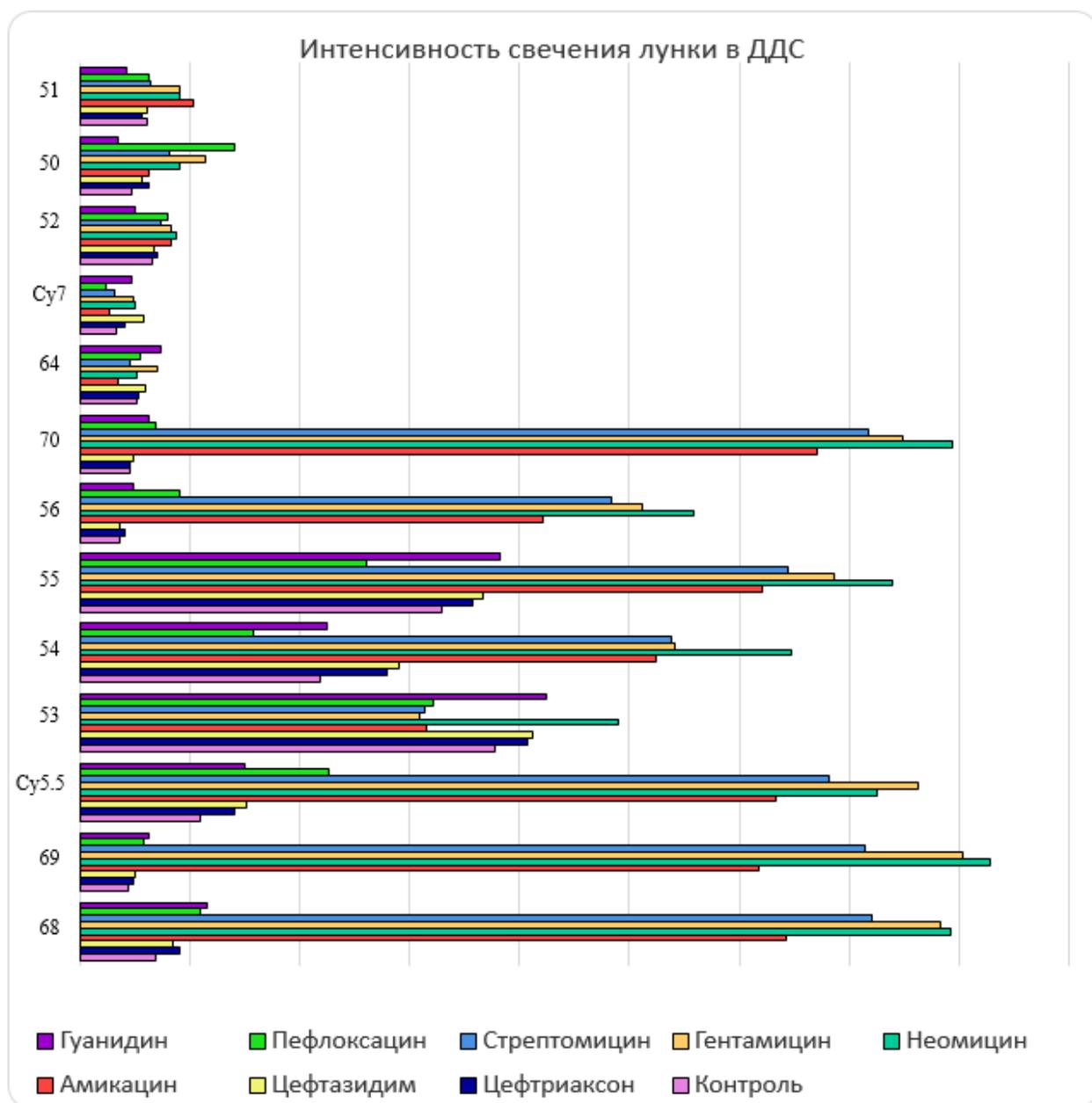


Рисунок 23. Интенсивности сигналов в анионном ПАВ (ДДС).

Оценка эффективности карбоцианинов в качестве аналитических агентов проводилась по сумме трех параметров: чувствительность, селективность и абсолютная величина интенсивности сигнала целевого аналита. В качестве целевых аналитов были выбраны неомицин для ДДС и цефтриаксон для ЦТАБ. Чувствительность представляет собой отношение сигнала целевого аналита к интенсивности контрольного сигнала, а селективность – к интенсивности сигнала малого катиона или аниона (аргинин для ДДС и цитрат для ЦТАБ). Нормировали значения по сигналам красителя **68**.

Еще одной важной количественной характеристикой флуорофора является величина гидрофобности ($\log P$), представляющая собой логарифм коэффициента

распределения в системе октанол – вода. Значения $\log P$ для исследуемых карбоцианинов приведены в таблице 35. Расчет проводили помощью ресурса chemaxon.com.

Таблица 35. $\log P$ полученных красителей.

№ карбоцианина	$\log P$
54	7,7
70	11,9
68	7,8
69	8,5
52	3,3
56	7,8
51	~1
64	3,2
CY5.5	7,8
50	~1
55	6,5
67	3,8

Все полученные результаты, описанных в этом разделе экспериментов, обобщены в виде диаграммы, отражающей зависимость «эффективности» карбоцианинов от их гидрофобности (Рисунок 24).

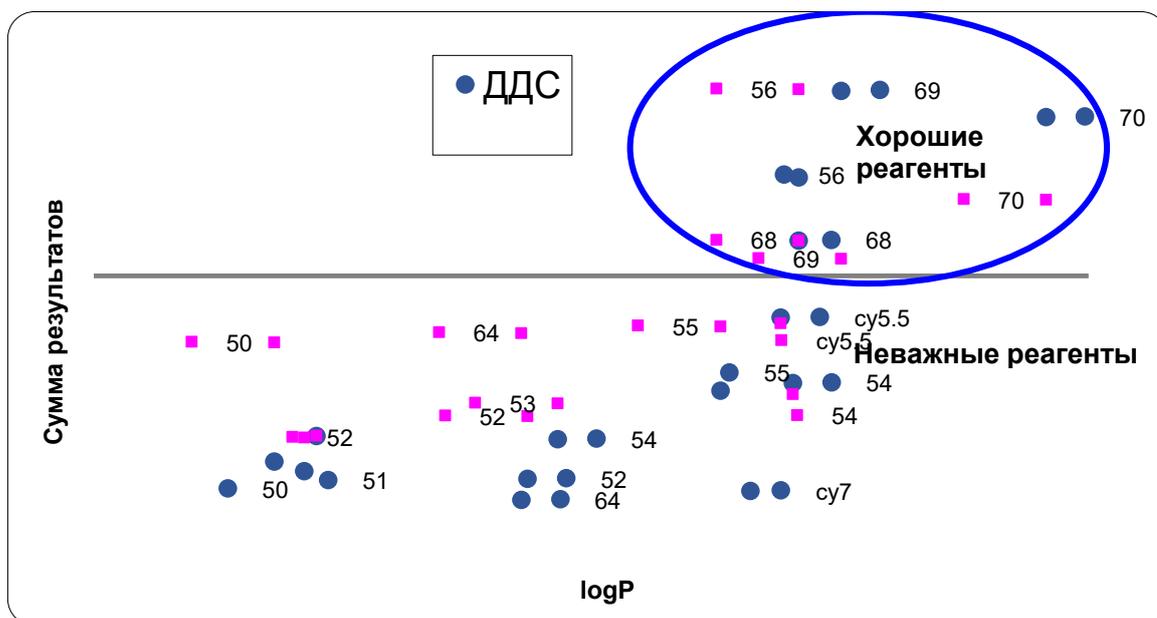
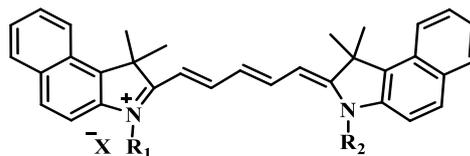


Рисунок 24. Зависимость «эффективности» красителя от гидрофобности ($\log P$).

Анализ представленных результатов свидетельствует о том, что для использования красителя в качестве эффективного флуориметрического реагента, необходимым, но не достаточным условием является высокая гидрофобность ($\log P \geq 7$). Это применимо как к растворам в анионных, так и катионных ПАВ.

Схема 67



68: $R_{1,2} = (CH_2)_{10}COOH$

69: $R_{1,2} = (CH_2)_5CH_3$

70: $R_{1,2} = (CH_2)_9CH_3$

56: $R_1 = (CH_2)_5CH_3, R_2 = (CH_2)_4SO_3^-$

Проведенный скрининг показал, что во флуориметрических методах, основанных на агрегации, карбоцианины на основе метилхинолинов, а также три- и гептаметиновые производные оказались не перспективными. Наиболее эффективно для этих целей могут быть использованы пентаметиновые карбоцианины на основе бензоиндолинина **56**, **68**, **69**, **70**, содержащие алкильные заместители с большой длиной углеводородной цепи (Схема 67), обеспечивающие высокую гидрофобность.

Еще одним направлением изучения нековалентных взаимодействий аналитов с карбоцианинами было исследование возможности создания селективного флуоресцентного сенсора на основе карбоцианина **68**. Было установлено, что взаимодействие карбоцианина **68** с дипираном в присутствии бромид цетилтриметиламмония (ЦТАБ) приводило к обесцвечиванию красителя (Рисунок 25), сопровождающемуся резкими изменениями спектров флуоресценции [139]. В присутствии анионных поверхностно-активных веществ (n-додецилсульфат натрия) никаких изменений не происходило.

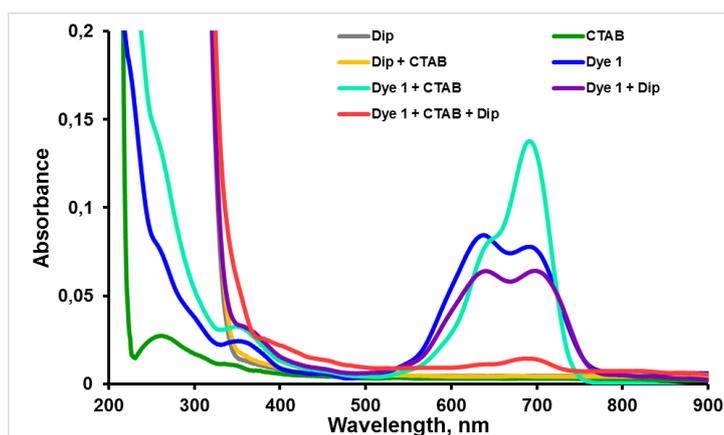


Рисунок 25. Спектры поглощения красителя **68**, ЦТАБ, дипирана (Дип) и их смесей. Концентрации для конечной смеси: 1,5мМ (Dip), 0,8 мМ ЦТАБ.ю рН 7,4 (7мМ фосфатный буфер), 2 мкМ соединения **68**.

Наблюдаются резкие изменения в спектре флуоресценции карбоцианина **68** в мицеллярном растворе ПАВ (цетилтриметиламмоний бромид, ЦТАБ) в присутствии дипирана (метамизол, анальгин): интенсивность полосы 480 нм увеличивается с

одновременным уменьшением интенсивности в ближнем ИК-диапазоне (область 720 нм). (Рисунок 26).

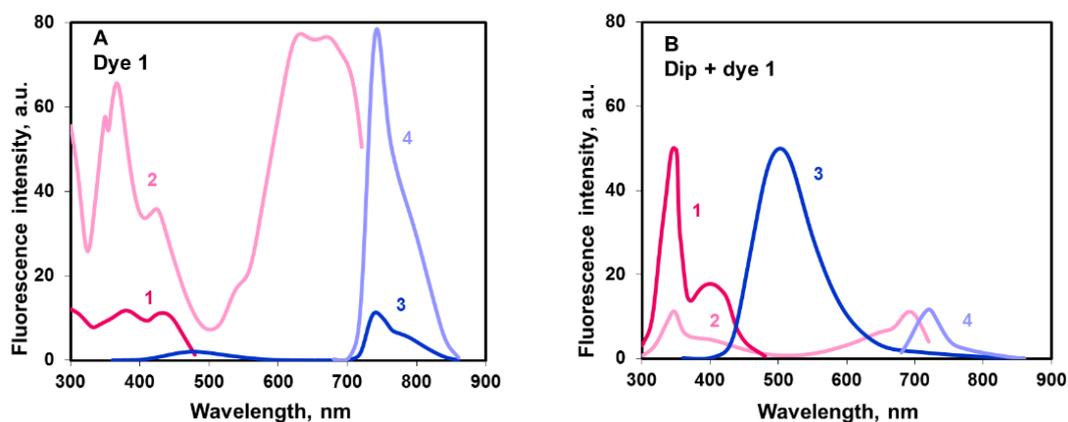


Рисунок 26. Спектры возбуждения (1,2) и излучения (3,4) красителя **68** (А) и смеси дипирона с красителем **68** (В). Регистрация при 500 нм (1) и 740 нм (2); возбуждение при 345 нм (3) и 660 нм (4). Условия: 1,5 мМ Dip, 0,8 мМ ЦТАВ, рН 7,4 (7 мМ фосфатный буфер), 2 мкМ соединение **68**.

Данные MALDI и ЯМР ^1H показывают, что повреждения молекулы дипирона и красителя не происходит. Обнаружение дипирона можно проводить в присутствии других органических веществ (кроме аминов и аминокислот) и неорганических солей.

Тестирование дипирона возможно в пределах 5×10^{-7} - 5×10^{-4} М с RSD 3,5% при использовании визуализатора вместо спектрофлуориметра. (Рисунок 27)

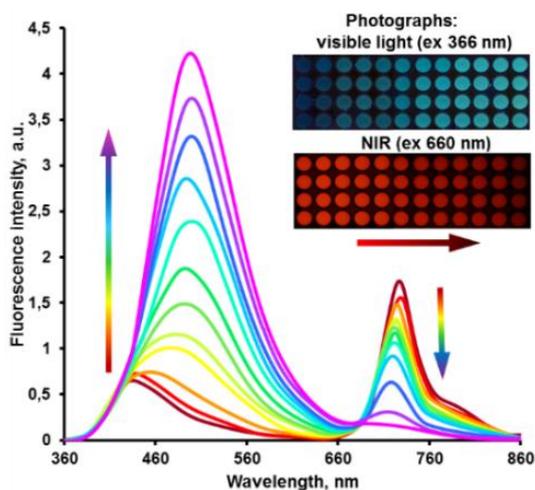


Рисунок 27. Влияние концентрации дипирона на спектр излучения красителя **68** в присутствии ЦТАБ. Вставка: изображения 96-луночного планшета с различными концентрациями дипирона, сфотографированные в видимом свете и в ближнем ИК-диапазоне. Условия: 0 (темно-красный) – 0,14 мкМ (красный), 0,14 мМ дипирона (пурпурный), 0,8 мМ ЦТАВ, рН 7,4 (7 мМ фосфатный буфер), 2 мкМ красителя **68**.

В результате проведенных исследований была предложена структура комплекса карбоцианина **68**, дипирона и ЦТАБ (Рисунок 28).

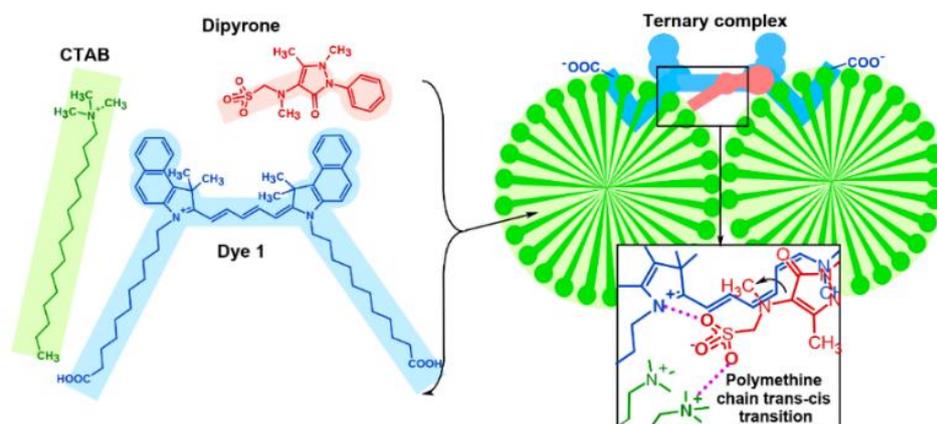


Рисунок 28. Предлагаемая структура ансамбля краситель **68** – дипирон – ЦТАБ.

Одним из важных направлений использования карбоцианинов, как инструмент визуализации является изучение процессов доставки лекарства в клетку. В данной работе мы изучили возможность использования нековалентного связывания карбоцианинов с малыми молекулами для визуализации процесса их проникновения в клетку. В качестве биообъекта были выбраны лактобактерии, поскольку они доступны, грамположительны и нетоксичны. Для визуализации был выбран пентаметитовый краситель **68** с флуоресценцией при 720 нм, что удовлетворяет условиям визуализации в биосистемах.

На предыдущем этапе нашего исследования нековалентного связывания аналитов с карбоцианинами в мицелярных ПАВ было показано, что пара неомицин-карбоцианин **68** в катионном ПАВ, является эффективным модельным аналитическим объектом. Поэтому в эксперименте с лактобактериями использовали эту пару в растворе мицелярного ЦТАБ.

В лунки с лактобактериями были добавлены ЦТАБ, в лунку 1 – вода, в лунку 2- неомицин, в лунку 3 - краситель **68**, в лунку 4 – краситель **68** и неомицин. (Рисунок 29). В лунке 4 наблюдается тушение флуоресценции красителя **68** в присутствии неомицина.

1 2 3 4



Рисунок 29. Визуализация неомицина с помощью красителя **68** в клетках лактобактерий в присутствии ЦТАБ. 1 – контроль (вода), 2 – неомицин, 3 – краситель, 4 – краситель + неомицин (Лактобактерии присутствуют во всех лунках).

Таким образом, было показано, что дикарбоцианин **68** на основе бензоиндоленина может быть эффективно использован в аналитических целях в качестве инструмента визуализации при нековалентном связывании аналитов с красителем.

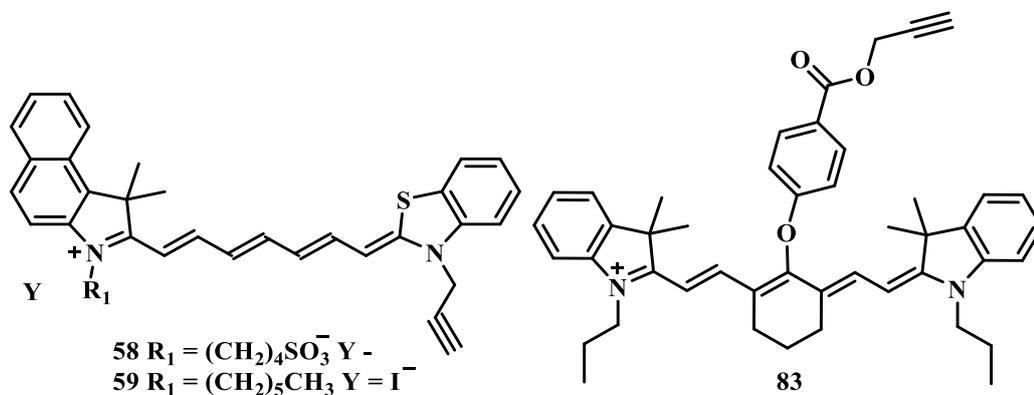
3.6 Синтез ковалентных конъюгатов на основе карбоцианинов **58**, **59** и **83** с антибиотиками.

Современные возможности тонкого органического синтеза позволяют проводить многие реакции в очень мягких условиях с участием лабильных реагентов. Одним из таких эффективных направлений является сборка больших молекул с помощью клик-реакций.

Поскольку одной из важных проблем противораковой терапии является рецидив опухоли, то наиболее эффективными являются препараты, нацеленные на митохондрии. Так как карбоцианины способны накапливаться в митохондриях, то конъюгаты противораковых препаратов с карбоцианинами представляют собой перспективные объекты.

Образование таких конъюгатов удобно проводить с использованием современного метода – клик-реакции, которые проходят в мягких условиях при комнатной температуре [117; 140–144]. Модифицированные алкинильным фрагментом трикарбоцианины были введены в клик-реакции с антибиотиками, в свою очередь модифицированные N₃-группой.⁷ Для этой цели были синтезированы трикарбоцианины **58**, **59**, **83**, содержащие алкинильный фрагмент по мезо-положению и в заместителе при четвертичном атоме азота (Схема 68).

Схема 68



Выше мы уже обсуждали, что карбоцианины **83** и **84** плохо очищаются от исходных флуорофоров. На примере клик-реакции соединения **83** с модифицированным N₃-группой эремоницином в условиях катализа CuSO₄-TBTA (трис(бензилтриазолил)амин) с 0.28M раствором аскорбиновой кислоты в воде было показано, что отделение целевого конъюгата от примеси исходного, немодифицированного карбоцианина **75** происходит более эффективно, чем многократное хроматографирование при очистке соединения **83**.

⁷ Эксперименты по синтезу и очистке конъюгатов 98-100 были проведены в НИИНА им. Г.Ф.Гаузе аспирантом Химического факультета МГУ Д.А. Верютиным под руководством старшего преподавателя кафедры медицинской химии Химического факультета МГУ М.В. Шувалова и н.с. НИИНА им. Г.Ф.Гаузе В.А.Алферовой.

Полученный конъюгат **98** (Рисунок 30) был проанализирован с помощью масс-спектрометрии МАЛДИ. В результате был зарегистрирован молекулярный ион конъюгата (M+H) (Рисунок 31, 32).

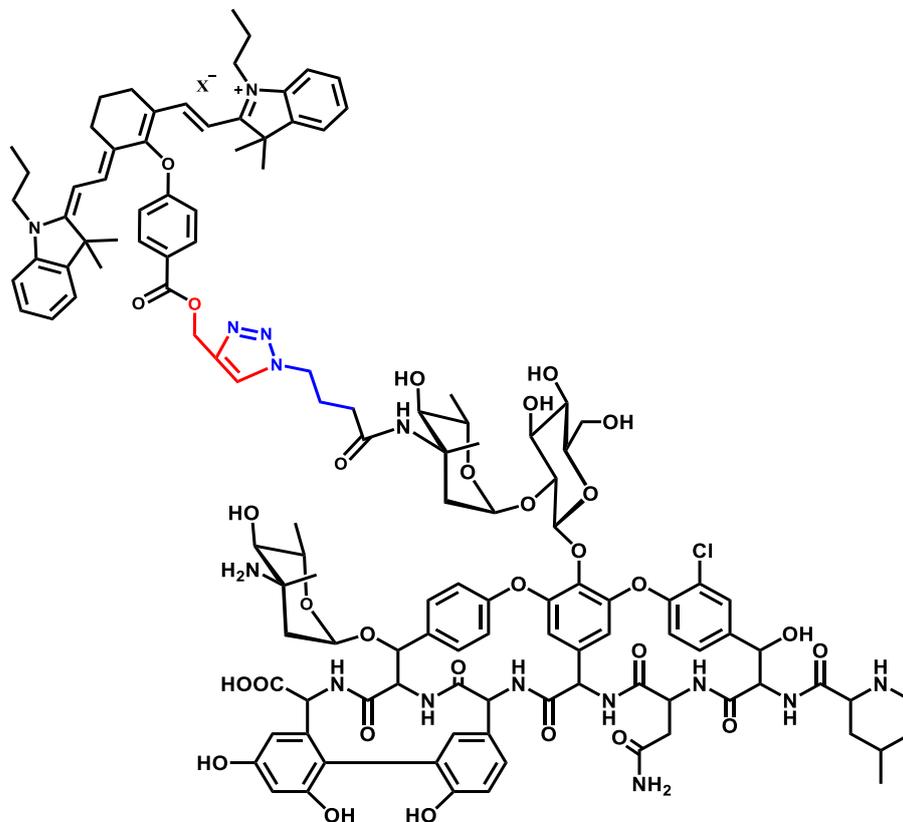


Рисунок 30. Конъюгат **98** красителя **83** с модифицированным N₃-группой эремомидином.

Ниже приведен общий вид спектра МАЛДИ конъюгата **98** (Рисунок 31).

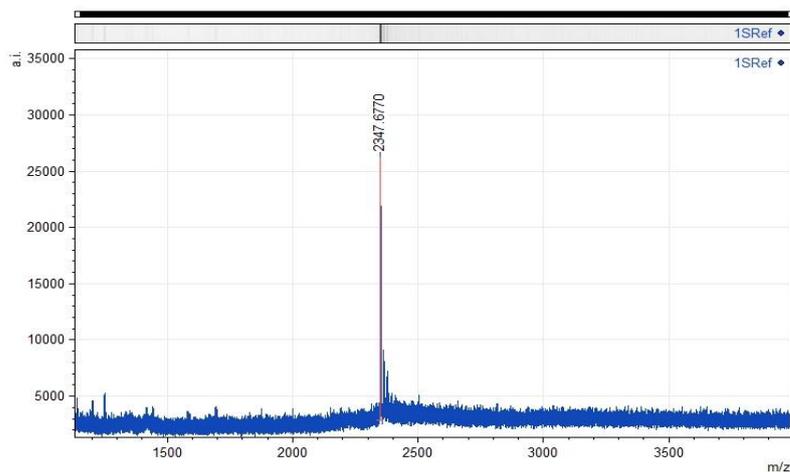


Рисунок 31. MALDI-масс-спектр конъюгата **98**.

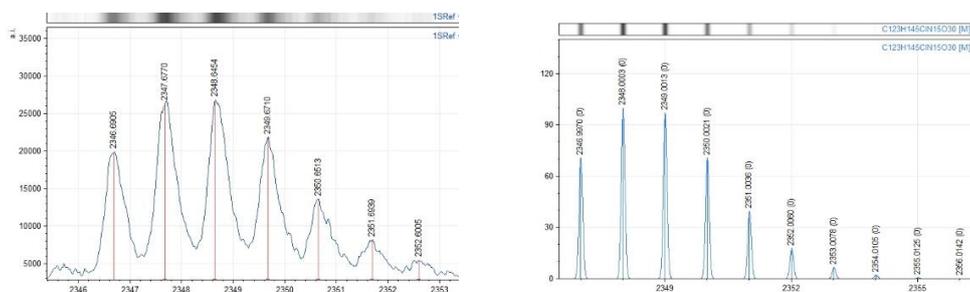


Рисунок 32. MALDI-масс-спектр конъюгата **98** (общий вид: слева – экспериментальные данные, справа – расчетные).

На примере карбоцианинов **58** и **59** была показана возможность проведения клик-реакции с модифицированным N_3 -группой даунорубицином в тех же условиях. Полученные конъюгаты **99** и **100** изображены на рисунке 33.

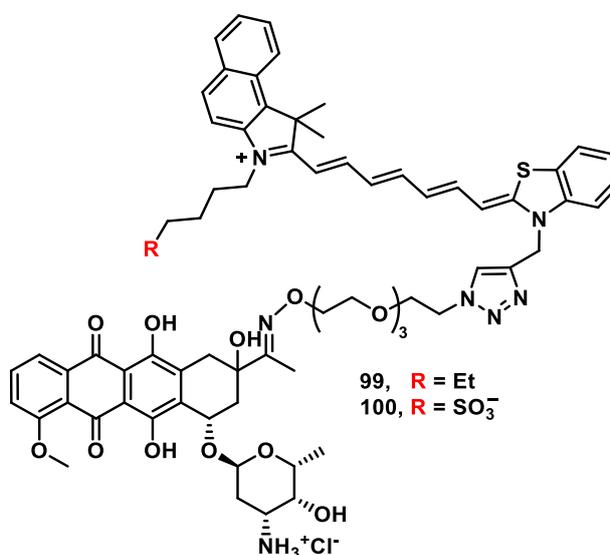


Рисунок 33. Структура конъюгатов **99** и **100** на основе даунорубицина и карбоцианинов **58, 59**.

Сравнение цитотоксичности полученных конъюгатов показало, что сочетание лекарства с липофильным красителем **58** не влияет на его цитотоксичность, в то время как – с гидрофильным карбоцианином **59**, содержащим сульфонатную группу приводит к потере цитотоксичности к ряду клеточных линий.

Таким образом, на примере трикарбоцианинов, содержащих алкинильные фрагменты в заместителях по мезо-положению полиметинового линкера и у атома азота бензотиазольного фрагмента **83, 58** и **59**, была показана возможность создания конъюгатов с антибиотиками, модифицированными N_3 -группой, **98-100** с помощью клик-реакций. Было установлено, что очистка от немодифицированного красителя **77** более эффективна уже на стадии выделения конъюгата.

3.7 Исследование взаимодействия флуорофоров, модифицированных ω -аминокислотами, и конъюгатов на их основе с клетками⁸

Проникающие пептиды (СРР) современного поколения являются удобным инструментом внутриклеточного транспорта без участия мембранных белков и в тоже время специфичны к определенным мишеням. Создание конъюгатов проникающих пептидов с флуорофорами являются перспективным направлением для создания эффективных визуализаторов внутриклеточных процессов *in vivo*.

В рамках данного исследования была поставлена задача создать инструмент для визуализации процесса проникновения СРР через клеточную мембрану. Для решения этой проблемы необходимо было конъюгировать пептид с флуорофором, который самостоятельно не проникает в клетки. Оценка эффективности проникновения флуорофоров в клетки была выполнена на серии трикарбоцианинов **85-92**, модифицированных ω -аминокислотами и их конъюгатов с модельными нефункциональными пептидами (Таблица 36).

Исследования флуоресценции и цитометрические исследования были проведены в Российском научном центре Рентгенорадиологии.⁹

Схема 69

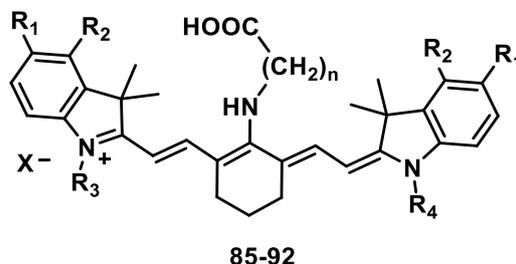


Таблица 36. Трикарбоцианины, модифицированные аминокислотами по мезо-положению **85-92**.

№	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	X	n
85	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	2
86	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	I	2
87	H	(CH ₂) ₄ COOEt	(CH ₂) ₄ COOEt	I	2
88	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ COOEt	(CH ₂) ₄ COOEt	I	2
89	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	2
90	(-CH=CH-) ₂	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	2
91	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ COOEt	-	2
92	H	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	(CH ₂) ₄ SO ₃ ⁻	-	3

⁸ Данная часть работы была выполнена в рамках дипломной работы К.Г. Аминулла под руководством Т.А. Подругиной и И.А. Дорошенко.

⁹ Исследования были проведены совместно с к.м.н. Т.М. Кулинич.

На базе соединений **85-92** была исследована зависимость интенсивности флуоресценции красителей на клетках линии аденокарциномы толстой кишки человека НСТ116. Из результатов, представленных в таблице 37, видно, что наименьшая интенсивность флуоресценции наблюдалась у клеток, обработанных карбоцианином **89** с двумя алкилсульфонатными группами и суммарным отрицательным зарядом молекулы. Для флуорофоров **85-88** с карбоэтоксиалкильными и алкильными группами у кватернизированных атомов азота получены самые высокие значения интенсивности флуоресценции. Кроме карбоцианина **89** две сульфонатные группы содержат его бензоаналог **90** и карбоцианин **92**, модифицированный γ -аминомасляной кислотой вместо β -аланина, однако они уже имеют выраженную интенсивность флуоресценции отмытых клеток. В тоже время соединение **91**, содержащее только одну сульфонатную группу и имеющее скомпенсированный общий заряд молекулы, взаимодействует с клетками в большей степени, чем соединение **89**, но хуже, чем флуорофоры **90** и **92**.

Таблица 37. Измерение интенсивности флуоресценции соединений **85-92** на клеточной линии НСТ116 при $\lambda_{fl} = 730-760$ нм.

	Интенсивность флуоресценции субстрата до отмывки	Интенсивность флуоресценции отмытого субстрата	Интенсивность флуоресценции среды
85	1288686	426359	1602159
86	3003480	310031	403831
87	566758	453379	1095088
88	2127938	448620	84214
89	1462141	5411	1462837
90	468910	270424	546280
91	1626891	78301	1912682
92	3381105	195296	3031696

На рисунке 34 представлены фотографии флуоресцирующих клеток до и после отмывания.

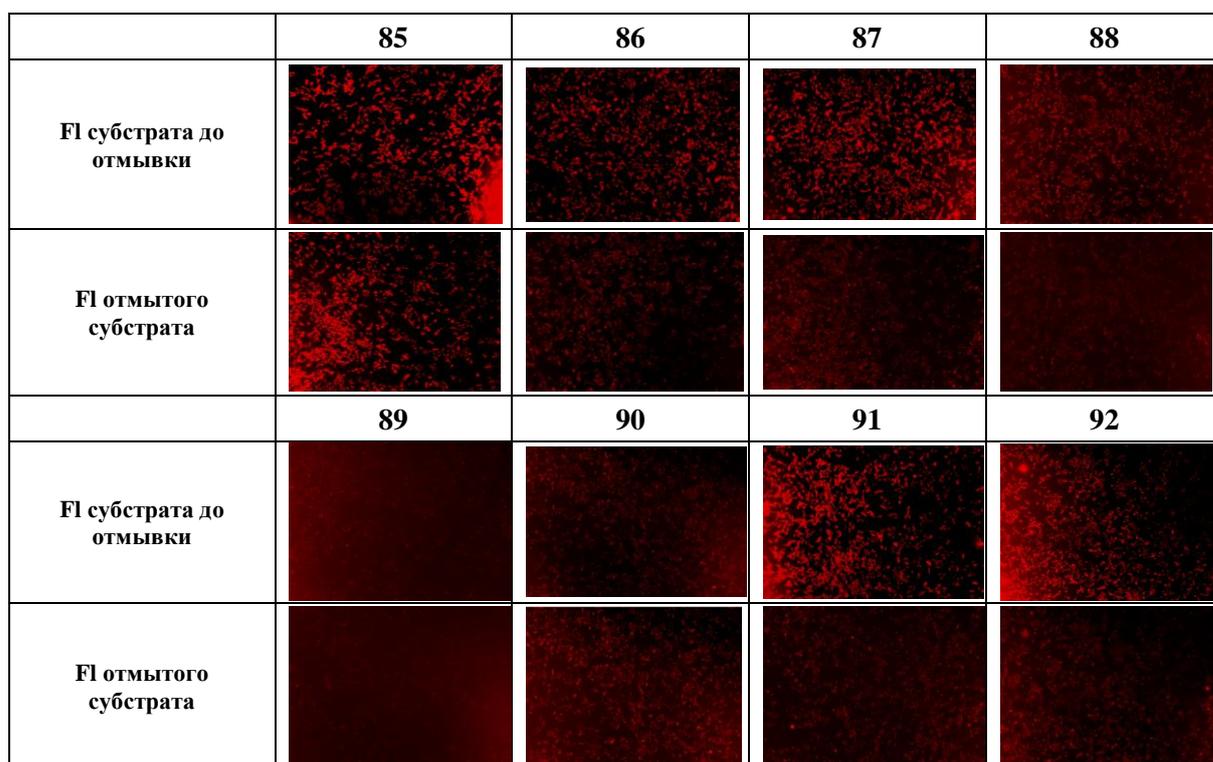


Рисунок 34. Фотографии флуоресцирующих клеток линии НСТ116 при $\lambda_{fl} = 730-760$ нм.

Образцы до и после отмывки исследовали с помощью флуоресцентного микроскопа Zeiss Axio Observer Z1 (увеличение 25x) для установления факта проникновения флуорофора внутрь клетки (Рисунок 35).

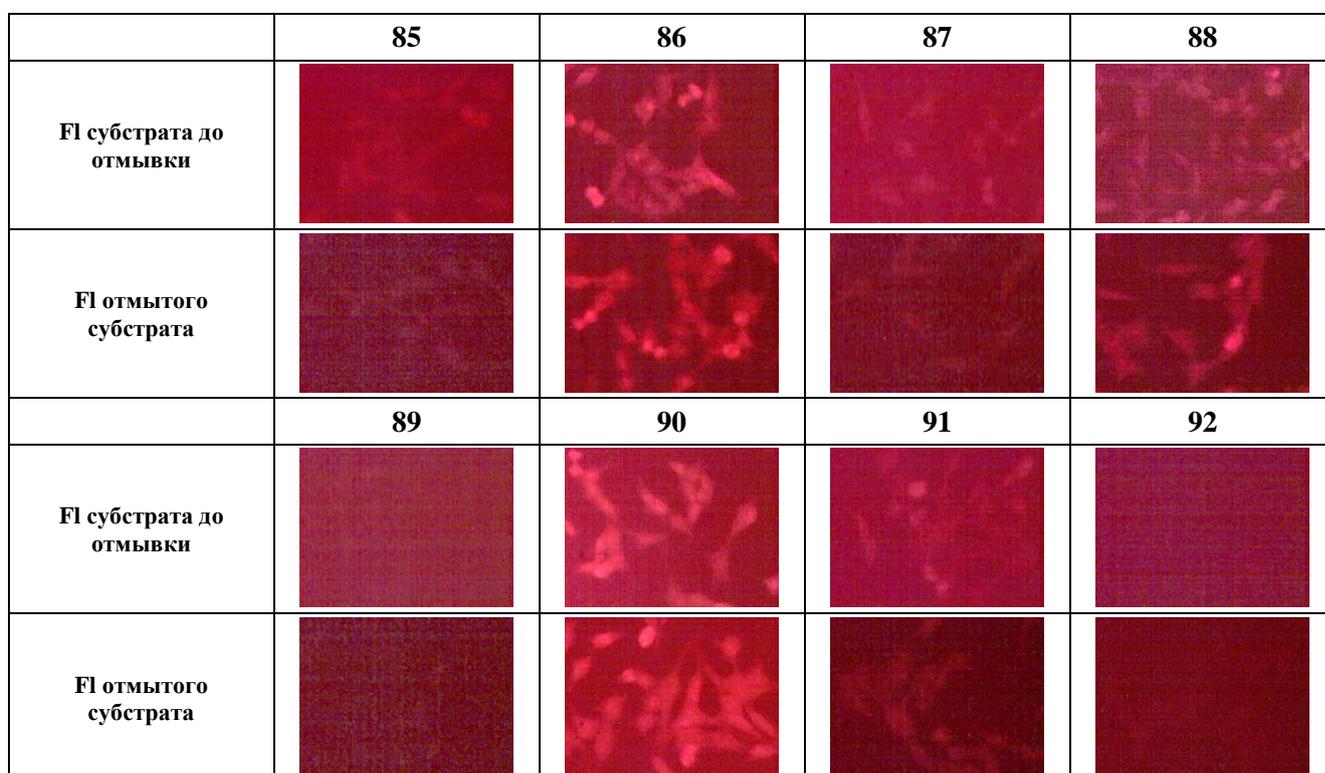


Рисунок 35. Фотографии клеток после взаимодействия с субстратом в флуоресцентном микроскопе при $\lambda_{fl} = 630$ нм

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что карбоцианины с гидрофобными заместителями **85-88** проникают внутрь раковых клеток. Красители **89** и **92**, содержащие две сульфонатные группы в клетки практически не проникают, что согласуется с результатами представленными на рисунке 34. В тоже время флуорофор **91**, содержащий только одну сульфонатную группу проникает лишь частично, а соединение **90** с расширенной ароматической системой, не смотря на наличие двух сульфонатных групп, в клетку проникает.

На следующем этапе был проведен сравнительный анализ кинетики взаимодействия флуорофоров **85-92** с клетками НСТ116 на проточном цитометре. Результаты представлены на рисунке 36.

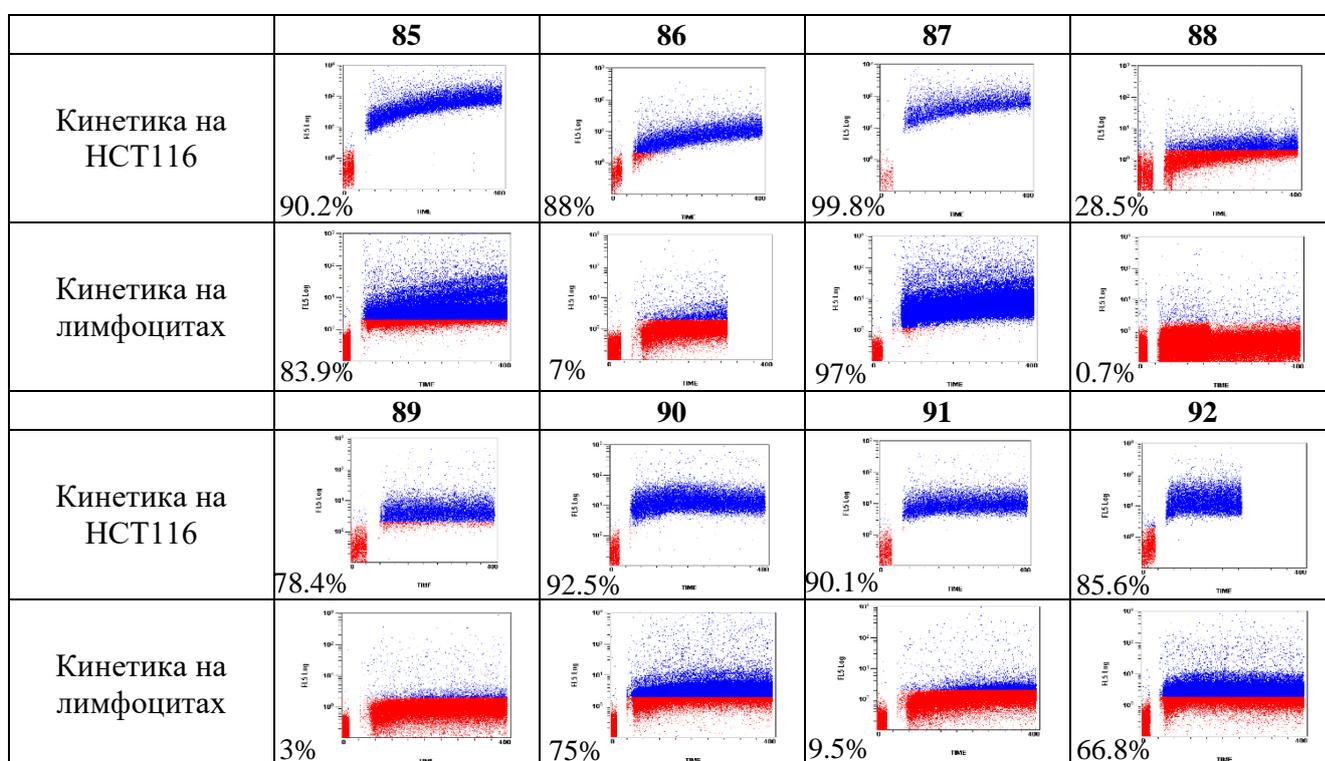


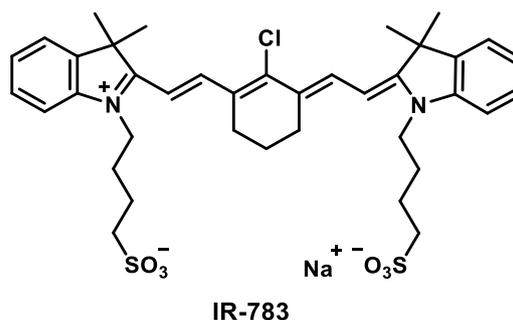
Рисунок 36. Исследование кинетики взаимодействия клеток с флуорофорами **85-92** на проточном цитометре при $\lambda_{fl} = 755$ нм.

Наличие логарифмической зависимости на кинетических графиках свидетельствует о том, что флуорофор проникает сквозь клеточную мембрану, а отсутствие такой зависимости говорит о том, что краситель через мембрану не проникает. Полученные результаты свидетельствуют о том, что карбоцианины **85** и **87** окрашивают более чем на 80% как опухолевые клетки, так и лимфоциты (ярко выраженная логарифмическая зависимость и в том, и в другом случае). Флуорофор **86**, являющийся бензоаналогом трикарбоцианина **85**, проявил селективность к опухолевым клеткам. Соединения **89** и **91** не проникают в сами клетки (наблюдается отсутствие логарифмической зависимости), однако

оκκюдируются на их поверхности (78%), при этом практически не взаимодействуя с лимфоцитами (менее 10%), что говорит о селективности данных соединений к клеткам НСТ116. Соединения **90** и **92** теряют избирательность к опухолевым клеткам, не значительно накапливаясь в них (слабо выраженная логарифмическая зависимость).

Обобщая результаты проведенных исследований можно сделать вывод, что соединение **89** полностью удовлетворяет поставленной задаче – выбор флуорофора, который самостоятельно не проникает в клетки как раковые, так и лимфоцитов [121]. Это соединение было выбрано, как основа для дальнейшего создания конъюгатов с пептидами. Следует отметить, что в литературе приводятся данные о том, что базовый трикарбоцианин, коммерчески доступный IR-783 (Схема 70), немодифицированный β-аланином, но содержащий две сульфонатные группы в заместителях при атомах азота (см. литобзор стр. 11 соединение 1) проникает в раковые клетки нескольких клеточных линий и не проникает в здоровые клетки [5].

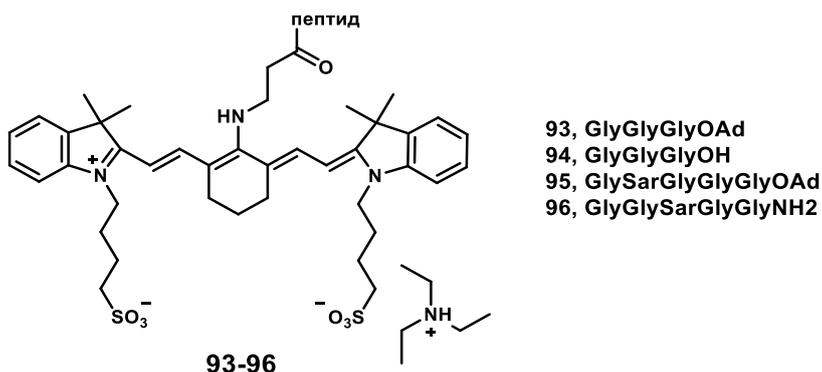
Схема 70



Изменение характера взаимодействия с клетками при такой модификации может быть связано с введением донорного заместителя в мезо-положение полиметиновой цепи и с наличием дополнительной карбоксильной функции в этом заместителе.

На основе трикарбоцианина **89** была синтезирована серия неописанных ранее конъюгатов **93-96** с нефункциональными пептидами (Схема 71).

Схема 71



На примере конъюгата **96** была проведена та же серия исследований, что и на для соединения **89**. Данные по интенсивности флуоресценции субстрата клеток НСТ116 с конъюгатом **96** после отмывки показало, что ковалентное связывание соединения **89** с нефункциональным пептидом не влияет на характер взаимодействия флуорофора с клетками (Рисунки 37, 38).

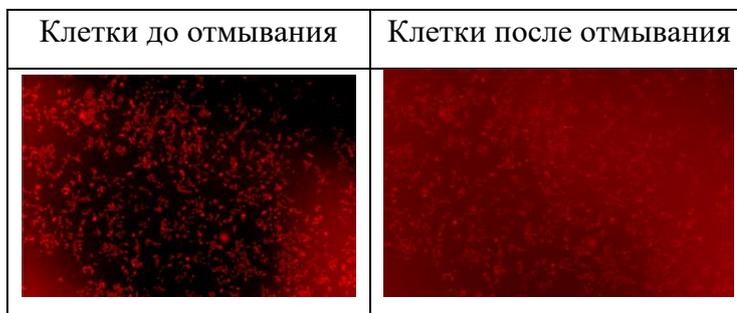


Рисунок 37. Фотографии флуоресцирующих клеток НСТ116 до и после отмывания при $\lambda_{fl} = 730-760$ нм.



Рисунок 38. Фотографии клеток НСТ116 до и после отмывания во флуоресцентном микроскопе при $\lambda_{fl} = 630$ нм.

Результаты исследования кинетики взаимодействия на проточном цитометре в сравнении с лимфоцитами свидетельствуют о том, что соединение **96** также проявляет селективность к опухолевым клеткам (75% клеток за 250 секунд), по сравнению с лимфоцитами (7.3% за 400 секунд) (Рисунок 39).

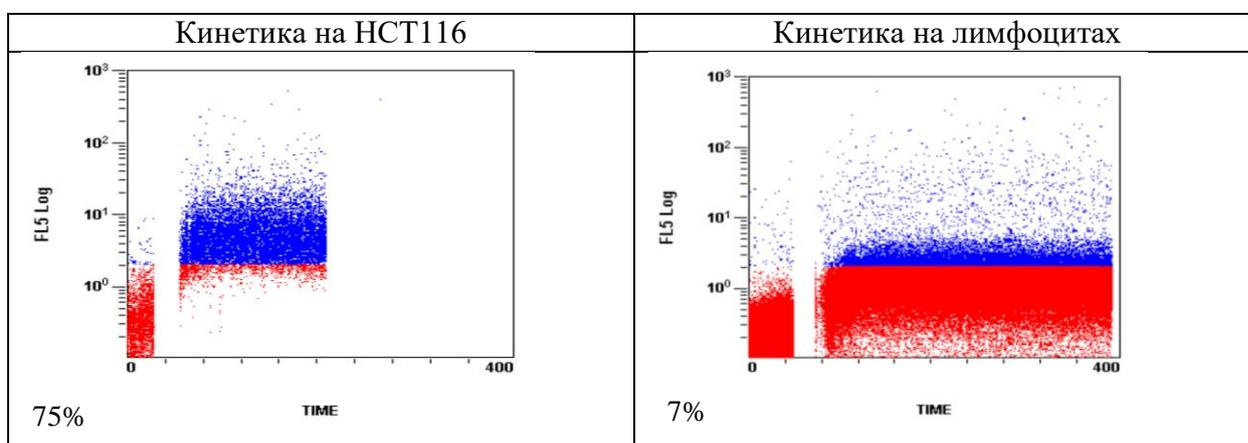


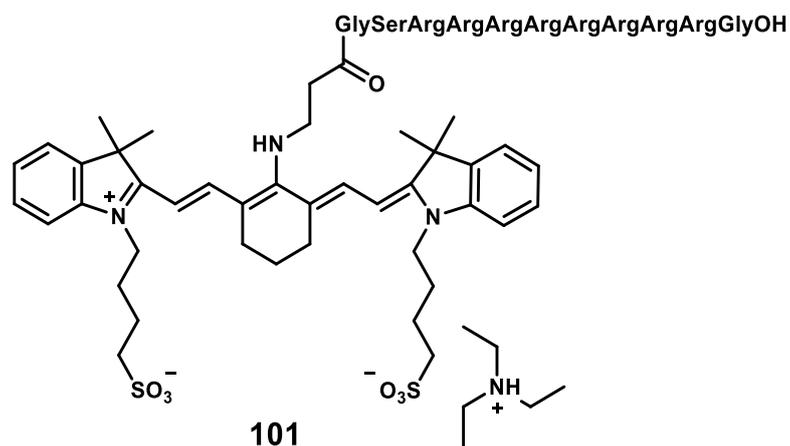
Рисунок 39. Исследование кинетики на проточном цитометре.

Отсутствие логарифмического роста на кинетической кривой свидетельствует о том, что конъюгат **96** окклюдируется на поверхности, но в клетку не проникает.

Таким образом конъюгат **96** также, как и флуорофор **89** практически не проникает через мембрану клетки и селективен по отношению к опухолевым клеткам, следовательно, увеличение аминокислотной последовательности за счет нефункциональных аминокислот не влияет на характер взаимодействия флуорофора с клеткой .

Используя разработанный подход к синтезу конъюгатов трикарбоцианинов, модифицированных ω -аминокислотами, с нефункциональными пептидами, мы ввели в реакцию с трикарбоцианином **89** проникающий пептид GlySerArgArgArgArgArgArgArgGlyOH. В результате было выделено соединение **101** (Схема 72).

Схема 72



Образование соединения **103** подтверждается данными спектра ЯМР ^1H , в котором присутствуют ключевые сигналы метиленовых и метиновых групп при атомах азота конъюгата: мультиплет на 16 протонов в области 2.81-2.90 м.д., соответствующие метиленовым группам при атомах азота аргинина; мультиплет на 5 протонов при 3.53-3.57 м.д., относящийся к СН-группам аргининовых и серинового фрагментов; мультиплет на 12 протонов в области 3.92-4.01 м.д., относящийся к CH_2 - группам при атомах азота гетероциклов, NH-CH_2 группе β -аланина и CH_2 -группам двух глицинов и серина, и мультиплет на 4 протона СН-групп аргининовых фрагментов в области 4.29-4.30 м.д.

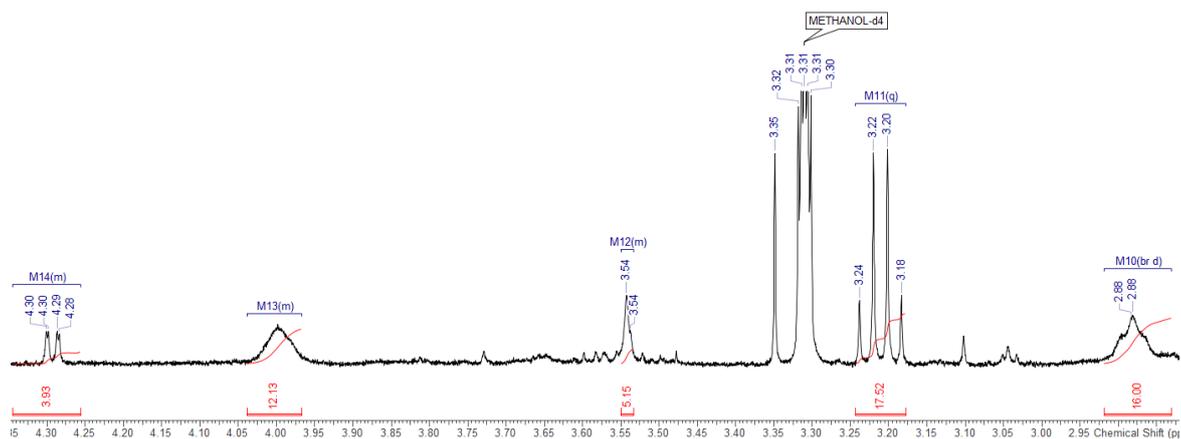


Рисунок 40. Спектр ЯМР ^1H соединения **101**.

В результате проведенных исследований был найден путь создания перспективной основы для конъюгирования трикарбоцианинов с пептидными векторами. Установлено, что необходимой структурной базой для создания целевых карбоцианинов с проникающими пептидами является наличие индоленинового скелета, содержащего не менее двух алкилсульфонатных групп в заместителях при кватернизованных атомах азота и модифицированного β -аланином по мезо-положению конформационно закрепленной полиметиновой цепи.

4. Экспериментальная часть¹⁰

4.1 Общие сведения

Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{31}P регистрировали на спектрометрах «Bruker AM-400» (рабочие частоты 400 и 100 МГц, соответственно), Agilent 400-MR (рабочие частоты 400, 100 МГц соответственно), «Bruker Avance 500» (500 и 125 МГц) и «Bruker Avance 600» (600 и 150 МГц). В качестве внутреннего стандарта использовали сигналы растворителя (^1H : CDCl_3 , $\delta = 7.26$ м.д., CD_2Cl_2 , $\delta = 5.32$ м.д., CD_3CN , $\delta = 1.94$ м.д., DMSO-d_6 , $\delta = 2.49$ м.д., CD_3OD , $\delta = 3.31$ м.д., D_2O , $\delta = 4.79$ м.д., ^{13}C : CDCl_3 , $\delta = 77.1$ м.д., CD_3CN , $\delta = 1.4, 118.7$ м.д., CD_2Cl_2 , $\delta = 54.0$ м.д., CD_3OD , $\delta = 49.0$ м.д., DMSO-d_6 , $\delta = 39.51$ м.д., для ^{31}P – 85% H_3PO_4).

ИК спектры регистрировали на приборе UR-20 и на спектрометре с преобразованием Фурье «Nicolet IR 200» («Thermo Scientific») с использованием приставки внутреннего отражения с элементом НПВО – нарушенное полное внутреннее отражение (ATR) из ZnSe с углом падения 45° . Разрешение 4 см^{-1} , число сканов равно 20.

Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на приборах Bruker micrOTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI) и «Shimadzu IT-TOF» с насосом Shimadzu LC-20AD с ионизацией пробы электрораспылением при атмосферном давлении (AP-ESI) в режиме регистрации положительных или отрицательных ионов (массанализатор типа «ионная ловушка»). На Bruker micrOTOF II 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 (ElectrosprayCalibrantSolution, Fluka). Использовался шприцевой ввод вещества

¹⁰ При работе над данным разделом работы использованы материалы следующих публикаций автора, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Дорошенко И.А. Синтез новых флуорофоров трикарбоцианинового ряда, содержащих фосфонатные группы. Дипломная работа. МГУ, Москва, 2017;

Аминулла К.Г. Направленный синтез конформационно закрепленных трикарбоцианиновых красителей для создания конъюгатов с терапевтическими агентами с целью визуализации процесса проникновения в клетку. Дипломная работа. МГУ, Москва, 2021;

Podrugina T.A., Temnov V.V., Doroshenko I.A., Kuzmin V.A., Nekipelova T.D., Proskurnina M.V., Zefirov N.S. Synthesis of advanced fluorescent probes — water-soluble symmetrical tricarbocyanines with phosphonate groups // Russian Chemical Bulletin, 2016, Vol. 65, No. 11, P. 2722-2728;

Podrugina T.A., Pavlova A.S., Doroshenko I.A., Kuz'min V.A., Kostyukov A.A., Shtil' A.A. Synthesis and photophysical properties of conformationally fixed tricarbocyanines with phosphonate groups // Russian Chemical Bulletin, 2018, Vol. 67, No. 5, P. 806-814;

Doroshenko I.A., Aminulla K.G., Azev V.N., Kulnich T.M., Vasilichin V.A., Shtil A.A., Podrugina T.A. Synthesis of modified conformationally fixed tricarbocyanine dyes for conjugation with therapeutic agents // Mendeleev Communications, 2021, Vol. 31, No. 5, P. 615-617;

Zakharenkova S.A., Katkova E.A., Doroshenko I.A., Kriveleva A.S., Lebedeva A.N., Vidinchuk T.A., Shik A.V., Abramchuk S.S., Podrugina T.A., Beklemishev M.K. Aggregation-based fluorescence amplification strategy: “turn-on” sensing of aminoglycosides using near-IR carbocyanine dyes and pre-micellar surfactants // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, Vol. 247, P. 119109.

для растворов в ацетонитриле, метаноле или воде, скорость потока — 3 мкл/мин. Газ-распылитель — азот (4 л/мин), температура интерфейса—180 °С. На приборе Shimadzu IT-TOF были следующие условия регистрации: скорость подвижной фазы 0.3 мл•мин⁻¹, растворители — ацетонитрил, метанол, этанол.

Электронные спектры поглощения регистрировали на однолучевом спектрофотометре Hitachi U-5100 (спектральный диапазон 190-1100 нм).

Измерение интенсивности флуоресценции проводили на микропланшетном мультidetекторе Molecular Devices SpectraMax i3 (спектральный диапазон 300-850 нм) и на флуориметре Cary Eclipse. Эксперимент проводили в культуральной среде (DMEM с глюкозой 4,5 г дм⁻³ с глутамином) с клетками HCT116: после отделения клеток от структуры флуорофора и в клетках после проведения процедуры отмывки (удаление среды, содержащей флуорофор, промывка, прикрепленных ко дну матраса клеток, фосфатно-солевым буфером, добавление к клеткам новой питательной среды, не содержащей флуорофор). 10 мкл соединения с концентрацией, **85** – 1.4×10^{-4} моль дм⁻³, **86** – 2.9×10^{-4} моль дм⁻³, **87** – 1.2×10^{-4} моль дм⁻³, **88** – 1.1×10^{-3} моль дм⁻³, **89** – 1.3×10^{-4} моль дм⁻³, **90** – 1.7×10^{-4} моль дм⁻³, **91** – 1.3×10^{-4} моль дм⁻³, **92** – 1.1×10^{-4} моль дм⁻³ и **96** – 0.8×10^{-4} моль дм⁻³ в ДМСО закапывали в 100 мкл среды с клеточной линией и дополнительно регистрировали величину флуоресценции субстратов.

Измерение времени жизни флуоресценции было выполнено на установке однофотонного счета PicoQuant300 при фотовозбуждении лазером 810 нм и детектировании флуоресценции при 860 нм.

Видимую флуоресценцию растворов красителей с аналитами проводили в 96-луночных полистирольных планшетах (Thermo Scientific Nunc F96 MicroWell, белый, каталожный № 136101) регистрировали с помощью TLC Visualizer 2 (Camag, Швеция) с программным обеспечением VisionCats. В этом приборе спектр отражения возбуждается источником, излучающим на длине волны 254 нм или 366 нм, и регистрируется встроенной цифровой камерой. Флуоресценцию в ближнем ИК-диапазоне в 96-луночных планшетах регистрировали с помощью установки, содержащей светодиодный источник (одиннадцать красных светодиодов мощностью 3-Вт, максимум излучения 660 нм; Minifermer, Москва, Россия) и цифровую камеру NIR (модернизированный Nikon D80 с фильтром, пропускающим свет. с длинами волн более 700 нм). Интенсивность флуоресценции не менялась в течение нескольких часов после смешивания растворов; измерения проводились сразу после смешивания.

Фотографии клеток были сделаны инвертированным флуоресцентным микроскопом Zeiss Axio Observer Z1 (увеличение 25x) при длине волны флуоресценции $\lambda_{fl} = 630$ нм.

Цитометрические исследования проводились на проточном цитометре Beckman Coulter Cytomics FC 500 при длине волны флуоресценции $\lambda_{fl} = 755$ нм.

Контроль за ходом реакции и чистой хроматографического разделения веществ осуществляли с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах Merck TLC Silicagel 60 F₂₅₄ и Macherey-Nagel ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄.

Хроматографическое разделение проводили на колонках и на препаративном хроматографе Biotage Isolera Prime с силикагелем марки Macherey-Nagel Kieselgel 60 0,04-0,063 mm/230-400 mesh ASTM, силикагелем марки Fluka C-18 (размер пор 90 Å), силикагелем марки Interchim puriflash 60 si hp 50 µm, силикагелем марки Merck Silica gel 60 и с окисью алюминия марки Macherey-Nagel Aluminiumoxid 90 neutral.

Список коммерчески доступных соединений.

4-аминобензойная кислота, метилйодид, 1-бромпропан, 1-йодгексан, 1-хлордекан, 11-бромундекановая кислота, 5-бромвалерьяновая кислота, 2-бромацетонитрил, 1,3-дибромпропан, 1,4-бутансульфон, 1-бромпентановая кислота, 2,3,3-триметил-3H-индол, 1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол, 2-метилбензо[d]тиазол, β-аланин, γ-аминомасляная кислота, пара-гидроксибензальдегид, 4-гидроксифенилуксусная кислота, 2-метилпиридин, 4-метилпиридин, 4-гидроксибензойная кислота, 2-метилхинолин, 4-метилхинолин, N-((1E,3E)-3-(фенилимино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорид, N,N'-дифенилформимидамид гидрохлорид.

Этил 5-бромпентаноат был синтезирован по описанной методике [145].

Список соединений (пептидов) предоставленных институтом биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН.

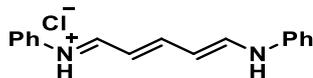
GlyGlyGlyOH, GlyGlyGlyOAd, GlySarGlyGlyGlyOAd, GlyGlySarGlyGlyNH₂, GlySerArgArgArgArgArgArgArgArgGlyOH

Исследования флуоресценции и цитометрические исследования были проведены совместно с Российским научным центром Рентгенорадиологии.

Исследования цитотоксичности проводили в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина под руководством доктора медицинских наук Штиля Александра Альбертовича.

4.2 Синтез исходных соединений

N-[5-(фенилимино)пента-1,3-диен-1-ил]анилид хлорид (3) [74]



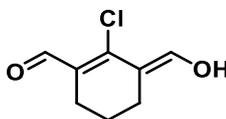
2.69 г (9.5 ммоль) N-(2,4-динитрофенил)пиридиний хлорида растворяли в кипящем этаноле и прикапывали 2.67 мл (28.7 ммоль) анилина. Реакционную смесь кипятили в течение 1 часа. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход 1.56 г (57%), красно-фиолетовый порошок, $T_{пл} = 170-175^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 6.39 (т, $^3J_{\text{HH}} = 12.3$, 2 H, CH), 7.14 (д, $^3J_{\text{HH}} = 9.5$, 1 H, CH), 7.21 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$, аром.), 7.41 - 7.49 (м, 10H, аром.), 7.84 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.1$, CH), 8.17 (дд, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.4$, $^5J_{\text{HH}} = 2.6$, CH), 8.61 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$, аром.), 8.79 (д, 1 H, $^5J_{\text{HH}} = 2.5$, аром.), 12.34 (уш. с., 2 H, NH).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.): 109.84 (CH), 117.99 (CH), 119.25, 120.27, 123.88, 126.01, 129.77, 130.23, 135.55, 139.33 (все аром.), 150.32 (CH), 155.86 (CH), 163.49 (CH).

2-хлорциклогексен-1,3-дикарбальдегид (4) [75; 76]



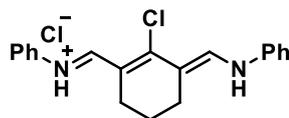
К охлаждённому раствору 30 мл (0.39 моль) диметилформамида в 30 мл дихлорметане прибавляли по каплям при перемешивании 26 мл (0.285 моль) перегнанный оксихлорид фосфора в течение 30 мин при температуре ниже 5°C . После этого добавляли 8 мл (0.075 моль) циклогексанона. Полученную смесь кипятили в течение 3 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь выливали в воду со льдом и оставили на ночь. Образовавшийся зеленовато-желтый осадок отфильтровывали и промывали ледяной водой до темно-желтой окраски.

Выход 10.05 г (77%), темно-желтый порошок, $T_{пл} = 104^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 1.49-1.67 (м, 2 H, CH_2), 2.35 (т, 4H, $^3J_{\text{HH}} = 5.81$, CH_2), 8.79 (уш. с., 2 H, CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 18.50 ($-\text{CH}_2-$), 23.67 ($-\text{CH}_2-$), 23.81 ($-\text{CH}_2-$), 56.67 ($>\text{C}=\text{O}$), 109.99 ($>\text{C}=\text{O}$), 190.38 (C-Cl), 192.08 ($=\text{CH}-\text{OH}$), 197.22 (CHO).

N-((E)-(2-хлоро-3-((Z)-(фенилимино)метил)циклогекс-2-ен-1-илиден)метил)анилин гидрохлорид (5) [146]

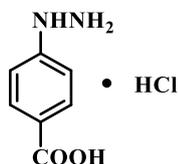


11 мл (0.12 моль) POCl_3 по каплям добавляли к 13 мл (0.17 моль) безводному ДМФА при 0°C . Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, после чего добавляли 5.5 мл (0.053 моль) циклогексанона и кипятили 1 час. После охлаждения до комнатной температуры добавляли 18 мл смеси анилина и этанола (объемное соотношение 1:1) и дополнительно перемешивали в течение 30 мин. Затем выливали реакционную смесь в 110 мл концентрированной соляной кислоты. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре водой и диэтиловым эфиром и сушили в вакууме.

Выход 3.80 г (20%), бордовый порошок, $T_{\text{пл}} = 200^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 1.63-1.68 (м, 2 H, CH_2), 2.51-2.56 (м, 4 H, CH_2), 6.96 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, аром), 7.18 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, аром), 7.25-7.32 (м, 3 H, аром), 7.45 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, аром), 7.50-7.56 (м, 2 H, аром), 7.73 (д, $^3J_{\text{HH}} = 11.7$, 1 H, $-\text{CH}=\text{N}$), 9.04 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$, $-\text{CH}=\text{N}$), 10.01 (с, 1 H, NH).

Гидрохлорид 4-гидразинбензойной кислоты (6) [80]



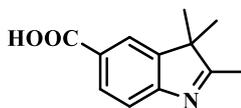
4.9 г (30.0 ммоль) 4-аминобензойной кислоты растворяли в 28 мл воды. Охлаждали до 0°C и на протяжении всей реакции следили, что температура не поднималась. Добавляли 32.4 мл концентрированной соляной кислоты. Затем в течение 30 минут прикапывали свежеприготовленный раствор 2.1 г (24.4 ммоль) нитрита натрия в 5 мл воды. Полученную смесь перемешивали в течение 15 минут, после чего добавляли 60 мл воды.

Приготавливали насыщенный раствор сульфита натрия в 240 мл воды и охлаждали его до 0°C . Соль диазония добавляли аликвотами по 3 мл в течение 15 минут при перемешивании (температура не превышала 10°C). После этого к полученному раствору добавляли 70 мл концентрированной соляной кислоты и оставляли раствор отстаиваться на неделю. Затем добавляли еще 210 мл концентрированной соляной кислоты, выпавший осадок отфильтровывали, промывали холодной водой, высушивали.

Выход: 5.3 г (81%), белый порошок, $T_{\text{пл}} = 252 - 254^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 7.01 (д, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$, аром.), 7.86 (д, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$, аром.), 10.57 (уш. с., 3 Н, NHNH_2).

2,3,3-триметил-3H-индол-5-карбоновая кислота (7) [81]

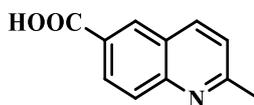


К 5.3 г (34.7 ммоль) гидрохлорида 4-гидразинбензойной кислоты прилили 37.5 мл уксусной кислоты. Полученную смесь нагрели до частичного растворения. Затем охлаждали до комнатной температуры и добавляли 3.6 мл (33.7 ммоль) 3-метилбутан-2-она. Смесь кипятили в течение 12 часов, затем охлаждали до комнатной температуры и помещали в баню со льдом. Добавляли раствор карбоната натрия до нейтрального pH. Выпавший осадок отфильтровывали и просушили.

Выход: 1.80 г (26%), порошок цвета охры, $T_{\text{пл}} = 260^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.35 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.36 (с, 3 Н, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 7.59 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, аром.), 7.99 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, аром.), 8.05 (с, 1 Н, аром.).

2-метилхинолин-6-карбоновая кислота (8) [82]



2.00 г (14.6 ммоль) 4-аминобензойной кислоты растворяли в 6 мл концентрированной соляной кислоты. В течение 30 минут прикапывали 1.5 мл (*E*)-бет-2-енала и реакционную смесь кипятили в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры к раствору добавляли раствор аммиака до $\text{pH} = 4$, при этом образовался осадок. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали водой.

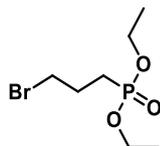
Выход: 1.80 г (64%), коричневый порошок, $T_{\text{пл}} = 289^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 2.68 (с, 3 Н, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 6.54 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.), 7.97 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$, аром.), 8.16 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$, аром.), 8.43 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.), 8.60 (с, 1 Н, аром.).

Синтез ω -бромфосфонатов 9a-c [83]:

К 0.20 моль свежеперегнанного ω -дибромалкана, нагретого до 90°C медленно по каплям прибавляли 0.05 моль триэтилфосфита и реакционную смесь выдерживали при этой температуре 12 часов. Соответствующий бромфосфонат выделяли фракционированием в вакууме, отгоняя сначала избыток дибромалкана, а затем целевой бромфосфонат.

3-бромпропилфосфонат (9a)

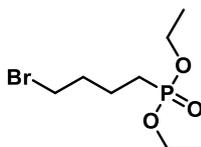


Выход 62%.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.23-1.27 (м, 6 Н, OCH_2CH_3) 1.77-1.87 (м, 2 Н, CH_2), 2.01-2.14 (м, 2 Н, CH_2P), 3.40 (м, 2 Н, CH_2Br), 3.96-4.09 (м, 4 Н, OCH_2).

Спектр ЯМР ^{31}P (CDCl_3 , δ , м.д.): 30.49.

4-бромбутилфосфонат (9b)

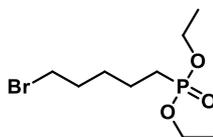


Выход 60 %.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.23 (т, 6 Н, $^3J_{\text{HH}}=7.1$, OCH_2CH_3), 1.60-1.72 (м, 4 Н, CH_2), 1.82-1.90 (м, 2 Н, CH_2P), 3.31 (м, 2 Н, CH_2Br), 3.94-4.07 (м, 4 Н, OCH_2).

Спектр ЯМР ^{31}P (CDCl_3 , δ , м.д.): 31.31.

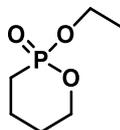
5-Бромпентилфосфонат (9c)



Выход 65%.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.27 (т, 6 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$, OCH_2CH_3), 1.44-1.73 (м, 6 Н, CH_2), 1.82 (дд, 2 Н, $^2J_{\text{HP}} = 7.1$, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$, CH_2P), 3.35 (т, 2 Н $^3J_{\text{HH}} = 6.7$, CH_2Br), 3.96-4.11 (м, 4 Н, OCH_2). Спектр ЯМР ^{31}P (CDCl_3 , δ , м.д.): 31.92.

1,2-Окса-2-этоксифосфоринан-2-оксид (10) [84]

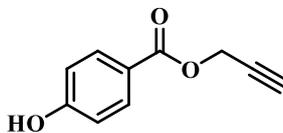


К 12 мл (0.1 моль) 1,4-дибромбутана при перемешивании в течение 10 минут прикапывали 5.8 мл (0.033 моль) триэтилфосфита. Смесь нагревали при 100 °С в течение 48 ч, затем при 200 °С в течение 2 ч. Продукт перегнали при 165 °С/3 мм.рт.ст. Выход 1.94 г (36%).

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.23-1.28 (м, 3 Н, CH_3), 1.60-1.84 (м, 6 Н, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 3.99-4.09, 4.17-4.22 (оба м., 4 Н, OCH_2 , CH_2OP).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 16.37 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.8$, CH_3), 21.87 (д, $^2J_{\text{CP}} = 8.1$, PCH_2CH_2), 23.29 (д, $^1J_{\text{CP}} = 128.8$, CH_2P), 26.15 (д, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$, OCH_2CH_2), 60.76, 69.89 (оба д, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$, OCH_2 , OCH_2 цикл). Спектр ЯМР ^{31}P (CDCl_3 , δ , м.д.): 24.26.

Проп-2-ин-1-ил 4-гидроксибензоат (11) [85]

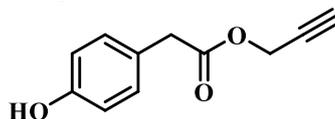


В колбу помещали 2.00 г (14.48 ммоль) 4-гидроксибензойной кислоты, 2.40 г (28.96 ммоль) гидрокарбоната натрия и 20 мл ДМФА. Смесь перемешивали в течение часа при температуре 80°C , затем добавляли 1.6 мл (14.48 ммоль) 3-бромпроп-1-ина. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при температуре 80°C , затем охлаждали до комнатной температуры. Полученную суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Далее смесь выливали в насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия (50 мл) и экстрагировали диэтиловым эфиром (3*20 мл). Органическую фазу высушивали над сульфатом натрия и упаривали. Конечный продукт выделили методом колоночной хроматографии в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (70:1).

Выход: 0.84 г (84%), светло-желтое масло.

Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 2.94 (т, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 4.87 (д, 2 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$, OCH_2), 6.84 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$, аром.), 7.88 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$, аром.).

Проп-2-ин-1-ил 2-(4-гидроксифенил)ацетат (11a) [86]

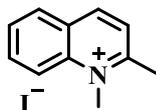


2.00 г (13.14 ммоль) *n*-гидроксифенилуксусной кислоты растворяли в 40 мл безводного ДМФА, далее добавляли 2.65 г (31.55 ммоль) NaHCO_3 при охлаждении до 0°C . Реакционную смесь перемешивали 30 минут, после чего нагрели до комнатной температуры, добавляли 2.27 мл (26.29 ммоль) 3-бромпроп-1-ина и 2.18 г (13.14 ммоль) иодида калия и перемешивали в течение 12 часов. Далее смесь выливали в насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия (50 мл) и экстрагировали диэтиловым эфиром (3*20 мл). Органическую фазу высушивали над сульфатом натрия, затем упаривали в вакууме. Конечный продукт выделяли методом колоночной хроматографии в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (50:1) на силикагеле. Выход 0.76 г (61%), желтое масло.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 2.49 (т, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 3.60 (с, 2 H, $\text{CH}_2\text{-C(O)O}$), 4.70 (д, 2 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 6.79 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$, аром.), 7.13 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$, аром.).

4.3 Синтез четвертичных солей

1,2-диметилхинолин-1-ия иодид (12) [87]

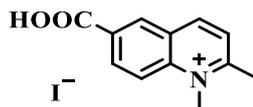


К смеси 0.50 г (3.5 ммоль) 2-метилхинолина и 1 мл (16.0 ммоль) иодметана приливали 2 мл этанола. Полученную реакционную смесь нагревали в течении суток при 50°C. Продукт высаживали избытком диэтилового эфира и отфильтровывали.

Выход: 0.70 г (72%), желтый порошок, $T_{пл} = 193^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 3.37 (с, 3 H, CCH_3), 4.77 (с, 3H, N^+CH_3), 7.94 (т, 1 H $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 8.01 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$, аром.), 8.24 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$, аром.), 8.48 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$, аром.), 8.88 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.).

6-карбоксит-1,2-диметилхинолин-1-ия иодид (13) [45]

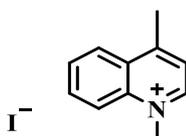


0.30 г (1.6 ммоль) 2-метилхинолин-6-карбоновой кислоты **8** помещали в реактор, после этого к исходному веществу добавляли 0.5 мл (8.0 ммоль) метилиодида и 5 мл 1,2-дихлорбензола. Полученную смесь нагревали при 120°C в течение двух суток. Затем охлаждали до комнатной температуры, добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали и высушивали.

Выход: 0.50 г (85%), коричневый порошок, $T_{пл} = 263^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 2.96 (с, 3 H, $=\text{C-CH}_3$), 4.43 (с, 3 H, N^+CH_3), 8.07 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$, аром.), 8.57 (дд, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.3$, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$, аром.), 8.65 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.6$, аром.), 9.00 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 2.4$, аром.), 9.27 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$, аром.).

1,4-диметилхинолин-1-ия иодид (14а) [88]

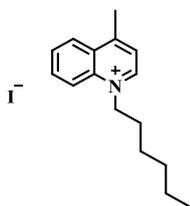


К 2.0 мл (15.1 ммоль) 4-метилхинолина добавляли 2.8 мл (55.6 ммоль) иодметана. Полученную смесь растворяли в 2.0 мл ацетонитрила и нагревали при перемешивании в течение 3 часов при температуре 50°C. После охлаждения до комнатной температуры продукт высаживали избытком диэтилового эфира и отфильтровывали.

Выход: 4.10 г (95%), желтый порошок, $T_{пл} = 174 - 176^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 3.04 (с, 3 H, CH_3), 4.90 (с, 3 H, N^+CH_2), 8.01 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, аром.) 8.22 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$, аром.) 8.38 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.) 10.26 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.9$, аром.).

1-гексил-4-метилхинолин-1-ия иодид (14b)



К 0.5 мл (3.8 ммоль) 4-метилхинолина прилили 1.7 мл (11.3 ммоль) иодгексана и 2 мл ацетонитрила. Полученную смесь нагревали при 72°C в течение 1 дня. После охлаждения до комнатной температуры растворитель удаляли при пониженном давлении.

Выход: 1.30 г (98%), желтое масло.

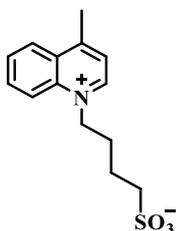
Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 0.84 (т, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$, CH_3), 1.27-1.37 (м, 4 H, CH_2), 1.45-1.54 (м, 2 H, CH_2), 2.08 (дт, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 15.5, 7.7$, CH_2), 3.02 (с, 3 H, CCH_3), 5.26 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, N^+CH_2), 7.97-8.03 (м, 2 H, аром.), 8.21 (ддд, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8, 7.2, 1.3$, аром.), 8.38 (дд, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4, 1.3$, аром.), 10.15 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.): 13.88 (CH_3), 20.57 (CCH_3), 22.31, 26.05, 30.09, 31.12 (CH_2), 57.96 (N^+CH_2), 118.89, 123.25, 126.88, 129.41, 129.94, 135.47, 136.93, 148.79 (все аром.), 157.94 (CCH_3).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 760.78 (CH , аром.), 1463.71 (CH_3), 1601.59 ($\text{C}=\text{N}^+$), 2925.48 (CH_2).

HRMS-ESI: найдено m/z 228.1739 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}$. Вычислено $M = 228.1747$.

4-(4-метилхинолин-1-ил)бутан-1-сульфонат (15) [89]



Смесь 1.4 мл (10.5 ммоль) 4-метилхинолина, 1.2 мл (11.5 ммоль) 1,4-бутансультона и 5.0 мл *o*-дихлорбензола нагревали в течение 12 часов при температуре 120°C . После охлаждения полученной смеси до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира и оставляли на 2 часа в морозильной камере. После выпавший осадок отфильтровывали.

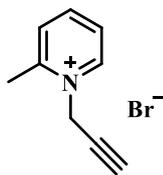
Выход: 1.90 г (65%), светло-фиолетовый порошок, $T_{пл} = 287^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.75-1.82 (м, 2 H, CH_2), 2.08-2.15 (м, 2 H, CH_2), 2.85-2.89 (м, 5 H, CH_3 , CH_2SO_3^-), 4.89 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$, N^+CH_2), 7.77 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$, аром.), 7.84 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 8.07 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 8.27 (д, 2 H $^3J_{\text{HH}} = 9.1$, аром.), 8.96 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O , δ , м.д.): 19.42 ($\text{C}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 21.24, 27.84 (CH_2), 49.95 (CH_2SO_3^-), 56.96 (N^+CH_2), 118.39, 122.39, 126.74, 129.29, 129.48, 135.17, 136.86, 147.10, 159.52 (все аром.).

ИК, v/cm^{-1} : 1181 ($\text{S}=\text{O}$).

2-метил-1-(проп-2-ин-1-ил)пиридин-1-ия бромид (16a)



Смесь 1.00 г (10.7 ммоль) 2-метилпиридина и 1.85 мл (21.4 ммоль) 3-бромпроп-1-ина перемешивали при 70°C в течение 3 часов. После охлаждения до комнатной температуры растворяли в минимальном количестве метанола и добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход: 1.62 г (72%), белый порошок, $T_{пл} = 160^{\circ}\text{C}$.

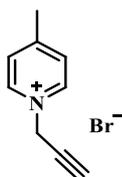
Спектр ЯМР ^1H (DMFO , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 2.91 (с, 3 H, CH_3), 4.08 (т, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 5.64 (д, 2 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$, CH_2N^+), 8.05 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$, аром.), 8.13 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, аром.), 8.57 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, аром.), 9.18 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (DMFO , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 19.7 (CH_3), 47.4 (CH_2N^+), 74.8 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 81.6 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 126.0, 130.1, 144.9, 146.2, 155.5 (все аром.).

ИК, v/cm^{-1} : 1629.55 ($\text{C}=\text{N}^+$), 2116.01 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 3121.22 ($\equiv\text{CH}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 132.0803 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}$. Вычислено $M = 132.0808$.

4-метил-1-(проп-2-ин-1-ил)пиридин-1-ия бромид (16b) [44]

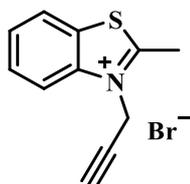


Смесь 1.00 г (10.7 ммоль) 4-метилпиридина и 1.85 мл (21.4 ммоль) 3-бромпроп-1-ина перемешивали при 70°C в течение 3 часов. После охлаждения до комнатной температуры растворяли в минимальном количестве метанола, добавляли избыток диэтилового эфира,

выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Выход: 1.96 г (86 %), светло-коричневый порошок, $T_{пл} > 215^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 2.63 (с, 3 H, CH_3), 4.06 (т, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 5.66 (д, 2 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$, CH_2N^+), 8.05 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$, аром.), 9.03 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.7$, аром.).

2-метил-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[*d*]тиазол-3-ия бромид (17) [91; 92]

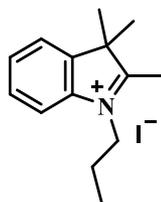


Смесь 0.50 г (3.35 ммоль) 2-метилбензо[*d*]тиазола, 1.20 г (10.05 ммоль) 3-бромпроп-1-ина в 2 мл ацетонитрила перемешивали при 72°C в течение двух суток. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход: 0.39 г (44%), светло-серый порошок, $T_{пл} > 200^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 3.26 (с, 3 H, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 3.83 (уш. с., 1 H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 5.76 (уш. с., 2 H, CH_2N^+), 7.84 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 7.95 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, аром.), 8.37 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.), 8.48 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$, аром.).

2,3,3-триметил-1-пропил-3*H*-индол-1-ия иодид (18) [93–96]

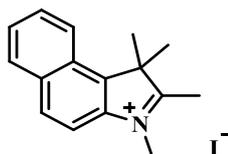


Смесь 2.00 г (12.6 ммоль) 2,3,3-триметил-3*H*-индола, 2.4 мл (25.2 ммоль) 1-бромпропана, 6.30 г (37.7 ммоль) иодида калия в 10 мл ацетонитрила перемешивали при 85°C в течение суток. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали хлористым метиленом, фильтрат упаривали, получив светло-розовый порошок.

Выход: 3.27 г (80%), светло-розовый порошок, $T_{пл} = 137^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.09 (т, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, CH_2CH_3), 1.65 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.97-2.08 (м, 2 H, CH_2CH_3), 3.13 (с, 3 H, $=\text{CCH}_3$), 4.68 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, CH_2N^+), 7.56-7.60 (м, 3 H, аром.), 7.68-7.73 (м, 1 H, аром.).

1,1,2,3-тетраметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия иодид (19) [54; 97]

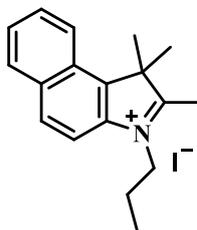


Смешали 1.00 г (4.8 ммоль) 1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индола и 2 мл (21.5 ммоль) метилиодида. Полученную смесь растворяли в 2.5 мл ацетонитрила и нагревали в течение 2 часов при 50°C. К остывшей до комнатной температуры реакционной смеси, добавляли избыток диэтилового эфира. Осадок отфильтровывали и высушивали.

Выход 1.52 г (90%), белый порошок, $T_{пл} = 230^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.75 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.87 (с, 3 Н, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 4.09 (с, 3 Н, N^+CH_3), 7.72 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, аром.), 7.78 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, аром.), 8.11 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.21 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$, аром.), 8.29 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.37 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$, аром.).

1,1,2-триметил-3-пропил-1*H*-бензо[*e*]индолия иодид (20) [98; 99]



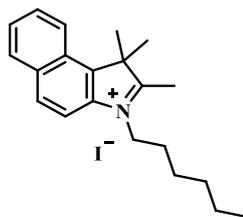
Смесь 1.00 г (4.8 ммоль) 1,1,2-триметилбензо[*e*]индола, 1.18 г (9.6 ммоль) 1-бромпропана и 1.99 г (12.0 ммоль) KI в 4 мл ацетонитрила перемешивали в течение 24 часов при 75°C. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали хлористым метиленом, фильтрат упаривали, получив светло-зеленый остаток.

Выход: 1.42 г (78%), светло-зеленый порошок, $T_{пл} = 85^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.14 (т, 3 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, CH_2CH_3), 1.90 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.04-2.15 (м, 2 Н, CH_2CH_3), 3.22 (с, 3 Н, $=\text{CCH}_3$), 4.82 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$, CH_2N^+), 7.64-7.82 (м, 3 Н, аром.), 8.06-8.15 (м, 3 Н, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.): 11.40 (CH_2CH_3), 16.91 ($=\text{C}(\text{CH}_3)$), 21.75 (CH_2CH_3), 22.80 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 51.52 (CH_2N^+), 55.95 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 112.68, 122.88, 127.67, 127.78, 128.69, 130.07, 131.50, 133.67, 136.94, 138.05 (все аром.), 195.40 ($=\text{C}(\text{CH}_3)$).

3-гексил-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия иодид (21)



Смесь 0.50 г (2.4 ммоль) 1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индола, 1.3 мл (7.2 ммоль) 1-иодгексана в 5 мл ацетонитрила перемешивали при 72°C в течение суток. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход: 0.78 г (88%), светло-серый порошок, $T_{пл} = 160^{\circ}\text{C}$.

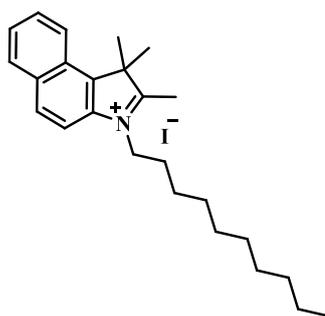
Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 0.84-0.89 (м, 3 H, CH_3), 1.31 (уш. с., 4 H, 2 CH_2), 1.46 (уш. с., 2 H, CH_2), 1.76 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.89 (уш. с., 2 H, CH_2), 2.95 (с, 3 H, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 4.58 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, CH_2N^+), 7.70-7.82 (м, 2 H, аром.), 8.16 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$, аром.), 8.22 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$, аром.), 8.30 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$, аром.), 8.38 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.): 13.6 (CH_3), 13.8 ($=\text{C}-\text{CH}_3$), 21.4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 21.7, 25.3, 27.2, 30.6 (CH_2), 47.7 (CH_2N^+), 55.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 113.1, 123.2, 126.9, 127.0, 128.2, 129.5, 130.5, 132.8, 136.7, 138.2 (все аром.), 196.0 ($=\text{C}-\text{CH}_3$).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1130 (C-N, четв.ам.), 1466 (CH_2 , CH_3 , УВ).

HRMS-ESI: найдено: m/z 294.2217 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}$. Вычислено: $M = 294.2216$.

3-децил-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*E*]индол-3-ия иодид (22) [100]

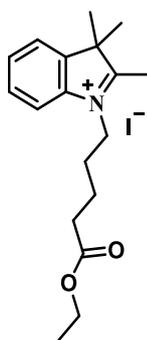


Смесь 0.50 г (2.4 ммоль) 1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индола, 1.20 г (7.2 ммоль) иодида калия и 2.9 мл (14.4 ммоль) 1-хлордекана в 3.0 мл ацетонитрила нагревали 18 часов при 72°C. После этого раствор охлаждали до комнатной температуры и добавляли 150 мл диэтилового эфира. Мешали с эфиром 4 часа. Выпавшую соль отфильтровывали и высушивали.

Выход: 0.80 г (69%), темно-зеленый порошок.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ м.д.; $J/\text{Гц}$): 0.82 (т, 3 Н, $^3J_{\text{HH}} = 6.82$, CH_3), 1.21-1.37 (м, 12 Н, CH_2), 1.40-1.47 (м, 2 Н, CH_2), 1.76 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.84-1.94 (м, 2 Н, CH_2), 2.96 (с, 3 Н, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 4.58 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, N^+CH_2), 7.72 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$, аром.), 7.79 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$, аром.), 8.17 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$, аром.), 8.22 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$, аром.), 8.29 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$, аром.), 8.38 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.).

1-(5-этокси-5-оксопентил)-2,2,3-триметил-3H-индол-1-ия иодид (23)



0.50 г (3.0 ммоль) 2,3,3-триметил-3H-индола растворяли в 5 мл ацетонитрила. Добавляли 0.7 мл (4.5 ммоль) этил-5-бромпентаноата и 1.02 г (6.2 ммоль) иодида калия. Реакционную смесь перемешивали при 72°C в течение 24 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали, промывали хлористым метиленом и упаривали фильтрат.

Выход: 0.86 г (69%), красная маслянистая жидкость.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.18 (т, 3 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, OCH_2CH_3), 1.63 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.72-1.82 (м, 2 Н, CH_2), 1.97-2.08 (м, 2 Н, CH_2), 2.39 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$, CH_2COOEt), 3.12 (с, 3 Н, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 4.04 (кв, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.13$, OCH_2CH_3), 4.71 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.67$, CH_2N^+), 7.53-7.58 (м, 3 Н, аром.), 7.72-7.77 (м, 1 Н, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.): 14.05 ($=\text{C}(\text{CH}_3)$), 17.03 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 21.71 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 23.08 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$, CH_2), 27.05 (CH_2), 32.90 (CH_2), 49.58 (CH_2N^+), 54.58 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 60.41 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 115.41, 123.24, 129.44, 130.02, 140.90, 141.44 (все аром.), 172.64 (COOEt), 195.86 ($=\text{C}(\text{CH}_3)$).

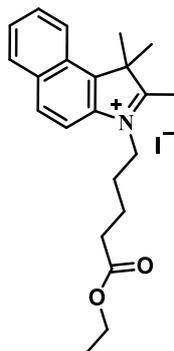
ИК, ν/cm^{-1} : 1727 ($\text{C}=\text{O}$), 1591-1624 (аром.).

HRMS-ESI: найдено m/z 288.1939 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{NO}_2$. Вычислено $M = 288.1958$.

Отнесение сигналов ^1H и ^{13}C ЯМР в приложении на рисунке П6 и П7.

3-(5-этоксипентил)-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*E*]индол-3-ия иодид (24)

[36]

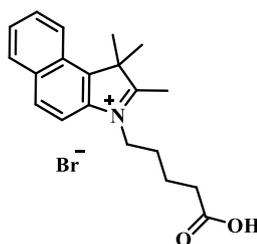


0.50 г (2.4 ммоль) 1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индола растворяли в 5 мл ацетонитрила. Добавляли 0.76 мл (4.8 ммоль) этил-5-бромпентаноата и 0.85 г (4.8 ммоль) иодида калия. Реакционную смесь перемешивали при 72°C в течение 24 часов. После охлаждения до комнатной температуры в реакционную смесь добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали, промывали хлористым метиленом и упаривали фильтрат.

Выход: 0.67 г (60%), светло-синий порошок, $T_{пл} = 130^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.18 (т, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, OCH_2CH_3), 1.76-1.84 (м, 2 H, CH_2), 1.86 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.03-2.12 (м, 2 H, CH_2), 2.40 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$, CH_2COOEt), 3.19 (с, 3 H, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 4.04 (кв, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$, OCH_2CH_3), 4.84 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, CH_2N^+), 7.61-7.67 (м, 1 H, аром.), 7.69-7.75 (м, 1 H, аром.), 7.86 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.03 (дд, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$, $^4J_{\text{HH}} = 0.9$, аром.) 8.05-8.12 (м, 2 H, аром.).

3-(5-карбоксибутил)-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*E*]индол-3-ия бромид (25) [101]

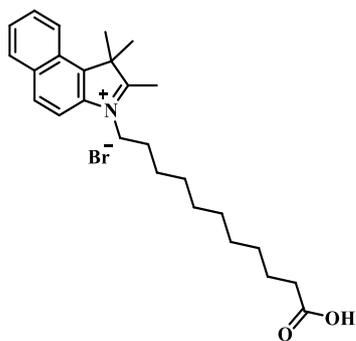


Смесь 0.50 г (2.4 ммоль) 1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индола и 0.40 г (2.4 ммоль) 5-бромвалерьяновой кислоты сплавляли в течение 12 часов при температуре 80°C. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, далее переосаждали из метанола избытком диэтилового эфира, осадок отфильтровывали и промывали хлористым метиленом.

Выход 0.50 г (54%), голубой порошок, $T_{пл} = 105-110^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.69 (дд, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 15.3, 7.7$, CH_2), 1.76 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.87-1.97 (м, 2 Н, CH_2), 2.32 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$, CH_2COOH), 2.95 (с, 3 Н, $-\text{C}-\text{CH}_3$), 4.62 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$, CH_2N^+), 7.73 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$, аром.), 7.75 - 7.82 (м, 1 Н, аром.), 8.16 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$, аром.), 8.22 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, аром.), 8.29 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$, аром.), 8.37 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.).

3-(10-карбоксидецил)-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*E*]индол-3-ия бромид (26) [101]

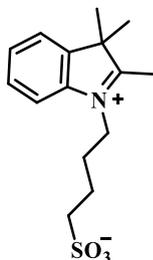


Смесь 1.00 г (4.8 ммоль) 1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индола и 1.30 г (4.8 ммоль) 11-бромундекановой кислоты сплавляли при 100°C в течение 12 часов. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь растворяли в метаноле, затем полученный раствор упаривали досуха. После упаривания продукт высаживали из минимального количества метанола диэтиловым эфиром и еще раз переосаждали.

Выход: 1.80 г (72%), темно-зеленый порошок, $T_{\text{пл}} = 195\text{-}200^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (DMSO , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.23 (уш. с., 8 Н, CH_2), 1.33 (уш. с., 2 Н, CH_2), 1.46 (уш. с., 4 Н, CH_2), 1.76 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.83-1.93 (м, 2 Н, CH_2), 2.16 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$, CH_2COOH), 2.95 (с, 3 Н, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 4.58 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, N^+CH_2), 7.73 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$, аром.), 7.79 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, аром.), 8.16 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.22 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$, аром.), 8.29 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$, аром.), 8.37 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.).

4-(2,3,3-триметил-3*H*-индол-1-ий-1-ил)бутан-1-сульфонат (27) [102; 103]



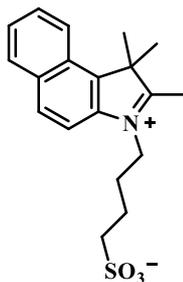
1.00 мл (6.2 ммоль) 2,3,3-триметил-3*H*-индола, 0.7 мл (6.8 ммоль) 1,4-бутансультона в 4 мл *o*-дихлорбензола перемешивали при 120°C в течение 8 часов. После охлаждения до

комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход: 0.99 г (54%), светло-розовый порошок, $T_{пл} > 210^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.50 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.78-1.88 (м, 2 Н, CH_2), 2.01-2.11 (м, 2 Н, CH_2), 2.73 (уш. с, 3 Н, $=\text{CCH}_3$), 2.91 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$, CH_2SO_3^-), 4.46 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, CH_2N^+), 7.54-7.59 (м, 2 Н, аром.), 7.65-7.68 (м, 1 Н, аром.), 7.71-7.75 (м, 1 Н, аром.).

4-(1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*E*]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфонат (28) [36]

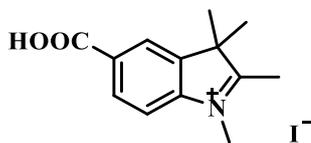


К 1.00 г (4.7 ммоль) 1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индола добавляли 0.5 мл (5.2 ммоль) 1,4-бутансультона и 3 мл 1,2-дихлорбензола. Полученную смесь нагревали при 120°C в течение 8 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира и отфильтровывали.

Выход: 1.60 (97%), серый порошок, $T_{пл} = 285^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (DMFSO , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.75 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.76-1.83 (м, 2 Н, CH_2), 1.98-2.07 (м, 2 Н, CH_2), 2.53 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$, CH_2SO_3), 2.95 (с, 3 Н, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 4.61 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, N^+CH_2), 7.72 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$, аром.), 7.78 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 8.21 (д, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.28 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$, аром.), 8.36 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.).

5-карбокситетраметил-3*H*-индол-1-ий иодид (29) [105]



Смесь 0.30 г (1.6 ммоль) 2,3,3-триметил-3*H*-индол-5-карбоновой кислоты **7**, 0.6 мл (9.3 ммоль) иодметана и 5 мл 1,2-дихлорбензола перемешивали при нагревании до 120°C в течение двух суток. К реакционной смеси добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали и высушивали.

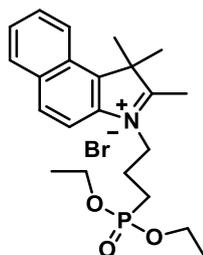
Выход 0.50 г (85%), светло-коричневый порошок, $T_{пл} = 290^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.57 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.81 (с, 3 Н, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 3.99 (с, 3 Н, N^+CH_3), 8.02 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}}=8.2$, аром.), 8.18 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}}=8.2$, аром.), 8.37 (с, 1 Н, аром.).

Общая методика синтеза ω -алкилфосфонатзамещенных солей **30a-c**, **31a-c**

10 ммоль бензоиндоленина и 20 ммоль ω -бромфосфоната **9a-c** перемешивали при 95°C в течение 18 ч. Реакционную смесь охлаждали и добавляли 100 мл диэтилового эфира. Темно-фиолетовое масло отделяли и растворяли в минимальном количестве дистиллированной воды. Водную фазу последовательно промывали хлористым метиленом и этилацетатом до бесцветной органической фазы. Водный слой отделяли и удаляли воду на ротаторном испарителе. Соли **30a-c**, **31a-c** выделяли в виде бежевой стеклоподобной массы.

3-(3-(диэтоксифосфорил)пропил)-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индолия бромид (**30a**)



Выход 1.87 г (40%).

Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$) 1.24 (т, 6 Н, $^3J_{\text{HH}}=7.0$, OCH_2CH_3), 1.77 (с, 6 Н, 2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.10-2.12 (м, 4 Н $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 2.98 (с, 3 Н, $=\text{CCH}_3$), 3.97-4.09 (м, 4 Н, OCH_2), 4.64- 4.76 (м, 2 Н, CH_2N^+), 7.67-7.83 (м, 2 Н, аром.), 8.14-8.41 (м, 4 Н, аром.).

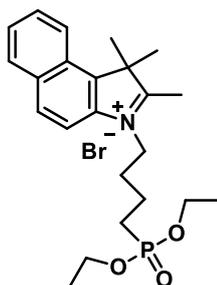
Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 14.5 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 16.78 (д, $^3J_{\text{CP}}=5.1$, OCH_2CH_3), 21.81 (д, $^1J_{\text{CP}}=139.0$, CH_2P), 21.54 (д, $^2J_{\text{CP}}=3.7$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 22.20 (с, 2 CH_3), 48.18 (с, CH_2N^+), 56.06 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 61.68 (д, $^2J_{\text{CP}}=6.6$, OCH_2CH_3), 113.62, 123.88, 127.69, 127.73, 128.88, 130.19, 131.15, 133.49, 137.48, 138.98 (все с, аром.), 197.42 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$).

Спектр ЯМР ^{31}P (D_2O , δ , м.д.) 30.27.

ИК, ν/cm^{-1} : 1099 (P-O-C $_2$ H $_5$), 1210 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 388.2034 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_3\text{P}$. Вычислено: $\text{M} = 388.2036$.

3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индолия бромид
(30b)



Выход 1.93 г (40%).

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.): 1.13-1.26 (м, 4 Н, CH_2CH_2) 1.46-1.72 (м, 6 Н OCH_2CH_3), 1.76 (с, 6 Н, 2 CH_3), 1.80-2.03 (м, 2 Н CH_2P), 2.97 (уш. с, 3Н, CH_3), 3.80-4.06 (м, 4 Н, OCH_2), 4.63-4.65 (м, 2 Н, CH_2N^+), 7.67-7.83 (м, 2 Н, аром.).

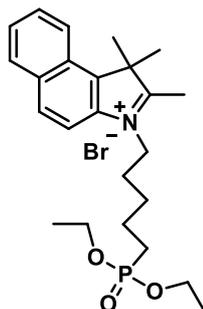
Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 13.98 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 16.77 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.1$, OCH_2CH_3), 21.55 (д, $^2J_{\text{CP}} = 13.9$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 21.62 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 22.58 (д, $^1J_{\text{CP}} = 139.0$, CH_2P), 27.94 (д, $^3J_{\text{CP}} = 16.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 47.32 (с, CH_2N^+), 54.96 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 61.35 (д, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$, OCH_2CH_3), 113.70, 113.90, 123.86, 127.68, 128.86, 130.18, 131.18, 133.51, 137.40, 139.00 (все с, аром.), 196.99 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$).

Спектр ЯМР ^{31}P (ДМСО, δ , м.д.): 31.44.

ИК, ν/cm^{-1} : 1163 (P-O-C₂H₅), 1220 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 402.2193 $[\text{M}]^+$. C₂₃H₃₃NO₃P. Вычислено: M = 402.2190.

3-(5-(диэтоксифосфорил)пентил)-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индолия бромид
(30c)



Выход 1.49 г (30%).

Спектр ЯМР ^1H (CD₃CN, δ , м.д.): 1.15-1.25 (м, 6 Н, OCH_2CH_3), 1.55-1.59 (м, 2 Н, CH_2), 1.60-1.68 (м, 4 Н, CH_2CH_2), 1.76 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.94-2.00 (м, 2 Н, CH_2P), 2.96 (уш. с, 3 Н, $=\text{CCH}_3$), 3.87-4.06 (м, 4 Н, OCH_2), 4.55-4.78 (м, 2 Н, CH_2N^+), 7.62-7.69 (м, 1 Н, аром.), 7.72-7.77 (м, 1 Н, аром.), 8.01-8.12 (м, 2 Н, аром.), 8.16-8.26 (м, 2 Н, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (CD₃CN, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 15.89 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 17.16 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.8$, OCH_2CH_3), 22.60 (с, CH_2), 22.78 (с, 2 CH_3), 26.51 (д, $^1J_{\text{CP}} = 137.6$, CH_2P), 28.14 (д, $^3J_{\text{CP}} = 16.1$,

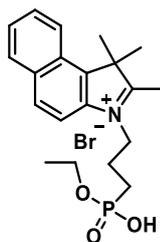
$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 28.52 (с, CH_2), 45.49 (с, CH_2N^+), 57.06 (с, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 62.30 (д, $^2J_{\text{CP}} = 5.1$, $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$), 114.29, 114.61, 124.59, 128.65, 129.67, 131.04, 132.21, 134.68, 138.45, 139.88 (все с, аром.), 197.44 (с, $=\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)$).

Спектр ЯМР ^{31}P (CD_3CN , δ , м.д.): 32.22.

ИК, ν/cm^{-1} : 1147 (P-O-C₂H₅), 1212 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 416.2343 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{NO}_3\text{P}$. Вычислено: $M = 416.2349$.

3-[3-(гидроксиэтоксифосфорил)пентил]-2,3,3-триметил-3H-бензо[e]индолия бромид (31a)



Выход 0.76 г (36%).

Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.11 (с, 3 H, $\text{OCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 1.33 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.71-1.85 (м, 2 H, CH_2), 1.92-2.09 (м, 2 H, CH_2), 3.18 (с, 3 H, $=\text{C}-\text{CH}_3$), 3.86 (м, 2 H, $\text{OCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 4.42 (м, 2 H, CH_2N^+), 7.25 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$, аром), 7.36 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.), 7.52-7.58 (м, 2 H, аром.), 7.64 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$, аром.), 7.78 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 12.38 (с, $=\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 15.88 (с, $\text{OCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 20.84 (с, CH_2), 21.14 (с, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 22.69 (д, $^1J_{\text{CP}} = 168.32$, PCH_2), 55.66 (с, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 61.16 (с, CH_2N^+), 68.54 (с, $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$), 112.23, 122.67, 123.04, 127.34, 128.26, 129.56, 130.96, 133.11, 137.02, 137.85 (все с, аром.), 196.43 (с, $=\underline{\text{C}}-\text{CH}_3$).

Спектр ЯМР ^{31}P (D_2O , δ , м.д.): 27.73, 32.81.

ИК, ν/cm^{-1} : 1039 (P-O-C₂H₅), 1213 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 360.1707 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_3\text{P}$. Вычислено: $M = 360.1723$.

3-(4-(этоксигидрокси)фосфорил)бутил)-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромид (31b)



Выход 0.55 г (12%).

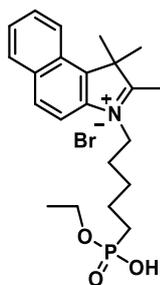
Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.09 (т, 3 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$, OCH_2CH_3), 1.13-1.25 (м, 2 Н, CH_2), 1.66 (с, 6 Н, 2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.68-1.71 (м, 2 Н, CH_2), 1.96-2.11 (м, 2 Н, CH_2), 3.78-3.87 (м, 2 Н, OCH_2), 4.51 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, CH_2N^+), 7.60 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$, аром.), 7.68 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 7.80 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.01 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.), 8.07 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$, аром.), 8.17 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 15.75 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 17.08 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.8$, OCH_2CH_3), 22.26 (с, 2 CH_3), 25.44 (д, $^1J_{\text{CP}} = 135.2$, CH_2P), 28.06 (д, $^3J_{\text{CP}} = 16.0$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 28.34 (с, CH_2), 49.77 (с, CH_2N^+), 57.24 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 62.87 (д, $^2J_{\text{CP}} = 5.2$, OCH_2CH_3), 114.61, 124.54, 128.61, 129.71, 131.08, 132.30, 134.55, 138.58, 139.74 (все с, аром.), 197.02 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$).

Спектр ЯМР ^{31}P (D_2O , δ , м.д.): 31.29, 34.72.

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1041 (P-O-C₂H₅), 1216 (P=O).

3-[5-(гидроксиэтоксифосфорил)пентил]-2,3,3-триметил-3H-бензо[e]индолия бромид (31с):



Выход 0.70 г (15%).

Спектр ЯМР ^1H (CD_3CN , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.19 (т, 3 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$, OCH_2CH_3), 1.55-1.63 (м, 4 Н, CH_2CH_2), 1.72-1.77 (м, 2 Н, CH_2), 1.74, 1.76 (оба с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.96-2.04 (м, 2 Н, CH_2P), 2.96 (с, 3 Н, CH_3), 3.87-4.06 (м, 2 Н, OCH_2), 4.55-4.78 (м, 2 Н, CH_2N^+), 7.62-7.69, 7.71-7.77 (оба м, по 1 Н, аром.), 8.01-8.12 (м, 2 Н, аром.), 8.16-8.20, 8.22-8.26 (оба м, по 1 Н, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3CN , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 15.89 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 17.16 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.8$, OCH_2CH_3), 22.60 (с, CH_2), 22.80 (с, 2 CH_3), 25.32 (д, $^1J_{\text{CP}} = 137.6$, CH_2P), 28.16 (д, $^3J_{\text{CP}} = 16.1$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 28.52 (с, CH_2), 49.85 (с, CH_2N^+), 57.06 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 62.72 (д, $^2J_{\text{CP}} = 5.1$, OCH_2CH_3), 114.61, 124.58, 128.73, 129.67, 131.04, 132.21, 134.70, 138.57, 139.57 (все с, аром.), 197.00 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$).

Спектр ЯМР ^{31}P (CD_3CN , δ , м.д.): 30.93.

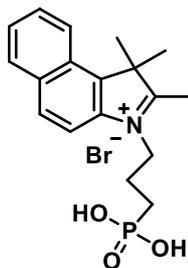
ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1050 (P-O-C₂H₅), 1240 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 388.2034 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_3\text{P}$. Вычислено: $M = 388.2036$.

Общая методика синтеза солей 32а-с

5 ммоль соли **30а-с** нагревали в концентрированной бромистоводородной кислоте при 90°C в течение 12 ч. Контроль за окончанием реакции осуществляли с помощью спектров ЯМР ^{31}P реакционной смеси. Бромистоводородную кислоту упаривали в вакууме. Образовавшуюся стеклообразную массу бежевого цвета затирали диэтиловым эфиром.

1-[3-(дигидроксифосфорил)бутил]-2,3,3-триметил-3H-бензо[e]индолия бромид (32a)



Выход 1.16 г (60%).

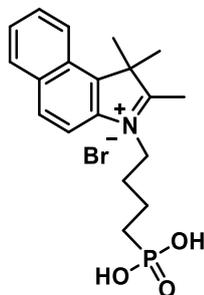
Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.63 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.83-1.96 (м, 4 H, CH_2CH_2), 3.08 (уш. с, 3 H, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 4.47-4.62 (м, 2 H, CH_2N^+), 7.45-7.53 (м, 1 H, аром.), 7.55-7.62 (м, 1 H, аром.), 7.78-7.89 (м, 1 H, аром.), 7.94 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$, аром.), 8.02 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.11 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.34$, аром.)

Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 21.17 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$), 24.34 (д, $^1J_{\text{CP}} = 136.9$, CH_2P), 24.53 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 25.88 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 34.30 (д, $^2J_{\text{CP}} = 20.5$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 55.73 (с, CH_2N^+), 112.28, 123.12, 127.23, 127.44, 128.32, 129.65, 130.99, 133.25, 137.15, 138.00 (все с, аром.), 209.35 (с, $=\text{C}(\text{CH}_3)$).

Спектр ЯМР ^{31}P (D_2O , δ , м.д.): 27.48, 29.06.

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1245 (P=O).

1-[4-(дигидроксифосфорил)бутил]-2,3,3-триметил-3H-бензо[e]индолия бромид (32b)



Выход 0.50 г (25%).

Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.85 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.87-2.03 (м, 4 H, CH_2CH_2), 2.08-2.29 (м, 2 H CH_2P), 4.65-4.76 (м, 2 H, CH_2N^+), 7.70 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, аром.),

7.80 (т, 1 Н, $^3J_{HH} = 7.4$, аром.), 8.02-8.10 (м, 1 Н аром.), 8.15 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 8.1$, аром.), 8.24 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 9.0$, аром.), 8.32 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 8.4$, аром.).

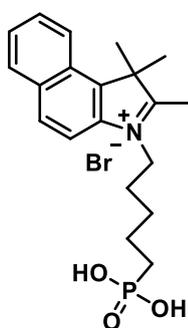
Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 13.66 (с, $=\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$), 22.62 (с, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 22.54 (д, $^2J_{CP} = 16.1$, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{P}$), 25.53 (д, $^1J_{CP} = 142.1$, CH_2P), 33.89 (с, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 45.19 (с, CH_2N^+), 57.41 (с, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 114.09, 124.52, 124.54, 128.74, 128.79, 129.78, 131.12, 132.55, 135.27, 138.78 (все с, аром.), 197.85 (с, $=\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)$).

Спектр ЯМР ^{31}P (D_2O , δ , м.д.): 29.59, 30.67.

ИК, ν/cm^{-1} : 1220 ($\text{P}=\text{O}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 346.1553 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_3\text{P}$. Вычислено: $M = 346.1567$.

3-(5-(дигидроксифосфорил)пентил)-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индолия бромид (32с)



Выход 0.42 г (20%).

Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.35-1.46 (м, 4 Н, CH_2), 1.50 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.58-1.73 (м, 4 Н, CH_2), 1.75-1.93 (м, 2 Н, CH_2P), 4.35-4.48 (м, 2 Н, CH_2N^+), 7.38-7.47 (м, 1 Н, аром.), 7.49-7.59 (м, 1 Н, аром.), 7.61-7.71 (м, 1 Н, аром.), 7.80 (дд, 1 Н, $^3J_{HH} = 8.2$, $^5J_{HH} = 3.5$, аром.), 7.87 (дд, 1 Н, $^3J_{HH} = 8.8$, $^5J_{HH} = 3.0$, аром.), 7.99 (дд, 1 Н, $^3J_{HH} = 7.8$, $^5J_{HH} = 2.3$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 12.49 (с, $=\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$), 21.24 (с, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 26.55 (с, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 27.40 (д, $^1J_{CP} = 139.0$, CH_2P), 28.17 (д, $^2J_{CP} = 16.1$, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{P}$), 34.62 (с, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 47.90 (с, CH_2N^+), 55.60 (с, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 112.42, 123.06, 127.39, 128.33, 129.60, 130.91, 133.15, 137.07, 137.93, 138.86 (все с, аром.), 195.27 (с, $=\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)$).

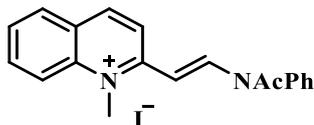
Спектр ЯМР ^{31}P (D_2O , δ , м.д.): 32.37, 32.98.

ИК, ν/cm^{-1} : 1210 ($\text{P}=\text{O}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 360.1711 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_3\text{P}$. Вычислено: $M = 360.1723$.

4.4 Синтез монокарбонильных компонент

(*E*)-1-метил-2-(2-(*N*-фенилацетамид)винил)хинолин-1-ия иодид (**34**) [108]

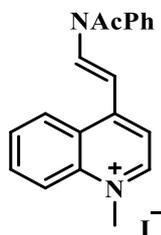


2.43 г (8.53 ммоль) иодида 1,2-диметилхинолин-1-ия **12** растворяли в 7 мл уксусного ангидрида. К полученному раствору добавляли 3.34 г (9.65 ммоль) *N,N'*-дифенилформимидамида **1** и нагревали при 150°C и перемешивании 1 час. Затем охлаждали раствор до комнатной температуры и добавляли избыток этилацетата. Выпавший осадок отфильтровывали и высушивали.

Выход: 0.59 г (90%), темно-зеленый порошок, $T_{пл} = 173^{\circ}\text{C}$. $\lambda_{abs} = 390$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 2.10 (с, 3 H, C(O)CH₃), 4.05 (с, 3 H, N⁺CH₃), 5.63 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 13.9$, =CH), 7.54 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 7.6$, аром.), 7.60-7.66 (м, 1 H, аром.), 7.66-7.71 (м, 2 H, аром.), 7.87 (т, 1 H, $^3J_{HH} = 7.5$, аром.), 8.09 (т, 1 H, $^3J_{HH} = 8.0$, аром.), 8.29 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.0$, аром.), 8.35 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 9.1$, аром.), 8.42 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 9.0$, аром.), 8.84 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 13.9$, =CH), 8.90 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 9.1$, аром.).

(*E*)-1-метил-4-(2-(*N*-фенилацетамид)винил)хинолин-1-ия иодид (**35**) [108]

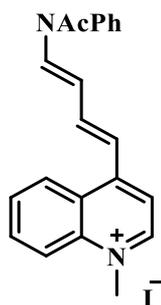


Смесь 2.40 г (8.4 ммоль) 1,4-диметилхинолин-1-ия **14a** и 3.30 г (16.8 ммоль) *N,N'*-дифенилформимидамида **1** растворяли в 7 мл уксусного ангидрида. Полученную смесь кипятили при 150°C в течение 1 часа. После охлаждения до комнатной температуры высаживали этилацетатом и отфильтровывали.

Выход: 3.5 г (96%), коричневый порошок, $T_{пл} = 260^{\circ}\text{C}$. $\lambda_{abs} = 396$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 2.04 (уш. с, 3 H, C(O)CH₃), 4.40 (с, 3 H, N⁺CH₃), 5.98 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 13.9$, =CH), 7.48 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 7.2$, аром.), 7.59-7.70 (м, 3 H, аром.), 7.80-7.88 (м, 2 H, аром.), 8.09-8.14 (м, 1 H, аром.), 8.21 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 6.5$, аром.), 8.28 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.9$, аром.), 8.81 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 13.9$, =CH), 9.02 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 6.6$, аром.).

1-метил-4-((1*E*,3*E*)-4-(*N*-фенилацетоамид)бута-1,3-диен-1-ил)хинолин-1-ия иодид (36)



1.00 г (3.5 ммоль) 1,4-диметилхинолин-1-ия **14a** смешали с 1.80 г (7.0 ммоль) *N*-((1*E*,3*E*)-3-(фенилимино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлоридом **2** и растворяли в 4 мл укусуного ангидрида. Полученную смесь кипятили при 150 °С в течение 1 часа. После охлаждения до комнатной температуры высаживали с помощью избытка этилацетата. Отфильтровывали и промывали этилацетатом.

Выход: 1.40 г (85%), порошок кирпичного цвета, $T_{пл} = 81$ °С. $\lambda_{abs} = 440$ нм (в метаноле).

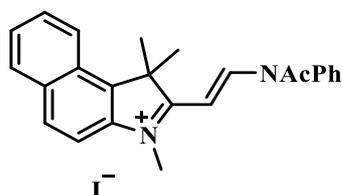
Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.92 (уш. с., 3 H, C(O)CH₃), 4.39 (с, 3 H, N⁺CH₃), 5.46 (дд, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6, 11.1$, =CH), 7.36-7.41 (м, 3 H, аром. и =CH), 7.57 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, аром.), 7.63 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$, аром.), 7.86 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, аром.), 8.02 (дд, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 15.0, 11.1$, =CH), 8.11-8.14 (м, 1 H, аром.), 8.16 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$, аром.), 8.22 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6$, =CH), 8.28 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$, аром.), 8.60 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.), 9.01 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.7$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО-*d*₆, δ , м.д.): 23.18 (C(O)CH₃), 44.25 (N⁺CH₃), 112.58 (=CH), 118.92 (аром.), 119.14 (аром.), 119.29 (=CH), 128.56, 128.66, 128.72, 129.35, 130.38 (все аром.), 134.67 (=CH), 138.35, 138.71, 144.44, 152.55 (аром.), 172.00 (N⁺=C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1376.93 (N трет.), 1462.74 (CH₃), 1678.25 (C=O), 2851.72 (N-CH₃).

HRMS-ESI: найдено m/z 329.1639 [M]⁺. C₂₀H₂₇NO₃P. Вычислено: M = 329.1648.

(*E*)-1,1,3-триметил-2-(2-(*N*-фенилацетамида)винил)-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия иодид (37) [54]

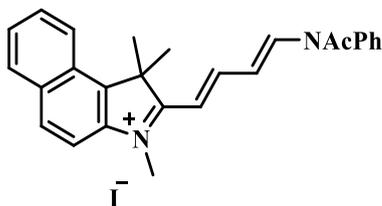


Смесь 0.5 г (1.42 ммоль) 1,1,2,3-тетраметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия иодида **19** и 0.56 г (2.86 ммоль) *N,N'*-дифенилформимидамида **1** растворяли в 4 мл уксусного ангидрида и нагревали при 110 °С в течение часа. Затем полученный раствор упаривали на роторном испарителе и переосадили диэтиловым эфиром из метанола. Полученный осадок отфильтровывали и высушивали.

Выход: 0.64 г (91%), зелёный порошок, $T_{пл} = 172$ °С. $\lambda_{abs} = 408$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.92 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.11 (с, 3 Н, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 3.73 (с, 3 Н, N^+CH_3), 5.38 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 14.3$, =CH), 7.59 (д, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$, аром.), 7.64-7.72 (м, 4 Н, аром.), 7.73-7.78 (м, 1 Н, аром.), 7.96 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.17 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$, аром.), 8.21 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.40 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$, аром.), 9.15 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 14.3$, =CH).

1,1,3-триметил-2-((1*E*,3*E*)-4-(*N*-фенилацетамид)бута-1,3-диен-1-ил)-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия иодид (38**)**



Смесь 0.50 г (1,4 ммоль) иодида 1,1,2,3-тетраметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия **19** и 0.60 г (2,1 ммоль) *N*-((1*E*)-3-(фенилиино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорида **2** растворяли в 2 мл уксусного ангидрида. Полученную смесь нагревали в течение 1 ч при 120°С, после чего растворитель отогнали на роторном испарителе. Далее растворяли в минимальном количестве дихлорметана и высадили избытком диэтилового эфира.

Выход 0.61 г (90%), темно-коричневый порошок, $T_{пл} = 71$ °С. $\lambda_{abs} = 460$ нм (в метаноле).

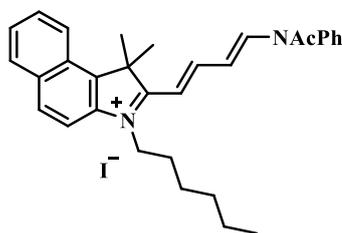
Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.99 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.15 (с, 3 Н, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 3.96 (с, 3 Н, N^+CH_3), 5.65 (дд, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 13.2$, 11.4, =CH), 6.77 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 15.3$, =CH), 7.40 (д, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$, аром.), 7.61-7.68 (м, 4 Н, аром.), 7.75 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, аром.), 7.83 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.08-8.18 (м, 2 Н, аром.), 8.34 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.), 8.43 (дд, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 15.2$, 11.2, =CH), 8.72 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 13.5$, =CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.): 23.50 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 25.68 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 33.97 (N^+CH_3), 53.01 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 111.72 (=CH), 113.06 (=CH), 119.06, 119.15, 123.11, 126.74, 126.98, 128.42, 128.64, 128.80, 129.77, 130.00, 130.15, 130.61, 130.80, 132.87, 136.93, 138.03 (аром.), 139.56 (=CH), 155.41 (=CH), 169.80 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 181.52 ($\text{N}^+=\text{C}$).

ИК, v/cm^{-1} : 1703 (C=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 395.2111 $[M]^+$. $C_{32}H_{37}N_2O$. Вычислено: $M = 395.2118$.

3-гексил-1,1-диметил-2-((1E,3E)-4-(N-фенилацетамид)бута-1,3-диен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ия иодид (39)



Смесь 0.30 г (0.71 ммоль) 3-гексил-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодида **21** и 0.22 г (0.85 ммоль) N-((1E,3E)-3-(фенилимино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорида **2** растворяли в 2 мл уксусного ангидрида. Полученный раствор нагревали в течение 2 часов, затем растворитель отгоняли при пониженном давлении. Добавляли избыток диэтилового эфира, полученный осадок отфильтровывали и высушивали. Целевое соединение очищали с помощью флеш-хроматографии в системе $CH_2Cl_2:MeOH = 50:1$.

Выход: 0.12 г (29%), оранжевый порошок, $T_{пл} = 118$ °C. $\lambda_{abs} = 455$ нм (в метаноле).

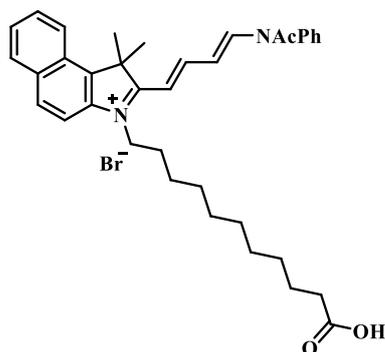
Спектр ЯМР 1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/H\zeta$): 0.83 (т, 3 H, $^3J_{HH} = 6.7$, CH_3), 1.18-1.26 (м, 4 H, CH_2), 1.29-1.37 (м, 2 H, CH_2), 1.66-1.74 (м, 2 H, CH_2), 1.93 (с, 6 H, $C(CH_3)_2$), 2.03 (с, 3 H, $C(O)CH_3$), 4.43 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 7.3$, N^+CH_2), 5.57 (т, 1 H, $^3J_{HH} = 12.2$, =CH), 6.94 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 15.2$, =CH), 7.26 (т, 1 H, $^3J_{HH} = 7.9$, аром.), 7.46 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 7.3$, аром.), 7.57-7.62 (м, 2 H, аром.), 7.72-7.80 (м, 2 H, аром.), 7.97 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.8$, аром.), 8.16 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.1$, аром.), 8.21 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.9$, аром.), 8.37 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.4$, аром.), 8.64 (дд, 1 H, $^3J_{HH} = 14.9$, 11.4, =CH), 8.94 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 13.2$, =CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 13.80 (CH_3), 15.16, 21.93 (оба CH_2), 23.98 ($C(O)CH_3$), 25.83 ($C(CH_3)_2$), 26.96, 30.79 (оба CH_2), 45.62 (N^+CH_2), 52.90 ($C(CH_3)_2$), 110.81 (=CH), 112.86 (=CH), 118.96 (аром.), 122.89, 124.73, 126.66, 128.27, 128.45 (все аром.), 128.59 (аром.), 129.64, 129.83, 129.98, 130.27, 130.45, 132.68, 138.38 (все аром.), 139.39 (=CH), 156.26 (=CH), 168.31 ($C(O)CH_3$), 181.27 ($N^+=C$).

ИК, ν/cm^{-1} : 1691 (C=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 465.2886 $[M]^+$. $C_{32}H_{37}N_2O$. Вычислено: $M = 465.2900$.

3-(10-карбоксидецил)-1,1-диметил-2-((1E,3E)-4-(N-фенилацетида)бута-1,3-диен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ия бромид (40)

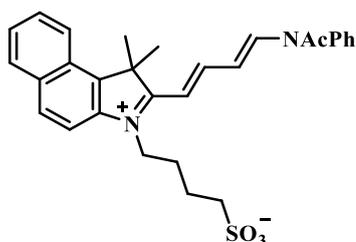


0.30 г (0.58 ммоль) 3-(10-карбоксидецил)-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия **26** иодида растворяли в 2 мл уксусного ангидрида. К полученному раствору добавляли 0.18 г (0.69 ммоль) N-((1E,3E)-3-(фенилимино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорида **2** и нагревали при 120°C при перемешивании в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, полученный осадок отфильтровывали и высушивали. Целевое соединение очищали с помощью флеш-хроматографии в системе CH₂Cl₂:MeOH = 50:1.

Выход: 0.11 г (29%), темно-коричневый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 460$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 1.18 (уш. с., 12 H, CH₂), 1.32 (уш. с., 2 H, CH₂), 1.42-1.46 (м, 2 H, CH₂), 1.66-1.73 (м, 2 H, CH₂), 1.93 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 2.03 (с, 3 H, C(O)CH₃), 4.42 (уш. с., 2 H, N⁺CH₂), 5.57 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.1, =CH), 6.94 (д, 1 H, ³J_{HH} = 15.2, =CH), 7.27 (т, 1 H, ³J_{HH} = 7.4, аром.), 7.47 (д, 2 H, ³J_{HH} = 6.7, аром.), 7.58 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.0, аром.), 7.74-7.79 (м, 2 H, аром.), 7.97 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.7, аром.), 8.16 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.1, аром.), 8.21 (д, 1 H, ³J_{HH} = 9.1, аром.), 8.37 (д, 1 H, ³J_{HH} = 7.7, аром.), 8.65 (дд, 1 H, ³J_{HH} = 13.9, 12.3, =CH), 8.94 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.0, =CH).

4-(1,1-диметил-2-((1E,3E)-4-(N-фенилацетида)бута-1,3-диен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфонат (41) [109]



К 0.20 г (0.6 ммоль) 4-(1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфоната **28**, растворённого в 2 мл уксусного ангидрида, добавляли 0.23 г (0.9 ммоль)

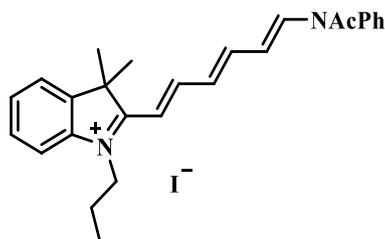
N-((1*E*,3*E*)-3-(фенилимино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорида **2**. Реакционную смесь нагревали при температуре 120°C в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали *n*-гексаном, затем диэтиловым эфиром и высушивали в вакууме. Очистку целевого вещества осуществляли с помощью флеш-хроматографии (система CH₂Cl₂:MeOH = 10:1).

Выход: 0.14 г (45%), темно-красный порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 460$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д.; J/Гц): 1.89 (м, 2 H, CH₂), 1.95 (с, 6 H, 2 CH₃), 2.09 (м, 2 H, CH₂), 2.18 (с, 3 H, C(O)CH₃), 2.98 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.42, CH₂SO₃⁻), 4.52 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.89, N⁺CH₂), 5.72 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.49, -CH=), 6.86 (д, 1 H, ³J_{HH} = 14.79, -CH=), 7.22 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.82, аром.), 7.57 (м, 1 H, аром.), 7.59-7.64 (м, 3 H, аром.), 7.70 (т, 1 H, ³J_{HH} = 7.73, аром.), 7.77 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.93, аром.), 8.01 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.19, аром.), 8.06 (м, 1 H, аром.), 8.10 (д, 1 H, ³J_{HH} = 11.86, -CH=), 8.14 (м, 1 H, аром.), 8.58 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.51, -CH=).

ИК, ν/cm^{-1} : 1167 (SO₃), 1649 (C=O).

3,3-диметил-2-((1*E*,3*E*,5*E*)-6-(*N*-фенилацетида)гекса-1,3,5-триен-1-ил)-1-пропил-3*H*-индол-1-ия иодид (42**)**



0.30 г (0.9 ммоль) 2,3,3-триметил-1-пропил-3*H*-индол-1-ия иодида **18**, 0.31 г (1.1 ммоль) N-((1*E*,3*E*,5*E*)-5-(фенилимино)пента-1,3-диен-1-ил)анилина гидрохлорида **3** и 2 мл уксусного ангидрида перемешивали при 130°C в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры реакцию смесь упаривали, затем растворяли в минимальном количестве метанола, добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход: 0.36 г (75%), темно-коричневый порошок, $T_{\text{пл}} = 171-173^\circ\text{C}$. $\lambda_{\text{abs}} = 485$ нм (в метаноле).

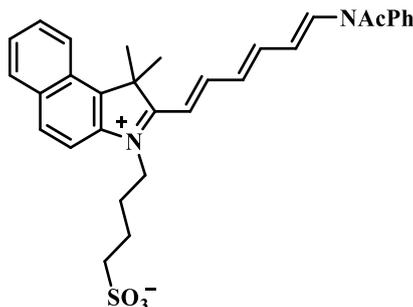
Спектр ЯМР ¹H (DMCO, δ , м.д.; J/Гц): 1.09 (т, 3 H, ³J_{HH} = 7.0, CH₃), 1.69 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 1.74-1.81 (м, 2 H, CH₂), 1.96 (уш. с., 3 H, C(O)CH₃), 4.33 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.3, N⁺CH₂), 5.23 (дд, 1 H, ³J_{HH} = 13.4, ³J_{HH} = 11.7, =CH), 6.59 (дд, 1 H, ³J_{HH} = 14.2, ³J_{HH} = 11.2, =CH), 6.92 (д, 1 H, ³J_{HH} = 15.0, =CH), 7.41 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.3, аром.), 7.53-7.64 (м, 6 H, аром, =CH), 7.81 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.8, аром.), 8.08-8.21 (м, 2 H, 2 =CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.): 10.8 (CH_3), 21.4 ($\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 26.0 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 26.7 (CH_2), 47.1 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 51.4 (N^+CH_2), 112.4, 112.5 (оба $=\text{CH}$), 114.5 (аром.), 118.9 ($\text{c}=\text{CH}$), 122.9, 124.8, 128.5 (все аром), 128.6 (аром.), 129.0 (аром.), 129.4 (аром.), 130.3, 138.2, 141.0 (все аром), 143.1, 151.0, 155.7 (все $=\text{CH}$), 168.3 ($\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$), 180.3 ($\text{N}^+=\text{C}$).

ИК, v/cm^{-1} : 1368 (N трет.), 1694 ($\text{C}=\text{O}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 399.2439 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}$. Вычислено: $M = 399.2431$.

4-(1,1-диметил-2-((1E,3E,5E)-6-(N-фенилацетида)гекса-1,3,5-триен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфонат (43) [109]



Смесь 0.30 г (0.8 ммоль) 4-(1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфоната **28** и 0.34 г (1.2 ммоль) N-((1E,3E,5E)-5-(фенилимино)пента-1,3-диен-1-ил)анилина гидрохлорида **3** в 3 мл уксусного ангидрида перемешивали при 110°C в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход 0.42 г (96%), темно-коричневый порошок, $T_{\text{пл}} > 240^\circ\text{C}$. $\lambda_{\text{abs}} = 500$ нм (в метаноле).

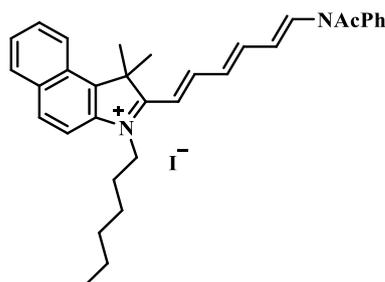
Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.69-1.83 (м, 4 H, 2 CH_2), 1.91 (уш. с., 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.96 (уш. с., 3 H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 2.47 (уш. с., 2 H, CH_2SO_3), 4.49 (уш. с., 2 H, CH_2N^+), 5.23 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$, $=\text{CH}$), 6.59 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$, $=\text{CH}$), 7.08 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 15.3$, $=\text{CH}$), 7.41 (д, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$, аром.), 7.55-7.70 (м, 5 H, аром, 2 $=\text{CH}$), 7.73-7.78 (м, 2 H, аром.), 8.09 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.2$, аром.), 8.14-8.23 (м, 2 H, аром, $=\text{CH}$), 8.37 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.): 21.1 ($\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 22.3, 23.2 (оба CH_2), 25.8 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 46.2 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 50.3 (CH_2SO_3), 53.0 (CH_2N^+), 102.9, 105.4 (оба $=\text{CH}$), 112.4 (аром.), 118.3 ($=\text{CH}$), 123.0, 124.8, 126.0, 128.2, 128.6, 129.7, 130.0, 130.2, 130.4, 133.0, 134.0, 139.7, 139.9 (все аром), 143.8, 143.9, 155.2 (все $=\text{CH}$), 169.0 ($\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$), 178.8 ($\text{N}^+=\text{C}$).

ИК, v/cm^{-1} : 1262 (SO_3), 1372 (N трет.), 1682 ($\text{C}=\text{O}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 543.2306 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$. Вычислено: $M = 543.2312$.

3-гексил-1,1-диметил-2-((1E,3E,5E)-6-(N-фенилацетида)гекса-1,3,5-триен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ий иодид (44)



Смесь 0.40 г (0.94 ммоль) 3-гексил-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ий иодида **21** и 0.41 г (1.42 ммоль) N-((1E,3E,5E)-5-(фенилимино)пента-1,3-диен-1-ил)анилина гидрохлорида **3** в 4 мл уксусного ангидрида перемешивали при 110°C в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход 0.53 г (90%), темно-коричневый порошок, $T_{пл} = 147-153\text{ }^{\circ}\text{C}$. $\lambda_{abs} = 500\text{ нм}$ (в метаноле).

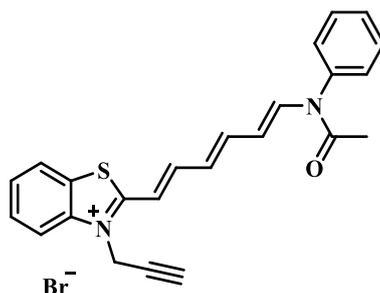
Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 0.82 (т, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$, CH_3), 1.20-1.31 (м, 4 H, 2 CH_2), 1.33-1.43 (м, 2 H, CH_2), 1.73-1.84 (м, 2 H, CH_2), 1.92 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.96 (уш. с., 3 H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 4.48 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$, CH_2N^+), 5.25 (дд, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.4$, $^3J_{\text{HH}} = 11.7$, $=\text{CH}$), 6.63 (дд, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 14.0$, $^3J_{\text{HH}} = 11.3$, $=\text{CH}$), 6.96 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 15.3$, $=\text{CH}$), 7.42 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, аром.), 7.53-7.72 (м, 4 H, аром., 2 $=\text{CH}$), 7.77 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, аром.), 8.03 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.11-8.20 (м, 2 H, аром., $=\text{CH}$), 8.21-8.30 (м, 2 H, аром.), 8.39 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.): 13.8 (CH_3), 21.9 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 23.2, 25.5 (оба CH_2), 25.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 28.1, 30.8 (оба CH_2), 46.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 53.0 (CH_2N^+), 112.1, 112.5, 113.0 (все $=\text{CH}$), 119.0, 123.0, 126.9, 128.3, 128.6, 129.4, 129.8, 130.0, 130.4, 131.0, 132.8, 137.5, 138.2 (все аром), 138.5, 150.4, 154.4 (все $=\text{CH}$), 169.0 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 180.8 ($\text{N}^+=\text{C}$).

ИК, v/cm^{-1} : 1371 (N трет.), 1686 (C=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 491.3056 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}$. Вычислено: $\text{M} = 491.3057$.

2-((1E,3E,5E)-6-(N-фенилацетида)гекса-1,3,5-триен-1-ил)-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-3-ия бромид (45)



Смесь 0.10 г (0.37 ммоль) 2-метил-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-3-ия бромида **17** и 0.13 г (0.45 ммоль) N-((1E,3E,5E)-5-(фенилимино)пента-1,3-диен-1-ил)анилина гидрохлорида **3** в 2 мл уксусного ангидрида перемешивали при 70°C в течение 4 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

Выход 0.15 г (85%), красный порошок, $T_{пл} = 181^\circ\text{C}$. $\lambda_{abs} = 485$ нм (в метаноле).

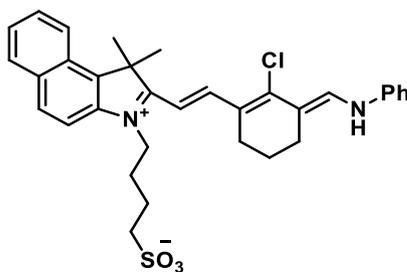
Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.97 (уш. с., 3 H, C(O)CH₃), 3.58 (уш. с., 1 H, C \equiv CH), 5.79 (уш. с., 2 H, N⁺CH₂), 6.41 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 12.0$, =CH), 7.16-7.25 (м, 2 H, аром.), 7.37-7.54 (м, 4 H, аром., 2 =CH), 7.78-7.87 (м, 2 H, аром.), 7.94 (т, 1 H, $^3J_{HH} = 7.7$, аром.), 8.38 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.0$, аром.), 8.51 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.0$, аром.), 8.63 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 11.6$, 2 =CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.): 17.2 (C(O)CнCH₃), 38.8 (CH₂N⁺), 74.7 (Cн \equiv CH), 79.1 (Cн \equiv CH), 109.4 (=CH), 116.7 (аром.), 117.5 (=CH), 125.0 (аром.), 125.6 (=CH), 128.3, 128.6, 129.0 (все аром), 129.3, 129.6 (оба =CH), 129.8, 130.3 (оба аром.), 138.8 (=CH), 140.3, 155.4 (оба аром), 163.1 (C(O)CнCH₃), 178.6 (N⁺=C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1332 (N трет.), 1633 (C=O), 2117 (C \equiv CH).

HRMS-ESI: найдено m/z 385.1369 [M]⁺. C₄₈H₅₃N₂O₉S₂. Вычислено: M = 385.1363.

4-(2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((фениламино)метил)ен)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфонат (46) [110]



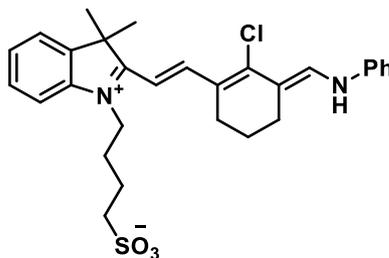
0.48 г (1.40 ммоль) соли **28** смешали с 1.13 г (3.15 ммоль) дианила **5** и 0.23 г (2.80 ммоль) ацетата натрия. К полученной сухой смеси добавляли 25 мл ацетонитрила и

выдерживали при комнатной температуре в течение 6 часов. Полученную смесь разделяли колоночной хроматографией на силикагеле (элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 15:1$). Наряду с целевым продуктом **10** был получен побочный продукт диконденсации с выходом 30%.

Выход: 0.40 г (50%), темно-синий порошок, $T_{\text{пл}} = 147\text{-}153\text{ }^\circ\text{C}$. $\lambda_{\text{abs}} = 665\text{ нм}$ (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.74-1.83 (м, 2 Н, CH_2), 1.83-1.91 (м, 4 Н, 2 CH_2), 1.94 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.95-2.01 (м, 2 Н, CH_2), 2.65-2.71 (м, 2 Н, CH_2), 2.75 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$, CH_2SO_3^-), 4.47-4.55 (м, 2 Н, CH_2N^+), 6.66 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 14.49$, $=\text{CH}$), 7.10-7.16 (м, 1 Н, аром.), 7.40 (д, 4 Н, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$, аром.), 7.59 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 7.69 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$, аром.), 7.96 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$, аром.), 8.09-8.19 (м, 3 Н, аром., $=\text{CHNH}$), 8.35 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$, аром.), 8.52 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 15.2$, 1 Н, $=\text{CH}$).

4-(2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((N-фенилацетидамидо)метилен)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-3H-индол-1-ий-1-ил)бутан-1-сульфонат (48) [4]



Смесь 1.00 г (3.38 ммоль) соли **27**, 2.19 г (6.77 ммоль) дианила **5** и 0.56 г (6.77 ммоль) ацетата натрия в 15 мл ацетонитрила перемешивали при комнатной температуре в течение 17 часов. После окончания реакции добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Продукт выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 17:1$).

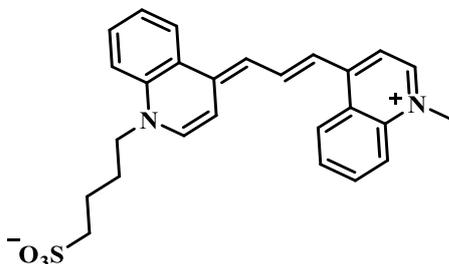
Выход 0.43 г (24%), темно-синий порошок, $T_{\text{пл}} = 218\text{ }^\circ\text{C}$. $\lambda_{\text{abs}} = 645\text{ нм}$ (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.69 (с, 6 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.72-1.80 (м, 2 Н, CH_2), 1.82-1.91 (м, 4 Н, 2 CH_2), 2.65-2.71 (м, 2 Н, CH_2), 2.71-2.77 (м, 2 Н, CH_2), 3.27-3.34 (м, 2Н, CH_2SO_3^-), 4.33-4.42 (м, 2 Н, CH_2N^+), 6.59 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 15.0$, $=\text{CH}$), 7.12-7.20 (м, 1 Н, аром.), 7.36-7.45 (м, 5 Н, аром.), 7.50 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 7.64-7.75 (м, 2 Н, аром.), 8.20 (с, 1 Н, $=\text{CHNH}$), 8.41 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 14.6$, $=\text{CH}$).

ИК, v/cm^{-1} : 731 (C-Cl), 1241 (SO_3), 1256 (SO_3), 1347 (N втор.).

4.5 Синтез несимметричных карбоцианинов

4-((*E*)-4-((*E*)-3-(1-метилхинолин-1-ия-4-ил)аллилиден)хинолин-1(4*H*)-ил)бутан-1-сульфонат (**50**)



Смешивали 0.50 г (1.2 ммоль) (*E*)-1-метил-4-(2-(*N*-фенилацетамид)винил)хинолин-1-ия иодида **35** и 0.32 г (1.2 ммоль) 4-(4-метилхинолин-1-ия-1-ил)бутан-1-сульфата **15**. Добавляли 1.5 мл (12 ммоль) триэтиламина и 20 мл хлористого метилена. Реакционную смесь выдерживали 16 ч при комнатной температуре при перемешивании. Хлористый метилен упаривали на ротаторном испарителе, остаток растворяли в смеси метилена и метанола, после чего добавляли избыток ацетона. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и высушивали.

Выход: 1.5 г (84%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 705$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 729$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.2 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

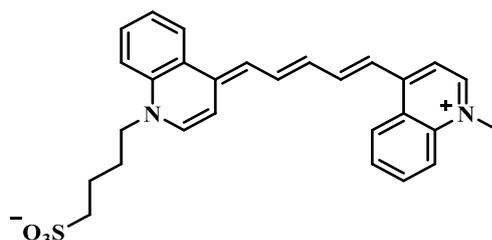
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; *J*/Гц): 1.56-1.71(м, 2 H, CH₂), 1.78-1.91(м, 2 H, CH₂), 2.53(т, 2 H, ³*J*_{HH} = 5.4, CH₂SO₃⁻), 3.98(с, 3 H, N⁺CH₃), 4.33(т, 2 H, ³*J*_{HH} = 6.8, NCH₂), 7.01(д, 1 H, ³*J*_{HH} = 12.6, =CH), 7.04(д, 1 H, ³*J*_{HH} = 12.6, =CH), 7.49-7.66(м, 4 H, аром.), 7.71-7.87(м, 4 H, аром.), 7.96(т, 2 H, ³*J*_{HH} = 7.2, аром.), 8.33(т, 2 H, ³*J*_{HH} = 9.29, аром.), 8.55(т, 1 H, ³*J*_{HH} = 13.0, =CH).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ , м.д.): 21.64 (CH₂), 27.26 (CH₂), 45.01 (NCH₂), 50.07 (CH₂SO₃⁻), 51.47 (N⁺CH₃), 107.83, 109.78, 116.90, 117.13 (все аром.), 118.40 (=CH), 122.35, (аром.), 122.40 (=CH), 123.37 (аром.), 123.57 (=CH), 124.00, 124.22, 125.36, 128.03, 132.02, 137.40, 138.40, 138.76, 140.24, 140.80, 141.95, 147.86 (все аром.).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1134.9 (SO₃), 1463.22 (CH₃), 1613.13 (C=N⁺), 2851.72 (N-CH₃), 2922.11 (CH₂).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 447.1746 [M+H]⁺. C₄₈H₅₃N₂O₉S₂. Вычислено: M = 447.1737.

4-((E)-4-((2E,4E)-5-(1-метилхинолин-1-ия-4-ил)пента-2,4-диен-1-илиден)хинолин-1(4H)-ил)бутан-1-сульфонат (51)



Смешивали 0.18 г (0.64 ммоль) 4-(4-метилхинолин-1-ил)бутан-1-сульфоната **15** и 0.20 г (0.44 ммоль) иодида 1-метил-4-((1E,3E)-4-(N-фенилацетоамид)бута-1,3-диен-1-ил)хинолин-1-ия **35**. К полученной смеси добавляли 0.40 мл (2.86 ммоль) триэтиламина и растворяли в 5 мл дихлорметана. Реакция шла 16 часов при комнатной температуре при постоянном перемешивании, затем упаривали растворитель и переосаждали ацетоном из 3 мл дихлорметана.

Выход 0.10 г (33%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 815$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 831$ нм (в этаноле). $\epsilon = 4.6 \times 10^4$ л*моль*см⁻¹.

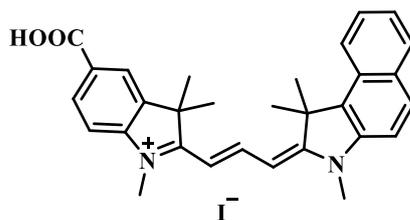
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 1.62-1.70 (м, 2 H, CH₂), 1.83-1.90 (м, 2 H, CH₂), 3.94 (с, 3 H, N⁺CH₃), 4.37 (т, 2 H, ³J_{HH} = 5.9, NCH₂), 6.61 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.3, =CH), 6.87-7.02 (м, 2 H, =CH), 7.25-7.34 (м, 2 H, аром.), 7.48-7.60 (м, 2 H, аром.), 7.74-7.84 (м, 3 H, аром.), 7.87-7.97 (м, 3 H, аром.), 8.07 (дд, 2 H, ³J_{HH} = 12.0, 7.2, =CH), 8.38 (д, 2 H, J = 8.1, аром.).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ , м.д.): 18.50 (CH₂), 30.65 (CH₂), 45.69 (NCH₂), 50.64 (CH₂SO₃⁻), 55.99 (N⁺CH₃), 107.92, 110.49, 117.19, 119.45, 122.62 (все аром.), 124.17, 124.38 (оба =CH), 124.71, 124.95, 125.71, 125.88 (все аром.), 127.04, 128.57 (оба =CH), 129.53 (аром.), 132.44 (=CH), 135.05, 137.89, 138.87, 140.78, 141.39, 145.84, 146.87, 148.33 (все аром.).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1140 (SO₃), 1463.22 (CH₃), 1617.02 (C=N⁺), 2852.20 (N-CH₃), 2922.59 (CH₂).

HRMS-ESI: найдено m/z 473.1899 [M+H]⁺. C₄₈H₅₃N₂O₉S₂. Вычислено: M = 473.1893.

5-карбокситриметил-2-((1*E*,3*E*)-3-(1,1,3-триметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)проп-1-ен-1-ил)-3*H*-индол-1-ия иодид (52)



Смесь 0.10 г (0.29 ммоль) 5-карбокситриметил-2-((1*E*,3*E*)-3-(1,1,3-триметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)проп-1-ен-1-ил)-3*H*-индол-1-ия иодида **29**, 0.14 г (0.29 ммоль) (*E*)-1,1,3-триметил-2-(2-(*N*-фенилацетидамидо)винил)-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия иодида **37** и 0.09 г (1.16 ммоль) ацетата натрия в 2 мл уксусного ангидрида нагревали при 120°C в течение часа, реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли избыток диэтилового эфира, полученный осадок отфильтровывали и высушивали. Целевое соединение очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 50:1.

Выход 0.042 г (25%), темно-малиновый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 560$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 588$ нм (в этаноле). $\epsilon = 3.9 \times 10^4$ л*моль*см⁻¹.

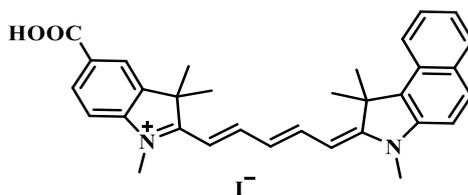
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.94 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 1.96 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 3.68 (с, 3 H, NCH₃), 3.78 (с, 3 H, N⁺CH₃), 6.46 (д, 1 H, ³ $J_{\text{HH}} = 13.5$, =CH), 6.52 (д, 1H, ³ $J_{\text{HH}} = 13.6$, =CH), 7.49-7.57 (м, 2 H, аром.), 7.60-7.68 (м, 2 H, аром.), 7.76 (д, 1 H, ³ $J_{\text{HH}} = 7.6$, аром.), 7.80 (д, 1 H, ³ $J_{\text{HH}} = 8.9$, аром.), 8.08 (д, 1 H, ³ $J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.), 8.12 (д, 1 H, ³ $J_{\text{HH}} = 9.1$, аром.), 8.29 (д, 1 H, ³ $J_{\text{HH}} = 8.4$, аром.), 8.51 (т, 1 H, ³ $J_{\text{HH}} = 13.4$, =CH).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ м.д.): 25.15 (C(CH₃)₂), 26.89 (NCH₃), 50.58 (C(CH₃)₂), 101.49 (=CH), 102.32 (аром.), 111.77 (=CH), 114.35, 122.22, 125.03, 127.14, 127.34, 127.82, 128.62, 128.66, 129.92, 130.31, 131.51, 133.14, 140.21, 143.95, 149.22 (все аром.), 175.07 (=CH), 175.97 (COOH), 179.79 (N-C =), 183.77 (N⁺ =C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1715 (C=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 451.2365 [M]⁺. C₃₀H₃₁N₂O₂. Вычислено: M = 451.2380.

5-карбокситриметил-2-((1*E*,3*E*,5*E*)-5-(1,1,3-триметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)пента-1,3-диен-1-ил)-3*H*-индол-1-ия иодид (53)



Смесь 0.07 г (0.19 ммоль) 5-карбокситетраметил-3*H*-индол-1-ия иодида **29**, 0.10 г (0.19 ммоль) (*E*)-1,1,3-триметил-2-(2-(*N*-фенилацетиламино)винил)-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия иодида **38**, 0.06 г (0.76 ммоль) ацетата натрия в 2 мл уксусного ангидрида нагревали при 120°C и перемешивании в течение 1 часа. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали и высушивали. Очистку целевого красителя проводили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 10:1.

Выход 0.025 г (28%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 660$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 690$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.6 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

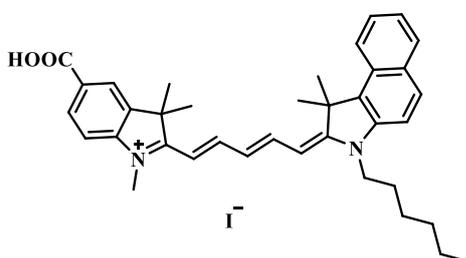
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; *J*/Гц): 1.90 (с, 12 H, C(CH₃)₂), 3.64 (с, 3 H, NCH₃), 3.68 (с, 3 H, N⁺CH₃), 6.25 (т, 2 H, ³*J*_{HH} = 15.1, =CH), 6.54 (т, 1 H, ³*J*_{HH} = 12.3, =CH), 7.33-7.41 (м, 2 H, аром.), 7.46 (т, 1 H, ³*J*_{HH} = 7.5, аром.), 7.56 (д, 1 H, ³*J*_{HH} = 7.2, аром.), 7.63 (т, 1 H, ³*J*_{HH} = 7.6, аром.), 7.70 (д, 1 H, ³*J*_{HH} = 8.8, аром.), 8.03 (т, 2 H, ³*J*_{HH} = 9.5, аром.), 8.20 (д, 1 H, ³*J*_{HH} = 8.5, аром.), 8.38 (т, 2 H, ³*J*_{HH} = 13.1, =CH).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ м.д.): 21.39 (C(CH₃)₂), 24.87 (C(CH₃)₂), 26.68 (NCH₃), 31.49 (N⁺CH₃), 50.37 (C(CH₃)₂), 50.98 (C(CH₃)₂), 102.25 (=CH), 102.83 (аром.), 111.44, 111.81 (оба =CH), 118.97, 122.02, 124.47, 124.90, 126.70, 127.56, 127.64, 127.70, 128.59, 129.88, 130.08, 131.10, 132.51, 140.50 (все аром.), 143.24 (=CH), 152.48 (аром.), 154.05 (=CH), 172.22 (COOH), 173.44 (N-C=), 174.97 (N⁺=C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1723(C=O).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 477.2534 [M]⁺. C₃₂H₃₃N₂O₂. Вычислено: M = 477.2537.

5-карбокситетраметил-3*H*-индол-1-ия иодида-2-((1*E*,3*E*,5*E*)-5-(1,1-диметил-3-пентил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)пента-1,3-диен-1-ил)-1,3,3-триметил-3*H*-индол-1-ия иодид (54**)**



Смесь 0.05 г (0.15 ммоль) 5-карбокситетраметил-3*H*-индол-1-ия иодида **29**, 0.11 г (0.18 ммоль) 3-гексил-1,1-диметил-2-((1*E*,3*E*)-4-(*N*-фенилацетиламино)бута-1,3-диен-1-ил)-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия иодида **39** и 0.06 г (0.70 ммоль) ацетата натрия в 2 мл уксусного ангидрида нагревали при 120°C и перемешивании в течение часа. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший

осадок отфильтровывали и высушивали. Целевое вещество очищали методом флеш-хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 40:1$.

Выход 0.039 г (38%), темно-бордовый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 663$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 695$ нм (в этаноле). $\epsilon = 4.9 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

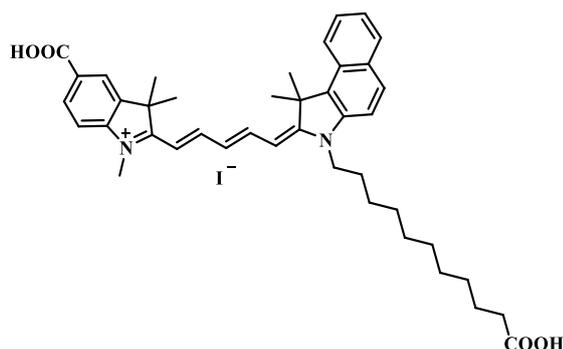
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 0.83 (т, 3 H, ³J_{HH} = 6.7, CH₃), 1.24-1.27 (м, 4 H, ³J_{HH} = 5.6, CH₂), 1.34-1.44 (м, 2 H, CH₂), 1.69-1.77 (м, 2 H, CH₂), 1.89 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 1.93 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 3.62 (с, 3 H, NCH₃), 4.24 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.2, N⁺CH₂), 6.23 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.9, =CH), 6.39 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.8, =CH), 6.59 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.2, =CH), 7.46-7.53 (м, 2 H, аром.), 7.54-7.60 (м, 1 H, аром.), 7.63-7.71 (м, 2 H, аром.), 7.74 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.9, аром.), 8.06 (т, 2 H, ³J_{HH} = 9.1, аром.), 8.23 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.6, аром.), 8.43 (кв, 2 H, ³J_{HH} = 13.1, =CH).

Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ , м.д.): 14.44 (CH₃), 23.74 (CH₂), 26.00 (C(CH₃)₂), 27.68 (CH₂), 27.74 (C(CH₃)₂), 28.93 (CH₂), 30.87 (C(CH₃)₂), 31.91 (CH₂), 32.79 (NCH₃), 43.60 (C(CH₃)₂), 45.40 (C(CH₃)₂), 52.55 (N⁺CH₂), 52.71 (C(CH₃)₂), 103.32 (=CH), 104.48 (=CH), 112.33 (аром.), 114.62 (=CH), 123.55, 126.36, 126.74, 127.87, 128.92, 129.55, 129.84, 131.26, 131.89, 133.66, 135.53, 141.04, 141.09 (все аром.) 145.66 (=CH), 155.09 (=CH), 155.23 (COOH), 175.91 (N-C=), 176.71 (N-C=).

ИК, ν/cm^{-1} : 1715 (C=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 547.3323 [M]⁺. C₃₇H₄₃N₂O₂. Вычислено: M = 547.3319.

5-карбокси-2-((1E,3E,5E)-5-(3-(10-карбоксидецил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)пента-1,3-диен-1-ил)-1,3,3-триметил-3H-индол-1-ия иодид (55)



0.04 г (0.12 ммоль) иодида 5-карбокси-1,2,3,3-тетраметил-3H-индол-1-ия **29** смешивали с 0.09 г (0.13 ммоль) иодидом 3-(10-карбоксидецил)-1,1-диметил-2-((1E,3E)-4-(N-фенилацетида)бута-1,3-диен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ия **40** и 0.04 г (0.46 ммоль) ацетата натрия. Полученную смесь растворяли в 2 мл уксусного ангидрида и нагревали при 120°C в течение часа. Осадок, выпавший при добавлении избытка диэтилового эфира, отфильтровывали и высушивали. Очистку вещества проводили с помощью флеш-хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 25:1$.

Выход 0.047 г (61%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 663$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 688$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.3 \times 10^6$ л*моль*см⁻¹.

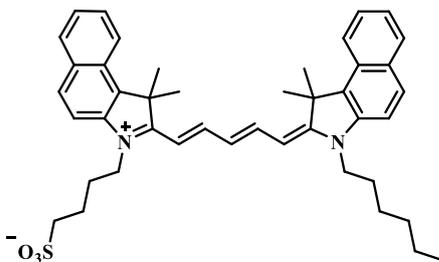
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 1.30-1.39 (м, 6 H, CH₂), 1.42-1.47 (м, 4 H, CH₂), 1.69-1.75 (м, 4 H, CH₂), 1.92 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 1.94 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 2.11-2.19 (м, 2 H, CH₂), 2.21-2.28 (м, 2 H, CH₂), 3.64 (с, 3 H, NCH₃), 4.18 (м, 2 H, N⁺CH₂), 6.27 (д, 2 H, ³J_{HH} = 13.9, =CH), 6.55 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.8, =CH), 7.38 (м, 1 H, аром.), 7.48 (т, 1 H, ³J_{HH} = 8.0, аром.), 7.55-7.58 (м, 1 H, аром.), 7.62-7.71 (м, 3 H, аром.), 8.00-8.08 (м, 2 H, аром.), 8.21 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.3, аром.), 8.38 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.5, =CH).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ , м.д.): 24.01, 24.38, 24.59 (все CH₂), 24.84 (C(CH₃)₂), 25.50 (C(CH₃)₂), 25.94, 26.83, 27.08, 28.42, 28.68 (все CH₂), 31.49 (CH₂COOH), 33.23 (NCH₃), 50.43 (C(CH₃)₂), 51.10 (NCH₂), 51.17 (C(CH₃)₂), 102.10 (=CH), 102.93 (аром.), 111.51 (=CH), 111.95 (аром.), 118.95 (=CH), 122.02, 122.90, 124.53, 125.07, 127.02 (все аром), 127.65 (аром.), 128.61, 129.91, 130.22, 131.09, 132.62, 138.20, 139.88 (все аром), 139.90 (=CH), 143.26 (=CH), 152.48 (COOH), 154.11 (CH₂COOH), 173.34 (N-C=), 175.15 (N⁺=C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1729 (COOH).

HRMS-ESI: найдено m/z 647.3846 [M]⁺. C₄₅H₅₁N₂O₄. Вычислено: M = 647.3843.

4-(2-((1E,3E,5E)-5-(3-гексил-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)пента-1,3-диен-1-ил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия-3-ил)бутан-1-сульфонат (56).



Смесь 0.06 г (0.17 ммоль) 3-(1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия-3-ил)пропил-1-сульфоната **28**, 0.10 г (0.17 ммоль) иодида 3-гексил-1,1-диметил-2-((1E,3E)-4-(N-фенилацетамид)бута-1,3-диен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ия **39** и 0.06 г (0.70 ммоль) ацетата натрия нагревали в 3 мл уксусного ангидрида в течение часа при 120°C при перемешивании. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры полученный краситель высаживали избытком диэтилового эфира, отфильтровывали и сушили.

Выход 0.94 г (80%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 680$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 712$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.0 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

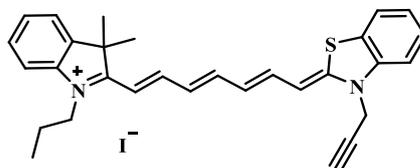
Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ м.д.; $J/\text{Гц}$): 0.84 (т, 3 Н, $^3J_{\text{HH}} = 6.2$, CH_3), 1.08 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$, CH_2SO_3^-), 1.24-1.33 (м, 4 Н, CH_2), 1.36-1.44 (м, 2 Н, CH_2), 1.69-1.80 (м, 4 Н, CH_2), 1.81-1.88 (м, 2 Н, CH_2), 1.96 (уш. с., 12 Н, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 4.23 (т, 4 Н, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ N^+CH_2), 6.37 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 13.2$, $=\text{CH}$), 6.44 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 14.1$, $=\text{CH}$), 6.65 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$, $=\text{CH}$), 7.51 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$, аром.), 7.67 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$, аром.), 7.73 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$, аром.), 7.78 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.), 8.07 (д, 4 Н, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, аром.), 8.25 (д, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$, аром.), 8.45 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 12.8$, $=\text{CH}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ м.д.): 13.88 (CH_3), 22.35 (CH_2), 22.76 (CH_2), 24.58 (CH_2), 25.87 (CH_2), 26.47 (CH_2), 27.46 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 27.63 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 30.87 (CH_2), 31.34 (CH_2), 44.19 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 46.12 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 50.90 (N^+CH_2), 51.05 (N^+CH_2), 102.36 ($=\text{CH}$), 110.23 ($=\text{CH}$), 110.73 (аром.), 119.92 (аром.), 121.98 (аром.), 122.16 (все аром.), 123.11 ($=\text{CH}$), 124.82, 124.94, 126.17, 127.58, 127.67, 128.01, 128.11, 128.45, 129.86, 129.96, 130.38, 130.69, 131.53, 131.77, 133.55, 133.65 (все аром.), 139.39 ($=\text{CH}$), 152.49 ($=\text{CH}$), 160.59, 174.16 (оба $\text{N}-\text{C}=\text{O}$).

ИК, ν/cm^{-1} : 1163 (SO_3^-).

HRMS-ESI: найдено m/z 675.3607 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{43}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$. Вычислено: $M = 675.3615$.

3,3-диметил-2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-2(3H)-илиден)гепта-1,3,5-триен-1-ил)-1-пропил-3H-индол-1-ия иодид (57)



Смесь 0.10 г (0.19 ммоль) 3,3-диметил-2-((1E,3E,5E)-6-(N-фенилацетиамидо)гекса-1,3,5-триен-1-ил)-1-пропил-3H-индол-1-ия иодида **42**, 0.04 г (0.19 ммоль) 2-метил-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-3-ия бромида **17**, 0.03 г (0.38 ммоль) ацетата натрия в 2 мл этанола перемешивали при 70°C в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Дальнейшую очистку красителя проводили с помощью флеш-хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 40:1$.

Выход 0.03 г (27%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 750$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 788$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.1 \times 10^5$ л*моль*см $^{-1}$.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ м.д.; $J/\text{Гц}$): 0.95 (т, 3 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, CH_3), 1.61 (с, 6 Н, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 1.69-1.74 (м, 2 Н, CH_2), 3.59 (уш. с., 1 Н, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 3.97 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, N^+CH_2), 5.33 (уш. с., 2 Н, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 6.2 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 13.4$, $=\text{CH}$), 6.51 (т, 2 Н, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$, $=\text{CH}$), 6.76 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 12.7$, $=\text{CH}$), 7.15 (т, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, аром.), 7.28 (д, 1 Н, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$, аром.),

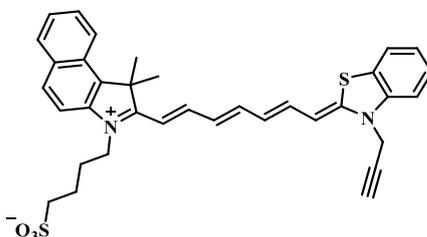
7.33 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 7.3$, аром.), 7.44 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 7.4$, аром.), 7.50-7.54 (м, 2 H, аром., =CH), 7.56-7.61 (м, 2 H, 2 =CH), 7.79 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.4$, аром.), 8.02 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 7.3$, аром.).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.): 11.0 (CH_3), 20.3 (CH_2), 27.4 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 36.0 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 44.6 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 48.3 (N^+CH_2), 76.9 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 77.0 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 102.7, 103.4, 110.3 (все =CH), 110.4, 113.6, 122.2 (все аром.), 122.3 (=CH), 123.3, 123.3, 123.9, 124.1 (все аром.), 125.5 (=CH), 125.7, 128.3, 140.6, 140.7 (все аром.), 142.6 (NCS), 149.4 (аром.), 149.8, 154.5 (все =CH), 192.0 ($\text{N}^+=\text{C}$).

ИК, v/cm^{-1} : 1398 (N трет.), 2114 ($\text{C}\equiv\text{CH}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 451.2200 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{37}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{S}$. Вычислено: $\text{M} = 451.2202$.

4-(1,1-диметил-2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-2(3H)-илиден)гепта-1,3,5-триен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфонат (58)



Методика 1

Смесь 0.10 г (0.2 ммоль) 4-(1,1-диметил-2-((1E,3E,5E)-6-(N-фенилацетида)гекса-1,3,5-триен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфоната **43**, 0.05 г (0.2 ммоль) 2-метил-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-3-ий бромида **17**, 0.03 г (0.4 ммоль) ацетата натрия в 2 мл уксусного ангидрида перемешивали при 70°C в течение часа. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушили. Дальнейшую очистку красителя проводили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 7:1$.

Методика 2

Смесь 0.10 г (0.2 ммоль) 2-((1E,3E,5E)-6-(N-фенилацетида)гекса-1,3,5-триен-1-ил)-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-3-ий бромида **45**, 0.074 г (0.2 ммоль) 4-(1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфоната **28**, 0.035 г (0.4 ммоль) ацетата натрия в 2 мл уксусного ангидрида перемешивали при 70°C в течение часа. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушили. Дальнейшую очистку красителя проводили с помощью флеш-хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 10:1$.

Выход по методике 1 0.025 г (21%), по методике 2 0.016 г (13%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 775$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 807$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.1 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

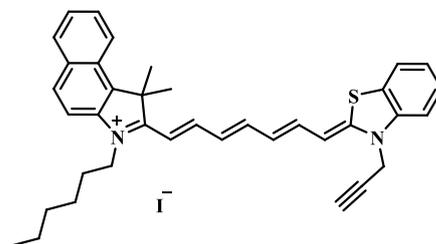
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 1.73-1.79 (м, 2 H, CH₂), 1.80-1.85 (м, 2 H, CH₂), 1.89 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 2.52 (уш. с., 2 H, CH₂SO₃⁻), 3.58 (т, 1 H, ⁴J_{HH} = 2.4, C≡CH), 4.18 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, N⁺CH₂), 5.30 (д, 2 H, ⁴J_{HH} = 2.0, CH₂C≡CH), 6.44 (д, 1 H, ³J_{HH} = 14.2, =CH), 6.52 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.5, =CH), 6.58 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.4, =CH), 6.70 (д, 1 H, ³J_{HH} = 12.7, =CH), 7.41 (т, 1 H, ³J_{HH} = 7.6, аром.), 7.46-7.54 (м, 2 H, аром, =CH), 7.58 (т, 1 H, ³J_{HH} = 7.9, аром.), 7.61-7.68 (м, 2 H, аром, =CH), 7.74 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.5, аром.), 7.96 (т, 1 H, ³J_{HH} = 14.4, =CH), 7.99-8.06 (м, 3 H, аром.), 8.23 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.7, аром.).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ , м.д.): 22.5 (CH₂), 26.3 (CH₂), 26.7 (C(CH₃)₂), 35.6 (CH₂C≡CH), 43.6 (CH₂SO₃⁻), 48.5 (C(CH₃)₂), 50.7 (N⁺CH₂), 76.6 (C≡CH), 76.8 (C≡CH), 102.1, 102.2, 111.6 (все =CH), 113.1, 122.1, 123.2 (все аром.), 124.5 (=CH), 124.7, 125.1, 125.2, 127.5, 127.5, 128.1 (все аром.), 128.1 (=CH), 129.8, 130.2, 130.2, 131.1, 132.9, 139.9 (все аром.), 140.6 (NCS), 144.9 (аром.), 148.7, 154.1 (оба =CH), 194.5 (N⁺=C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1052 (SO₃), 1389 (N трет.), 2118 (C≡CH).

HRMS-ESI: найдено m/z 595.2083 [M+H]⁺. C₃₅H₃₄N₂S₂O₃. Вычислено: M = 595.2084.

3-гексил-1,1-диметил-2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-2(3H)-илиден)гепта-1,3,5-триен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ия иодид (59)



Смесь 0.10 г (0.16 ммоль) 2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((N-фенилацетиламино)метил)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-гекс-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодида **44**, 0.04 г (0.16 ммоль) 2-метил-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-3-ия бромид **17**, 0.03 г (0.32 ммоль) ацетата натрия в 2 мл ацетонитрила перемешивали при 70°C в течение 4 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Дальнейшую очистку красителя проводили в две стадии: с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 50:1 и препаративной тонкослойной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 10:1.

Выход 0.012 г (11%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 775$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 807$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.3 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

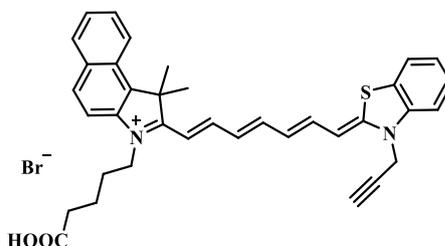
Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д.; J/Гц): 0.91 (т, 3 H, ³J_{HH} = 7.2, CH₃), 1.35-1.38 (м, 4 H, 2 CH₂), 1.47-1.50 (м, 2 H, CH₂), 1.82-1.86 (м, 2 H, CH₂), 2.00 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 2.47 (уш. с., 1 H, C≡CH), 4.08 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.3, N⁺CH₂), 5.25 (уш. с., 2 H, CH₂C≡CH), 6.13 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.1, =CH), 6.57 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.3, =CH), 7.28-7.32 (м, 2 H, 2 =CH), 7.37 (т, 1 H, ³J_{HH} = 7.3, аром.), 7.45 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.49-7.55 (м, 3 H, аром, 2 =CH), 7.60 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.78 (д, 1 H, ³J_{HH} = 7.3, аром.), 7.89-7.94 (м, 3 H, аром, =CH), 8.12 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.6, аром.).

Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ , м.д.): 13.9 (CH₃), 22.45, 26.6 (оба CH₂), 27.7 (C(CH₃)₂), 29.7, 31.5 (оба CH₂), 35.8 (CH₂C≡CH), 49.9 (C(CH₃)₂), 53.1 (N⁺CH₂), 73.4 (C≡CH), 76.1 (C≡CH), 102.6, 109.1 (оба =CH), 110.2 (аром.), 112.8 (=CH), 117.5, 121.2 (оба аром.), 122.2 (=CH), 122.3, 124.7, 125.6, 127.7, 128.2, 128.3 (все аром.), 129.8 (=CH), 129.9, 130.4, 132.0, 134.1, 136.4, 138.8 (все аром.), 139.9 (NCS), 142.7 (аром.), 151.8, 158.0 (оба =CH), 192.1 (N⁺=C)

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1360 (N трет.), 2115 (C≡CH).

HRMS-ESI: найдено m/z 543.2820 [M]⁺. C₃₇H₃₉N₂S. Вычислено: M = 543.2828.

3-(4-карбоксивбутил)-1,1-диметил-2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-2(3H)-илиден)гепта-1,3,5-триен-1-ил)-1H-бензо[e]индол-3-ия бромид (60)



Смесь 0.10 г (0.22 ммоль) 2-((1E,3E,5E)-6-(N-фенилацетида)гекса-1,3,5-триен-1-ил)-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-3-ия бромида **45**, 0.08 г (0.22 ммоль) 3-(4-карбоксивбутил)-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромида **25**, 0.04 г (0.43 ммоль) ацетата натрия в 2 мл уксусного ангидрида перемешивали при 70°C в течение 2.5 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Дальнейшую очистку красителя проводили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 20:1.

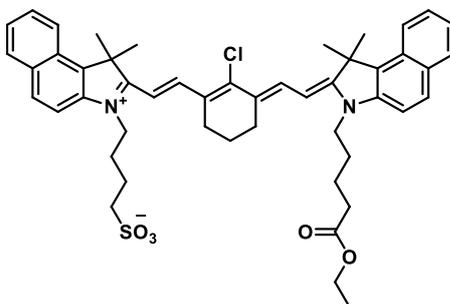
Выход 0.017 г (12%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 780$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 807$ нм (в этаноле). $\epsilon = 0.7 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д.; J/Гц): 1.90 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 1.94 (уш. с., 2 H, CH₂), 1.97 (уш. с., 2 H, CH₂), 2.49 (т, 2 H, ⁴J_{HH} = 2.0, C≡CH), 2.67 (уш. с., 2 H, CH₂COOH), 4.15 (т, 3 H, ³J_{HH} = 6.3, N⁺CH₂), 5.13 (уш. с., 2 H, CH₂C≡CH), 6.28 (д, 1 H, ³J_{HH} = 12.8, =CH), 7.34-7.38 (м, 3 H, аром, 2 =CH), 7.42-7.49 (м, 4 H, аром, =CH), 7.54-7.61 (м, 4 H, аром, =CH), 7.89 (д, 3 H, ³J_{HH} = 8.7, аром.), 8.06 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.6, аром.).

Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ , м.д.): 22.7 (CH₂), 27.5 (CH₂), 29.7 (C(CH₃)₂), 31.9 (CH₂COOH), 42.8 (NCH₂), 44.4 (C(CH₃)₂), 49.6 (NCH₂), 76.1 (C≡CH), 80.1 (C≡CH), 108.6, 109.1 (оба =CH), 110.2 (аром.), 112.4 (=CH), 115.7, 118.8 (оба аром.), 120.2 (=CH), 121.6, 122.0, 123.3, 125.4, 126.5, 127.7 (все аром.), 128.2 (=CH), 128.6, 129.3, 129.9, 130.0, 130.1, 130.5, 130.9 (все аром.), 140.6 (NCS), 144.8, 155.2 (оба =CH), 177.8 (COOH), 188.5 (N⁺=C).

HRMS-ESI: найдено m/z 559.2414 [M]⁺. C₃₆H₃₅N₂O₂Br. Вычислено: M = 559.2401.

4-(2-((E)-2-((E)-2-хлор-3-((E)-2-(3-(5-этоксипентил)-1,1-диметил-1), 3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ий- 3-ил)бутан-1-сульфонат (61)



Смесь 0.12 г (0.21 ммоль) моноокрасителя **46**, 0.07 г (0.21 ммоль) соли **24** и 0.021 г (0.25 ммоль) ацетата натрия в 12 мл абсолютного этанола перемешивали при 70°C в течение 6 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавили избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровали, очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:EtOH = 15:1.

Выход 0.029 г (17%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 825$ нм (в этаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 844$ нм (в метаноле). $\epsilon = 1.3 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д.; J/Гц): 1.23 (т, 3 H, ³J_{HH} = 7.2, OCH₂CH₃), 1.80-1.84 (м, 2 H, CH₂), 1.91-1.95 (м, 2 H, CH₂), 2.01 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 2.02 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 2.06-2.10 (м, 2 H, CH₂), 2.11-2.20 (м, 4 H, 2 CH₂), 2.42 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.0, CH₂COOEt), 2.69 (т, 2 H, ³J_{HH} = 5.7, CH₂), 2.82 (т, 2 H, ³J_{HH} = 5.5, CH₂), 3.03-3.08 (м, 2 H, CH₂SO₃⁻), 4.08-4.17 (м, 4 H, OCH₂CH₃, CH₂N⁺), 4.36-4.42 (м, 2 H, CH₂N⁺), 6.04 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.76, CH), 6.56 (д, 1 H, ³J_{HH}

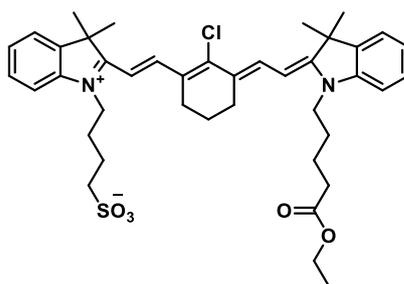
= 14.4, CH), 7.35 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 8.8$, аром.), 7.41-7.47 (м, 1 H, аром.), 7.50 (т, 1 H, $^3J_{HH} = 7.2$, аром.), 7.56-7.64 (м, 3 H, аром.), 7.92 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 8.6$, аром.), 7.94-8.01 (м, 2 H, аром.), 8.09-8.15 (м, 2 H, аром.), 8.36 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 13.9$, CH), 8.54 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 14.4$, CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.): 14.38 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 20.98, 21.56, 22.43, 23.07, 26.61, 26.63, 26.74, 26.92 (все CH_2), 27.81, 27.88 (оба $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 33.73 (CH_2), 44.11, 45.58 (оба $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 50.16 (CH_2SO_3^-), 50.72, 51.75 (оба CH_2N^+), 60.72 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 98.87, 103.37 (оба CH), 110.40, 111.45 (оба аром.), 122.12, 122.25 (оба $\text{C}=\text{C}(\text{Cl})-\text{C}$), 124.83, 125.69, 127.07 (все аром.), 127.81, 127.98 (оба CH), 128.05, 128.05, 128.46, 128.62, 130.26, 130.43, 130.77, 131.34, 131.71, 132.52, 132.95, 134.95, 139.44, 140.02, 141.49, 145.81 (все аром.), 150.03 (CCl), 171.65 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 173.06, 175.79 (оба $\text{C}=\text{N}$).

ИК, v/cm^{-1} : 1727.42 (COO^-), 1548.56-1505.65 ($\text{C}=\text{C}$), 1234.7, 1009.07 (SO_3^-).

HRMS-ESI: найдено m/z 819.3593 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{49}\text{H}_{55}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено: $\text{M} = 818.3520$.

4-(2-((E)-2-((E)-2-хлор-3-(2-((E)-1-(5-этоксипентил)-3,3-диметилиндолин-2)-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-3H-индол-1-ий-1-ил)бутан-1-сульфонат (62)



Смесь 0.42 г (0.79 ммоль) монорасителя **48**, 0.33 г (0.79 ммоль) соли **23** и 0.13 г (1.58 ммоль) ацетата натрия в 20 мл абсолютного этанола перемешивали при 70°C в течение 6 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали, очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOH} = 7:1$.

Выход 0.26 г (46%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 785$ нм (в этаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 817$ нм (в метаноле). $\epsilon = 1.6 \times 10^5$ л*моль*см $^{-1}$.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.20 (т, 3 H, $^3J_{HH} = 7.1$, OCH_2CH_3), 1.67 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.69 (с, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.73-1.79 (м, 2 H, CH_2), 1.80-1.88 (м, 2 H, CH_2), 1.91-1.99 (м, 2 H, CH_2), 2.02-2.11 (м, 4 H, 2 CH_2), 2.37 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 6.9$, CH_2COOEt), 2.62 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 5.4$, CH_2), 2.76 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 5.3$, CH_2), 2.98 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 5.6$, CH_2SO_3^-), 3.99 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 7.2$, CH_2N^+), 4.09 (кв, 2 H, $^3J_{HH} = 7.1$, OCH_2CH_3), 4.22-4.28 (м, 2 H, CH_2N^+), 5.97 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 13.7$, CH), 6.51 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 14.3$, CH), 7.02 (д, 1 H, $^3J_{HH} = 7.9$, аром.), 7.15 (т, 1 H, $^3J_{HH} =$

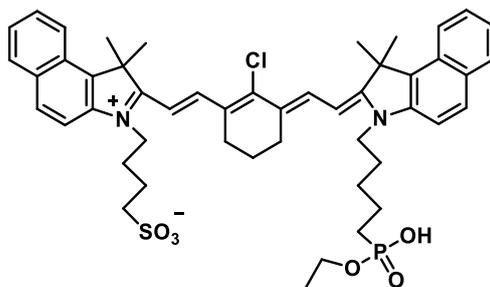
7.4, аром.), 7.24-7.26 (м, 1 Н, аром.), 7.28-7.35 (м, 3 Н, аром.), 7.36 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 7.3$, аром.), 7.40 (т, 1 Н, $^3J_{HH} = 7.6$, аром.), 8.21 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 13.7$, СН), 8.41 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 14.4$, СН).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.): 14.15 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 20.67, 22.21, 22.87, 26.08, 26.36, 26.39, 26.47(все CH_2), 27.96, 28.18 (оба $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 33.50 (CH_2), 43.72, 45.18 (оба $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 48.64 (CH_2SO_3^-), 49.79, 49.91 (оба CH_2N^+), 60.48 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 98.99, 103.66 (оба СН), 109.76, 111.85 (оба аром.), 122.10 ($\text{C}=\text{C}(\text{Cl})-\text{C}$), 122.13 ($\text{C}=\text{C}(\text{Cl})-\text{C}$), 124.29, 126.15, 126.98 (все аром.), 128.56, 128.57 (оба СН), 129.09, 140.45, 141.43, 141.71, 142.11, 142.41, 146.77 (все аром.), 150.49 (CCl), 169.92 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 172.84, 174.41 (оба $\text{C}=\text{N}$).

ИК, v/cm^{-1} : 1727.42 (COO^-), 1549.04-1511.44 ($\text{C}=\text{C}$), 1247.24, 1028.35 (SO_3^-).

HRMS-ESI: найдено m/z 719.3276 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 741.3099 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $\text{C}_{41}\text{H}_{51}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$.
Вычислено: $M = 718.3207$.

4-(2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((E)-2-(3-(5-(этокси(гидрокси)фосфорил)пентил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфонат (63)



К раствору 8.8 г (18.9 мкмоль) соединения **46** в 1,5 мл пиридина добавляли раствор 9.7 г (20.8 мкмоль) фосфонат замещенной соли **31c** в 7 мл ацетонитрила. Образующуюся смесь перемешивали в течение 1.5 часов при 90°C. После охлаждения смесь высаживали диэтиловым эфиром из метанола. Полученный продукт очищали хроматографированием на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 20:1$.

Выход 10%, зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 818$ нм (в метаноле). $\epsilon = 3.6 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ^1H (CD_3CN , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.10-1.28 (м, 7 Н, OCH_2CH_3 , 2 CH_2), 1.35 (т, 6 Н), 1.73-1.82 (м, 4 Н, 2 CH_2), 1.82-1.90 (м, 6 Н, 3 CH_2), 1.94 (с, 12 Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.69 (т, 4 Н, $^3J_{HH} = 7.2$, CH_2SO_3^-), 3.53 (кв, 2 Н, $^3J_{HH} = 6.9$, OCH_2), 4.19-4.26 (м, 2 Н, CH_2N^+), 4.26-4.33 (м, 2 Н, CH_2N), 6.22 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 14.2$, =CH-), 6.39 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 14.4$, =CH-), 7.47-7.60 (м, 2 Н, аром.), 7.60-7.72 (м, 2 Н, аром.), 7.76 (м, 1 Н, аром.), 7.83 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 8.9$, аром.), 8.03-8.14 (м, 4 Н, аром.), 8.29 (д, 2 Н, $^3J_{HH} = 7.1$, аром.), 8.46 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 14.3$, =CH-), 8.51 (д, 1 Н, $^3J_{HH} = 14.4$, =CH-).

Спектр ЯМР ^{13}C (DMFSO ; δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 12.72 (с, OCH_2CH_3 , CH_2), 20.71 (с, CH_2), 22.72 (с, CH_2), 27.60 (д, $^1J_{CP} = 144.9$, CH_2P), 26.62 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 27.17 (с, CH_2), 27.24 (с, CH_2), 44.29

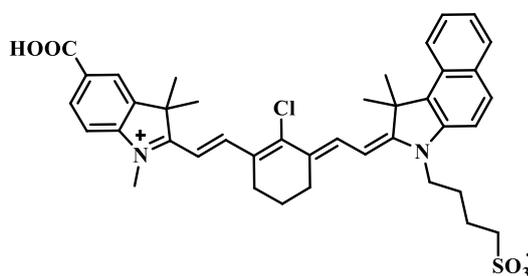
(с, $\underline{C}(\text{CH}_3)_2$), 48.83 (с, $\underline{C}(\text{CH}_3)_2$), 50.85 (с, N^+CH_2 , CH_2SO_3), 51.03 (с, $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 100.77, 101.96, 111.73, 112.19, 122.48, 122.53, 125.14, 125.32, 126.29, 126.62, 127.65, 127.78, 128.01, 130.16, 130.72, 131.64, 131.78, 133.74, 134.00, 139.65, 139.96, 141.95, 142.61, 147.58(все с, все аром, -CH=), 172.78, 173.92 (оба с, N=C).

Спектр ЯМР ^{31}P ЯМР (CD_3CN ; δ , м.д.): 31.84.

ИК, ν/cm^{-1} : 1051 (P-O-C₂H₅), 1110 (P=O), 1234 (S=O).

MALDI-TOF: найдено m/z 839 [M-Et]⁺. C₄₇H₅₂ClN₂O₆PS.

3-((E)-2-((E)-2-(3-((E)-2-(5-карбокситриметил-3H-индол-1-ия-2-ил)винил)-2-хлорциклогекс-2-ен-1-илиден)этилиден)-1,1-диметил-1,2-дигидро-3H-бензо[e]индол-3-ил)пропан-1-сульфонат (64)



В виале смешивали 0.05 г (0.09 ммоль) 3-(2-((E)-2-((E)-2-хлор-3-((N-фенилацетамид)метил)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия-3-ил)пропан-1-сульфоната **46**, 0.03 г (0.10 ммоль) 5-карбокситриметил-3H-индол-1-ия иодида **29** и 0.03 г (0.37 ммоль) ацетата натрия. Полученную смесь растворяли в 2 мл уксусного ангидрида. Реакционную смесь нагревали при 120°C в течение часа, после чего охлаждали до комнатной температуры. Осадок, выпавший при добавлении избытка диэтилового эфира, отфильтровывали и высушивали. Очистку целевого соединения проводили с помощью флеш-хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 50:1.

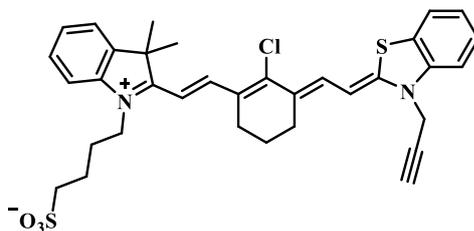
Выход 0.026 г (36%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 790$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 830$ нм.

Спектр ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 1.75-1.79 (м, 4 H, CH₂), 1.85-1.88 (м, 8 H, CH₂), 1.92 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 1.93 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 3.72 (с, 3 H, NCH₃), 4.30 (м, 2 H, N⁺CH₂), 6.31 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.9$, =CH), 6.34 (д, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6$, =CH), 7.44 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, аром.), 7.50 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$, аром.), 7.61-7.65 (м, 2 H, аром.), 7.78 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$, аром.), 8.07 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$, аром.), 8.27-8.29 (м, 1 H, аром.), 8.33 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 11.9$, =CH).

ИК, ν/cm^{-1} : 1711 (COOH).

HRMS-ESI: найдено m/z 699.2644 [M+H]⁺. C₄₀H₄₃ClN₂O₅S. Вычислено: M = 699.2654.

4-(2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((Z)-2-(3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-2(3H)-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-3H-индол-1-ий-1-ил)бутан-1-сульфонат (65)



Смесь 0.06 г (0.11 ммоль) 4-(2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((N-фенилацетидамидо)метилен)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-3H-индол-1-ий-1-ил)бутан-1-сульфоната **48**, 0.03 г (0.10 ммоль) 2-метил-3-(проп-2-ин-1-ил)бензо[d]тиазол-3-ия бромид **17**, 0.02 г (0.20 ммоль) ацетата натрия в 2 мл уксусного ангидрида перемешивали при 70°C в течение 2 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Дальнейшую очистку красителя проводили в две стадии: с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 10:1) и препаративной тонкослойной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 20:1.

Выход 0.025 г (41%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 790$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 812$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.0 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 1.69-1.72 (м, 6 H, 3 CH₂), 1.92 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 2.68-2.77 (м, 6 H, 2 CH₂, CH₂SO₃⁻), 3.10 (т, 1 H, ⁴J_{HH} = 2.1, C≡CH), 4.12 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.9, CH₂N⁺), 5.36 (уш. с, 2 H, CH₂C≡CH), 6.20 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.9, =CH), 6.66 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.7, =CH), 7.21 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.27-7.29 (м, 1 H, аром.), 7.44-7.47 (м, 2 H, аром., =CH), 7.51 (д, 1 H, ³J_{HH} = 7.7, аром.), 7.63 (т, 1 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.77 (д, 1 H, ³J_{HH} = 8.5, аром.), 7.89 (д, 1 H, ³J_{HH} = 7.8, аром.), 8.17 (д, 1 H, ³J_{HH} = 13.6, =CH).

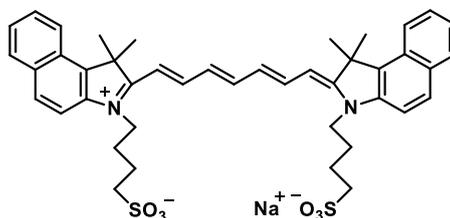
Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 22.3 (CH₂), 23.8 (CH₂), 27.3 (CH₂), 27.4 (CH₂), 28.6 (C(CH₃)₂), 30.9 (CH₂), 41.7 (C(CH₃)₂), 44.9 (CH₂C≡CH), 50.3 (CH₂SO₃), 52.0 (CH₂N⁺), 76.3 (C≡CH), 76.9 (C≡CH), 101.3, 102.9 (оба =CH), 111.9, 114.9, 123.5, 124.3, 125.9, 127.4 (все аром.), 127.5 (C=C-Cl), 127.8 (C=C-Cl), 128.0, 129.9 (оба аром.), 131.4 (C-C-Cl), 142.4, 142.5 (оба аром.), 143.9 (N-C=), 144.0 (=CH), 145.0, 149.8 (оба аром.), 167.3 (=CH), 197.8 (N⁺=C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 752 (C-Cl), 1231 (SO₃), 1395 (N трет.), 2119 (C≡CH).

HRMS-ESI: найдено m/z 619.1850 [M+H]⁺. C₃₅H₃₈N₂S₂O₃Cl. Вычислено: M = 619.1850.

4.6 Синтез симметричных карбоцианиновых красителей

ICG 4-(2-((1*E*,3*E*,5*E*,7*Z*)-7-(3-(4-((λ^1 -оксиданеил)диоксо- λ^6 -сульфанеил)бутил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)гепта-1,3,5-триен-1-ил)-1,1-диметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфонат (66) [111]

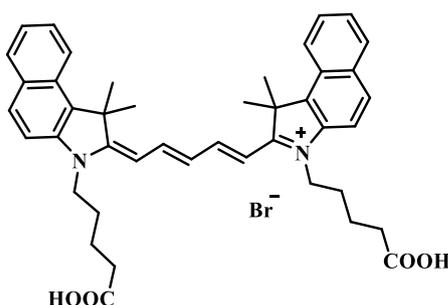


0.1 ммоль гидрохлорида дианила глутаконового альдегида **3**, 0.2 ммоль (1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфоната **28**, 0.4 ммоль ацетата натрия и 0.575 мл уксусного ангидрида смешали в виале и интенсивно перемешивали при температуре 130°C в течение 1 ч. Полученный зеленый осадок отфильтровали и промывали ацетоном и диэтиловым эфиром.

Выход 60%, зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 794$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 808$ нм (в этаноле). $\varepsilon = 1.2 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д.; J/Гц): 1.66-1.90 (м, 24 H, 4 C(CH₃)₂, 2 CH₂), 4.19 (уш. с, 4 H, NCH₂), 6.49-6.58 (м, 3 H, =CH), 7.48-8.23 (м, 16 H, аром., =CH).

3-(4-карбоксивбутил)-2-((1*E*,3*E*,5*E*)-5-(3-(4-карбоксивбутил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)пента-1,3-диен-1-ил)-1,1-диметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия бромид (67)



Смесь 0.10 г (0.26 ммоль) бромида 3-(5-карбоксивбутил)-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия **25** и 0.10 г (0.39 ммоль) N-((1*E*)-3-(фенилиино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорида **2** в 1 мл уксусного ангидрида нагревали при температуре 120°C и перемешивании. 0.15 г (0.39 ммоль) бромида 3-(5-карбоксивбутил)-1,1,2-триметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия **25** растворяли в 3 мл пиридина и добавляли через 30 минут к реакционной смеси. Полученный раствор нагревали еще 30 минут. После охлаждения до

комнатной температуры, добавляли избыток диэтилового эфира и отфильтровывали. Очистку проводили с помощью флеш-хроматографии на силикагеле в системе CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 30:1$.

Выход 0.10 г (53%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 680$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 696$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.7 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

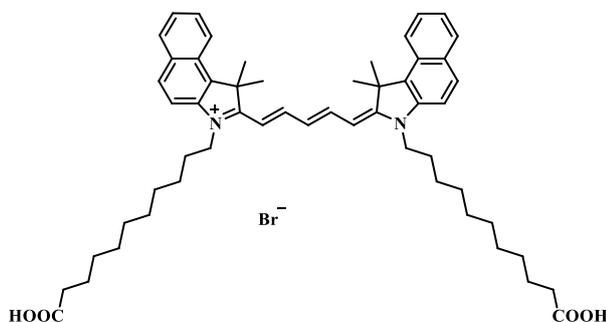
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 1.61-1.68 (м, 4 H, CH₂), 1.73-1.81 (м, 4 H, CH₂), 1.97 (с, 12 H, C(CH₃)₂), 2.30 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.2, CH₂COOH), 4.26 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.8, N⁺CH₂), 6.38 (д, 2 H, ³J_{HH} = 13.8, =CH), 6.64 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.3, =CH), 7.52 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.68 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.4, аром.), 7.76 (м, 2 H, ³J_{HH} = 8.9, аром.), 8.07 (т, 4 H, ³J_{HH} = 8.2, аром.), 8.26 (м, 2 H, ³J_{HH} = 8.3, аром.), 8.47 (т, 2 H, ³J_{HH} = 13.3, =CH).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 21.69 (CH₂), 26.78 (C(CH₃)₂), 33.25 (CH₂), 43.27 (CH₂), 48.58 (C(CH₃)₂), 50.71 (NCH₂), 103.03 (аром.), 111.64 (=CH), 122.14 (аром.), 124.77 (=CH), 127.58, 127.74, 129.92, 130.29, 131.27, 133.12, 139.74, 144.49 (все аром.), 152.93 (=CH), 173.70 (COOH), 174.21 (N=C).

ИК, $\nu_{\text{cm}^{-1}}$: 1725 (C=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 655.3527 [M+H]⁺. C₄₃H₄₇N₂O₄. Вычислено: M = 655.3530.

3-(10-карбоксидецил)-2-((1E,3E,5E)-5-(3-(10-карбоксидецил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)пента-1,3-диен-1-ил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромид (68)



Смесь 0.10 г (0.21 ммоль) 3-(10-карбоксидецил)-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромида **26**, 0.08 г (0.32 ммоль) N-((1E)-3-(фенилиино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорида **2** в 1.5 мл уксусного ангидрида нагревали при 120°C в течение 30 минут. После этого в реакционную смесь добавляли 0.14 г (0.3 ммоль) 3-(10-карбоксидецил)-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромида **26**, растворенного в 1.5 мл пиридина, и нагревали еще 30 минут. Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры и растворитель отгоняли при пониженном давлении. Очистку вещества проводили с помощью флеш-хроматографии на силикагеле в системе CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 30:1$.

Выход 0.13 г (77%), темно-бордовый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 684$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 730$ нм (в этаноле). $\epsilon = 5.5 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

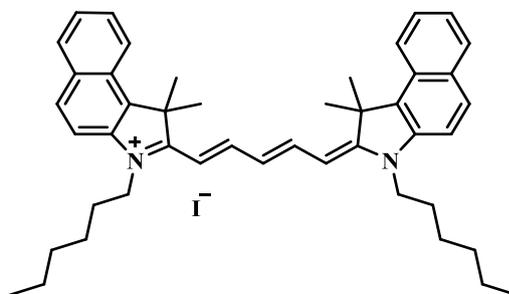
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; J/Гц): 1.18-1.26 (м, 20 H, CH₂), 1.28-1.32 (м, 4 H, CH₂), 1.39-1.43 (м, 10 H, CH₂), 1.74 (м, 4 H, CH₂), 1.96 (с, 12 H, C(CH₃)₂), 2.14 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.6, CH₂COOH), 2.23 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.8, CH₂COOH), 4.24 (м, 4 H, NCH₂), 6.37 (д, 2 H, ³J_{HH} = 13.4, =CH), 6.64 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.1, =CH), 7.51 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.5, аром.), 7.67 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.0, аром.), 7.75 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.6, аром.), 8.06 (т, 4 H, ³J_{HH} = 8.0, аром.), 8.25 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.8, аром.), 8.48 (т, 2 H, ³J_{HH} = 12.7, =CH).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ м.д.; J/Гц): 24.57, 24.77, 25.20, 26.87, 27.02, 27.67 (все CH₂), 27.89 (C(CH₃)₂), 28.69, 28.87, 28.95, 29.01 (все CH₂), 29.06 (C(CH₃)₂), 29.14, 29.20, 29.30 (CH₂), 29.56 (все CH₂), 33.95, 34.19 (оба CH₂COOH), 44.70, 44.79 (оба C(CH₃)₂), 51.23 (NCH₂), 51.42 (+NCH₂), 103.19 (=CH), 103.33, 110.40 (оба аром.), 122.50 (=CH), 124.93, 127.64, 128.07, 129.79, 130.38, 134.13, 139.20, 153.28 (все аром.), 153.33 (=CH), 174.33 (COOH), 178.07 (N⁺=C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1732 (C=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 824.5408 [M]⁺. C₅₅H₇₁N₂O₄. Вычислено: M = 823.5408.

3-гексил-2-((1E,3E,5E)-5-(3-гексил-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)пента-1,3-диен-1-ил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодид (69)



Смесь 0.10 г (0.27 ммоль) 3-гексил-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодида **21** и 0.10 г (0.40 ммоль) N-((1E)-3-(фенилиино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорида **2** растворяли в 1 мл уксусного ангидрида. Полученный раствор нагревали при 120°C в течение 30 минут. Затем добавляли 0.17 г (0.45 ммоль) 3-гексил-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодида **21**, растворенного в 1.5 мл пиридина, и нагревали еще 30 минут при температуре 120°C. Раствор охлаждали до комнатной температуры и добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали и высушивали. Очищали продукт с помощью флеш-хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:CH₃OH = 50:1.

Выход 0.24 г (91%), темно-бордовый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 680$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 720$ нм (в этаноле). $\epsilon = 2.3 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

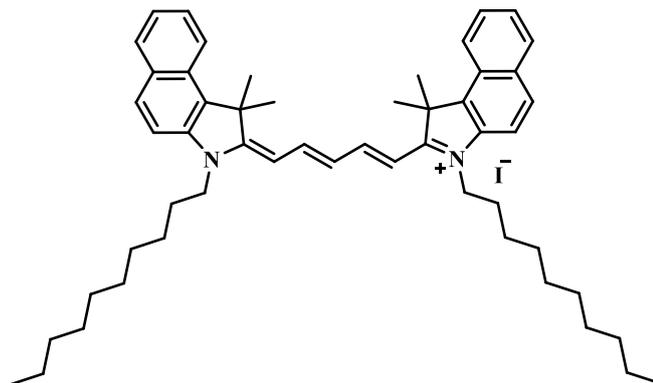
Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ м.д.; J/Гц): 0.83 (т, 6 H, ³J_{HH} = 6.9, CH₃), 1.20-1.32 (м, 8 H, CH₂), 1.35-1.44 (м, 4 H, CH₂), 1.68-1.78 (м, 4 H, CH₂), 1.96 (с, 12 H, C(CH₃)₂), 4.24 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.4, N⁺CH₂), 6.38 (д, 2 H, ³J_{HH} = 13.9, =CH), 6.67 (т, 1 H, ³J_{HH} = 12.4, =CH), 7.50 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.67 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.6, аром.), 7.75 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.8, аром.), 8.25 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.5, аром.), 8.48 (т, 2 H, ³J_{HH} = 13.1, =CH), 8.57 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.8, аром.).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ м.д.; J/Гц): 14.26 (CH₃), 22.41, 26.10, 27.23, 27.25 (все CH₂), 27.60 (C(CH₃)₃), 31.33 (C(CH₃)₃), 51.13 (N⁺CH₂), 122.59 (=CH), 127.46, 128.00 (оба аром.), 128.18 (=CH), 130.34, 130.73, 131.69, 133.55, 140.14, 142.99, 143.01, 146.10 (все аром.), 153.27 (=CH), 174.06 (N⁺=C).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1462.74 (CH₃), 1677.77 (C=N⁺), 2953.93 (CH₂).

HRMS-ESI: найдено m/z 623.4357 [M]⁺. C₄₅H₅₅N₂. Вычислено: M = 623.4360.

3-децил-2-((1E,3E,5E)-5-(3-децил-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)пента-1,3-диен-1-ил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодид (70)



В вialу помещали 0.10 г (0.2 ммоль) 3-децил-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодида **22**, 0.08 г (0.3 ммоль) N-((1E)-3-(фенилиино)проп-1-ен-1-ил)анилина гидрохлорида **2**. Полученную смесь растворяли в 1 мл уксусного ангидрида и грели при 120°C 30 минут. Затем к раствору добавляли еще 0.14 г (0.3 ммоль) 3-децил-1,1,2-триметил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодида **23** в 1 мл пиридина. Грели 30 минут при 120°C. Затем полученный раствор охлаждали до комнатной температуры и высаживали диэтиловым эфиром. Краситель очищали с помощью флеш-хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 50:1.

Выход 0.064 г (15%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 680$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 714$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1.8 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 0.86 (м, 6 H, 2 CH_3), 1.25 (м, 18 H, CH_2), 1.37 (м, 6 H, CH_2), 1.46 (м, 4 H, CH_2), 1.85 (м, 4 H, CH_2), 2.14 (с, 12 H, 2 $\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$), 4.15 (м, 4 H, N^+CH_2), 6.24 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.8$, =CH), 6.74 (т, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 12.1$, =CH), 7.33 (м, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$, аром.), 7.45 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, аром.), 7.60 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$, аром.), 7.91 (д, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.), 8.20-8.22 (м, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$, аром.), 8.57 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.1$, =CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 13.70 (CH_3), 22.22, 26.53, 27.27 (все CH_2), 27.41 ($\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$), 28.82, 28.94, 29.00, 29.06, 31.40, 44.13 (все CH_2), 51.03 (N^+CH_3), 102.52 (=CH), 110.00, 122.13, 124.62 (все аром.), 125.45 (=CH), 127.31, 127.77, 129.45, 129.98, 131.30, 133.93, 138.87 (все аром.), 152.62 (=CH), 174.05 (N-C=).

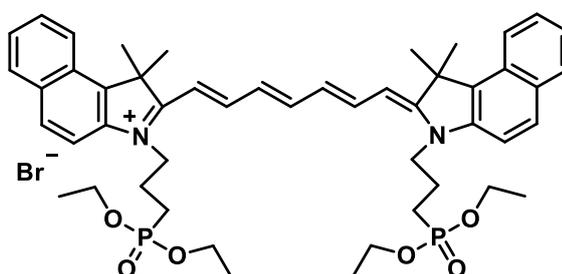
ИК, v/cm^{-1} : 1455 (CH_3).

HRMS-ESI: найдено m/z 735.5612 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$. $\text{C}_{53}\text{H}_{71}\text{N}_2$. Вычислено: $\text{M} = 736.1469$.

Общая методика синтеза трикарбоцианинов 71a,b,d-f

1.2 ммоль соединения 30a-c, 32b,c и 1 ммоль гидрохлорида дианила глутаконового альдегида 3 в 5 мл пиридина перемешивали 1 час при 90°C . Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 100 мл диэтилового эфира. Отделяли фиолетовое масло, которое растворяли в 2 мл метанола и высаживали смесью ацетона и диэтилового эфира (в отношении 1:5). Эту процедуру повторяли дважды. Далее краситель очищали с помощью хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$. Соединения 71a,b,d-f были выделены в виде темно-зеленого осадка.

3-(3-(диэтоксифосфорил)пропил)-2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(3-(3-(диэтоксифосфорил)пропил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-2(3H)илиден)гепта-1,3,5-триенил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индолия бромид (71a)



Хроматографировали в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 15:1$.

Выход 0.13 г (25%). $\lambda_{\text{abs}} = 785$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 803$ нм (в метаноле). $\epsilon = 2.7 \times 10^5$ л*моль*см $^{-1}$.

Спектр ЯМР ^1H (DMSO , δ , м.д.): 1.27-2.00 (м, 32 H), 3.80-4.40 (м, 4 H, OCH_2), 4.64-5.12 (м, 4 H, CH_2N^+), 6.12-6.72 (м, 3 H, =CH), 7.20-8.15 (м, 16 H, =CH и аром.).

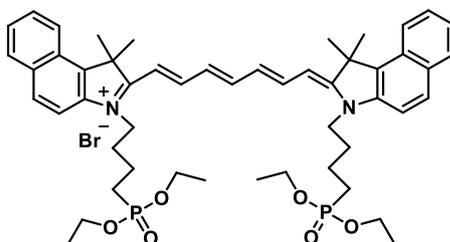
Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 16.5 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.1$, OCH_2CH_3), 20.1, 21.3, (оба с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 26.0 (д, $^1J_{\text{CP}} = 144.1$, CH_2P), 26.2 (д, $^1J_{\text{CP}} = 136.1$, CH_2P), 27.5, 27.6 (оба с, CH_2), 53.5 (с, N^+CH_2), 53.9 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 56.06 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 61.7 (д, $^2J_{\text{CP}} = 5.1$, OCH_2), 94.78, 103.5, 110.3, 122.1, 122.2, 122.3, 124.9, 127.7, 128.3, 130.0, 130.6, 131.7, 133.9 (все с, аром.), 154.3, 154.7, 155.5 (все с, $=\text{CH}$), 175.9 (с, $\text{N}-\text{C}=\text{}$), 183.6 (с, $\text{N}=\text{C}$).

Спектр ЯМР ^{31}P (ДМСО, δ , м.д): 31.50, 31.63, 31.68.

ИК, v/cm^{-1} : 1065 (P-O-C₂H₅), 1215 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 837.4132 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{49}\text{H}_{63}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}_2$. Вычислено: $M = 837.4154$.

3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-2(3H)илиден)гепта-1,3,5-триенил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индолия бромид (71b)



Хроматографировали в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 15:1$.

Выход 0.11 г (20%). $\lambda_{\text{abs}} = 785$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 803$ нм (в метаноле). $\varepsilon = 2.7 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ^1H ЯМР (CD_3OD , δ , м.д.): 1.23-1.32 (м, 12 H, OCH_2CH_3), 1.75-1.90 (м, 8 H, CH_2), 2.00 (с, 12 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.02-2.25, 2.10-2.15 (оба м, 4 H, CH_2P), 3.97-4.07 (м, 4 H OCH_2), 4.21-4.30 (м, 4 H, CH_2N^+), 6.35-6.40 (м, 1 H, $=\text{CH}$), 6.57-6.67 (м, 2 H, $=\text{CH}$), 7.47-7.49 (м, 2 H, $=\text{CH}$), 7.59-7.65 (м, 4 H, аром.), 7.74-7.77 (м, 2 H, аром.), 7.82-7.84 (м, 2 H, $=\text{CH}$), 7.95-8.10, 8.22-8.31 (оба м, 6 H, аром.).

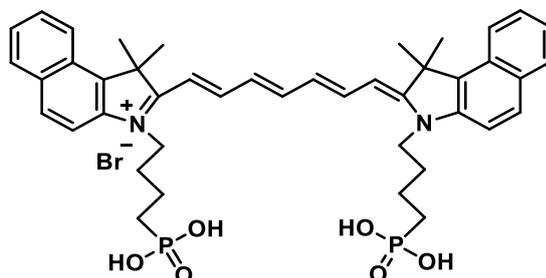
Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 16.18 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.8$, OCH_2CH_3), 16.39 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.1$, OCH_2CH_3), 21.78, 21.82, (оба с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 22.64 (с, CH_2), 23.12 (д, $^1J_{\text{CP}} = 139.8$, CH_2P), 26.95 (д, $^1J_{\text{CP}} = 151.5$, CH_2P), 29.67, 30.20 (оба с, CH_2), 50.23, 50.33 (оба с, N^+CH_2), 61.70, 62.68 (оба д, $^2J_{\text{CP}} = 7.3$, OCH_2), 62.25 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 108.02, 110.85, 111.22, 127.83, 127.86, 128.16, 128.18, 129.90, 129.98, 130.70, 130.78, 135.86, 142.06, (все с, аром.), 147.77, 157.75, 158.74, 159.79 (все с, $=\text{CH}$), 174.00 (с, $\text{N}-\text{C}=\text{}$), 184.74 (с, $\text{N}=\text{C}$).

Спектр ЯМР ^{31}P (CD_3OD , δ , м.д): 30.29.

ИК, v/cm^{-1} : 1055 (P-O-C₂H₅), 1210 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 865.4467 $[M]^+$. $C_{51}H_{67}N_2O_6P_2$. Вычислено: $M = 865.4469$.

2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(1,1-диметил-3-(4-(дигидроксифосфорил)бутил)-1H-бензо[e]индол-2(3H)-илиден)гепта-1,3,5-триенил)-1,1-диметил-3-(4-(дигидроксифосфорил)бутил)-1H-бензо[e]индолий бромид (71d)



Хроматографировали в системе $CH_2Cl_2:MeOH = 10:1$.

Выход 0.065 г (13%). $\lambda_{abs} = 780$ нм (в метаноле). $\lambda_{fl} = 803$ нм (в метаноле).
 $\epsilon = 2.7 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 1.68-1.86 (м, 16 H, C(CH₃)₂, CH₂), 1.90-2.01 (м, 4 H, CH₂), 2.07-2.14 (м, 4 H, CH₂P), 4.62-4.68 (м, 4 H, CH₂N⁺), 6.32-6.35, 6.57-6.63, 6.99-7.02, 7.26-7.30, 7.43-7.46, (все м по 1 H, HC=CH), 7.68-7.83 (м, 2 H, аром., =CH), 7.94-8.32 (м, 10 H, аром., =CH), 8.59 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.7, аром.), 9.01 (д, 3 H, ²J_{HP} = 5.7, POH), 9.24 (д, 1 H, ²J_{HP} = 5.7, POH).

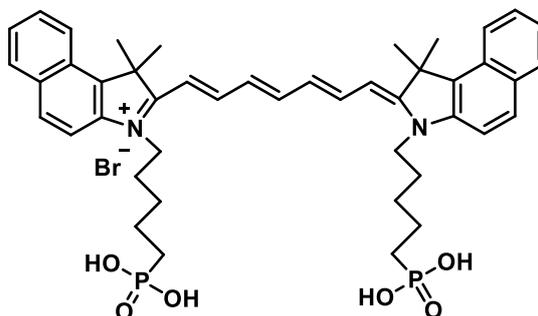
Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ м.д.; J/Гц): 19.72 (с, CH₂), 20.42 (с, CH₂), 21.00 (с, C(CH₃)₂), 25.53 (д, ¹J_{CP} = 142.7, CH₂P), 25.77 (д, ¹J_{CP} = 137.6, CH₂P), 26.24 (с, C(CH₃)₂), 27.16 (с, CH₂), 28.29 (с, CH₂), 31.61 (с, C(CH₃)₂), 31.76 (с, C(CH₃)₂), 56.63 (с, C(CH₃)₂), 58.07 (с, N⁺CH₂), 61.24 (с, C(CH₃)₂), 63.43 (с, N⁺CH₂), 108.92 (с, аром.), 112.49, 118.82 (оба с, =CH), 123.01, 124.15 (оба с, аром.), 127.28 (с, =CH), 128.15, 128.30, 129.33, 129.65, 130.35, 131.07, 131.07 (все с, аром.), 135.80, 144.62, 145.48 (все с, =CH), 174.43 (с, N=C), 183.86 (с, N=C).

Спектр ЯМР ³¹P (CD₃OD, δ , м.д.): 28.66.

ИК, ν/cm^{-1} : 1088 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 751.3086 $[M-2H]^-$. $C_{43}H_{51}N_2O_6P_2$. Вычислено: $M = 751.3071$.

2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(1,1-диметил-3-(5-(дигидроксифосфорил)пентил)-1H-бензо[e]индол-2(3H)-илиден)гепта-1,3,5-триенил)-1,1-диметил-3-(5-(дигидроксифосфорил)пентил)-1H-бензо[e]индолия бромид (71e)



Хроматографировали в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 5:1$.

Выход 0.062 г (12%). $\lambda_{\text{abs}} = 784$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 803$ нм (в метаноле).
 $\varepsilon = 2.7 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 0.70-1.00, 1.02-1.48 (оба м, 4 H, 7 H, CH₂, C(CH₃)₂), 1.50-1.78 (м, 10 H, C(CH₃)₂, CH₂), 1.82 (с, 3 H, C(CH₃)₂), 1.97-2.07 (м, 4 H, CH₂P), 4.63 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.7, CH₂N⁺), 6.30-6.35, 6.56-6.67, 6.76-6.83, 7.11-7.20, 7.39-7.48 (все м по 1 H, HC=CH), 7.55-7.66 (м, 1 H, =CH), 7.68-7.83 (м, 3 H, аром., =CH), 7.95-8.04 (м, 2 H, аром.), 8.07-8.34 (м, 6 H аром.), 8.58 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.7, аром.), 9.01 (д, 3 H ²J_{HP} = 5.7, POH), 9.24 (д, 1 H, ²J_{HP} = 5.7, POH).

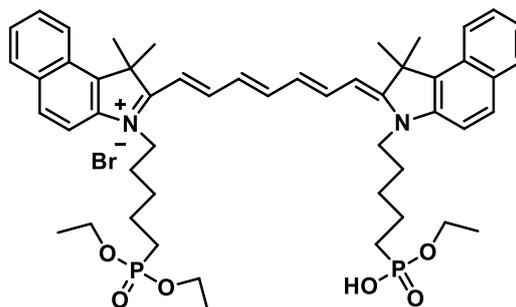
Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 18.81 (с, CH₂), 19.48 (с, CH₂), 22.51 (с, CH₂), 24.02 (с, CH₂), 24.09 (с, C(CH₃)₂), 27.74 (д, ¹J_{CP} = 141.4, CH₂P), 27.78 (д, ¹J_{CP} = 137.3, CH₂P), 28.82 (с, C(CH₃)₂), 29.89 (с, C(CH₃)₂), 30.67 (с, C(CH₃)₂), 30.98 (с, CH₂), 31.35 (с, CH₂), 42.69 (с, N⁺CH₂), 43.40 (с, N⁺CH₂), 57.79 (с, C(CH₃)₂), 62.99 (с, C(CH₃)₂), 109.20 (с, аром.), 114.60, 122.81 (оба с, =CH), 126.03 (с, аром.), 127.70 (с, =CH), 127.86, 129.63, 130.35, 130.02, 132.59, 132.69, 138.08, 139.65 (все с, аром.), 135.80, 144.73, 146.15, 153.82 (все с, =CH), 168.53 (с, N=C=), 189.50 (с, N=C).

Спектр ЯМР ³¹P (CD₃OD, δ , м.д): 28.41.

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1088 (PO₃)²⁻.

HRMS-ESI: найдено m/z 779.3419 [M-2H]⁻. C₄₅H₅₃N₂O₆P₂. Вычислено: M = 779.3384.

3-(5-(этоксифосфорил)пентил)-2-((1E,3E,5E,7Z)-7-(3-(5-(диэтоксифосфорил)пентил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-2(3H)-илиден)гепта-1,3,5-триенил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индолия бромид (71f)



Хроматографировали в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 15:1$.

Выход 0.142 г (25%). $\lambda_{\text{abs}} = 782$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 803$ нм (в метаноле).
 $\varepsilon = 2.7 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.): 0.81-1.00 (м, 3 H, OCH_2CH_3), 1.00-2.00 (м, 26 H), 3.75-4.10 (м, 6 H, OCH_2), 4.15-4.40 (м, 4 H, CH_2N^+), 6.41-6.44 (м, 1 H, =CH), 7.40-8.32 (м, 18 H, =CH и аром.).

Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО, δ м.д.; $J/\text{Гц}$): 16.33 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.8$, OCH_2CH_3), 16.50 (д, $^3J_{\text{CP}} = 5.8$, OCH_2CH_3), 16.57 (д, $^3J_{\text{CP}} = 6.6$, OCH_2CH_3), 22.93 (с, CH_2), 22.96 (с, CH_2), 24.78 (д, $^1J_{\text{CP}} = 144.9$, CH_2P), 26.37 (д, $^1J_{\text{CP}} = 139.0$, CH_2P), 26.98 (с, CH_2), 27.15 (с, CH_2), 26.70, 26.78 (оба с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 27.40, 27.51 (оба с, CH_2), 44.71, 45.15 (оба с, N^+CH_2), 51.58, 52.86 (оба с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 61.04, 61.52, (оба с, OCH_2), 63.70 (д, $^2J_{\text{CP}} = 7.3$, OCH_2), 93.07 (с, =CH), 101.96 (с, =CH), 112.03, 122.66, 124.77, 127.63, 128.16, 130.21, 130.32, 131.00, 131.23, 131.65, 133.49, 136.37 (все с, аром.), 142.83, 144.97, 146.62, 155.37, 156.36 (все с, =CH), 171.22 (с, N-C=), 183.54 (с, N=C).

Спектр ЯМР ³¹P (ДМСО, δ , м.д.): 22.69, 31.87.

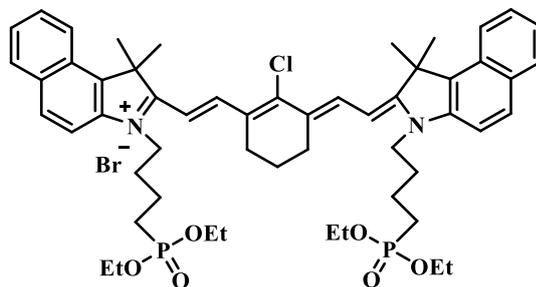
ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1078 (P-O-C₂H₅), 1194 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 865.4453 [M]⁺. C₅₁H₆₇N₂O₆P₂. Вычислено: M = 865.4469.

Синтез соединений 72а и 73

К 0.30 г (0.57 ммоль) соединений **30b** добавляли 0.10 г (0.30 ммоль) гидрохлорида дианила **5** в 1 мл пиридина и перемешивали 1 час при 95°C. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и очищали двухкратным переосаждением из минимального количества метанола (3 мл) диэтиловым эфиром. Далее дважды хроматографировали на силикагеле. Соединения **72а** и **73** были выделены в виде темно-зеленого осадка.

2-((*E*)-2-((*E*)-2-хлор-3-((*E*)-2-(3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-1,1-диметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия бромид (72a)



Хроматографировали на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 20:1$.

Выход 16 мг (5%). $\lambda_{\text{abs}} = 827$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 835$ нм (в метаноле).
 $\varepsilon = 3.1 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.26 (т, 12 H, $^3J_{\text{HH}}=7.0$, OCH_2CH_3), 1.34-1.40 (м, CH_2 , 6 H), 1.72-1.77 (м, 2 H, CH_2), 1.87-1.97 (м, 4 H, CH_2), 1.97-2.01 (м, 2 H, CH_2), 2.03 (с, 12 H, 4 CH_3), 2.80 (м, 4 H, CH_2), 4.00-4.10 (м, 8 H, OCH_2), 4.36 (т, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$, NCH_2), 6.37 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 14.3$, =CH-), 7.48-7.53 (м, 1 H, аром.), 7.58-7.62 (м, 3 H, аром.), 7.63-7.68 (м, 3 H, аром.), 7.68-7.73 (м, 3 H, аром.), 7.98-8.06 (м, 3 H, аром.), 8.27 (м, 1 H, аром.), 8.55 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 14.2$, =CH-).

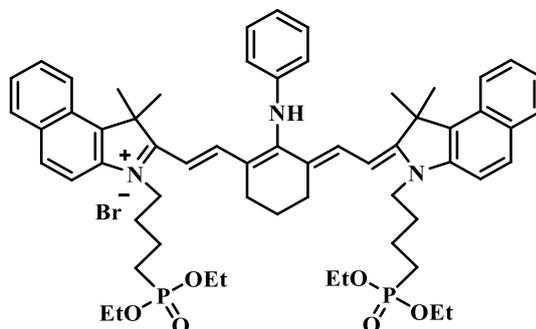
Спектр ЯМР ¹³C (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 16.92 (д, $^3J_{\text{CP}} = 6.4$, CH_3), 21.18 (д, $^2J_{\text{CP}} = 4.8$, CH_2), 24.19 (с, CH_2), 24.89 (с, CH_2), 26.29 (с, CH_2), 27.64 (с, CH_2), 28.13 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 28.68 (с, CH_2), 29.35 (д, $^1J_{\text{CP}} = 134.9$, CH_2P), 29.40 (с, CH_2), 29.56 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 30.03 (с, CH_2), 30.54 (с, CH_2), 30.69 (с, CH_2), 32.39 (с, CH_2), 45.11 (с, NCH_2), 48.51 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 50.00 (с, N^+CH_2), 52.59 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 63.30, 63.37, 67.05, 67.35 (все с., OCH_2), 102.31, 112.45, 123.57, 126.44, 128.19, 129.03, 129.49, 130.02, 131.29, 132.08, 132.48, 133.66, 135.35, 141.13, 144.66, 150.62 (все с, аром., =CH-), 169.28 (с, N=C), 175.63 (с, N=C).

Спектр ЯМР ³¹P (CD_3OD , δ , м.д.): 32.64.

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1057 (P-O-C₂H₅), 1137 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 939.4380 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{54}\text{H}_{70}\text{ClN}_2\text{O}_6\text{P}_2$. Вычислено: $M = 939.4392$.

3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-2-((E)-2-((E)-3-((E)-2-(3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)-2-(фениламино)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромид (73)



Выход 49 мг (16%). $\lambda_{\text{abs}} = 782$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 815$ нм (в метаноле).
 $\varepsilon = 2.4 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 1.26 (т, 12 H, ³J_{HH}=7.0, OCH₂CH₃), 1.29-1.35 (м, 2H), 1.70 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 1.72-1.79 (м, 4 H), 1.85 (м, 2 H), 1.88-1.92 (м, 2 H), 1.98 (с, 6 H, C(CH₃)₂), 1.99-2.00 (м, 2 H), 2.00-2.05 (м, 2 H), 2.72 (м, 4 H, CH₂), 3.99-4.11 (м, 8 H, OCH₂), 4.21 (т, 4 H, ³J_{HH}=7.1, NCH₂), 6.13 (д, 2 H, ³J_{HH} = 13.9, =CH-), 6.79-6.86 (м, 2 H, аром.), 7.07 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.7, аром.), 7.31 (т, 2 H, ³J_{HH} = 8.0, аром.), 7.42 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.3, аром.), 7.49-7.59 (м, 4 H, аром.), 7.94 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.7, аром.), 8.08 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.6, аром.), 8.27 (д, 2 H, ³J_{HH} = 13.9, =CH-).

Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 16.66, 16.72 (оба с, OCH₂CH₃), 20.97, 21.02 (оба с, CH₂), 22.98 (с, CH₂), 25.41 (д, CH₂P, ¹J_{CP}=140.54), 25.63 (с, CH₂), 27.87 (с, CH₂), 28.01 (с, 4C(CH₃)₂), 28.92 (с, CH₂), 29.07 (с, CH₂), 44.26 (с, NCH₂), 48.30 (с, C(CH₃)₂), 49.57 (с, C(CH₃)₂), 51.59 (с, N⁺CH₂), 63.09 (с, OCH₂), 63.16 (с, OCH₂), 99.18, 111.76, 117.86, 121.44, 123.09, 125.56, 125.95, 126.24, 127.98, 128.49, 128.59, 129.39, 129.58, 130.97, 131.46, 132.95, 134.08, 135.40, 136.23, 138.32 (все с, аром., =CH-), 138.71 (с, NCH), 139.13, 141.17 (оба с, аром., =CH-), 143.54 (с, NCH), 148.46 (с, аром, =CH-), 159.91 (с, N=C), 173.78 (с, N=C).

Спектр ЯМР ³¹P (CD₃OD, δ , м.д.): 32.71.

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1009 (P-O-C₂H₅), 1109 (P=O), 1504 (-N-H).

HRMS-ESI: найдено m/z 996.5192 [M]⁺. C₆₀H₇₆N₃O₆P₂. Вычислено: M = 996.5204.

Общие методики синтеза конформационно-закрепленных соединений с фосфонатзамещенным линкером при атоме азота **72a,b, 74a-c**

Методика 1

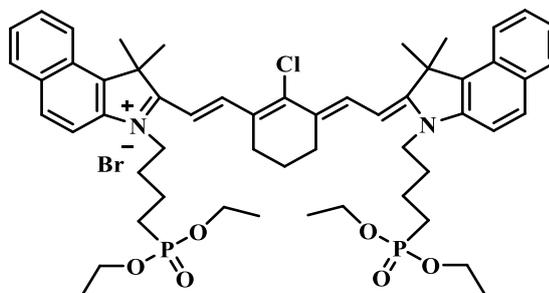
Смесь 7.5 ммоль соединений **30b, 31a-c** добавляли 3.7 ммоль гидрохлорида дианила **5** в 1 мл пиридина перемешивали 1 час при 95 °С. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и очищали двухкратным переосаждением из 2 мл метанола диэтиловым эфиром. Далее дважды хроматографировали на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 5:1$.

Методика 2

0.32 г (0.66 ммоль) соединения **30b,c, 31a,c** добавляли к 0.06 г (0.33 ммоль) диальдегида **4** и 0.08 г (0.99 ммоль) ацетата натрия в смеси бутанол:бензол = 50:15 мл. Перемешивали 3 часа при кипячении с насадкой Дина-Старка. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и упаривали растворитель. Очищали двухкратным переосаждением из минимального количества метанола диэтиловым эфиром. Далее хроматографировали на окиси алюминия смесью элюентов $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{метанол}:\text{гексан} = 50:1:1$.

Соединения **72a,b, 74a-c** были выделены в виде темно-зеленого осадка.

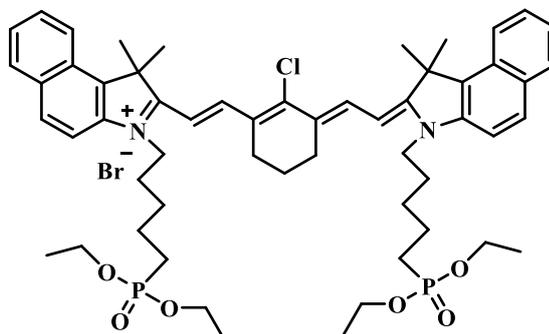
2-((E)-2-((E)-2-хлор-3-((E)-2-(3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-(4-(диэтоксифосфорил)бутил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромид (72a**)**



Выход по методике 1 5%, по методике 2 18%.

См. выше.

2-((*E*)-2-((*E*)-2-хлор-3-((*E*)-2-(3-(5-(диэтоксифосфорил)пентил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-(5-(диэтоксифосфорил)пентил)-1,1-диметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия бромид (72b)



Выход по методике 2 14%. $\lambda_{\text{abs}} = 819$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 835$ нм (в метаноле). $\varepsilon = 4.1 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; *J*/Гц): 1.27 (т, 12H, ³*J*_{HH} = 7.1, OCH₂CH₃), 1.56-1.74 (м, 10 H, CH₂), 1.78-1.88 (м, 5 H, CH₂), 1.90-1.96 (м, 4 H, CH₂), 2.00 (с, 12 H, 4 CH₃), 2.73-2.81 (м, 4 H, CH₂), 3.98-4.11 (м, 8 H, OCH₂), 4.32 (т, 4 H, ³*J*_{HH} = 7.0, NCH₂), 6.33 (д, 2 H, ³*J*_{HH} = 14.2, =CH-), 7.49 (м, 2 H, аром.), 7.61-7.68 (м, 4 H, аром.), 8.01 (м, 4 H, аром.), 8.25 (м, 2 H, аром.), 8.52 (д, 2 H, ³*J*_{HH} = 14.2, =CH-).

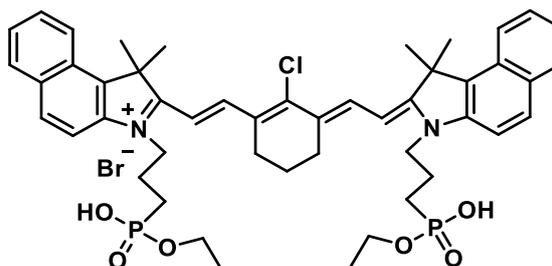
Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ , м.д.; *J*/Гц): 16.88 (с, CH₃), 16.93 (с, CH₃), 23.46 (с, CH₂), 23.50 (с, CH₂), 25.75 (д, ¹*J*_{CP} = 140.5, CH₂P), 27.64 (с, CH₂), 28.09 (с, C(CH₃)₂), 28.47 (с, CH₂), 28.67 (с, C(CH₃)₂), 28.83 (с, CH₂), 45.46 (с, C(CH₃)₂), 48.51 (с, NCH₂), 49.79 (с, N⁺CH₂), 52.58 (с, C(CH₃)₂), 63.25, 63.31 (оба с, OCH₂), 102.17, 112.42, 123.59, 126.42, 128.11, 129.03, 129.52, 131.29, 132.07, 133.66, 135.39, 141.21, 144.62 (все с, аром., =CH-), 175.57 (с, N=C).

Спектр ЯМР ³¹P (CD₃OD, δ , м.д.): 33.22.

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1057 (P-O-C₂H₅), 1138 (P=O).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 967.4693 [M]⁺. C₅₆H₇₄ClN₂O₆P₂. Вычислено: M = 967.4705.

2-((*E*)-2-((*E*)-2-хлоро-3-((*E*)-2-(3-(3-(этоксигидрокси)фосфорил)пропил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-(3-(этоксигидрокси)фосфорил)пропил)-1,1-диметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ия бромид (74a)



Выход по методике 1 16%, по методике 2 16%. $\lambda_{\text{abs}} = 818$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD , δ , м.д.): 1.07-1.19 (м, 14 H, 2 CH_3 , 4 CH_2), 1.52 (с, 12 H, 2 $\text{C}(\text{CH}_3)$), 1.76-1.99 (м, 6 H, 2 CH_2), 3.71-4.03 (м, 6 H, OCH_2 , 2 CH_2), 4.52 (уш. с, 4 H, NCH_2), 7.47-8.11 (м, 16 H, аром., $-\text{CH}=\text{}$).

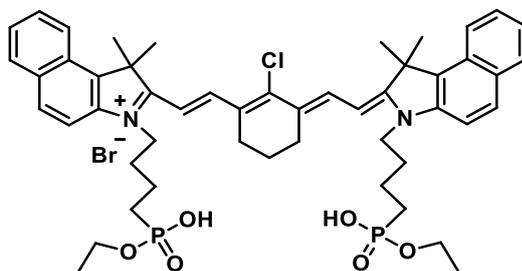
Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 16.33 (с, CH_3), 23.22 (с, CH_2), 24.51 (с, CH_2), 26.98 (с, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 27.04 (с, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 27.22 (д, $^1J_{\text{CP}} = 144.5$ Гц, CH_2P), 27.58 (с, CH_2), 28.37 (с, CH_2), 29.91 (с, CH_2), 41.09 (с, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$) 51.33 (с, NCH_2), 63.96 (с, OCH_2), 99.32, 110.32, 111.23, 111.67, 122.02, 122.67, 124.19, 126.98, 127.88, 130.22, 131.07, 131.88, 132.42, 132.94, 133.43, 140.78, 141.45, 155.38, 159.02 (все с, аром., $=\text{CH}-$), 172.98 (с, $\text{N}=\text{C}$). 174.22(с, $\text{N}=\text{C}$).

Спектр ЯМР ^{31}P (CD_3OD , δ , м.д.): 24.16, 26.09.

ИК, ν/cm^{-1} : 1083 ($\text{P}-\text{O}-\text{C}_2\text{H}_5$), 1191 ($\text{P}=\text{O}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 853.3302 $[\text{M}-2\text{H}]^-$. $\text{C}_{49}\text{H}_{58}\text{ClN}_2\text{O}_6\text{P}_2$. Вычислено: $\text{M} = 853.3308$.

2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((E)-2-(3-(4-(этоксигидрокси)фосфорил)бутил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-(4-(диэтоксигидрокси)фосфорил)бутил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромид (74b)



Выход по методике 1 13%. $\lambda_{\text{abs}} = 796$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (D_2O , δ , м.д.): 1.07-1.19 (м, 16 H, 2 CH_3 , 5 CH_2), 1.52 (с, 12 H, 2 $\text{C}(\text{CH}_3)$), 1.80-2.09 (м, 6 H, 3 CH_2), 3.87-4.08 (м, 6 H, OCH_2 , 2 CH_2), 4.45 (уш. с, 4 H, NCH_2), 7.43-8.03 (м, 16 H, аром., $-\text{CH}=\text{}$).

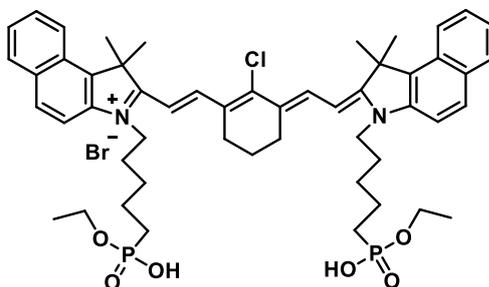
Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 16.28 (с, CH_3), 23.01 (с, CH_2), 23.49 (с, CH_2), 24.40 (с, CH_2), 26.92 (с, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 26.99 (с, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 28.03 (д, $^1J_{\text{CP}} = 144.5$ Гц, CH_2P), 27.58 (с, CH_2), 28.36 (с, CH_2), 29.86 (с, CH_2), 41.13 (с, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 51.41 (с, NCH_2), 64.66 (с, OCH_2), 99.76, 110.07, 111.03, 111.37, 122.32, 122.51, 125.34, 127.18, 127.65, 130.10, 130.57, 131.18, 132.42, 132.78, 133.13, 140.28, 141.24, 156.18, 159.31 (все с, аром., $-\text{CH}=\text{}$), 173.85 (с, $\text{N}=\text{C}$), 174.22(с, $\text{N}=\text{C}$).

Спектр ЯМР ^{31}P (CD_3OD , δ , м.д.): 23.06.

ИК, ν/cm^{-1} : 1083 ($\text{P}-\text{O}-\text{C}_2\text{H}_5$), 1195 ($\text{P}=\text{O}$).

MALDI-TOF: найдено m/z 881 $[\text{M}-2\text{H}]^-$. $\text{C}_{50}\text{H}_{62}\text{ClN}_2\text{O}_6\text{P}_2$. Вычислено: $\text{M} = 881$

2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((E)-2-(3-(5-(этоксигидрокси)фосфорил)пентил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-(5-(диэтоксигидрокси)фосфорил)пентил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ия бромид (74с)



Выход по методике 1 5%, по методике 2 17%. $\lambda_{\text{abs}} = 824$ нм (в метаноле). $\epsilon = 3.9 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.): 1.17 - 1.22 (м, 6 H, CH₃), 1.26 - 1.32 (м, 20 H, CH₂), 2.03 (s, 14 H, C(CH₃)₂, CH₂) 3.86 (уш. с., 4 H, OCH₂), 4.30 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.7, NCH₂), 6.34 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.4, =CH-), 7.50 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.4, аром.), 7.65 (т, 4 H, ³J_{HH} = 8.0, аром.), 8.02 (м, 4 H, аром.), 8.26 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.8, аром.), 8.54 (д, 2 H, ³J_{HH} = 13.9, =CH-).

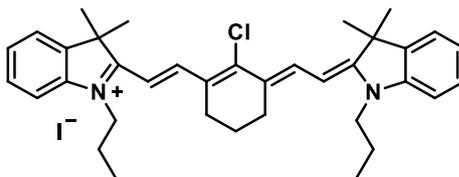
Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 16.35 (с, CH₃), 22.87 (с, CH₂), 23.75 (с, CH₂) 24.44 (с, CH₂) 26.87 (с, C(CH₃)₂) 26.98 (с, C(CH₃)₂) 27.04 (с, CH₂), 27.98 (д, ¹J_{CP} = 147.6 Гц, CH₂P), 28.22 (с, CH₂), 28.36 (с, CH₂), 29.86 (с, CH₂), 41.09 (с, C(CH₃)₂), 51.25 (с, NCH₂), 64.98 (с, OCH₂), 99.72, 109.77, 111.22, 111.40, 122.21, 122.51, 125.14, 127.06, 127.83, 130.18, 130.85, 131.04, 132.46, 132.68, 134.13, 140.21, 140.27, 156.42, 159.45 (все с, аром., =CH-), 173.92 (с, N=C). 174.05(с, N=C).

Спектр ЯМР ³¹P (CD₃OD, δ , м.д.): 33.12, 25.38.

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 1052 (P-O-C₂H₅), 1109 (P=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 911.4064 [M]⁺. C₅₂H₆₆ClN₂O₆P₂. Вычислено: M = 911.4079.

2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-(2-((E)-3,3-диметил-1-пропилиндолин-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-1-пропил-3H-индол-1-ия иодид (75) [146]



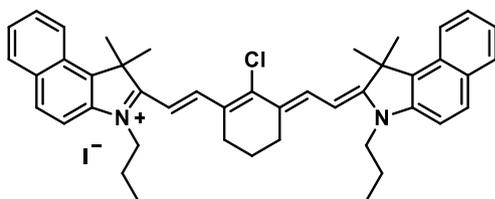
Смесь 1.00 г (3.04 ммоль) соли **18**, 0.26 г (1.52 ммоль) дианила **5**, 0.33 г (4.04 ммоль) ацетата натрия в 7 мл этанола перемешивали при 70°C в течение 2.5 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший

осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Краситель очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 50:1$.

Выход 0.77 г (76%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 780$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 822$ нм (в метаноле). $\varepsilon = 2.8 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ, м.д.; J/Гц): 1.07 (т, 6 H, ³J_{HH} = 7.4, 2 CH₃), 1.72 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.92 (кв, 4 H, ³J_{HH} = 7.4, 2 CH₂CH₃), 1.96-2.02 (м, 2 H, CH₂), 2.73 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.0, 2 CH₂), 4.18 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.2, 2 CH₂N⁺), 6.22 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.1, 2 =CH), 7.18 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.2, аром.), 7.25 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.36-7.42 (м, 4 H, аром.), 8.34 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.1, 2 =CH).

2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-((E)-2-(1,1-диметил-3-пропил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1,1-диметил-3-пропил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодид (76) [147]

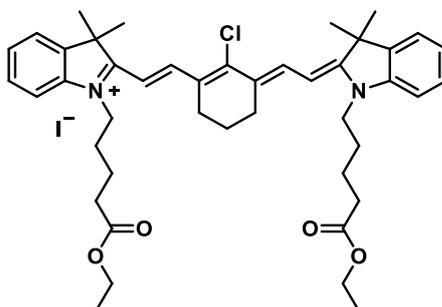


Смесь 0.50 г (1.32 ммоль) соли **20**, 0.23 г (6.30 ммоль) дианила **5** и 0.13 г (15.70 ммоль) ацетата натрия в 2 мл этилового спирта нагревали в течение 6 часов при температуре 50°C. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Краситель очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 20:1$.

Выход 0.28 г (59%), красный порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 820$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 820$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ, м.д.; J/Гц): 1.12 (т, 6 H, ³J_{HH} = 7.4, 2CH₂CH₃), 1.20-1.24 (м, 2 H, CH₂), 1.24-1.28 (м, 2 H, CH₂), 1.96-2.03 (м, 2 H, CH₂), 2.05 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 2.72-2.87 (м, 4 H, CH₂CH₃), 4.25 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.3, CH₂N⁺), 6.25 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.2, =CH), 7.43 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.8, аром.), 7.49 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.59-7.67 (м, 2 H, аром.), 7.97 (д, 4 H, ³J_{HH} = 8.9, аром.), 8.15 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.6, аром.), 8.48 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.3, 2 =CH).

2-((*E*)-2-((*E*)-2-хлор-3-(2-((*E*)-1-(5-этокси-5-оксопентил)-3,3-диметилиндолин-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1-(5-этокси-5-оксопентил)-3,3-диметил-3*H*-индол-1-ия иодид (77)



Смесь 1.00 г (2.40 ммоль) соли **23**, 0.21 г (1.20 ммоль) диальдегида **4**, 0.26 г (2.12 ммоль) ацетата натрия в 7 мл этанола перемешивали при 70°C в течение 2.5 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Краситель **79** очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе CH₂Cl₂:EtOH = 50:1.

Выход 0.70 г (71%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 780$ нм (в этаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 814$ нм (в метаноле). $\epsilon = 2.4 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; *J*/Гц): 1.21 (т, 6 H, ³*J*_{HH} = 7.1, 2 OCH₂CH₃), 1.74 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.75-1.81 (м, 4 H, 2 CH₂), 1.83-1.91 (м, 4 H, 2 CH₂) 1.95-1.99 (м, 2 H, CH₂), 2.43 (т, 4 H, ³*J*_{HH} = 7.0, 2 CH₂COOEt), 2.76 (т, 4 H, ³*J*_{HH} = 6.1, 2 CH₂), 4.10 (кв, 4 H, ³*J*_{HH} = 7.1, OCH₂CH₃) 4.22 (т, 4 H, ³*J*_{HH} = 7.2, CH₂N⁺), 6.32 (д, 2 H, ³*J*_{HH} = 14.2, 2 =CH), 7.27-7.33 (м, 2 H, аром.), 7.33-7.38 (м, 2 H, аром.), 7.40-7.47 (м, 2 H, аром.), 7.54 (д, 2 H, ³*J*_{HH} = 7.5, аром.), 8.45 (д, 2 H, ³*J*_{HH} = 14.2, 2 =CH).

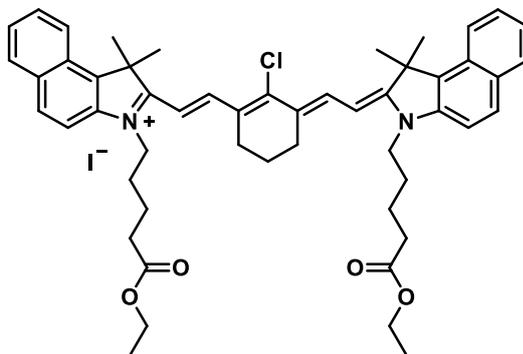
Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ , м.д.): 14.11 (2 COOCH₂CH₃), 20.57 (CH₂), 22.16 (2 CH₂), 26.64 (4 CH₂), 28.05 (2 C(CH₃)₂), 33.47 (2 CH₂), 44.65 (2 C(CH₃)₂), 49.23 (2 CH₂N⁺), 60.35 (2 COOCH₂CH₃), 93.32 (2 CH), 101.30 (аром.), 110.85 (C=C(Cl)-C), 116.55, 122.16, 125.25 (все аром.), 127.46 (2 CH), 128.74, 140.87, 142.01, 144.27 (все аром.), 150.44 (C-Cl), 172.96 (2 COOCH₂CH₃), 176.57 (2 C=N).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 714.01 (C-Cl), 1368.25 (N втор.), 1550.01-1512.40 (аром.), 1728.87 (C=O).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 711.3929 [M]⁺. C₄₄H₅₆ClN₂O₄. Вычислено: M = 711.3923.

Отнесение сигналов ¹H и ¹³C ЯМР в приложении на рисунке П8 и П9.

2-((*E*)-2-((*E*)-2-хлор-3-((*E*)-2-(3-(5-этокси-5-оксопентил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-(5-этокси-5-оксопентил)-1,1-диметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3- иодид (78)



Смесь 0.25 г (0.54 ммоль) соли **24**, 0.05 г (0.27 ммоль) диальдегида **4**, 0.06 г (0.71 ммоль) ацетата натрия в 3 мл 1,2-дихлорбензола перемешивали при 95°C в течение 4.5 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Краситель очищали на препаративном хроматографе на силикагеле в системе CH₂Cl₂: EtOH = 40:1.

Выход 0.15 г (60%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 825$ нм (в этаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 821$ нм (в метаноле). $\epsilon = 2.6 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

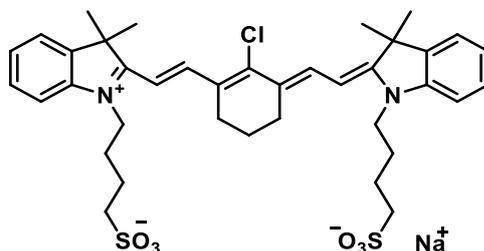
Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д.; J/Гц): 1.21 (т, 6 H, ³J_{HH} = 7.2, 2 OCH₂CH₃), 1.81-1.89 (м, 4 H, 2 CH₂), 1.93-2.01 (м, 6 H, 3 CH₂), 2.02 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 2.42 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.9, 2 CH₂COOEt), 2.79 (т, 4 H, ³J_{HH} = 8.9, 2 CH₂), 4.09 (кв, 4 H, ³J_{HH} = 7.2, OCH₂CH₃), 4.37 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.2, CH₂N⁺), 6.28 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.1, =CH), 7.44-7.52 (м, 4 H, аром.), 7.57-7.66 (м, 2 H, аром.), 7.91-7.99 (м, 4 H, аром.), 8.13 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.6, аром.), 8.45 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.2, =CH).

Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ , м.д.): 14.16 (2 COOCH₂CH₃), 20.70 (CH₂), 22.21, 26.76, 26.99 (2 CH₂), 27.63 (2 C(CH₃)₂), 33.53 (2 CH₂), 44.89 (2 C(CH₃)₂), 51.06 (2 CH₂N⁺), 60.40 (2 COOCH₂CH₃), 100.98 (2 CH), 110.80, 110.85, 121.99, 125.07, 127.44, 127.71, 128.02, 130.09, 130.79, 131.87, 133.74 (все аром., C=C(Cl)-C), 139.51 (2 CH), 143.27 (аром.), 149.76 (C-Cl), 172.90 (2 COOCH₂CH₃), 173.56 (2 C=N).

ИК, $\nu/\text{см}^{-1}$: 721.73 (C-Cl), 1393,8 (N втор.), 1547.11-1505.17 (C=C), 1727.91 (C=O).

HRMS-ESI: найдено m/z 811.4245 [M]⁺. C₅₂H₆₀ClN₂O₄. Вычислено: M = 811.4236.

4-((*E*)-2-((*E*)-2-(2-хлоро-3-((*E*)-2-(3,3-диметил-1-(4-сульфонатобутил)-3*H*-индол-1-ий-2-ил)винил)циклогекс-2-ен-1-илиден)этилиден)-3,3-диметилиндолин-1-ил)бутан-1-сульфонат натрия (79) [148]

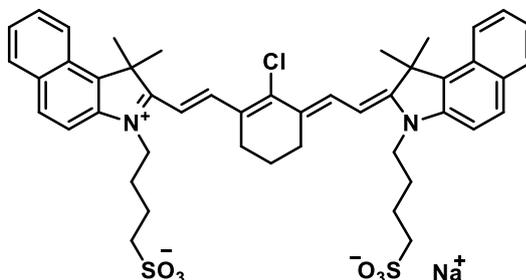


Смесь 0.70 г (2.37 ммоль) соли **27**, 0.21 г (1.18 ммоль) диальдегида **4**, 0.26 г (3.15 ммоль) ацетата натрия в 4 мл этанола перемешивали при 50°C в течение 3 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Краситель выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе CH₂Cl₂:MeOH = 5:1.

Выход 0.43 г (49%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 780$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 799$ нм (в этаноле).

Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ , м.д.; *J*/Гц): 1.65 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.69-1.75 (м, 4 H, 2 CH₂), 1.76-1.87 (м, 6 H, 3 CH₂), 2.72 (т, 4 H, ³*J*_{HH} = 5.8, 2 CH₂), 3.13-3.18 (м, 4 H, 2 CH₂SO₃), 4.20 (т, 4 H, ³*J*_{HN} = 7.0, 2 CH₂N⁺), 6.36 (д, 2 H, ³*J*_{HH} = 14.2, 2 =CH), 7.23-7.30 (м, 2 H, аром.), 7.37-7.44 (м, 2 H, аром.), 7.45-7.50 (м, 2 H, аром.), 7.61 (д, 2 H, ³*J*_{HH} = 7.3, аром.), 8.24 (д, 2 H, ³*J*_{HH} = 14.1, 2 =CH).

4-(2-((*E*)-2-((*E*)-2-хлор-3-((*E*)-2-(1,1-диметил-3-(4-сульфонатобутил)-1,3-дигидро-2*H*-бензо[*e*]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1,1-диметил-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ий-3-ил)бутан-1-сульфонат натрия (80) [149]



Смесь 0.50 г (1.45 ммоль) соли **28**, 0.23 г (0.72 ммоль) дианила **5**, 0.155 г (1.82 ммоль) ацетата натрия в 4 мл этанола перемешивали при 65°C в течение 3.5 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали.

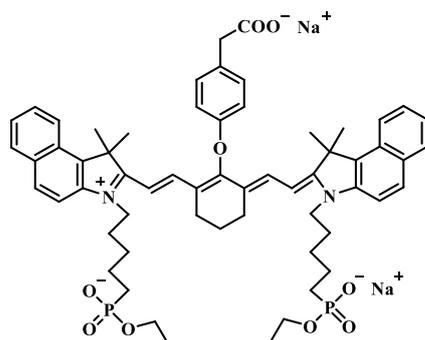
Краситель выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 3.5:1$.

Выход 0.42 г (68%), темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 818$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 850$ нм (в этаноле). $\varepsilon = 2.0 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 1.91-1.97 (м, 6 H, 3 CH₂), 1.99 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 2.01-2.07 (м, 4 H, 2 CH₂), 2.70-2.78 (м, 4 H, 2 CH₂), 2.88 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.0, 2 CH₂SO₃), 4.30 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.6, CH₂N⁺), 6.33 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.3, 2 =CH), 7.45 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.57-7.65 (м, 4 H, аром.), 7.97 (дд., 4 H, ³J_{HH} = 13.8, ³J_{HH} = 8.5, аром.), 8.23 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.5, аром.), 8.50 (д, 2 H, ³J_{HH} = 14.3, 2 =CH).

4.7 Синтез модифицированных конформационно закрепленных трикарбоцианиновых красителей по мезо-положению

2-(4-(((E)-6-((E)-2-(3-(5-(этоксидофосфорил)пентил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)-2-((E)-2-(3-(5-(этоксидофосфорил)-пентил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-ий-2-ил)винил)циклогекс-1-ен-1-ил)окси)-фенил)ацетат натрия (81)



К 12 мг (79.8 мкмоль) *n*-гидроксибензилуксусной кислоты в 1 мл ДМФА добавляли 7.3 мг (305 мкмоль) гидрида натрия. Далее к получившейся смеси прикапывали растворенный в 1 мл ДМФА 70 мг (0.15 ммоль) красителя **74c** и оставляли перемешиваться в атмосфере аргона в течение 16 часов при комнатной температуре. Потом высаживали смесью гексан:диэтиловый эфир = 1:3. Последующее переосаждение из метанола диэтиловым диэтиловым эфиром привело к образованию зеленого осадка целевого продукта **81**.

Выход 26 мг (32 %), зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 808$ нм (в метаноле), $\lambda_{\text{fl}} = 818$ нм. $\varepsilon = 3.5 \times 10^5$ л*моль*см⁻¹.

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 0.88-0.96 (м, 2 H, CH₂), 1.25-1.42 (м, 6 H, OCH₂CH₃), 1.25-1.42 (м, 6 H, 3 CH₂), 1.65 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.76-2.08 (м, 10 H, 5 CH₂), 2.77-2.78 (м, 2 H, CH₂), 3.46 (уш.с, 2 H, CH₂), 3.53-3.69 (м, 2 H, CH₂), 3.86-4.06 (м, 4 H, OCH₂),

4.21-4.31 (м, 2 H, NCH_2), 4.88-4.89 (м, 2 H, N^+CH_2), 6.19 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 14.2$, =CH-), 6.33 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 14.2$, =CH-), 6.72 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.), 7.09 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$, аром.), 7.13-7.67 (м, 7 H, аром.), 7.94-8.12 (м, 5 H, аром.), 8.27 (д, 1 H, $^3J_{\text{HH}}=14.2$, =CH-), 8.55 (д, 1H, $^3J_{\text{HH}}=14.2$, =CH-).

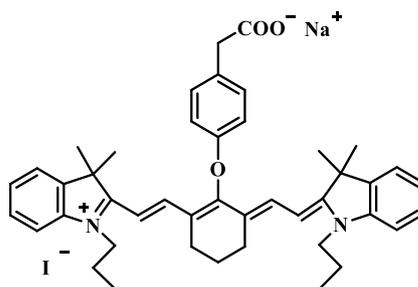
Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 15.82 (с, CH_3), 22.34 (с, CH_2), 23.22 (с, CH_2), 23.91 (с, CH_2), 26.45 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 26.51 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 27.45 (д, $^1J_{\text{CP}} = 107.6$, CH_2P), 27.05 (с, CH_2), 27.84 (с, CH_2), 29.33 (с, CH_2), 40.56 (с, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 50.72 (с, N^+CH_2), 64.50 (с, OCH_2), 99.18, 109.24, 110.69, 110.87, 114.76, 121.67, 121.98, 124.61, 126.53, 127.30, 129.65, 129.88, 130.32, 130.51, 131.93, 132.15, 133.60, 139.68, 139.74, 151.24, 155.88, 158.92, 163.63 (все с, все аром., =CH-), 173.52 (с, COO^-), 174.78 (с, $\text{N}=\text{C}$), 175.92 (с, $\text{N}=\text{C}$).

Спектр ЯМР ^{31}P (CD_3OD , δ , м.д.): 33.19, 25.81.

ИК, v/cm^{-1} : 1657 (COOH), 1058 ($\text{P-O-C}_2\text{H}_5$), 1116 (P=O).

MALDI-TOF: найдено m/z 1028 $[\text{M}+3\text{H}]^+$. $\text{C}_{60}\text{H}_{70}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}_2$. Вычислено: $\text{M} = 1028$.

2-((E)-2-((E)-2-(4-(карбоксиметил)фенокси)-3-((E)-2-(3,3-диметил-1-пропилиндолин-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-1-пропил-3H-индол-1-ия иодид (82)



К 23.0 мг (0.15 ммоль) 2-(4-гидроксифенил)уксусной кислоты добавляли 16.2 мг (0.30 ммоль) метилата натрия и упаривали на роторном испарителе. Полученную соль растворяли в 3 мл ДМФА и добавляли 100 мг (0.15 ммоль) карбоцианина **75**. Реакционную смесь перемешивали в инертной атмосфере аргона при комнатной температуре 4 часа. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной смеси добавляли ~200 мл диэтилового эфира. Образовавшийся осадок отфильтровывали и промывали диэтиловым эфиром. Конечный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в смеси $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 10:1$.

Выход 0.067 г (56%), тёмно-зелёный порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 767$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 783$ нм.

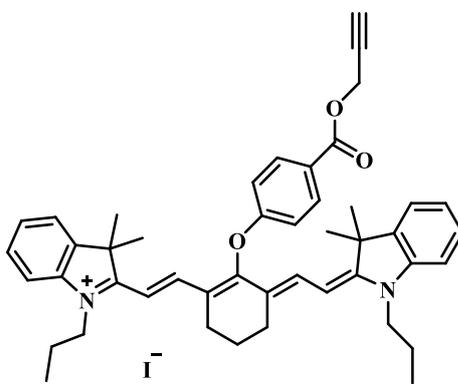
Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.04 (т, 6 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, CH_2CH_3), 1.32 (с, 12 H, 2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.81-1.92 (м, 4 H, CH_2CH_3), 2.07 (м, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.71 (т, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.7$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.66 (уш.с, 2 H, CH_2COO^-) 4.03 (т, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$, CH_2N), 6.02 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} =$

14.2, 2 =CH), 7.00 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 8.1$, аром.), 7.09 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 8.0$, аром.), 7.15-7.22 (м, 2 H, аром.), 7.27-7.30 (м, 2 H, аром.), 7.31-7.38 (м, 4 H, аром.), 7.89 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 14.2$, 2 =CH)

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.): 11.27 (2 CH_2CH_3), 20.37 (2 CH_2CH_3), 24.08 (CH_2), 27.45 (4 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 29.25 (CH_2), 40.23 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 45.65 (2 N^+CH_2), 48.66 (CCH_2), 99.48, 110.18, 114.17, 121.64, 121.90, 124.67, 128.19, 131.06, 131.86, 136.05, 140.60, 141.66, 147.68 (все аром., =CH-), 158.41 (COO^-), 163.80 ($\text{N}=\text{C}$), 171.71 ($\text{N}=\text{C}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 655.3887 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{44}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_3$. Вычислено: $M = 655.3894$.

2-((E)-2-((E)-3-(2-((E)-3,3-диметил-1-пропилиндолин-2-илиден)этилиден)-2-(4-((проп-2-ин-1-илокси)карбонил)фенокси)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-1-пропил-3H-индол-1-ия иодид (83)



К 0.04 г (0.21 ммоль) проп-2-ин-1-ил-4-гидроксibenзоата **11** добавляли раствор метилата натрия в метаноле (отбирали аликвоту 1 мл от раствора 0.048 г натрия в 10 мл метанола) и перемешивали полученную смесь в течение 30 минут. Затем к раствору добавляли 0.1 г (0.15 ммоль) 2-((E)-2-((E)-2-хлоро-3-(2-((E)-3,3-диметил-1-пропилиндолин-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-1-пропил-3H-индол-1-ия иодида **75** в 2 мл ДМФА. Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 3 часов в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Очистку осуществляли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 50:1$.

Выход 0.054 г в смеси с исходным красителем, из них 0.037 г (31%) целевого продукта, темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 765$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (DMSO , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.06 (т, 6 H, $^3J_{HH} = 7.4$, 2 CH_3), 1.33 (уш. с., 12 H, 2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.86-1.91 (м, 4 H, 2 CH_2CH_3), 2.07-2.11 (м, 2 H, CH_2), 2.51 (т, 1 H, $^4J_{HH} = 2.4$, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2.81 (т, 4 H, $^3J_{HH} = 5.8$, 2 CH_2), 4.14 (т, 4 H, $^3J_{HH} = 7.1$, 2 CH_2N), 4.90 (д, 2 H, $^4J_{HH} = 2.4$, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 6.17 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 14.2$, 2 =CH), 7.08-7.17 (м, 5 H, аром.), 7.20 (д, 1 H, $^3J_{HH}$

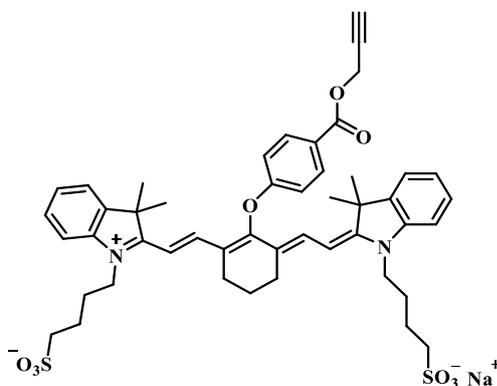
= 7.1, аром.), 7.24 (т, 2 Н, $^3J_{HH} = 5.8$, аром.), 7.33-7.41 (м, 4 Н, аром.), 7.79 (д, 2 Н, $^3J_{HH} = 14.3$, 2 =CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО, δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 11.1 (2 CH_3), 20.4 (CH_2), 20.6, 23.7 (все CH_2), 27.2 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 44.9 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 48.6 (2 CH_2N), 52.1 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 72.5 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 78.1 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 100.6 (2 =CH), 111.4, 114.8, 121.0, 122.5 (все аром.), 123.7 (2 $\text{C}-\text{C}-\text{O}$), 124.9, 128.5 (оба аром.), 132.1 (2 =CH), 140.2, 140.9, 142.1 (все аром.), 151.5 ($\text{CH}=\text{C}-\text{O}$), 156.9 (аром.), 162.7 ($\text{C}=\text{O}$), 171.8 (2 $\text{N}^+=\text{C}$).

ИК, v/cm^{-1} : 1235 ($-\text{C}-\text{O}-\text{Ph}$), 1370 (N трет.), 1716 ($\text{Ar}-\text{C}(\text{O})\text{OR}$), 2127 ($\text{C}\equiv\text{CH}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 679.3887 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{46}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_3$. Вычислено: $\text{M} = 679.3894$.

4-((*E*)-2-((*E*)-2-(3-((*E*)-2-(3,3-диметил-1-(4-сульфонато)-3*H*-индол-1-ий-2-ил)винил)-2-(4-((проп-2-ин-1-илокси)карбонил)фенокси)циклогекс-2-ен-1-илиден)этилиден)-3,3-диметилиндолин-1-ил)бутан-1-сульфонат натрия (84)



К 0.050 г (0.28 ммоль) проп-2-ин-1-ил-4-гидроксибензоата **11** добавляли раствор метилата натрия в метаноле (отбирали аликвоту 1 мл от раствора 0.065 г натрия в 10 мл метанола) и перемешивали полученную смесь в течение 30 минут. Затем к раствору добавляли 0.15 г (0.20 ммоль) 4-((*E*)-2-((*E*)-2-(2-хлоро-3-((*E*)-2-(3,3-диметил-1-(4-сульфонатобутил)-3*H*-индол-1-ий-2-ил)винил)циклогекс-2-ен-1-илиден)этилиден)-3,3-диметилиндолин-1-ил)бутан-1-сульфоната натрия **79** в 2 мл ДМФА. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение суток в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры добавляли избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре диэтиловым эфиром и высушивали. Выделение осуществляли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 3:1$.

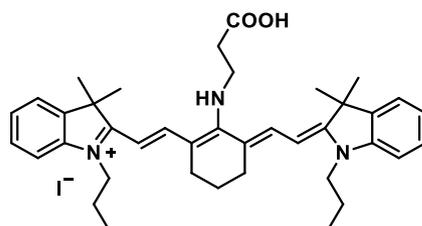
Выход 0.022 г в смеси с исходным красителем, из них 0.008 г (5%) целевого продукта, темно-зеленый порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 765$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.33 (с, 12 H, 2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.92-1.96 (м, 10 H, 5 CH_2), 2.64 (т, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.7$, 2 CH_2), 2.87 (т, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.2$, 2 CH_2SO_3), 2.95 (т, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 4.14 (т, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$, 2 CH_2N), 4.88-4.89 (м, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 6.18 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 14.5$, 2 $=\text{CH}$), 7.19-7.23 (м, 4 H, аром.), 7.28-7.35 (м, 3 H, аром.), 7.36-7.43 (м, 3 H, аром.), 7.47 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$, аром.), 7.91 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 14.2$, 2 $=\text{CH}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 23.7 (CH_2), 23.8 (2 CH_2), 27.4 (2 CH_2), 28.3 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 30.9 (2 CH_2), 42.2 (2 CH_2SO_3), 45.0 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 50.4 (2 CH_2N), 51.9 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 71.4 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 75.1 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 100.7 (2 $=\text{CH}$), 112.9, 116.7, 123.5, 123.5 (все аром.), 124.5 (2 $\text{C}-\text{O}$), 128.4, 130.0 (оба аром.), 134.5 (2 $=\text{CH}$), 135.6, 138.4, 141.0 (все аром.), 152.8 ($\text{CH}=\text{C}-\text{O}$), 155.4 (аром.), 162.3 ($\text{C}=\text{O}$), 175.8 (2 $\text{N}^+=\text{C}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 865.3186 $[\text{M}]^-$. $\text{C}_{48}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_9\text{S}_2$. Вычислено: $M = 865.3198$.

2-((*E*)-2-((*E*)-2-((2-карбоксиил)амино)-3-(2-((*E*)-3,3-диметил-1-пропилиндолин-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-1-пропил-3*H*-индол-1-ия иодид (85)



Раствор 0.200 г (0.30 ммоль) трикарбоцианина **75** и 0.180 г (2.02 ммоль) β -аланина в 2 мл абсолютного диметилформамида выдерживали при температуре 85°C в течение 2.5 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной смеси добавляли ~ 200 мл диэтилового эфира. Образовавшийся тёмно-синий осадок отфильтровывали и промывали диэтиловым эфиром. Полученные кристаллы растворяли в 2 мл метанола и пересаждали системой ацетон-диэтиловый эфир (1:5). Выпавший осадок β -аланина отделяли фильтрованием. Фильтрат досуха упаривали на роторном испарителе. Целевой продукт очищали хроматографированием на оксиде алюминия в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 10:1$.

Выход 0.044 г (21%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 630$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 760$ нм (в этаноле). $\epsilon = 7,10 \times 10^4$ л*моль $^{-1}$ *см $^{-1}$ (в метаноле).

Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.03 (т, 6 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, 2 CH_2CH_3), 1.66 (с, 12 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.76-1.87 (м, 6 H, 2 CH_2CH_3 , CH_2), 2.53 (т, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$, 2 CH_2), 2.66 (т, 2 H,

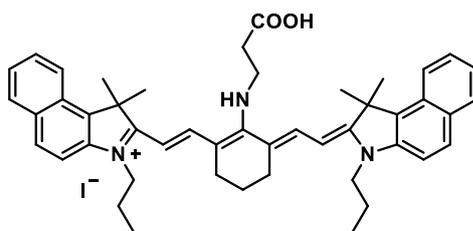
$^3J_{HH} = 5.8$, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{COOH}$), 3.88-3.98 (м, 6 H, 2 CH_2N^+ , CH_2NH), 5.9 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 13.0$, 2 CH), 7.03-7.13 (м, 4 H, аром.), 7.26-7.34 (м, 2 H, аром.), 7.37 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 7.5$, аром.), 7.77 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 13.1$, 2 CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.): 11.91 (2 $\text{CH}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 21.31 (2 CH_2), 23.03 (CH_2), 26.12 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 29.33 (2 $\text{C}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_2$), 30.88 (2 $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 37.13 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{COOH}$), 45.70 (2 CH_2N^+), 48.18 (CH_2NH), 96.10 (2 CH), 110.39 (аром.), 121.60 ($\underline{\text{C}}=\text{C}(\text{NH})-\underline{\text{C}}$), 123.20, 124.18, 129.51 (все аром.), 140.43 (2 CH), 141.64, 144.74 (все аром.), 169.82 (2 $\text{C}=\text{N}$, CNH), 170.45 (COOH).

ИК, ν/cm^{-1} : 3375.30 (OH), 1726.46 (COO^-), 1563.02-1520.60 ($\text{C}=\text{C}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 592.3892 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_2$. Вычислено: $M = 592.3898$.

2-((E)-2-((E)-2-((2-карбоксивинил)амино)-3-((E)-2-(1,1-диметил-3-пропил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1,1-диметил-3-пропил-1H-бензо[e]индол-3-ия иодид (86)



Раствор 0.278 г (0.36 ммоль) трикарбоцианина **76** и 0.219 г (2.46 ммоль) β -аланина в 2 мл абсолютного диметилформаида выдерживали при температуре 85°C в течение 12 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной смеси добавляли ~ 200 мл диэтилового эфира. Образовавшийся тёмно-синий осадок отфильтровывали и промывали диэтиловым эфиром. Целевой продукт очищали на препаративном хроматографе на силикагеле в смеси элюентов $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{Et}_3\text{N} = 15:1:0.5$.

Выход 0.139 г (47%), тёмно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 660$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 739$ нм (в этаноле). $\epsilon = 4,70 \times 10^4$ л*моль $^{-1}$ *см $^{-1}$ (в метаноле).

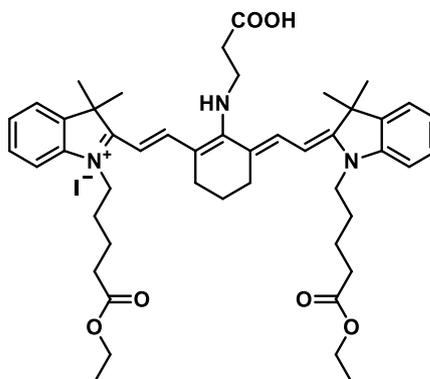
Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.06 (т, 6 H, $^3J_{HH} = 7.4$, 2 $\text{CH}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 1.80-1.90 (м, 6 H, 2 $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2$), 1.97 (с, 12 H, 2 $\text{C}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_2$), 2.54 (т, 4 H, $^3J_{HH} = 6.3$, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 2.61 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 5.5$, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{COOH}$), 3.85-4.00 (м, 6 H, 2 CH_2N^+ , CH_2NH), 5.67 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 12.9$, 2 CH), 7.22 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 8.6$, аром.), 7.38 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 7.2$, аром.), 7.54 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 7.6$, аром.), 7.80 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 12.9$, аром.), 7.87 (дд, 4 H, $^3J_{HH} = 11.4$, $^3J_{HH} = 8.6$, аром.), 8.03 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 8.6$, 2 CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.): 11.54 (2 CH_2CH_3), 20.15 (2 CH_2), 21.35 (CH_2), 25.24 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 28.15 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 29.54 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 36.67 (CH_2COOH), 45.85 (2 CH_2N^+), 52.80 (CH_2NH), 93.13 (2 CH), 109.60, 118.89 (оба аром.), 121.65 ($\text{C}=\text{C}(\text{NH})-\text{C}$), 123.57, 127.17, 128.35, 129.79, 129.85 (все аром.), 130.58 (2 CH), 131.03, 136.71, 140.40 (все аром.), 168.66 (2 $\text{C}=\text{N}$, CNH , COOH).

ИК, ν/cm^{-1} : 3383.01 (OH), 1722.12 (COO^-), 1556.272-1511.92 ($\text{C}=\text{C}$).

HRMS-ESI: найдено m/z 692.4215 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{47}\text{H}_{54}\text{N}_3\text{O}_2$. Вычислено: $\text{M} = 692.4211$.

2-((E)-2-((E)-2-((2-карбокситетил)амино)-3-(2-((E)-1-(5-этокси-5-оксопентил)-3,3-диметилиндолин-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-1-(5-этокси-5-оксопентил)-3,3-диметил-3H-индол-1-ия иодид (87)



Смесь 0.30 г (0.4 ммоль) красителя **77** и 0.24 г (2.8 ммоль) β -аланина растворили в 6 мл абсолютного ДМФА и нагревали при 85°C в течении 12 часов. Реакционную смесь высаживали диэтиловым эфиром и выпавший осадок отфильтровывали. Целевой краситель очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOH} = 30:1$.

Выход 0.069 г (19%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 625$ нм (в этаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 765$ нм (в этаноле). $\epsilon = 4,24 \times 10^4$ л*моль $^{-1}$ *см $^{-1}$ (в этаноле).

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 1.21-1.25 (м, 6 H, 2 OCH_2CH_3), 1.66 (с, 12 H, 4 CH_3), 1.72-1.81 (м, 8 H, 4 CH_2), 1.81-1.87 (м, 2 H, CH_2), 2.38 (т, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$, 2 CH_2COOEt), 2.46-2.54 (м, 4 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.64-2.71 (м, 2 H, CH_2COOH), 3.74-3.85 (м, 4 H, 2 CH_2N), 3.89-3.99 (м, 2 H, CH_2NH), 4.13 (кв, 4 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$, 2 OCH_2CH_3), 5.56 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 12.5$, 2 CH), 6.82 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$, аром.), 7.04 (т, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$, аром.), 7.20-7.26 (м, 4 H, аром.), 7.67 (д, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$, 2 CH).

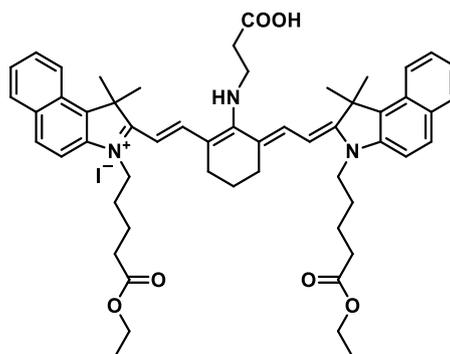
Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.; $J/\text{Гц}$): 14.19 (2 $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 21.38 (CH_2), 22.45 (2 CH_2), 25.32 (2 CH_2), 25.94 (2 CH_2), 28.81 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 33.72 (2 CH_2), 36.22 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 42.72 (CH_2COOH), 47.52 (2 CH_2N^+), 47.82 (CH_2NH), 60.48 (2 $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 93.32 (2 CH), 107.92 (аром.), 119.34 ($\text{C}=\text{C}(\text{NH})-\text{C}$), 122.17 (аром.), 122.47 (аром.), 127.97 (аром.), 137.02 (2 CH),

140.11 (аром.), 142.94 (аром.), 166.69 (C_{NH}), 168.80 (COOH), 172.96 (2 C_{COOCH₂CH₃}), 176.57 (2 C=N).

ИК, ν/cm^{-1} : 3363.73 (OH), 1732.25 (COO⁻), 1564.95-1532.65 (C=C).

HRMS-ESI: найдено m/z 764.4627 [M]⁺. C₄₇H₆₂N₃O₆. Вычислено: M = 764.4633.

2-((E)-2-((E)-2-((2-карбоксиил)амино)-3-((E)-2-(3-(5-этокси-5-оксопентил)-1,1-диметил-1,3-дигидро-2H-бензо[e]индол-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3-(5-этокси-5-оксопентил)-1,1-диметил-1H-бензо[e]индол-3-иодид (88)



Смесь 0.141 г (0.15 ммоль) красителя **78** и 0.091 г (1.03 ммоль) β-аланина растворяли в 3 мл абсолютного ДМФА и нагревали при 85°C в течение 17 часов. Реакционную смесь высаживали диэтиловым эфиром и выпавший осадок отфильтровывали. Целевой краситель очищали на препаративном хроматографе на силикагеле в смеси элюентов CH₂Cl₂:EtOH:Et₃N = 40:1:0.5.

Выход 0.052 г (35%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 655$ нм (в этаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 765$ нм (в этаноле). $\epsilon = 1,01 \times 10^4$ л*моль⁻¹*см⁻¹ (в этаноле).

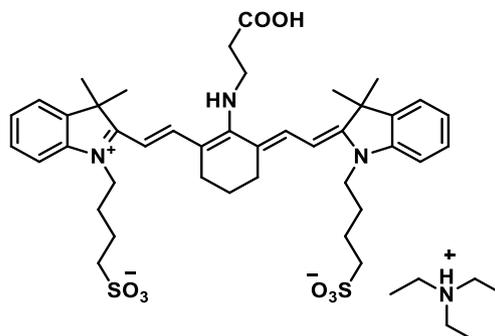
Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ , м.д.; J/Гц): 1.05 (т, 6 H, ³J_{HH} = 7.2, 2 OCH₂CH₃), 1.67-1.82 (м, 10 H, 5 CH₂), 1.89 (с, 12 H, 4 CH₃), 2.31 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.9, 2 CH₂COOEt), 2.46 (т, 4 H, ³J_{HH} = 5.9, CH₂CH₂CH₂), 2.49-2.54 (м, 2 H, CH₂COOH), 3.83-3.89 (м, 6 H, 3 CH₂NH), 4.04 (кв, 4 H, ³J_{HH} = 6.9, 2 OCH₂CH₃), 5.56 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.9, 2 CH), 7.10-7.15 (м, 2 H, аром.), 7.30 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.4, аром.), 7.42-7.48 (м, 2 H, аром.), 7.68-7.82 (м, 6 H, аром.), 7.98 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.6, 2 CH).

Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ , м.д.): 14.01 (2 COOCH₂CH₃), 21.23 (CH₂), 22.21, 25.18, 26.06 (все CH₂), 28.04 (2 C(CH₃)₂), 33.50 (2 CH₂), 34.14 (2 C(CH₃)₂), 42.72 (CH₂COOH), 47.85 (2 CH₂N⁺), 49.12 (CH₂NH), 60.32 (2 COOCH₂CH₃), 93.00 (2 CH), 109.39 (аром.), 119.03 (C=C(NH)-C), 121.51, 123.55, 127.14, 128.26, 129.77, 129.90, 130.55, 130.89 (все аром.), 136.59 (2 CH), 140.06 (аром.), 168.02 (CNH), 168.38 (COOH), 170.11 (2 C_{COOCH₂CH₃}), 172.76 (2 C=N).

ИК, ν/cm^{-1} : 3361.32 (OH), 1731.28 (COO⁻), 1557.24-1515.29 (C=C).

HRMS-ESI: найдено m/z 864.4900 [M]⁺. C₅₅H₆₆N₃O₆. Вычислено: M = 864.4946.

4-((*E*)-2-((*E*)-2-(2-((2-карбоксиил)амино)-3-((*E*)-2-(3,3-диметил-1-(4-сульфонатобутил)-3*H*-индол-1-ий-2-ил)винил)циклогекс-2-ен-1-илиден)этилиден)-3,3-диметилиндолин-1-ил)бутан-1-сульфонат триэтиламмония (89) [120]



Смесь 0.428 г (0.57 ммоль) трикарбоцианина **79** с 0.346 г (3.9 ммоль) β-аланина в 5 мл абсолютного ДМФА нагревали при 85°C в течение 30 часов. Реакционную смесь высаживали диэтиловым эфиром и выпавший осадок отфильтровывали. Целевой краситель очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе CH₃CN:CH₃OH:Et₃N = 4:1:0.5).

Выход 0.209 г (40%), темно-синий порошок. $\lambda_{\text{abs}} = 629$ нм (в этаноле). 645 нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 743$ нм (в этаноле). $\epsilon = 7,32 \times 10^4$ л*моль⁻¹*см⁻¹ (в метаноле).

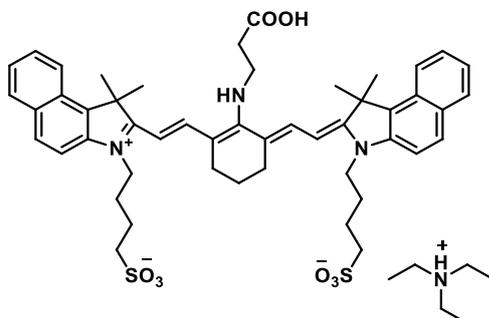
Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ, м.д.; J/Гц): 1.31 (т, 9 H, ³J_{HH} = 7.3, 3 CH₃ (Et₃NH⁺)), 1.66 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.81-1.89 (м, 2 H, CH₂), 1.89-1.97 (м, 8 H, 4 CH₂), 2.56 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.2, CH₂CH₂CH₂), 2.70 (т, 2 H, ³J_{HH} = 5.6, CH₂COOH), 2.87 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.3, 2 CH₂SO₃⁻), 3.20 (кв, 6 H, ³J_{HH} = 7.3, 3 CH₂ (Et₃NH⁺)), 3.93-4.03 (м, 6 H, 2 CH₂N, CH₂NH), 5.87 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.9, 2 CH), 7.04-7.13 (м, 4 H, аром.), 7.30 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.9, аром.), 7.35 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.3, аром.), 7.77 (д, 2 H, ³J_{HH} = 13.1, 2 CH).

Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ, м.д.): 7.32 (3 CH₃ (Et₃NH⁺)), 20.96 (CH₂), 21.82, 24.10, 24.86 (все 2CH₂), 27.29 (2 C(CH₃)₂), 28.81 (2 C(CH₃)₂), 35.07 (CH₂COOH), 41.95 (2 CH₂N⁺), 45.94 (3 CH₂ (Et₃NH⁺)), 46.14 (CH₂NH), 50.19 (2 CH₂SO₃⁻), 94.08 (2 CH), 108.32 (аром.), 119.86 (C=C(NH)-C), 121.12, 122.06, 127.50 (все аром.), 138.21 (2 CH), 139.57, 142.55 (оба аром.), 167.39 (CNH), 168.52 (COOH), 174.64 (2 C=N).

ИК, ν/cm⁻¹: 3406.64 (OH), 1711.03 (C=O), 1563.02-1496.97 (C=C), 1294.48 (SO₃⁻).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 778.3205 [M]⁻. C₄₁H₅₂N₃O₈S₂. Вычислено: M = 778.3201.

4-((*E*)-2-((*E*)-2-(2-((2-карбоксиил)амино)-3-((*E*)-2-(1,1-диметил-3-(4-сульфонатобутил)-1*H*-бензо[*e*]индол-3-ий-2-ил)винил)циклогекс-2-ен-1-илиден)этилиден)-1,1-диметил-1,2-дигидро-3*H*-бензо[*e*]индол-3-ил)бутан-1-сульфонат триэтиламмония (90)



Смесь 0.340 г (0.40 ммоль) трикарбоцианина **80** с 0.242 г (2.72 ммоль) β-аланина в 5 мл абсолютного ДМФА нагревали при 85°C в течение 20 часов. Реакционную смесь высаживали диэтиловым эфиром и выпавший осадок отфильтровали. Целевой краситель очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе CH₃CN:CH₃OH:Et₃N = 10:1:0.5.

Выход 0.089 г (23%), темно-синий порошок. λ_{abs} = 624 нм (в этаноле), 665 нм (в метаноле). λ_{fl} = 741 нм (в этаноле). ε = 5,64×10⁴×10⁴ л*моль⁻¹*см⁻¹ (в метаноле).

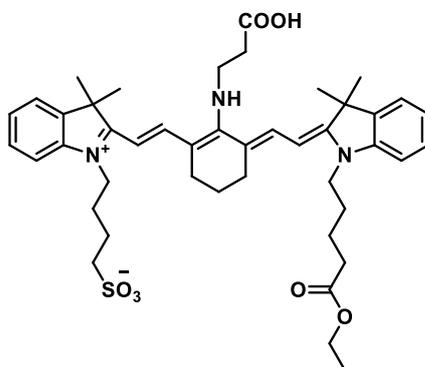
Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ, м.д.; J/Гц): 1.27 (т, 9 H, ³J_{HH} = 7.2, 3CH₃ (Et₃NH⁺)), 1.83-1.96 (м, 8 H, 4 CH₂), 1.97 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.99-2.04 (м, 2 H, CH₂), 2.59 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.1, CH₂CH₂CH₂), 2.64 (т, 2 H, ³J_{HH} = 5.7, CH₂COOH), 2.90 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.9, 2 CH₂SO₃⁻), 3.16 (кв, 6 H, ³J_{HH} = 7.4, 3 CH₂ (Et₃NH⁺)), 3.98 (т, 2 H, ³J_{HH} = 5.5, CH₂NH), 4.09 (м, 4 H, 2 CH₂N), 5.89 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.9, 2CH), 7.36 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.4, аром.), 7.45 (д, 2 H, ³J_{HH} = 9.0, аром.), 7.50-7.58 (м, 2 H, аром.), 7.85-7.96 (м, 6 H, аром.), 8.19 (д, 2 H, ³J_{HH} = 8.6, 2 CH).

Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ, м.д.): 9.35 (3 CH₃ (Et₃NH⁺)), 23.11 (CH₂), 23.88, 26.23, 27.17 (все CH₂), 28.85 (2 C(CH₃)₂), 38.52 (2 C(CH₃)₂), 44.06 (CH₂COOH), 47.90 (3 CH₂ (Et₃NH⁺)), 50.95 (2 CH₂N⁺), 52.25 (CH₂NH, 2 CH₂SO₄), 95.65 (2 CH), 111.62 (аром.), 121.49 (C=C(NH)-C), 123.24, 123.25, 128.37, 129.93, 131.10, 131.38, 132.61, 132.92 (все аром.), 139.70 (2 CH), 142.02 (аром.), 169.90 (COOH, CNH), 171.15 (2 C=N).

ИК, ν/см⁻¹: 3440.87 (OH), 1713.44 (C=O), 1623.77-1470.46 (C=C), 1291.11 (SO₃⁻).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 878.3507 [M]⁻. C₄₉H₅₆N₃O₈S₂. Вычислено: M = 878.3514.

4-(2-((E)-2-((E)-2-((2-карбоксииэтил)амино)-3-(2-((E)-1-(5-этоксипентил)-3,3-диметилиндолин-2-илиден)этилиден)циклогекс-1-ен-1-ил)винил)-3,3-диметил-3H-индол-1-ий-1-ил)бутан-1-сульфонат (91)



Смесь 0.232 г (0.32 ммоль) трикарбоцианина **64** и 0.192 г (2.16 ммоль) β-аланина растворили в 5 мл абсолютного ДМФА и нагревали при 85°C в течение 22 часов. Реакционную смесь высаживали диэтиловым эфиром и выпавший осадок отфильтровывали. Целевой краситель очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе CH₂Cl₂:EtOH = 10:1.

Выход 0.102 г (41%). $\lambda_{\text{abs}} = 635$ нм (в этаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 740$ нм (в этаноле). $\epsilon = 3,48 \times 10^4$ л*моль⁻¹*см⁻¹ (в этаноле).

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ, м.д.; J/Гц): 1.18 (т, 3 H, ³J_{HH} = 7.1, OCH₂CH₃), 1.63 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.67-1.86 (м, 6 H, 3 CH₂), 1.86-1.95 (м, 4 H, 2 CH₂), 2.38 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.1, CH₂COOEt), 2.48-2.58 (м, 4 H, 2 CH₂), 2.68 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.0, CH₂COOH), 2.85 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.6, CH₂), 3.86-4.02 (м, 6 H, 2 CH₂N, CH₂NH), 4.07 (кв, 2 H, ³J_{HH} = 7.1, COOCH₂CH₃), 5.74-5.96 (м, 2 H, CH), 6.98-7.13 (м, 4 H, аром.), 7.23-7.37 (м, 4 H, аром.), 7.64-7.85 (м, 2 H, CH).

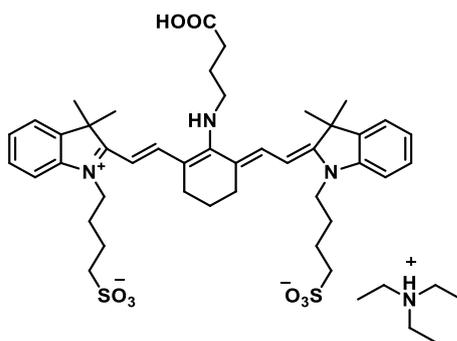
Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ, м.д.): 14.72 (COOCH₂CH₃), 18.52, 23.03, 23.52, 23.82, 26.14, 26.94, 27.21 (все CH₂), 29.30 (2 C(CH₃)₂), 34.66 (CH₂), 43.81 (2 C(CH₃)₂), 44.02 (CH₂COOH), 47.96 (CH₂SO₃⁻), 52.18 (2 CH₂N⁺), 58.46 (CH₂NH), 61.66 (COOCH₂CH₃), 96.12, 96.33 (оба CH), 110.24, 110.47 (оба аром.), 121.82 (C=C(NH)-C), 121.89 (C=C(NH)-C), 122.03, 123.03, 123.17, 123.22, 124.14, 124.23, 129.53, 129.59 (все аром.), 140.19, 140.63 (оба CH), 141.60, 144.56 (оба аром.), 169.42 (CNH), 169.74 (COOH), 170.66 (COOCH₂CH₃) 175.04 (2 C=N).

ИК, ν/см⁻¹: 3374.82 (OH), 1724.53 (COO⁻), 1563.50-1519.63 (C=C), 1288.70, 1039.93 (SO₃⁻).

HRMS-ESI: найдено m/z 772.3980 $[M+H]^+$, 794.3809 $[M+Na]^+$. $C_{44}H_{57}N_3O_7S$.
Вычислено: $M = 771.3917$.

Отнесение сигналов 1H и ^{13}C ЯМР в приложении на рисунке П10 и П11.

4-((E)-2-((E)-2-(2-((3-карбоксивинил)амино)-3-((E)-2-(3,3-диметил-1-(4-сульфонатобутил)-3H-индол-1-ил-2-ил)винил)циклогекс-2-ен-1-илиден)этилиден)-3,3-диметилиндолин-1-ил)бутан-1-сульфонат триэтиламмония (92) [120]



Смесь 0.182 г (0.24 ммоль) трикарбоцианина **79** с 0.075 г (0.73 ммоль) γ -аминомасляной кислоты в 3 мл абсолютного ДМФА нагревали при 85°C в течение 10 часов. Реакционную смесь высаживали диэтиловым эфиром и выпавший осадок отфильтровывали. Целевой краситель очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе $CH_3CN:CH_3OH:Et_3N = 4:1:0.5$.

Выход 0.075 г (35%), темно-синий порошок. $\lambda_{abs} = 630$ нм (в метаноле), 638 нм (в этаноле). $\lambda_{fl} = 760$ нм (в этаноле). $\epsilon = 5,6 \times 10^4$ л*моль $^{-1}$ *см $^{-1}$ (в метаноле).

Спектр ЯМР 1H (CD_3OD , δ , м.д.; J/Γ): 1.30 (т, 9 H, $^3J_{HH} = 7.3$, 3 CH_3 (Et_3NH^+)), 1.66 (с, 12 H, 2 $C(CH_3)_2$), 1.81-1.87 (м, 2 H, CH_2), 1.89-1.96 (м, 8 H, 4 CH_2), 2.01-2.11 (м, 2 H, CH_2), 2.44 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 6.8$, CH_2COOH), 2.56 (т, 4 H, $^3J_{HH} = 6.1$, $CH_2CH_2CH_2$), 2.87 (т, 4 H, $^3J_{HH} = 6.4$, 2 $CH_2SO_3^-$), 3.20 (кв, 6 H, $^3J_{HH} = 7.3$, 3 CH_2 (Et_3NH^+)), 3.82 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 6.5$, CH_2NH), 3.92-4.03 (м, 4 H, 2 CH_2N), 5.84 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 12.5$, 2 CH), 7.02-7.14 (м, 4 H, аром.), 7.30 (т, 2 H, $^3J_{HH} = 7.6$, аром.), 7.35 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 7.3$, аром.), 7.75 (д, 2 H, $^3J_{HH} = 12.9$, 2 CH).

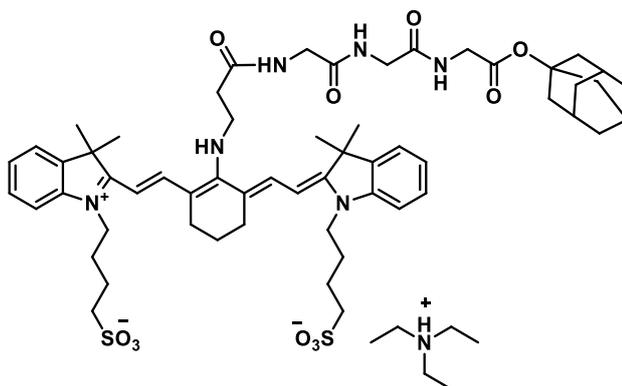
Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.): 7.38 (3 CH_3 (Et_3NH^+)), 21.04 (CH_2), 21.89, 24.38, 24.92, 26.16 (все CH_2), 27.31 (2 $C(CH_3)_2$), 31.53 (2 $C(CH_3)_2$), 41.91 (CH_2COOH), 46.00 (3 CH_2 (Et_3NH^+)), 49.64 (2 CH_2N^+), 50.25 (CH_2NH , 2 $CH_2SO_3^-$), 93.97 (2 CH), 108.31 (аром.), 119.96 ($C=C(NH)-C$), 121.17, 122.00, 127.58 (все аром.), 138.24 (2 CH), 139.51, 142.69 (оба аром.), 167.12 (CNH), 169.24 (COOH), 175.92 (2 $C=N$).

ИК, ν/cm^{-1} : 3418.21 (OH), 1721.16 (C=O), 1576.02-1486.37 (C=C), 1292.07 (SO_3^-).

HRMS-ESI: найдено m/z 792.3351 $[M]^-$. $C_{42}H_{54}N_3O_8S_2$. Вычислено: $M = 792.3358$.

4.8 Синтез конъюгатов трикарбоцианинов с пептидами

Су-β-Ala-Gly-Gly-Gly-OAd (93)



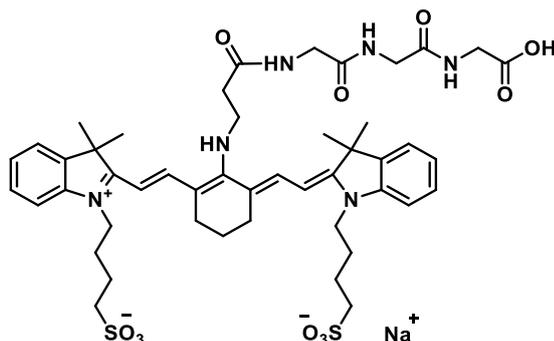
0.048 г (0.054 ммоль) соединения **89** растворяли в 2 мл абсолютного ДМФА в атмосфере аргона. К раствору добавляли 0.006 г (0.051 ммоль) гидроксисукцинимид, охлаждали до 0-5°C, прибавляли 0.01 г (0.051 ммоль) ДЦК. После перемешивания в течение 30 минут оставляли на ночь в холодильнике. Далее к реакционной смеси добавляли 0.007 г (0.022 ммоль) пептида Gly-Gly-Gly-OAd в атмосфере аргона и 0.002 мл (0.012 ммоль) триэтиламина и перемешивали при комнатной температуре 5 дней. После окончания реакции добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали, очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе CH₂Cl₂: CH₃OH:Et₃N = 20:1:0.5.

Выход 0.012 г (35%). $\lambda_{\text{abs}} = 640$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 755$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ, м.д.; J/Гц): 1.31 (т, 9 H, ³J_{HH} = 7.31, 3 CH₃ (Et₃NH⁺)), 1.61-1.69 (м, 18 H, 2 C(CH₃)₂, 3 CH₂ (Ad)), 1.82-1.88 (м, 2 H, CH₂), 1.91-1.95 (м, 8 H, 4 CH₂), 2.06-2.16 (м, 9 H, 3 CH₂, 3 CH (Ad)), 2.57 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.1, CH₂CH₂CH₂), 2.70-2.76 (м, 2 H, CH₂CONH) 2.87 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.3, 2 CH₂SO₃⁻), 3.20 (кв, 6 H, ³J_{HH} = 7.3, 3 CH₂ (Et₃NH)), 3.84 (с, 2 H, NHCH₂), 3.95 (с, 2 H, NHCH₂), 3.97 (с, 2 H, NHCH₂), 3.98-4.10 (м, 6 H, 2 CH₂N⁺, NHCH₂), 5.81-5.93 (м, 2 H, 2 CH), 7.06-7.15 (м, 4 H, аром.), 7.27-7.34 (м, 2 H, аром.), 7.37 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.8, аром.), 7.79 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.9, 2 CH).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 1083.4916 [M]⁻. C₅₇H₇₅N₆O₁₁S₂. Вычислено: M = 1083.4941.

Су-β-Ala-Gly-Gly-GlyOH (94)



0.010 г (0.106 ммоль) трикарбоцианина **89** растворяли в 2 мл абсолютного ДМФА в атмосфере аргона. К раствору добавляли 0.013 г (0.106 ммоль) гидроксисукцинимид, охлаждали до 0-5°C, прибавляли 0.0024 г (0.06 ммоль) ДЦК. После перемешивания в течение 30 минут оставляли на ночь в холодильнике. Далее к реакционной смеси добавляли 0.020 г (0.106 ммоль) пептида Gly-Gly-GlyOH в атмосфере аргона и 0.011 мл (0.106 ммоль) триэтиламина и перемешивали при комнатной температуре 5 дней. После окончания реакции добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали, очищали на препаративном хроматографе на силикагеле в смеси элюентов CH₃CN:CH₃OH = 2.5:1.

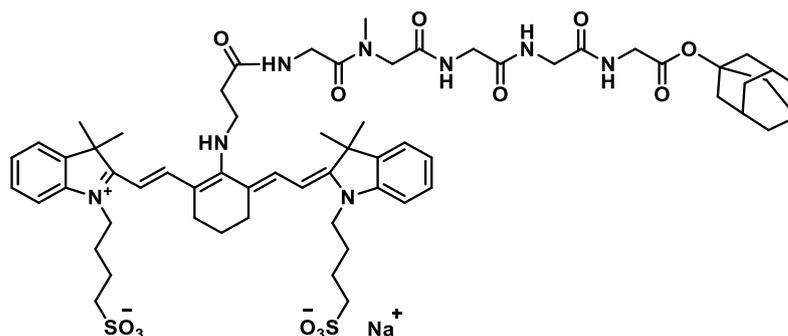
Выход 0.017 г (15%). $\lambda_{\text{abs}} = 640$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 755$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ, м.д.; J/Гц): 1.65 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.82-1.86 (м, 2 H, CH₂), 1.91-1.95 (м, 8 H, 4 CH₂), 2.56 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.3, CH₂CH₂CH₂), 2.70-2.78 (м, 2 H, CH₂CONH) 2.88 (т, 4 H, ³J_{HH} = 7.1, 2 CH₂SO₃⁻), 3.84 (с, 2 H, NHCH₂), 3.91 (с, 2 H, NHCH₂), 3.95 (с, 2 H, NHCH₂), 3.97-4.03 (м, 6 H, 2 CH₂N⁺, NHCH₂), 5.87 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.4, 2 CH), 7.05-7.13 (м, 4 H, аром.), 7.30 (т, 2 H, ³J_{HH} = 8.0, аром.), 7.36 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.7, аром.), 7.73-7.81 (м, 2 H, 2 CH).

Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ, м.д.): 22.21, 22.98, 23.86, 24.13, 25.22, 26.25, 26.94 (все CH₂), 29.31 (2 C(CH₃)₂), 30.86 (2 C(CH₃)₂), 36.58 (CH₂CONH), 40.50, 43.64, 43.85, 44.03 (все NHCH₂), 52.20 (2 CH₂N⁺, 2 CH₂SO₄), 96.00 (2 CH), 110.38 (аром.), 121.78 (C=C(NH)-C), 123.21, 124.15, 129.55, 130.70 (все аром.), 141.64 (2 CH), 144.62 (аром.), 167.32 (CNH), 169.47, 170.31, 171.55 (все CONH), 172.30 (COOH), 174.69 (2 C=N).

HRMS-ESI: найдено m/z 949.3825 [M]⁻. C₄₇H₆₁N₆O₁₁S₂. Вычислено: M = 949.3845.

Су-β-Ala-Gly-Sar-GLy-Gly-Gly-OAd (95)



0.064 г (0.073 ммоль) трикарбоцианина **89** растворяли в 2 мл абсолютного ДМФА в атмосфере аргона. К раствору добавляли 0.0084 г (0.073 ммоль) гидроксисукцинимид, охлаждали до 0-5°C, прибавляли 0.015 г (0.073 ммоль) ДЦК. После перемешивания в течение 30 минут оставляли на ночь в холодильнике. Далее к реакционной смеси добавляли 0.030 г (0.066 ммоль) пептида Gly-Sar-GLy-Gly-Gly-OAd в атмосфере аргона и 0.009 мл (0.066 ммоль) триэтиламина и перемешивали при комнатной температуре 5 дней. После окончания реакции добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали, очищали колоночной на силикагеле в системе CH₂Cl₂:CH₃OH = 3:1.

Выход 0.029 г (33%). $\lambda_{\text{abs}} = 640$ нм (в метаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 754$ нм (в метаноле).

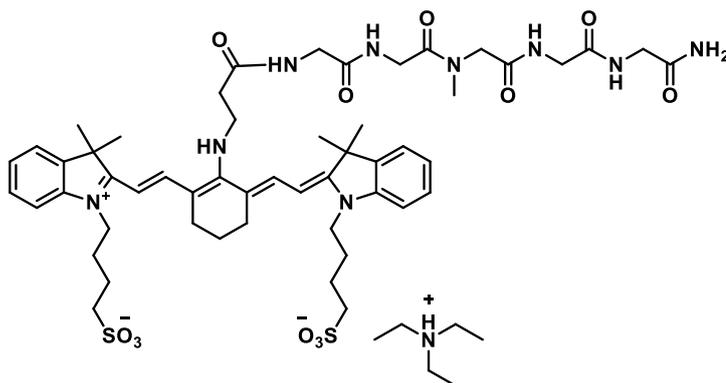
Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ, м.д.; J/Гц): 1.65 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.66-1.70 (м, 6 H, 3 CH₂ (Ad)), 1.81-1.86 (м, 2 H, CH₂), 1.91-1.95 (м, 8 H, 4 CH₂), 2.08-2.14 (м, 9 H, 3 CH₂, 3 CH (Ad)), 2.52-2.58 (м, 4 H, CH₂CH₂CH₂), 2.69-2.76 (м, 2 H, CH₂CONH), 2.88 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.6, 2 CH₂SO₃⁻), 3.16 (с, 3 H, NCH₃), 4.09-4.15 (м, 2 H, NHCH₂), 4.19-4.24 (с, 4 H, 2 NHCH₂), 3.96-4.04 (м, 6 H, 2 CH₂N, NHCH₂), 4.18 (с, 2 H, NCH₂), 4.60 (с, 2 H, CONH₂), 5.86 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.6, 2 CH), 7.05-7.13 (м, 4 H, аром.), 7.30 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.7, аром.), 7.33-7.40 (м, 2 H, аром.), 7.77 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.8, 2 CH).

Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ, м.д.): 22.99, 23.85, 24.13, 24.80, 25.23, 26.28, 26.98 (все CH₂), 29.35 (2 C(C(CH₃)₂)), 30.87 (2 C(CH₃)₂), 32.46 (3 CH (Ad)) 33.19 (NCH₃), 36.80 (CH₂CONH), 37.32 (3 CH₂ (Ad)), 40.51, 42.25 (все NHCH₂), 42.55 (3 CH₂ (Ad)), 42.91, 43.55, 43.90 (все NHCH₂), 52.23 (2 CH₂N⁺), 52.92 (CH₂N), 53.01 (2 CH₂SO₄), 82.95 (OC (Ad)), 96.13 (2 CH), 110.43 (аром.), 121.92 (C=C(NH)-C), 123.21, 124.16, 129.58, 130.70 (все аром.), 141.64 (2 CH), 144.63 (аром.), 169.53 (CNH), 170.18 (CON), 170.44 (COOAd), 171.74, 171.95, 172.10, 172.29 (все CONH), 174.19 (2 C=N).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 1211.5459 [M]⁻. C₆₂H₈₃N₈O₁₃S₂. Вычислено: M = 1211.5526.

Отнесение сигналов ¹H и ¹³C ЯМР в приложении на рисунке П12-П14.

Cy-β-Ala-Gly-Gly-Sar-Gly-Gly-NH₂ (96)



0.053 г (0.06 ммоль) трикарбоцианина **89** растворяли в 2 мл абсолютного ДМФА в атмосфере аргона. К раствору добавляли 0.007 г (0.06 ммоль) гидроксисукцинимид, охлаждали до 0-5°C, прибавляли 0.012 г (0.06 ммоль) ДЦК. После перемешивания в течение 30 минут оставляли на ночь в холодильнике. Далее к реакционной смеси добавляли 0.0268 г (0.06 ммоль) пептида Gly-Gly-Sar-Gly-Gly-NH₂ в атмосфере аргона и 0.008 мл (0.06 ммоль) триэтиламина и перемешивали при комнатной температуре 5 дней. После окончания реакции добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали, очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе CH₂Cl₂:CH₃OH:Et₃N = 20:1:0.5.

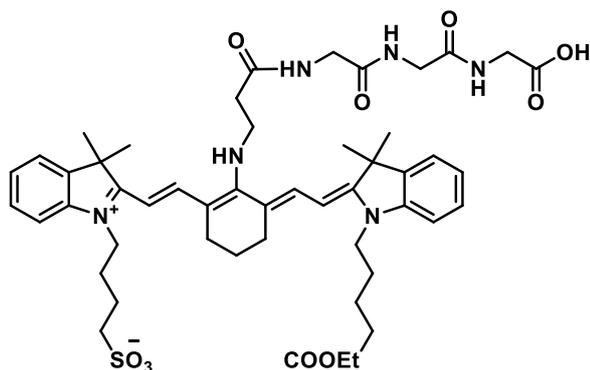
Выход 0.024 г (34%). $\lambda_{\text{abs}} = 640$ нм (в метаноле).

Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD, δ , м.д.; J/Гц): 1.31 (т, 9 H, ³J_{HH} = 7.3, 3 CH₃ (Et₃NH⁺)), 1.64 (с, 12 H, 2 C(CH₃)₂), 1.82-1.86 (м, 2 H, CH₂), 1.89-1.97 (м, 8 H, 4 CH₂), 2.56 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.2, CH₂CH₂CH₂), 2.72 (т, 2 H, ³J_{HH} = 5.8, CH₂CONH), 2.87 (т, 4 H, ³J_{HH} = 6.9, 2 CH₂SO₃⁻), 2.95 (с, 1 H, NH), 3.12 (с, 3 H, NCH₃), 3.21 (кв, 6 H, ³J_{HH} = 7.3, 3 CH₂ (Et₃NH⁺)), 3.84 (с, 1 H, NH), 3.85 (с, 2 H, NHCH₂), 3.87 (с, 2 H, NHCH₂), 3.91 (с, 1 H, NH), 3.97-4.05 (м, 8 H, 2 CH₂N, 2 NHCH₂), 4.06 (с, 1 H, NH), 4.08 (с, 2 H, NHCH₂), 4.15 (с, 1 H, NH), 4.18 (с, 2 H, NCH₂), 4.60 (с, 2 H, CONH₂), 5.86 (д, 2 H, ³J_{HH} = 11.6, 2 CH), 7.05-7.13 (м, 4 H, аром.), 7.30 (т, 2 H, ³J_{HH} = 7.4, аром.), 7.36 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.3, аром.), 7.78 (д, 2 H, ³J_{HH} = 12.7, 2 CH).

Спектр ЯМР ¹³C (CD₃OD, δ , м.д.): 9.37 (3 CH₃ (Et₃NH⁺)), 22.99 (CH₂), 23.87, 26.28, 26.99 (все CH₂), 29.31 (2 C(CH₃)₂), 30.89 (2 C(CH₃)₂), 33.21 (NCH₃), 36.70 (CH₂CONH), 42.03, 42.23, 43.31, 43.62, 43.94 (все NHCH₂), 48.10 (3 CH₂ (Et₃NH⁺)), 52.23 (2 CH₂N⁺), 53.00 (CH₂N), 53.77 (2 CH₂SO₄), 96.21 (2 CH), 110.42 (аром.), 121.81 (C=C(NH)-C), 123.21, 124.12, 129.56 (все аром.), 140.21 (2 CH), 141.63, 144.66 (оба аром.), 169.45 (CNH), 170.34 (CON), 171.48 (CONH₂), 171.74, 172.10, 172.16, 174.43 (все CONH), 174.55 (2 C=N).

HRMS-ESI: найдено m/z 1076.4575 [M]⁻. C₅₂H₇₀N₉O₁₂S₂. Вычислено: M = 1076.4591.

Су-β-Ala-Gly-Gly-GlyOH (97)



0.063 г (0.082 ммоль) трикарбоцианина **91** растворяли в 2 мл абсолютного ДМФА в атмосфере аргона. К раствору добавляли 0.019 г (0.16 ммоль) гидроксисукцинимид, охлаждали до 0-5°C, прибавляли 0.025 г (0.12 ммоль) ДЦК. После перемешивания в течение 30 минут оставляли на ночь в холодильнике. Далее к реакционной смеси добавляли 0.0155 г (0.082 ммоль) пептида Gly-Gly-GlyOH в атмосфере аргона и 0.007 мл (0.082 ммоль) триэтиламина и перемешивали при комнатной температуре 5 дней. После окончания реакции добавляли избыток диэтилового эфира. Полученный осадок отфильтровывали, очищали на препаративном хроматографе на силикагеле в смеси элюентов CH₂Cl₂:EtOH = 3:1.

Выход 0.026 г (31%). $\lambda_{\text{abs}} = 630$ нм (в этаноле). $\lambda_{\text{fl}} = 750$ нм (в этаноле).

Спектр ЯМР ¹H (ДМСО, δ, м.д.; J/Гц): 1.13 (т, 3 H, ³J_{HH} = 7.1, OCH₂CH₃), 1.57 (с, 1 2 H, 2 C(CH₃)₂), 1.62-1.75 (м, 10 H, 5 CH₂), 2.35 (т, 2 H, ³J_{HH} = 6.9, CH₂COOEt), 2.50-2.52 (м, 4 H, CH₂CH₂CH₂), 2.64-2.71 (м, 2 H, CH₂CONH), 2.93-3.00 (м, 2 H, CH₂SO₃⁻), 3.88-3.97 (м, 6 H, 3 NHCH₂), 3.88-3.97 (м, 6 H, 2 CH₂N⁺, NHCH₂), 4.01(кв, 2 H, ³J_{HH} = 7.2, COOCH₂CH₃), 5.65-5.87 (м, 2 H, 2 CH), 7.00-7.08 (м, 2 H, аром.), 7.09-7.19 (м, 2 H, аром.), 7.23-7.31 (м, 2 H, аром.), 7.42 (д, 2 H, ³J_{HH} = 7.5, аром.), 7.52-7.63 (м, 2 H, 2 CH).

HRMS-ESI: найдено *m/z* 943.4602 [M+H]⁺, 965.4417 [M+Na]⁺. C₅₀H₆₆N₆O₁₀S.
Вычислено: M = 942.4561.

5. Выводы

1. Впервые синтезированы несколько серий три-, пента- и гептаметиновых карбоцианинов и их конформационно закрепленных производных на основе гетероциклов разной природы: хинолинов, индоленинов, бензоиндоленинов и бензотиазолов, содержащих гидрофобные и гидрофильные заместители при кватернизированных атомах азота.
2. Установлено, что оптимальной последовательностью для синтеза несимметричных карбоцианинов является проведение на первой стадии процесса конденсации с метиленовой компонентой, содержащей алкилсульфонатную группу при кватернизированном атоме азота, метиленовая компонента с гидрофобным заместителем вводится на второй стадии процесса.
3. Установлено, что трикарбоцианины модифицированные ω -аминокислотами по мезо-положению конформационно закрепленной полиметиновой цепи и содержащие две алкилсульфонатные группы при кватернизированных атомах азота индоленинового скаффолда представляют собой оптимальную структурную основу для создания целевых конъюгатов проникающих пептидов с флуорофорами.
4. Показано, что замена сульфонатной группы на фосфонатную в заместителях при атомах азота гетероцикла приводит к существенному увеличению времени жизни флуоресценции карбоцианинов, что можно объяснить менее выраженными процессами агрегации для фосфонатных аналогов.
5. Установлено, что при нековалентном связывании синтезированных трикарбоцианинов с биомакромолекулами транспортных белков крови независимо от структурного типа карбоцианина происходит образование комплексов двух типов – с изолированными молекулами и с агрегатами карбоцианинов. Комплексообразование со свободными красителями является преобладающим. Методом полужесткого молекулярного докинга установлены возможные сайты связывания трикарбоцианинов с транспортными белками – ЧСА, БСА и АФП.
6. Показано, что введение циклического фрагмента и акцепторного заместителя в полиметиновую цепь не приводит к изменению величины константы связывания карбоцианинов с транспортными белками, однако, модификация мезо-положения алифатической аминогруппой в качестве сильного мезомерного донора приводит к уменьшению константы связывания в 10 раз.
7. Установлено, что для всех синтезированных в данной работе соединений наблюдаются более высокие значения времени жизни флуоресценции по сравнению с модельным флуорофором **ICG** и низкий квантовый выход триплетного состояния, что говорит о

возможности их практического использования для детектирования биомакромолекул и визуализации клеточных структур.

8. Впервые было показано, что карбоцианины бензоиндолининового ряда, содержащие как гидрофильные группы COOH и SO_3^- , так и гидрофобный алкильный фрагмент могут быть использованы в аналитических целях в качестве инструмента визуализации за счет эффективного нековалентного связывания с малыми молекулами. Пентаметиновый карбоцианин с додецилкарбоксильными заместителями при кватернизованных атомах азота гетероциклов может быть успешно использован в качестве селективного флуоресцентного сенсора.
9. Показано, что увеличение липофильности заместителей за счет удлинения углеводородных линкеров при атомах азота гетероциклов приводит к резкому возрастанию цитотоксичности, а введение алкилсульфонатных групп снижает цитотоксичность карбоцианинов. Показана возможность направленного синтеза соединений с заданными свойствами: варьирование алкильных и алкилсульфонатных заместителей в различных структурных фрагментах карбоцианинов приводит к достижению необходимых показателей цитотоксичности.

6. Список литературы

1. Tozzi M., Boni L., Soldini G., Franchin M., Piffaretti G. Vascular Fluorescence Imaging Control for Complex Renal Artery Aneurysm Repair Using Laparoscopic Nephrectomy and Autotransplantation//Case Reports in Transplantation, 2014, Vol. 2014, P. e563408.
2. Cosco E., Lim I., Sletten E. Photophysical Properties of Indocyanine Green in the Shortwave Infrared Region//ChemPhotoChem, 2021.
3. Luo S., Tan X., Fang S., Wang Y., Liu T., Wang X., Yuan Y., Sun H., Qi Q., Shi C. Mitochondria-Targeted Small-Molecule Fluorophores for Dual Modal Cancer Phototherapy//Advanced Functional Materials, 2016, Vol. 26, No. 17, P. 2826-2835.
4. Guan Y., Zhang Y., Xiao L., Li J., Wang J., Chordia M.D., Liu Z.-Q., Chung L.W.K., Yue W., Pan D. Improving Therapeutic Potential of Farnesylthiosalicylic Acid: Tumor Specific Delivery via Conjugation with Heptamethine Cyanine Dye//Molecular Pharmaceutics, 2017, T. 14, Improving Therapeutic Potential of Farnesylthiosalicylic Acid, N 1, C. 1-13.
5. Yang X., Shi C., Tong R., Qian W., Zhou H.E., Wang R., Zhu G., Cheng J., Yang V.W., Cheng T., Henary M., Streckowski L., Chung L.W.K. Near IR Heptamethine Cyanine Dye-Mediated Cancer Imaging//Clinical Cancer Research, 2010, Vol. 16, No. 10, P. 2833-2844.
6. Guo Q., Luo S., Qi Q., Shi C. Preliminary structure-activity relationship study of heptamethine indocyanine dyes for tumor-targeted imaging//Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2012, T. 06, N 01, C. 1350003.
7. Yadav Y., Levitz A., Dharma S., Aneja R., Henary M. Effects of heterocyclic N-alkyl chain length on cancer cell uptake of near infrared heptamethine cyanine dyes//Dyes and Pigments, 2017, Vol. 145, P. 307-314.
8. Shimizu Y., Temma T., Hara I., Yamahara R., Ozeki E., Ono M., Saji H. Development of Novel Nanocarrier-Based Near-Infrared Optical Probes for In Vivo Tumor Imaging//Journal of Fluorescence, 2012, Vol. 22, No. 2, P. 719-727.
9. Yang X.-G., Li Y.-F., Wang Y.-J., Kong R.-H., Wang D. Application of novel pH sensitive isoniazid-heptamethine carbocyanine dye conjugates against prostate cancer cells//Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, T. 75, N 9, C. 412-416.
10. Basnet K., Fatemipouya T., St. Lorenz A., Nguyen M., Taratula O., Henary M., Grant K.B. Single photon DNA photocleavage at 830 nm by quinoline dicarbocyanine dyes//Chemical Communications, 2019, Vol. 55, No. 84, P. 12667-12670.
11. Patonay G., Salon J., Sowell J., Streckowski L. Noncovalent Labeling of Biomolecules with Red and Near-Infrared Dyes//Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry, 2004, T. 9, N 3, C. 40-49.
12. Кузьмин В., Дурандин Н., Лисицына Е., Литвинкова Л., Некипелова Т., Подругина Т., Матвеева Е., Проскурнина М., Зефирова Н. Процессы деградации энергии в фотовозбужденных комплексах индотрикарбоцианина и альбумина//Химия высоких энергий, 2015, Т. 49, С. 240-241.
13. Armitage B.A. Cyanine Dye-DNA Interactions: Intercalation, Groove Binding, and Aggregation // DNA Binders and Related Subjects: -/- / : Topics in Current Chemistry / eds. M.J.

- Waring, J.B. Chaires. – Berlin, Heidelberg: Springer, 2005. – Cyanine Dye–DNA Interactions. – P. 55-76.
14. Kurutos A., Ryzhova O., Trusova V., Gorbenko G., Gadjev N., Deligeorgiev T. Symmetric Meso-Chloro-Substituted Pentamethine Cyanine Dyes Containing Benzothiazolyl/Benzoselenazolyl Chromophores Novel Synthetic Approach and Studies on Photophysical Properties upon Interaction with bio-Objects//*Journal of Fluorescence*, 2016, Vol. 26, No. 1, P. 177-187.
 15. Ardizzone A., Kurhuzenkau S., Illa-Tuset S., Faraudo J., Bondar M., Hagan D., Stryland E.W.V., Painelli A., Sissa C., Feiner N., Albertazzi L., Veciana J., Ventosa N. Nanostructuring Lipophilic Dyes in Water Using Stable Vesicles, Quasomes, as Scaffolds and Their Use as Probes for Bioimaging//*Small*, 2018, Vol. 14, No. 16, P. 1703851.
 16. Yang H., Mao H., Wan Z., Zhu A., Guo M., Li Y., Li X., Wan J., Yang X., Shuai X., Chen H. Micelles assembled with carbocyanine dyes for theranostic near-infrared fluorescent cancer imaging and photothermal therapy//*Biomaterials*, 2013, Vol. 34, No. 36, P. 9124-9133.
 17. Zhang P., Zhu M.-S., Luo H., Zhang Q., Guo L.-E., Li Z., Jiang Y.-B. Aggregation-Switching Strategy for Promoting Fluorescent Sensing of Biologically Relevant Species: A Simple Near-Infrared Cyanine Dye Highly Sensitive and Selective for ATP//*Anal. Chem.*, 2017, P. 6.
 18. Armstrong A., Li W. N,N'-Carbonyldiimidazole // *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* /. – American Cancer Society, 2007.
 19. Wang T.-C., Cochet F., Facchini F.A., Zaffaroni L., Serba C., Pascal S., Andraud C., Sala A., Di Lorenzo F., Maury O., Huser T., Peri F. Synthesis of the New Cyanine-Labeled Bacterial Lipooligosaccharides for Intracellular Imaging and in Vitro Microscopy Studies//*Bioconjugate Chemistry*, 2019, Vol. 30, No. 6, P. 1649-1657.
 20. Nano A., Boynton A.N., Barton J.K. A Rhodium-Cyanine Fluorescent Probe: Detection and Signaling of Mismatches in DNA//*Journal of the American Chemical Society*, 2017, Vol. 139, No. 48, P. 17301-17304.
 21. König S.G., Krämer R. Accessing Structurally Diverse Near-Infrared Cyanine Dyes for Folate Receptor-Targeted Cancer Cell Staining//*Chemistry - A European Journal*, 2017, Vol. 23, No. 39, P. 9306-9312.
 22. Zheng R., Yang J., Mamuti M., Hou D.-Y., An H.-W., Zhao Y., Wang H. Controllable Self-Assembly of Peptide-Cyanine Conjugates In Vivo as Fine-Tunable Theranostics//*Angewandte Chemie International Edition*, 2021, Vol. 60, No. 14, P. 7809-7819.
 23. Desale K., Kuche K., Jain S. Cell-penetrating peptides (CPPs): an overview of applications for improving the potential of nanotherapeutics//*Biomaterials Science*, 2021, Vol. 9, Cell-penetrating peptides (CPPs), No. 4, P. 1153-1188.
 24. Perillo E., Hervé-Aubert K., Allard-Vannier E., Falanga A., Galdiero S., Chourpa I. Synthesis and in vitro evaluation of fluorescent and magnetic nanoparticles functionalized with a cell penetrating peptide for cancer theranosis//*Journal of Colloid and Interface Science*, 2017, Vol. 499, P. 209-217.
 25. Cano-Cortes M.V., Navarro-Marchal S.A., Ruiz-Blas M.P., Diaz-Mochon J.J., Marchal J.A., Sanchez-Martin R.M. A versatile theranostic nanodevice based on an orthogonal bioconjugation

- strategy for efficient targeted treatment and monitoring of triple negative breast cancer//*Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2020, Vol. 24, P. 102120.
26. Zhao Y., Houston Z.H., Simpson J.D., Chen L., Fletcher N.L., Fuchs A.V., Blakey I., Thurecht K.J. Using Peptide Aptamer Targeted Polymers as a Model Nanomedicine for Investigating Drug Distribution in Cancer Nanotheranostics//*Molecular Pharmaceutics*, 2017, T. 14, N 10, C. 3539-3549.
27. Komljenovic D., Wiessler M., Waldeck W., Ehemann V., Pipkorn R., Schrenk H.-H., Debus J., Braun K. NIR-Cyanine Dye Linker: a Promising Candidate for Isochronic Fluorescence Imaging in Molecular Cancer Diagnostics and Therapy Monitoring//*Theranostics*, 2016, Vol. 6, NIR-Cyanine Dye Linker, No. 1, P. 131-141.
28. Yim M.S., Son E.J., Kim H.N., Ryu E.K. A TAT-conjugated peptide inhibitor of polo-like kinase 1 for in vivo tumor imaging//*Journal of Analytical Science and Technology*, 2019, T. 10, N 1, C. 26.
29. Spiteri C., Moses J.E. Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition: Regioselective Synthesis of 1,4,5-Trisubstituted 1,2,3-Triazoles//*Angewandte Chemie International Edition*, 2010, T. 49, Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition, N 1, C. 31-33.
30. Huang J., Weinfurter S., Daniele C., Perciaccante R., Federica R., Ciana L.D., Pill J., Gretz N. Zwitterionic near infrared fluorescent agents for noninvasive real-time transcutaneous assessment of kidney function//*Chemical Science*, 2017, Vol. 8, No. 4, P. 2652-2660.
31. Li C., Key J.A., Jia F., Dandapat A., Hur S., Cairo C.W. Practical Labeling Methodology for Choline-Derived Lipids and Applications in Live Cell Fluorescence Imaging//*Photochemistry and Photobiology*, 2014, Vol. 90, No. 3, P. 686-695.
32. Kopcjal M., Wojtczak B.A., Kasprzyk R., Kowalska J., Jemielity J. N1-Propargylguanosine Modified mRNA Cap Analogs: Synthesis, Reactivity, and Applications to the Study of Cap-Binding Proteins//*Molecules*, 2019, Vol. 24, N1-Propargylguanosine Modified mRNA Cap Analogs, No. 10, P. 1899.
33. Wang X., Chen Z., Luo S., Jin T., Wang Y., Chen F., Wu L., Tan X., Shi C. Development of Therapeutic Small-Molecule Fluorophore for Cell Transplantation//*Advanced Functional Materials*, 2016, Vol. 26, No. 46, P. 8397-8407.
34. Ong M.J.H., Srinivasan R., Romieu A., Richard J.-A. Divergent Synthesis of Dihydroxanthene-Hemicyanine Fused Near-Infrared Fluorophores through the Late-Stage Amination of a Bifunctional Precursor//*Organic Letters*, 2016, T. 18, N 19, C. 5122-5125.
35. Claudia G.-G., Antonio F., Nicolaos A., Mark B., Marc V. Red-Fluorescent Activatable Probes for the Detection of Hydrogen Peroxide in Living Cells//*Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2016, Vol. 19, No. 5, P. 353-361.
36. Mizrahi D.M., Ziv-Polat O., Perlstein B., Gluz E., Margel S. Synthesis, fluorescence and biodistribution of a bone-targeted near-infrared conjugate//*European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, Vol. 46, No. 10, P. 5175-5183.
37. Streckowski L., Mason C.J., Lee H., Gupta R., Sowell J., Patonay G. Synthesis of water-soluble near-infrared cyanine dyes functionalized with [(succinimido)oxy]carbonyl group//*Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2003, Vol. 40, No. 5, P. 913-916.

38. Constantin T.P., Silva G.L., Robertson K.L., Hamilton T.P., Fague K., Waggoner A.S., Armitage B.A. Synthesis of New Fluorogenic Cyanine Dyes and Incorporation into RNA Fluoromodules//*Organic Letters*, 2008, T. 10, N 8, C. 1561-1564.
39. Dong Y., Tu Y., Wang K., Xu C., Yuan Y., Wang J. A General Strategy for Macrotheranostic Prodrug Activation: Synergy between the Acidic Tumor Microenvironment and Bioorthogonal Chemistry//*Angewandte Chemie International Edition*, 2020, Vol. 59, A General Strategy for Macrotheranostic Prodrug Activation, No. 18, P. 7168-7172.
40. Kabanakis A.N., Bidikoudi M., Elsenety M.M., Vougioukalakis G.C., Falaras P. Synthesis of novel semi-squaraine derivatives and application in efficient dye-sensitized solar cells//*Dyes and Pigments*, 2019, Vol. 165, P. 308-318.
41. Bertoldo M., Nazzi S., Zampano G., Ciardelli F. Synthesis and photochromic response of a new precisely functionalized chitosan with “clicked” spiropyran//*Carbohydrate Polymers*, 2011, Vol. 85, No. 2, P. 401-407.
42. Gerowska M., Hall L., Richardson J., Shelbourne M., Brown T. Efficient reverse click labeling of azide oligonucleotides with multiple alkynyl Cy-Dyes applied to the synthesis of HyBeacon probes for genetic analysis//*Tetrahedron*, 2012, Vol. 68, No. 3, P. 857-864.
43. Redy-Keisar O., Huth K., Vogel U., Lepenies B., Seeberger P.H., Haag R., Shabat D. Enhancement of fluorescent properties of near-infrared dyes using clickable oligoglycerol dendrons//*Organic & biomolecular chemistry*, 2015, T. 13, N 16, C. 4727-4732.
44. Katritzky A.R., Schwarz O.A., Rubio O., Markees D.G. The Synthesis and Reactions of 1-(2-Propynyl)pyridinium Salts//*Helvetica Chimica Acta*, 1984, T. 67, N 4, C. 939-946.
45. Bisht R., Mele Kavungathodi M.F., Nithyanandhan J. Indenoquinaldine-Based Unsymmetrical Squaraine Dyes for Near-Infrared Absorption: Investigating the Steric and Electronic Effects in Dye-Sensitized Solar Cells//*Chemistry – A European Journal*, 2018, Vol. 24, No. 61, P. 16368-16378.
46. Li J.-Y., Chen C.-Y., Ho W.-C., Chen S.-H., Wu C.-G. Unsymmetrical Squaraines Incorporating Quinoline for Near Infrared Responsive Dye-Sensitized Solar Cells//*Organic Letters*, 2012, T. 14, N 21, C. 5420-5423.
47. Owens E.A., Bruschi N., Tawney J.G., Henary M. A microwave-assisted and environmentally benign approach to the synthesis of near-infrared fluorescent pentamethine cyanine dyes//*Dyes and Pigments*, 2015, Vol. 113, P. 27-37.
48. Winstead A.J., Fleming N., Hart K., Toney D. Microwave Synthesis of Quaternary Ammonium Salts//*Molecules*, 2008, Vol. 13, No. 9, P. 2107-2113.
49. Pavlik C., Biswal N.C., Gaenzler F.C., Morton M.D., Kuhn L.T., Claffey K.P., Zhu Q., Smith M.B. Synthesis and fluorescent characteristics of imidazole-indocyanine green conjugates//*Dyes and Pigments*, 2011, T. 89, N 1, C. 9-15.
50. Sato S., Tsunoda M., Suzuki M., Kutsuna M., Takido-uchi K., Shindo M., Mizuguchi H., Obara H., Ohya H. Synthesis and spectral properties of polymethine-cyanine dye–nitroxide radical hybrid compounds for use as fluorescence probes to monitor reducing species and radicals//*Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2009, Vol. 71, No. 5, P. 2030-2039.

51. Meng F., Hua J., Chen K., Tian H., Zuppiroli L., Nüesch F. Synthesis of novel cyanine–fullerene dyads for photovoltaic devices//*Journal of Materials Chemistry*, 2005, Vol. 15, No. 9, P. 979-986.
52. Sinha S.H., Owens E.A., Feng Y., Yang Y., Xie Y., Tu Y., Henary M., Zheng Y.G. Synthesis and evaluation of carbocyanine dyes as PRMT inhibitors and imaging agents//*European Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, Vol. 54, P. 647-659.
53. Mapp C.T., Owens E.A., Henary M., Grant K.B. Oxidative cleavage of DNA by pentamethine carbocyanine dyes irradiated with long-wavelength visible light//*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2014, Vol. 24, No. 1, P. 214-219.
54. Gerowska M., Hall L., Richardson J., Shelbourne M., Brown T. Efficient reverse click labeling of azide oligonucleotides with multiple alkynyl Cy-Dyes applied to the synthesis of HyBeacon probes for genetic analysis//*Tetrahedron*, 2012, Vol. 68, No. 3, P. 857-864.
55. Naphthocyanines for Use as Contrast Agents : пат. US20130131354A1 / H. Langhals et al. ; заявл. 30.05.2011 ; опубли. 23.05.2013.
56. Owens E.A., Bruschi N., Tawney J.G., Henary M. A microwave-assisted and environmentally benign approach to the synthesis of near-infrared fluorescent pentamethine cyanine dyes//*Dyes and Pigments*, 2015, Vol. 113, P. 27-37.
57. Collot M., Ashokkumar P., Anton H., Boutant E., Faklaris O., Galli T., Mély Y., Danglot L., Klymchenko A.S. MemBright: A Family of Fluorescent Membrane Probes for Advanced Cellular Imaging and Neuroscience//*Cell Chemical Biology*, 2019, T. 26, N 4, C. 600-614.e7.
58. Cao H., Xiong Y., Wang T., Chen B., Squier T.C., Mayer M.U. A Red Cy3-Based Biarsenical Fluorescent Probe Targeted to a Complementary Binding Peptide//*Journal of the American Chemical Society*, 2007, T. 129, N 28, C. 8672-8673.
59. Langhals H., Varja A., Laubichler P., Kernt M., Eibl K., Haritoglou C. Cyanine Dyes as Optical Contrast Agents for Ophthalmological Surgery//*Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, T. 54, N 11, C. 3903-3925.
60. Shulov I., Rodik R.V., Arntz Y., Reisch A., Kalchenko V.I., Klymchenko A.S. Protein-Sized Bright Fluorogenic Nanoparticles Based on Cross-Linked Calixarene Micelles with Cyanine Corona//*Angewandte Chemie International Edition*, 2016, Vol. 55, No. 51, P. 15884-15888.
61. Samanta A., Vendrell M., Das R., Chang Y.-T. Development of photostable near-infrared cyanine dyes//*Chemical Communications*, 2010, Vol. 46, No. 39, P. 7406-7408.
62. Su W., Gu B., Hu X., Duan X., Zhang Y., Li H., Yao S. A near-infrared and colorimetric fluorescent probe for palladium detection and bioimaging//*Dyes and Pigments*, 2017, Vol. 137, P. 293-298.
63. Lipowska M., Patonay G., Strekowski L. New Near-Infrared Cyanine Dyes for Labelling of Proteins//*Synthetic Communications*, 1993, T. 23, N 21, C. 3087-3094.
64. Braun A.B., Wehl I., Kölmel D.K., Schepers U., Bräse S. New Polyfluorinated Cyanine Dyes for Selective NIR Staining of Mitochondria//*Chemistry – A European Journal*, 2019, T. 25, N 34, C. 7998-8002.

65. Liang H., Chen X., Jin R., Ke B., Barz M., Ai H., Nie Y. Integration of Indocyanine Green Analogs as Near-Infrared Fluorescent Carrier for Precise Imaging-Guided Gene Delivery//Small, 2020, Vol. 16, No. 10, P. 1906538.
66. Cyanine dye compound and preparation method therefor, and dual-function agent for photodynamic therapy and preparation method therefor : пат. EP2940021B1 / R.K. Pandey et al. ; заявл. 06.02.2013 ; опубл. 13.06.2018.
67. Yang Y., Zhou T., Jin M., Zhou K., Liu D., Li X., Huo F., Li W., Yin C. Thiol–Chromene “Click” Reaction Triggered Self-Immolative for NIR Visualization of Thiol Flux in Physiology and Pathology of Living Cells and Mice//Journal of the American Chemical Society, 2020, T. 142, N 3, C. 1614-1620.
68. A kind of formaldehyde fluorescence probe based on seven methine indoles cyanines and preparation method thereof and application method : пат. CN108658838A / 尹梅贞 и др. ; заявл. 25.06.2018 ; опубл. 16.10.2018.
69. Sondermann J. Darstellung oberflächenaktiver Polymethincyanin-Farbstoffe mit langen N-Alkyl-Ketten//Justus Liebigs Annalen der Chemie, 1971, T. 749, N 1, C. 183-197.
70. Riester O. The Cyanine Dyes and Related Compounds. Von Frances M. Hamer. Band 18 von The Chemistry of Heterocyclic Compounds. A Series of Monographs. Gesamtherausg.: A Weissberger. Interscience Publishers, a division of John Wiley & Sons, New York-London 1964. 1. Aufl., XXXVI, 790 S., einige Abb., zahlr. Tab., geb. £ 17.0.0.//Angewandte Chemie, 1965, Vol. 77, No. 9, P. 436-436.
71. Pilyugin G.T. Cyanine dyes//Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR, Division of chemical science, 1952, Vol. 1, No. 3, P. 491-497.
72. Barni E., Savarino P., Larovere R., Viscardi G., Pelizzetti E. Long chain heterocyclic dyes. Part one. Hydrophobic structures//Journal of Heterocyclic Chemistry, 1986, Vol. 23, No. 1, P. 209-221.
73. Reichardt C., Schagerer K. Darstellung und Reaktionen von 2-(Dialkylamino)malonaldehyden//Liebigs Annalen der Chemie, 1982, T. 1982, N 3, C. 530-535.
74. Marvell E.N., Caple G., Shahidi I. Formation of phenylpyridinium chloride from 5-anilino-N-phenyl-2,4-pentadienyliidiminium chloride. Kinetics in basic media//Journal of the American Chemical Society, 1970, T. 92, N 19, C. 5641-5645.
75. Okoh O.A., Bisby R.H., Lawrence C.L., Rolph C.E., Smith R.B. Promising near-infrared non-targeted probes: benzothiazole heptamethine cyanine dyes//Journal of Sulfur Chemistry, 2014, T. 35, Promising near-infrared non-targeted probes, N 1, C. 42-56.
76. Reynolds G.A., Drexhage K.H. Stable heptamethine pyrylium dyes that absorb in the infrared//The Journal of Organic Chemistry, 1977, T. 42, N 5, C. 885-888.
77. Flanagan James H., Khan S.H., Menchen S., Soper S.A., Hammer R.P. Functionalized Tricarbocyanine Dyes as Near-Infrared Fluorescent Probes for Biomolecules//Bioconjugate Chemistry, 1997, T. 8, N 5, C. 751-756.

78. Mohammad I., Stanford C., Morton M.D., Zhu Q., Smith M.B. Structurally modified indocyanine green dyes. Modification of the polyene linker//Dyes and Pigments, 2013, Vol. 99, No. 2, P. 275-283.
79. Fadda A.A., El-Mekawy R.E. Utility of quaternary ammonium salts in synthesis of some novel cyanine dyes as potential antibacterial and antitumor agents//Dyes and Pigments, 2013, Vol. 99, No. 2, P. 512-519.
80. Morales-Toyo M., Cubillán N., Glidewell C., Seijas L., Boscan-Melean K., Restrepo J. Synthesis, crystal structure, and non-covalent interactions in 4-hydrazinobenzoic acid hydrochloride//Journal of Molecular Structure, 2020, Vol. 1201, P. 127154.
81. Oushiki D., Kojima H., Terai T., Arita M., Hanaoka K., Urano Y., Nagano T. Development and Application of a Near-Infrared Fluorescence Probe for Oxidative Stress Based on Differential Reactivity of Linked Cyanine Dyes//Journal of the American Chemical Society, 2010, T. 132, N 8, C. 2795-2801.
82. Novel 3,5-disubstitued-3h-imidazo[4,5-b]pyridine and 3,5- disubstitued -3h-[1,2,3]triazolo[4,5-b] pyridine compounds as modulators of c-met protein kinases : пат. WO2013144737A2 / S.K.V.S. VAKKALANKA et al. ; заявл. 27.02.2013 ; опубли. 03.10.2013.
83. В. В. Рагулин. ω-Галогеналкилфосфорильные соединения, синтез, свойства // Журн. общ. химии, 2012, Т. 82, С. 1973—1982.
84. Villemain D., Simeon F., Decreus H., Jaffres P.-A. Rapid and Efficient Arbuzov Reaction Under Microwave Irradiation//Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 1998, T. 133, N 1, C. 209-213.
85. Gimeno N., Martín-Rapún R., Rodríguez-Conde S., Serrano J.L., Folcia C.L., Pericás M.A., Ros M.B. “Click chemistry” as a versatile route to synthesize and modulate bent-core liquid crystalline materials//Journal of Materials Chemistry, 2012, Vol. 22, No. 33, P. 16791.
86. Chaudhary P.M., Chavan S.R., Shirazi F., Razdan M., Nimkar P., Maybhate S.P., Likhite A.P., Gonnade R., Hazara B.G., Deshpande M.V., Deshpande S.R. Exploration of click reaction for the synthesis of modified nucleosides as chitin synthase inhibitors: Special Issue: Natural Products in Medicinal Chemistry//Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009, Vol. 17, No. 6, P. 2433-2440.
87. Tian M., Sun J., Dong B., Lin W. Dynamically Monitoring Cell Viability in a Dual-Color Mode: Construction of an Aggregation/Monomer-Based Probe Capable of Reversible Mitochondria-Nucleus Migration//Angewandte Chemie International Edition, 2018, Vol. 57, No. 50, P. 16506-16510.
88. Dai L., Ren M., Lin W. Development of a novel NIR viscosity fluorescent probe for visualizing the kidneys in diabetic mice//Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, Vol. 254, P. 119627.
89. Patrick M.J., Ernst L.A., Waggoner A.S., Thai D., Tai D., Salama G. Enhanced aqueous solubility of long wavelength voltage-sensitive dyes by covalent attachment of polyethylene glycol//Organic & Biomolecular Chemistry, 2007, Vol. 5, No. 20, P. 3347-3353.
90. Nucleic acid binding dyes with improved safety : пат. US10011570B2 / F. Mao et al. ; заявл. 03.10.2014 ; опубли. 03.07.2018.

91. Zhao Y., Zhang C., Liu J., Li D., Tian X., Wang A., Li S., Wu J., Tian Y. Dual-channel fluorescent probe bearing two-photon activity for cell viability monitoring//*Journal of Materials Chemistry B*, 2019, Vol. 7, No. 23, P. 3633-3638.
92. Maier K., Wagner E. Acid-labile traceless click linker for protein transduction//*Journal of the American Chemical Society*, 2012, T. 134, N 24, C. 10169-10173.
93. Samanta A., Vendrell M., Das R., Chang Y.-T. Development of photostable near-infrared cyanine dyes//*Chemical Communications (Cambridge, England)*, 2010, T. 46, N 39, C. 7406-7408.
94. Fluorescent Probes for Abasic Site Detection : / S. Gerson, Y. Wang, A.G. Condit ; опубл. 20.10.2016.
95. Tyler A.R., Okoh A.O., Lawrence C.L., Jones V.C., Moffatt C., Smith R.B. N-alkylated 2,3,3-trimethylindolenines and 2-methylbenzothiazoles. Potential lead compounds in the fight against *Saccharomyces cerevisiae* infections//*European Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, T. 64, C. 222-227.
96. Kwon H.-S., Yoo J.-S., Lee H.-Y., Choi J.-H. Synthesis of Innovative Colorants Based on Cyanine Dye and Their FRET Efficiency to Reduce the Emission of Fluorescence for LCD Color Filter//*Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2015, Vol. 36, No. 10, P. 2545-2548.
97. Li H., Luan Z.-J., Zheng G.-W., Xu J.-H. Efficient Synthesis of Chiral Indolines using an Imine Reductase from *Paenibacillus lactis*//*Advanced Synthesis & Catalysis*, 2015, Vol. 357, No. 8, P. 1692-1696.
98. Winstead A.J., Nyambura G., Matthews R., Toney D., Oyaghire S. Synthesis of Quaternary Heterocyclic Salts//*Molecules*, 2013, Vol. 18, No. 11, P. 14306-14319.
99. Maiti K.K., Samanta A., Vendrell M., Soh K.-S., Olivo M., Chang Y.-T. Multiplex cancer cell detection by SERS nanotags with cyanine and triphenylmethine Raman reporters//*Chemical Communications*, 2011, Vol. 47, No. 12, P. 3514-3516.
100. Fluorescent Probe for Imaging Lymph Nodes : пат. US20130129631A1 / H. Hayashi et al. ; заявл. 31.05.2011 ; опубл. 23.05.2013.
101. Langhals H., Varja A., Laubichler P., Kernt M., Eibl K., Haritoglou C. Cyanine dyes as optical contrast agents for ophthalmological surgery//*Journal of medicinal chemistry*, 2011, T. 54, N 11, C. 3903-3925.
102. Tyler A.R., Okoh A.O., Lawrence C.L., Jones V.C., Moffatt C., Smith R.B. N-Alkylated 2,3,3-trimethylindolenines and 2-methylbenzothiazoles. Potential lead compounds in the fight against *Saccharomyces cerevisiae* infections//*European Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, Vol. 64, P. 222-227.
103. Pradère U., Brunschweiler A., Gebert L.F.R., Lucic M., Roos M., Hall J. Chemical Synthesis of Mono- and Bis-Labeled Pre-MicroRNAs//*Angewandte Chemie International Edition*, 2013, T. 52, N 46, C. 12028-12032.
104. Discrete PEG Based Dyes : пат. US20150073154A1 / P.D. Davis ; заявл. 10.09.2014 ; опубл. 12.03.2015.

105. Das R.S., Saha P.C., Sepay N., Mukherjee A., Chatterjee S., Guha S. Design and Synthesis of Near-Infrared Mechanically Interlocked Molecules for Specific Targeting of Mitochondria//Organic Letters, 2020, T. 22, N 15, C. 5839-5843.
106. Method for Solubilising Optical Markers : пат. WO0136973 (A2) / O. Wolfbeis, F. Lehmann, M. Arbter ; опубли. 25.05.2001.
107. Cyanine Derivatives, Fluorescent Conjugates Containing Same and Use Thereof : пат. US2010143960 (A1) / H. Bazin ; опубли. 10.06.2010.
108. Ikeda S., Yanagisawa H., Nakamura A., Wang D.O., Yuki M., Okamoto A. Hybridization-sensitive fluorescence control in the near-infrared wavelength range//Organic & Biomolecular Chemistry, 2011, Vol. 9, No. 11, P. 4199.
109. Zhang Z., Berezin M.Y., Kao J.L.F., Avignon A. d', Bai M., Achilefu S. Near-Infrared Dichromic Fluorescent Carbocyanine Molecules//Angewandte Chemie International Edition, 2008, T. 47, N 19, C. 3584-3587.
110. Podrugina T.A., Pavlova A.S., Doroshenko I.A., Kuz'min V.A., Kostyukov A.A., Shtil' A.A. Synthesis and photophysical properties of conformationally fixed tricarbocyanines with phosphonate groups//Russian Chemical Bulletin, 2018, Vol. 67, No. 5, P. 806-814.
111. Fluorescent Polymethine Cyanine Dyes : пат. US2009124792 (A1) / S. Achilefu и др. ; опубли. 14.05.2009.
112. Podrugina T.A., Temnov V.V., Doroshenko I.A., Kuzmin V.A., Nekipelova T.D., Proskurnina M.V., Zefirov N.S. Synthesis of advanced fluorescent probes — water-soluble symmetrical tricarbocyanines with phosphonate groups//Russian Chemical Bulletin, 2016, Vol. 65, No. 11, P. 2722-2728.
113. Narayanan N., Patonay G. A New Method for the Synthesis of Heptamethine Cyanine Dyes: Synthesis of New Near-Infrared Fluorescent Labels//The Journal of Organic Chemistry, 1995, T. 60, A New Method for the Synthesis of Heptamethine Cyanine Dyes, N 8, C. 2391-2395.
114. Song F., Peng X., Lu E., Zhang R., Chen X., Song B. Syntheses, spectral properties and photostabilities of novel water-soluble near-infrared cyanine dyes//Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2004, Vol. 168, No. 1, P. 53-57.
115. Atchison J., Kamila S., Nesbitt H., Logan K.A., Nicholas D.M., Fowley C., Davis J., Callan B., McHale A.P., Callan J.F. Iodinated cyanine dyes: a new class of sensitizers for use in NIR activated photodynamic therapy (PDT)//Chemical Communications, 2017, Vol. 53, Iodinated cyanine dyes, No. 12, P. 2009-2012.
116. Zheng L., Wang L., Wang P., Sun Q., Liu X., Zhang X., Qiu S. Substitution nitrogen for chlorine of heptamethine cyanines for large Stokes shift fluorescent probes//Tetrahedron Letters, 2016, Vol. 57, No. 8, P. 932-936.
117. Ornelas C., Lodescar R., Durandin A., Canary J.W., Pennell R., Liebes L.F., Weck M. Combining Aminocyanine Dyes with Polyamide Dendrons: A Promising Strategy for Imaging in the Near-Infrared Region//Chemistry – A European Journal, 2011, Vol. 17, Combining Aminocyanine Dyes with Polyamide Dendrons, No. 13, P. 3619-3629.
118. Conjugated chain functional benzoindole hematocyanine dye and application : пат. CN109370247A / P. Ning и др. ; заявл. 05.09.2018 ; опубли. 22.02.2019.

119. Strekowski L., Mason J.C., Lee H., Say M., Patonay G. Water-soluble pH-sensitive 2,6-bis(substituted ethylidene)-cyclohexanone/hydroxy cyanine dyes that absorb in the visible/near-infrared regions//*Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2004, Vol. 41, No. 2, P. 227-232.
120. Kiyose K., Aizawa S., Sasaki E., Kojima H., Hanaoka K., Terai T., Urano Y., Nagano T. Molecular Design Strategies for Near-Infrared Ratiometric Fluorescent Probes Based on the Unique Spectral Properties of Aminocyanines//*Chemistry – A European Journal*, 2009, T. 15, N 36, C. 9191-9200.
121. Doroshenko I.A., Aminulla K.G., Azev V.N., Kulinich T.M., Vasilichin V.A., Shtil A.A., Podrugina T.A. Synthesis of modified conformationally fixed tricarbocyanine dyes for conjugation with therapeutic agents//*Mendeleev Communications*, 2021, Vol. 31, No. 5, P. 615-617.
122. James T.H., Mees C.E.K. *The Theory of the photographic process.* – New York: Macmillan, 1977.
123. Shapiro B. *Nanoarchitecture of Aggregates of Polymethine Dyes*//*Fine Chemical Technologies*, 2019, T. 14, C. 5-14.
124. Zakharenkova S.A., Katkova E.A., Doroshenko I.A., Kriveleva A.S., Lebedeva A.N., Vidinchuk T.A., Shik A.V., Abramchuk S.S., Podrugina T.A., Beklemishev M.K. Aggregation-based fluorescence amplification strategy: “turn-on” sensing of aminoglycosides using near-IR carbocyanine dyes and pre-micellar surfactants//*Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, Vol. 247, Aggregation-based fluorescence amplification strategy, P. 119109.
125. Benson R.C., Kues H.A. Fluorescence properties of indocyanine green as related to angiography//*Physics in Medicine and Biology*, 1978, T. 23, N 1, C. 159-163.
126. Valeur B. *Molecular Fluorescence.* P.: Wiley-VCH. 2001. P. 399.
127. Kuzmin V.A., Nekipelova T.D., Podrugina T.A., Golovina G. V., Kostyukov A.A., Temnov V. V., Doroshenko I.A., Radchenko E. V., Palyulin V.A., Zefirov N.S. Complex formation of albumin with tricarbocyanine dyes containing phosphonate groups//*Photochemical and Photobiological Sciences*, 2016, T. 15, N 11, C. 1377-1384.
128. Berezin M.Y., Guo K., Akers W., Livingston J., Solomon M., Lee H., Liang K., Agee A., Achilefu S. Rational Approach To Select Small Peptide Molecular Probes Labeled with Fluorescent Cyanine Dyes for in Vivo Optical Imaging//*Biochemistry*, 2011, T. 50, N 13, C. 2691-2700.
129. Nikolskaya E.D., Zhunina O.A., Yabbarov N.G., Shvets V.I., Krugliy B.I., Severin E.S. Development of target delivery system based on actinomycin class drugs and recombinant alpha-fetoprotein//*Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2017, Vol. 473, No. 1, P. 148-150.
130. Nikolskaya E., Krugliy B., Tereshchenko O.G., Popov R., Zhunina O., Yabbarov N., Shvets V.I., Séverin E. The in vivo Study of Antitumor Activity of the Actinomycin D Protein-Vector Drug Delivery//*АЛЛЕРГОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ*, 2017, T. 18, C. 14-18.
131. Sudlow G., Birkett D.J., Wade D.N. Spectroscopic techniques in the study of protein binding. A fluorescence technique for the evaluation of the albumin binding and displacement of warfarin and warfarin-alcohol//*Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 1975, T. 2, N 2, C. 129-140.

132. Sugio S., Kashima A., Mochizuki S., Noda M., Kobayashi K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution//Protein Engineering, Design and Selection, 1999, Vol. 12, No. 6, P. 439-446.
133. Пшенкина Н.Н. Сывороточный альбумин: структура и транспортная функция, 2011, Т. 12, С. 1067-1091.
134. Sharma A.S., Anandakumar S., Ilanchelian M. In vitro investigation of domain specific interactions of phenothiazine dye with serum proteins by spectroscopic and molecular docking approaches//RSC Advances, 2014, Т. 4, N 68, С. 36267-36281.
135. Trott O., Olson A.J. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading//Journal of Computational Chemistry, 2010, Т. 31, N 2, С. 455-461.
136. Kuzmin V.A., Podrugina T.A., Nekipelova T.D., Doroshenko I.A., Proskurnina M.V., Golovina G.V., Radchenko E.V., Kostyukov A.A., Temnov V.V., Matveeva E.D., Palyulin V.A., Zefirov N.S. New phosphonate-substituted tricarbocyanines and their interaction with bovine serum albumin//Doklady Chemistry, 2016, Vol. 470, No. 1, P. 264-267.
137. Tatikolov A.S., Costa S.M.B. Complexation of polymethine dyes with human serum albumin: a spectroscopic study//Biophysical Chemistry, 2004, Т. 107, Complexation of polymethine dyes with human serum albumin, N 1, С. 33-49.
138. Yang X., Shi C., Tong R., Qian W., Zhau H.E., Wang R., Zhu G., Cheng J., Yang V.W., Cheng T., Henary M., Strekowski L., Chung L.W.K. Near IR Heptamethine Cyanine Dye-Mediated Cancer Imaging//Clinical Cancer Research, 2010.
139. Zakharenkova S.A., Kriveleva A.S., Katkova E.A., Doroshenko I.A., Polovkov N.Y., Podrugina T.A., Beklemishev M.K. Non-covalent binding and selective fluorescent sensing of dipyrone with a carbocyanine dye and cetyltrimethylammonium bromide//Methods and Applications in Fluorescence, 2021, Vol. 9, No. 1, P. 015001.
140. Zwitterionic near infrared fluorescent agents for noninvasive real-time transcutaneous assessment of kidney function - Chemical Science (RSC Publishing). - URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/sc/c6sc05059j> (дата обращения: 02.08.2021).
141. Proteasome Subunit Selective Activity-Based Probes Report on Proteasome Core Particle Composition in a Native Polyacrylamide Gel Electrophoresis Fluorescence-Resonance Energy Transfer Assay. - Abstract - Europe PMC. - URL: <https://europepmc.org/article/med/27428761> (дата обращения: 02.08.2021).
142. Practical Labeling Methodology for Choline-Derived Lipids and Applications in Live Cell Fluorescence Imaging - Li - 2014 - Photochemistry and Photobiology - Wiley Online Library. - URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/php.12234> (дата обращения: 02.08.2021).
143. Kopcjal M., Wojtczak B.A., Kasprzyk R., Kowalska J., Jemielity J. N1-Propargylguanosine Modified mRNA Cap Analogs: Synthesis, Reactivity, and Applications to the Study of Cap-Binding Proteins//Molecules, 2019, Vol. 24, N1-Propargylguanosine Modified mRNA Cap Analogs, No. 10, P. 1899.
144. Wen A.M., Infusino M., De Luca A., Kernan D.L., Czapar A.E., Strangi G., Steinmetz N.F. Interface of Physics and Biology: Engineering Virus-Based Nanoparticles for

Biophotonics//Bioconjugate Chemistry, 2015, T. 26, Interface of Physics and Biology, N 1, C. 51-62.

145. Poth D., Wollenberg K.C., Vences M., Schulz S. Volatile Amphibian Pheromones: Macrolides from Mantellid Frogs from Madagascar//Angewandte Chemie International Edition, 2012, T. 51, Volatile Amphibian Pheromones, N 9, C. 2187-2190.

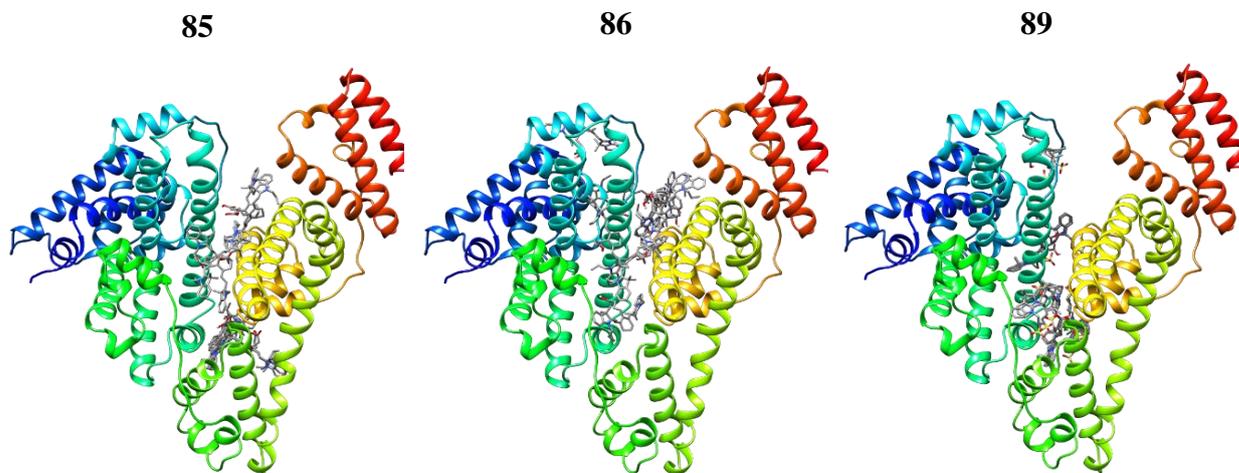
146. Samanta A., Vendrell M., Das R., Chang Y.-T. Development of photostable near-infrared cyanine dyes//Chemical Communications, 2010, Vol. 46, No. 39, P. 7406-7408.

147. Conjugated chain functional benzoindole hematocyanine dye and application : пат. CN109370247 (A) / X. Zhang и др. ; опубли. 22.02.2019.

148. Okoh O.A., Bisby R.H., Lawrence C.L., Rolph C.E., Smith R.B. Promising near-infrared non-targeted probes: benzothiazole heptamethine cyanine dyes//Journal of Sulfur Chemistry, 2014, T. 35, Promising near-infrared non-targeted probes, N 1, C. 42-56.

149. Strekowski L., Mason J.C., Lee H., Say M., Patonay G. Water-soluble pH-sensitive 2,6-bis(substituted ethylidene)-cyclohexanone/hydroxy cyanine dyes that absorb in the visible/near-infrared regions//Journal of Heterocyclic Chemistry, 2004, Vol. 41, No. 2, P. 227-232.

7. Приложение



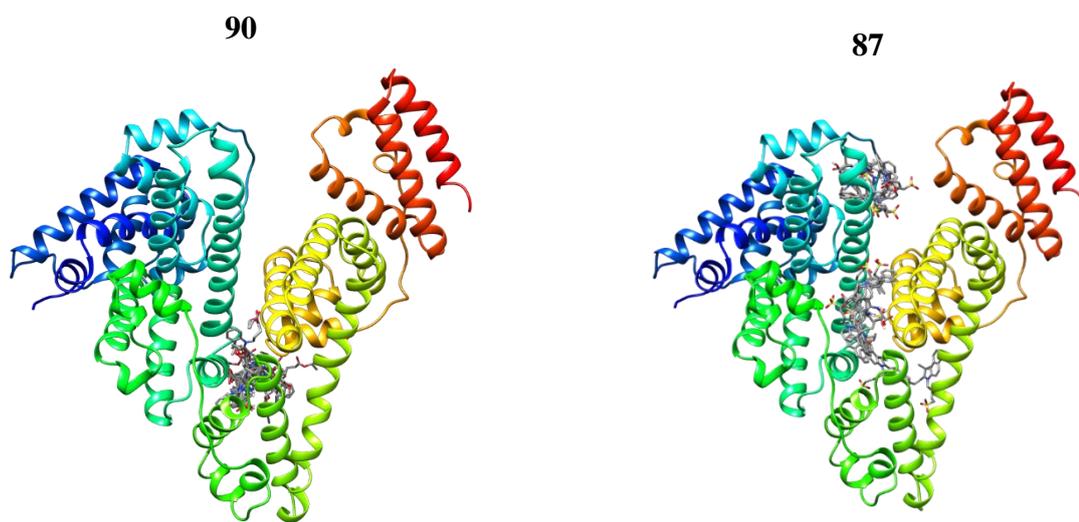


Рисунок П1. Расположение оптимальных и близких к ним по значению оценочной функции связанных конформаций трикарбоцианинов 85-87 и 89, 90 в структуре ЧСА.

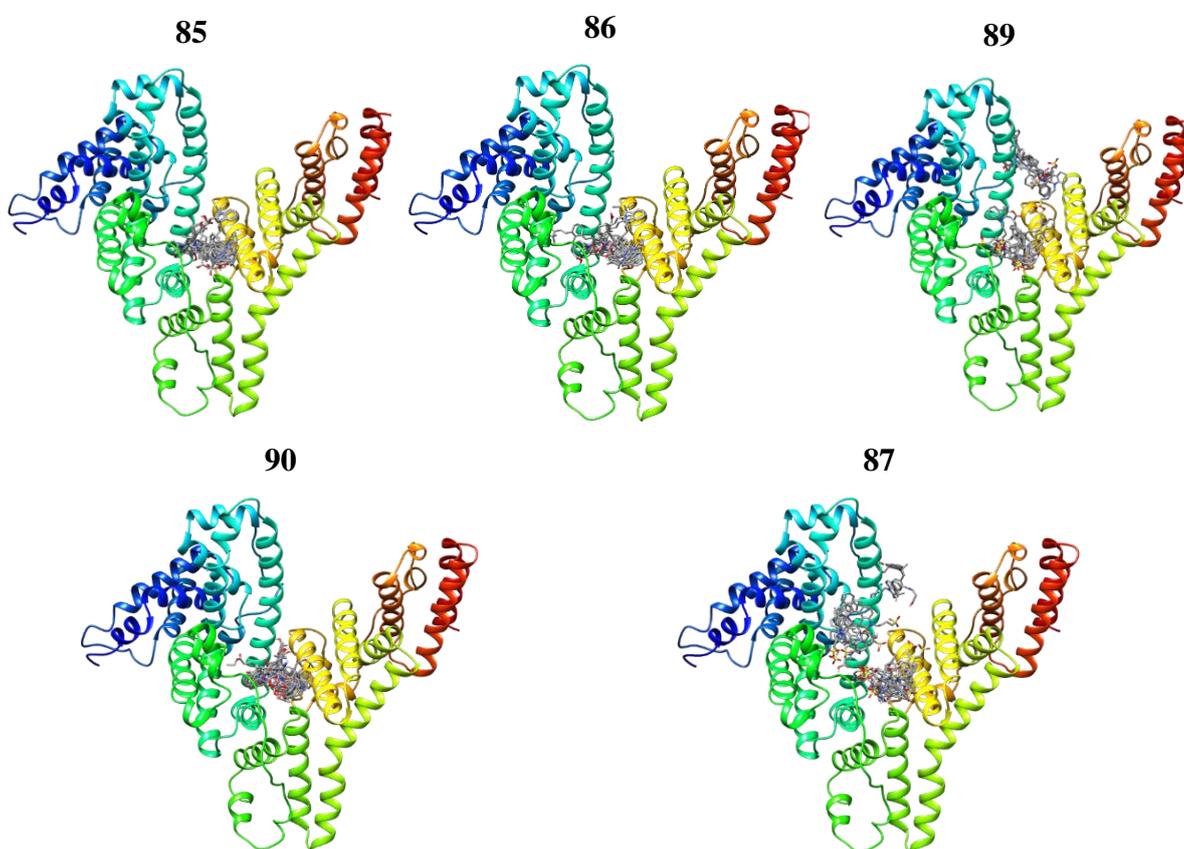


Рисунок П2. Расположение связанных конформаций карбоцианинов: оптимальных и близких к ним по значению оценочной функции 85-87 и 89, 90 в структуре АФП.

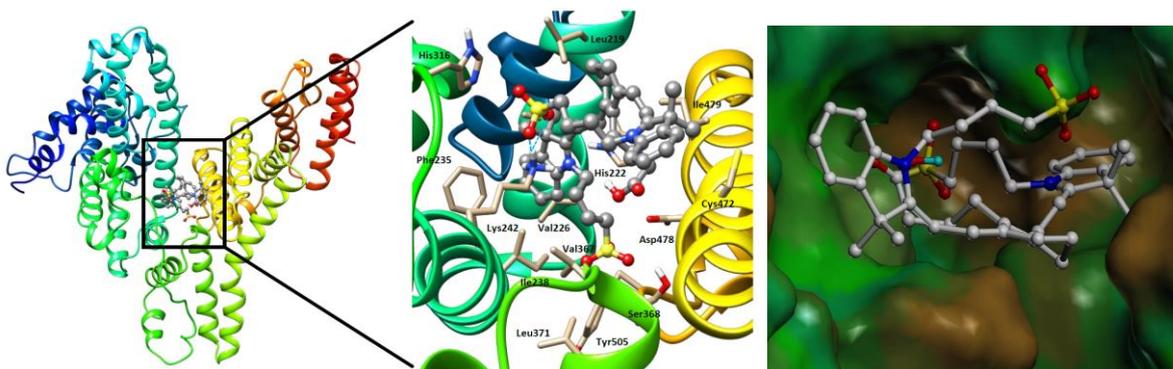


Рисунок П3. Слева – общий вид структуры АФП и положение сайта связывания конформационно закрепленного гептаметинового красителя **89**. В центре – детализированный вид сайта связывания. Справа - вид поверхности кармана связывания красителя **89**.

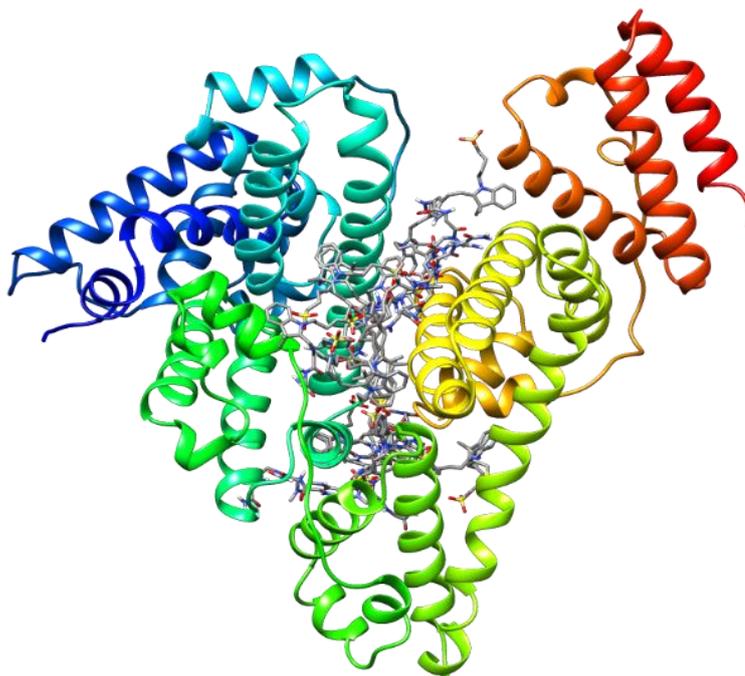


Рисунок П4. Расположение оптимальных и близких к ним по значению оценочной функции связанных конформаций конъюгата **96** в структуре ЧСА.

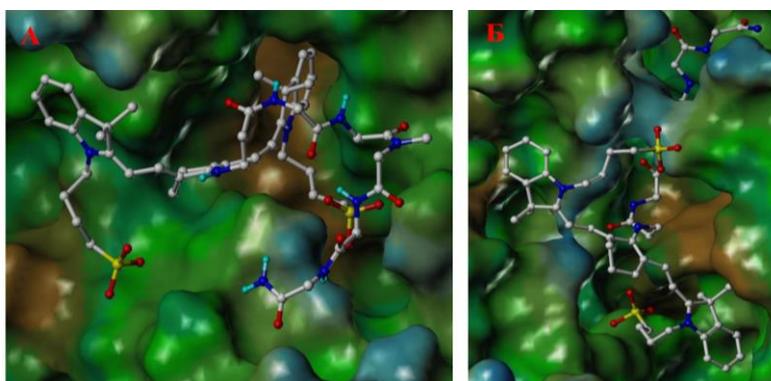


Рисунок П5. Вид поверхностей двух карманов связывания (А – карман между субдоменами ПА и ПВ, Б – карман между субдоменами ПА и ПА), раскрашенные молекулярным липофильным потенциалом (MLP), где коричневым обозначены гидрофобные области, а синим – гидрофильные. Молекула лиганда **96** представлена серой шаро-стержневой моделью.

Рисунок П6. Спектр ЯМР ^1H 1-(5-этокси-5-оксопентил)-2,2,3-триметил-3Н-индол-1-ия иодид (23).

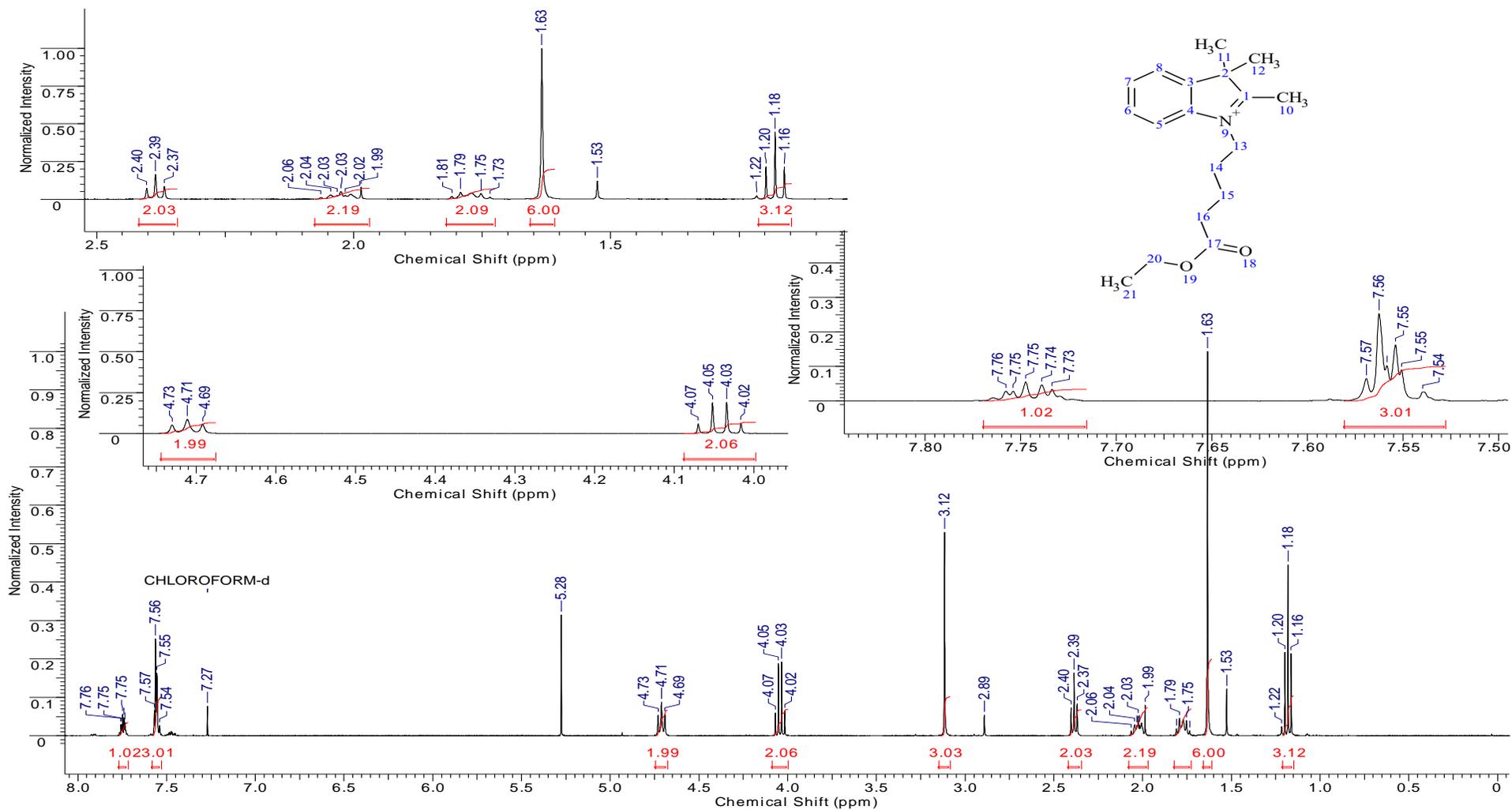


Рисунок П7. Спектр ЯМР ^{13}C 1-(5-этокси-5-оксопентил)-2,2,3-триметил-3Н-индол-1-ия иодид (23).

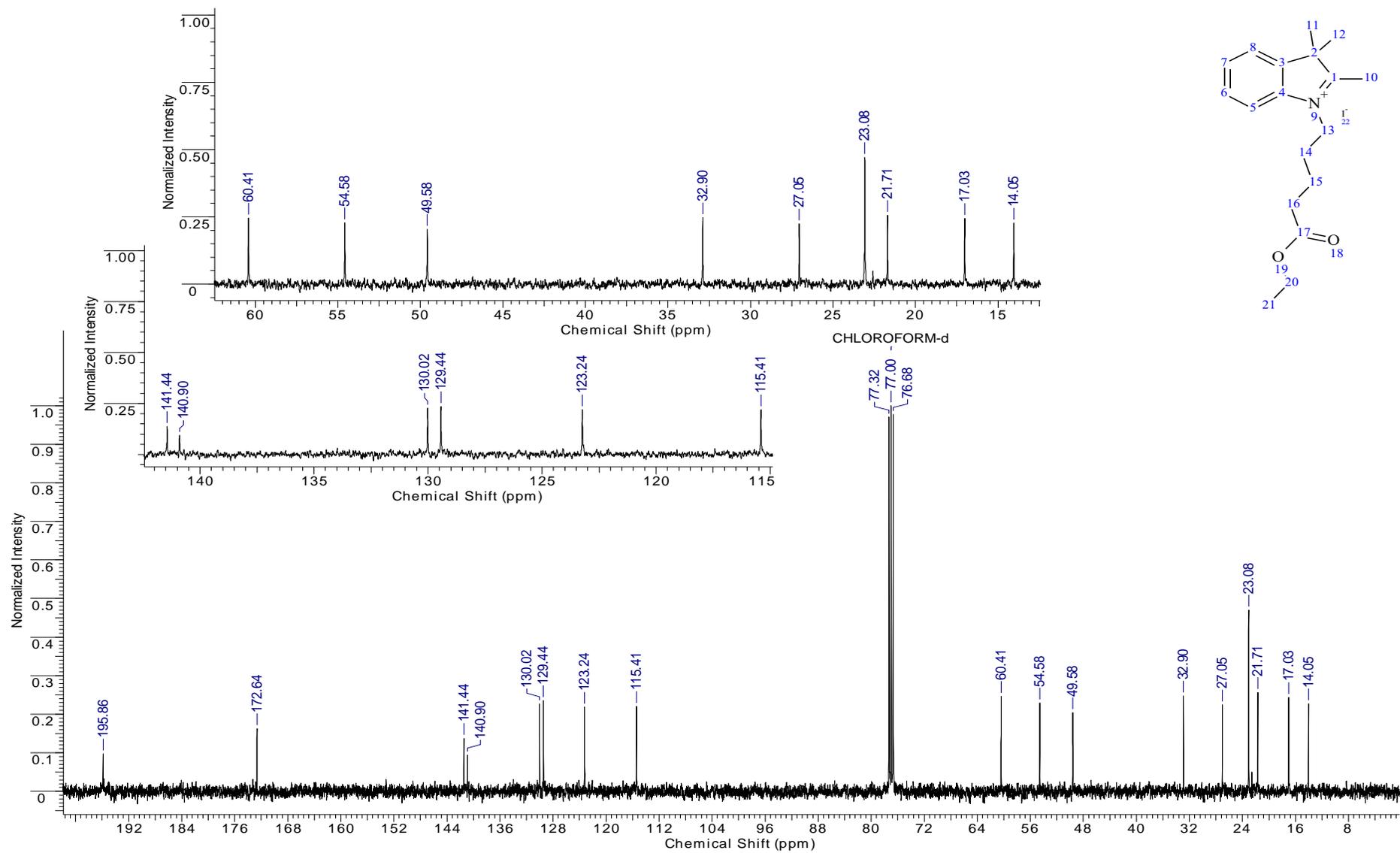


Рисунок П8. Спектр ЯМР ^1H 2 - ((E) -2 - ((E) -2-хлор-3- (2 - ((E) -1- (5-этоксипентил) -3,3-диметилиндолин-2-илиден)) этилиден) циклогекс-1-ен-1-ил) винил) -1- (5-этоксипентил) -3,3-диметил-3Н-индол-1-иодид (**77**).

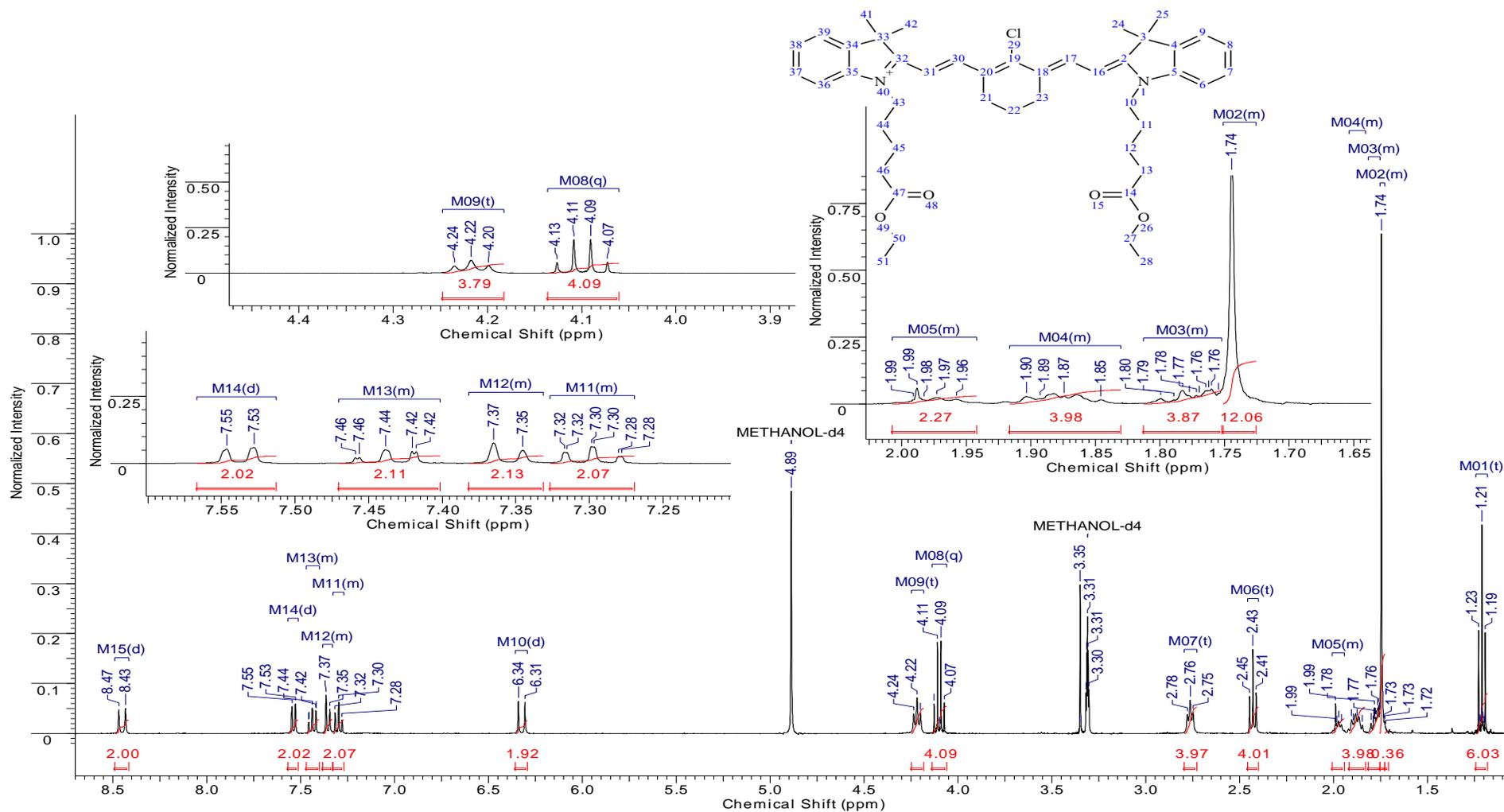


Рисунок П9. Спектр ЯМР ^{13}C 2 - ((E) -2 - ((E) -2-хлор-3- (2 - ((E) -1- (5-этоксипентил) -3,3-диметилиндолин-2-илиден)) этилиден) циклогекс-1-ен-1-ил) винил) -1- (5-этоксипентил) -3,3-диметил-3Н-индол-1-иодид (**77**).

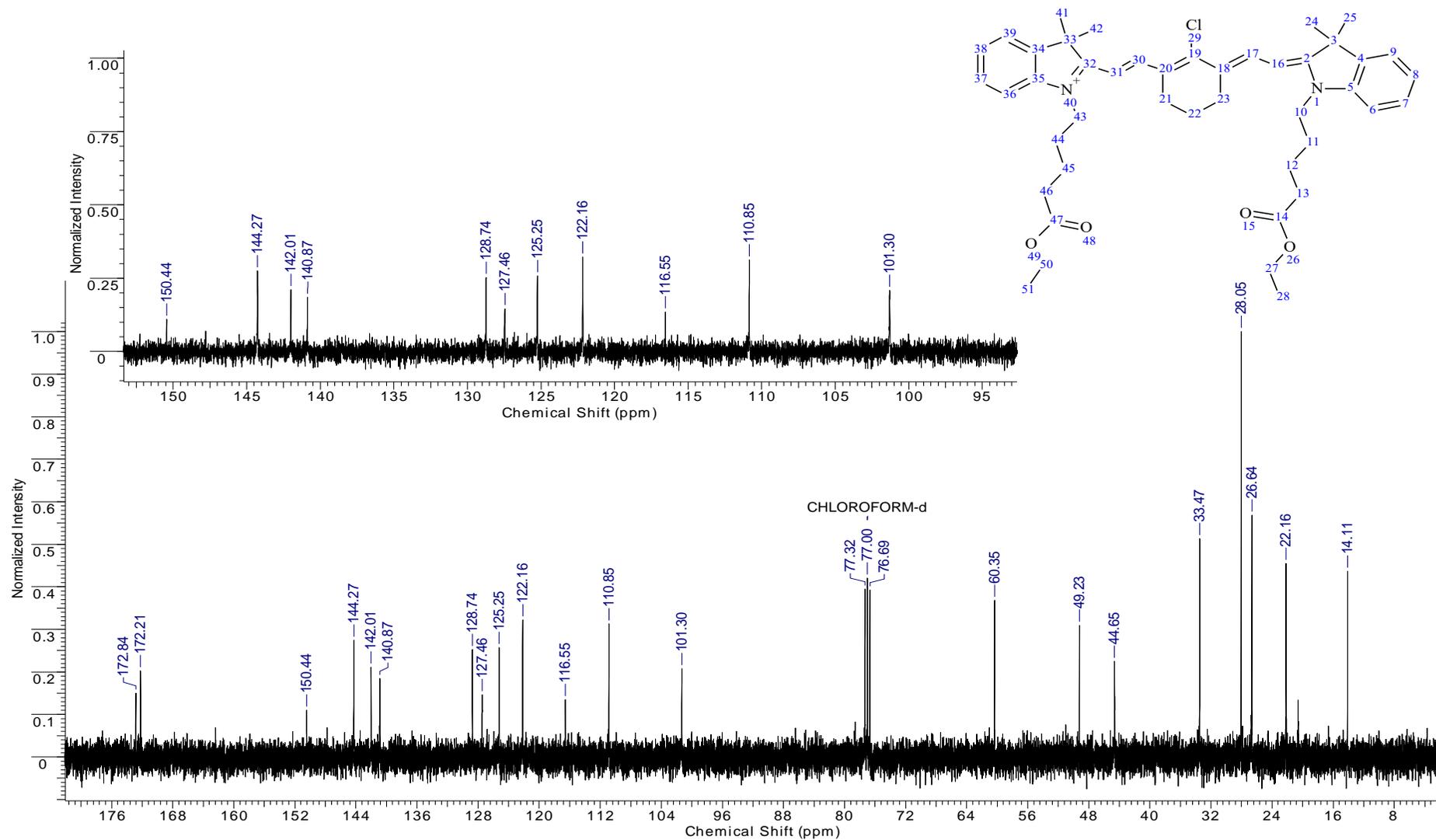


Рисунок П10. Спектр ЯМР ^1H 4- (2 - ((E) -2 - ((E) -2 - ((2-карбоксиэтил) амино) -3- (2 - ((E) -1- (5-этокси-5-оксопентил) - 3,3-диметилиндолин-2-илиден) этилиден) циклогекс-1-ен-1-ил) винил) -3,3-диметил-3Н-индол-1-иум-1-ил) бутан-1-сульфонат (**91**).

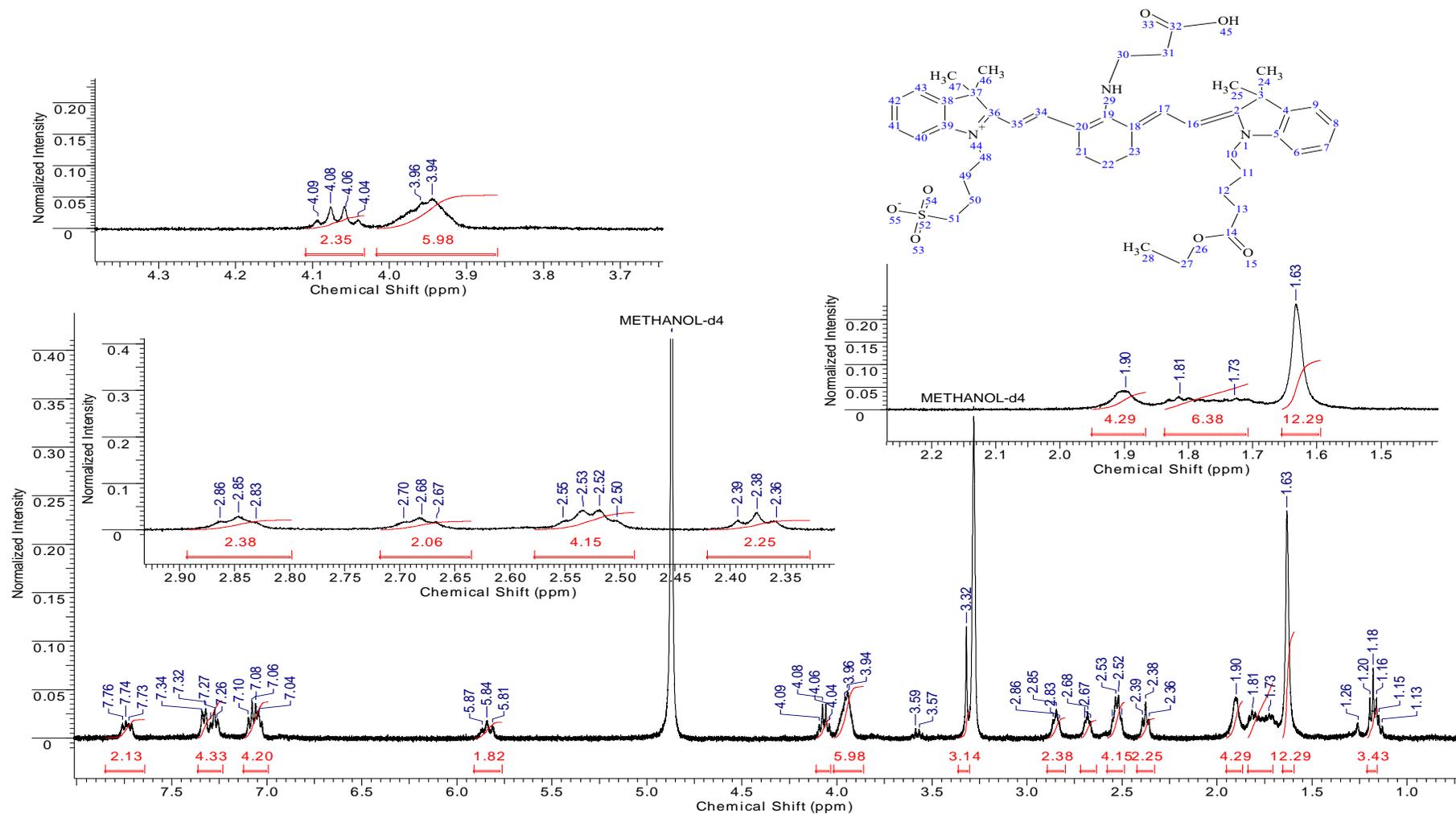


Рисунок П11. Спектр ЯМР ^{13}C 4- (2 - ((E) -2 - ((E) -2 - ((2-карбокситил) амино) -3- (2 - ((E) -1- (5-этокси-5-оксопентил) - 3,3-диметилиндолин-2-илиден) этилиден) циклогекс-1-ен-1-ил) винил) -3,3-диметил-3Н-индол-1-иум-1-ил) бутан-1-сульфонат (**91**).

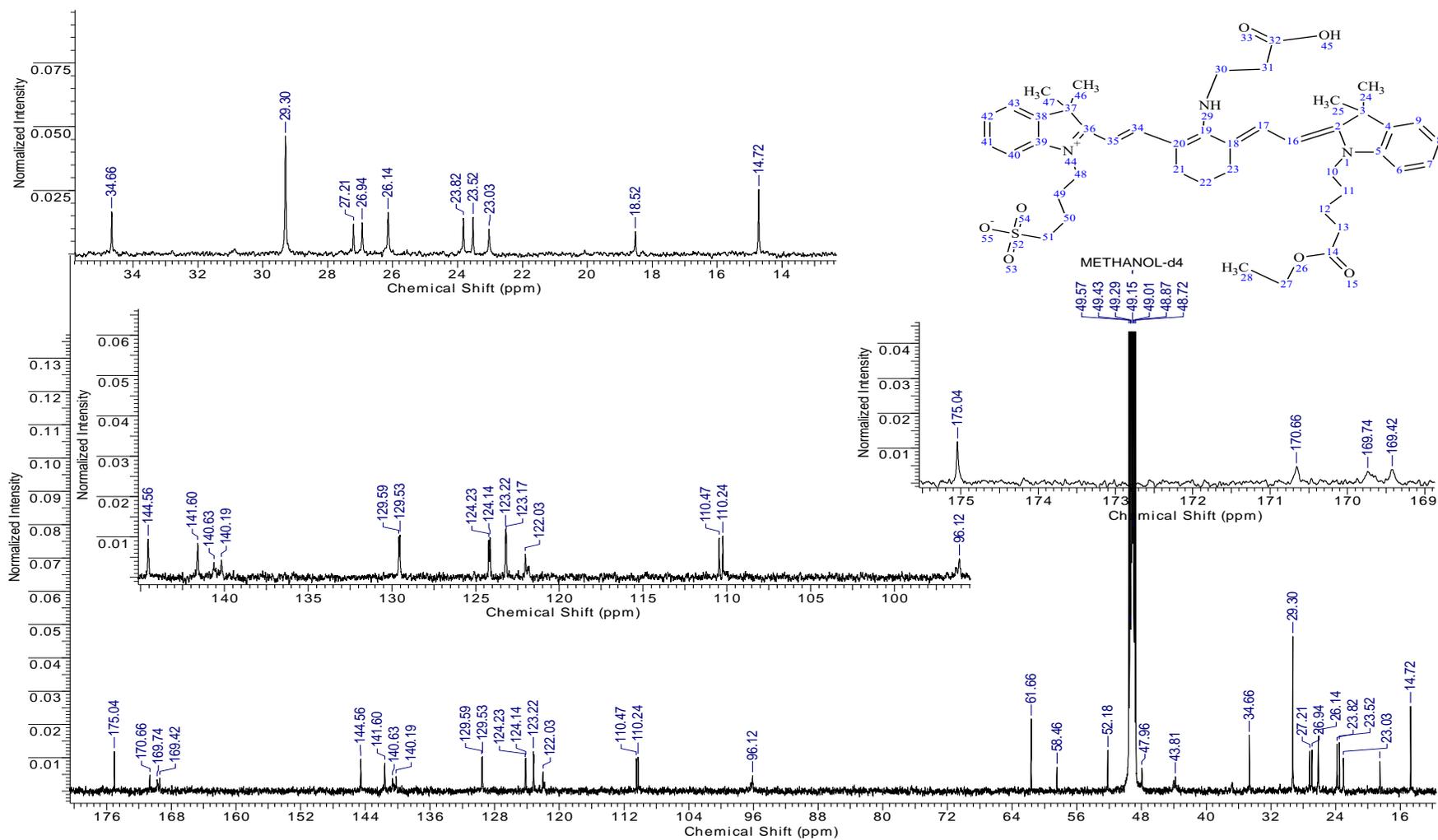


Рисунок П12. Спектр ЯМР ^1H Су- β -Ala-Gly-Sar-GLy-Gly-Gly-OAd (95).

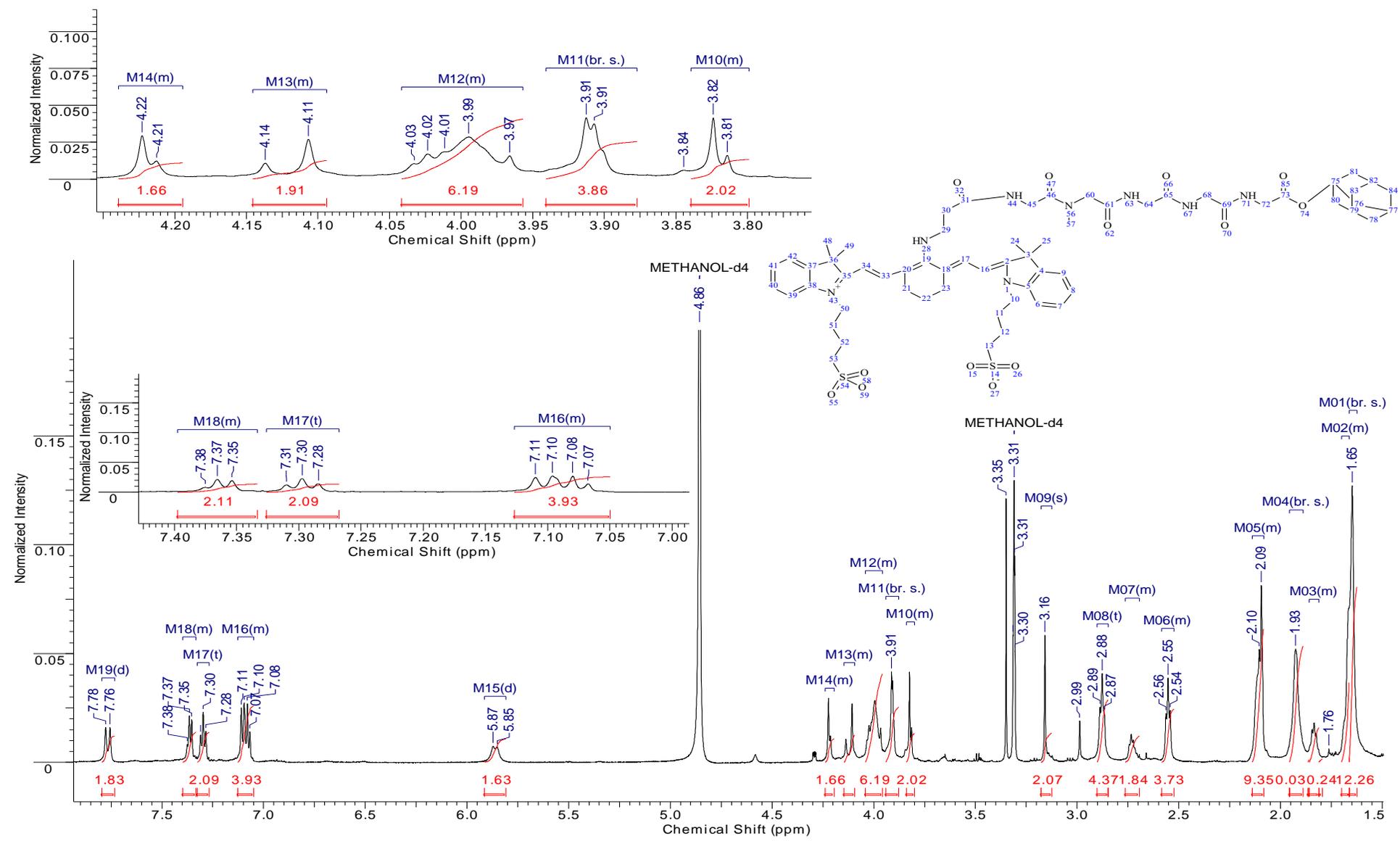


Рисунок П13. Спектр ЯМР ^1H Су- β -Ala-Gly-Sar-Gly-Gly-OAd (95).

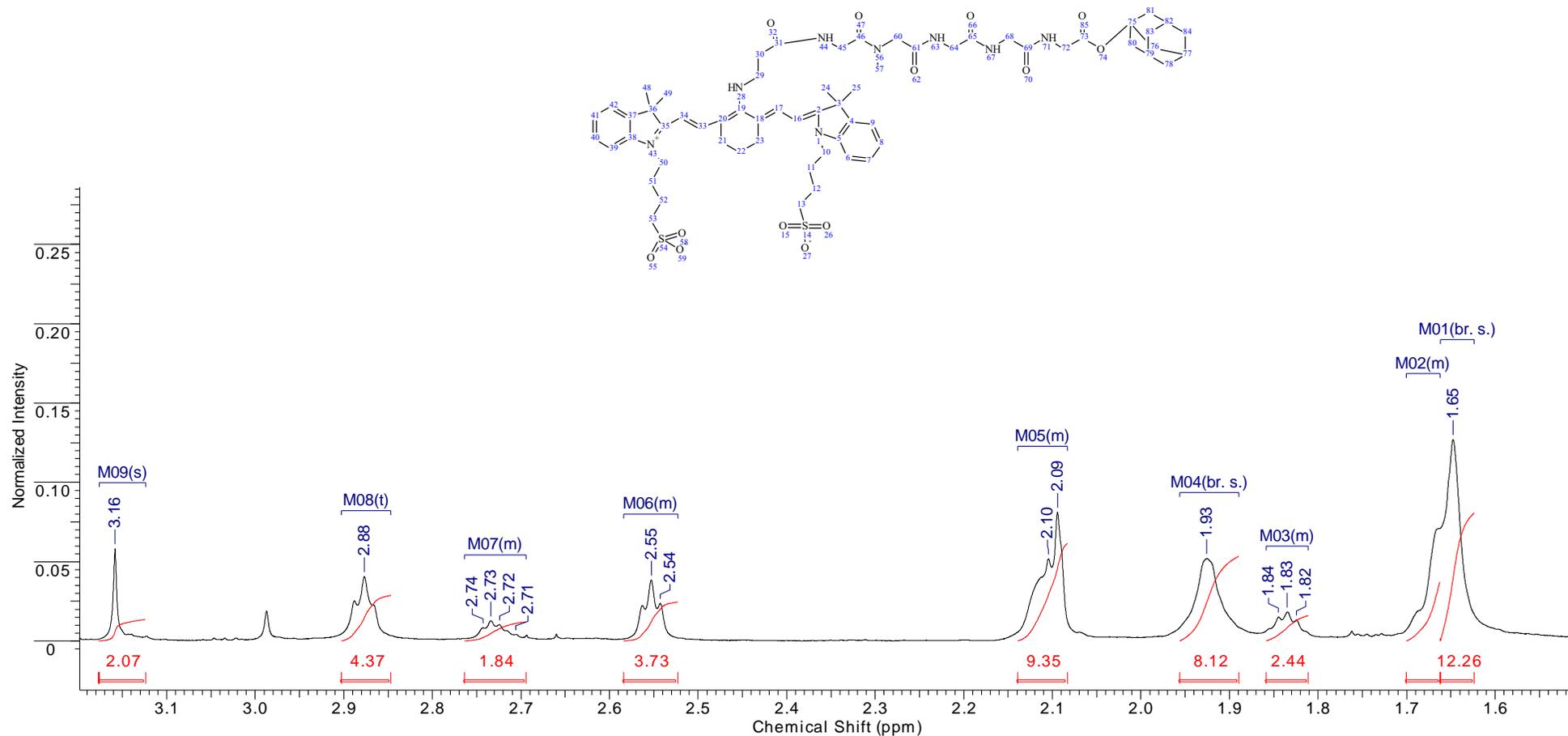


Рисунок П14. Спектр ЯМР ^{13}C Су- β -Ala-Gly-Sar-GLy-Gly-Gly-OAd (95).

