

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В. ЛОМОНОСОВА

 На правах рукописи

ГОРБУНОВА ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ГАЛОГЕНЗАМЕЩЕННЫЕ ФТАЛОЦИАНИНАТЫ
ЛАНТАНИДОВ (III): СИНТЕЗ, ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И
ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

02.00.16 – Медицинская химия

02.00.12 - Бионеорганическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2022

Работа выполнена на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза
Химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

- Научный руководитель** – *Дубинина Татьяна Валентиновна – кандидат химических наук*
- Официальные оппоненты** – *Мартынов Александр Германович – доктор химических наук, институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, лаборатория новых физико-химических проблем, ведущий научный сотрудник*
- Грин Михаил Александрович – доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО "МИРЭА–Российский технологический университет", заведующий кафедрой химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии*
- Градова Маргарита Алексеевна – кандидат химических наук, Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Отдел динамики химических и биологических процессов, старший научный сотрудник лаборатории фотобионики*

Защита диссертации состоится «17» июня 2022 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета МГУ.02.06 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, дом 1, строение 3, МГУ, Химический факультет, ауд. 337.

E-mail: natalylozinskaya@mail.ru (учёный секретарь)

lena.kuzmina94@gmail.com (соискатель)

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/454255050/>

Автореферат разослан «__» мая 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

Н.А. Лозинская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Фталоцианины - синтетические аналоги природных порфиринов обладают уникальными оптическими свойствами, высокой устойчивостью к окислению и интенсивным поглощением в видимом/ближнем ИК диапазоне, многократно превышающем поглощение в УФ области. Фталоцианины легко модифицировать сразу по нескольким направлениям: за счёт введения липофильных или гидрофильных периферических функций, варьирования центрального иона и замены аксиального противоиона (в случае центральных ионов со степенью окисления $\geq +3$). Это делает данные макрогетероциклы привилегированными для использования, в медицине (фотосенсибилизаторы) и органической электронике (полупроводниковые материалы, оптические ограничители).

Объекты настоящего исследования - галогензамещенные фталоцианины. За счёт введения электроноакцепторных атомов галогенов они обладают высокой термической и фотохимической стабильностью. Улучшения растворимости в органических растворителях и дополнительной настройки оптических характеристик удаётся достичь путём введения объёмного, обладающего большими координационными числами ($KЧ \leq 12$) лантанид-иона, который выведен из плоскости макрокольца. Наличие у данных соединений поглощения на границе видимой и ближней ИК области (680-700 нм), где возрастает прозрачность кожных покровов, и их устойчивость к облучению определяют актуальность изучения фотодинамической активности галогензамещенных фталоцианинов лантанидов.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой современный малоинвазивный метод лечения онкологических заболеваний. ФДТ основана на фотохимическом процессе генерации активных форм кислорода (АФК) соединением-фотосенсибилизатором под действием излучения определённой длины волны. В отличие от консервативных методов лечения (хирургическое вмешательство, химиотерапия, радиотерапия) процедуру ФДТ выгодно отличают неинвазивность, селективность разрушения, отсутствие резистентности. Основными мишенями ФДТ в клетках являются стенки кровеносных сосудов, плазматическая мембрана опухолевых клеток, внутриклеточные структуры и механизмы, ответственные за пролиферацию и биосинтез. Таким образом, основная задача ФДТ – нарушить снабжение опухоли кислородом и питательными веществами, что приводит к индукции апоптоза и/или некроза опухолевых клеток. Важными скаффолдами фотосенсибилизаторов для ФДТ являются порфирин (максимум поглощения 520-600 нм), хлорин (500-650 нм), бактериохлорин (590-790 нм) и фталоцианин (680-700 нм). Основным преимуществом фталоцианинов по сравнению с порфиринами и хлоринами является то, что интенсивность максимума полосы поглощения (Q полосы) фталоцианинов в видимом диапазоне в несколько раз больше, чем в УФ области. При этом актуальной задачей, решаемой в данной работе, является получение водорастворимых форм целевых фталоцианинов. Для решения этой проблемы используется внедрение в биосовместимые и биоразлагаемые полилактидные мицеллы – «наноконтейнеры» для доставки и последующего высвобождения красителя в опухоли.

Другим актуальным направлением исследования является изучение нелинейнооптических свойств целевых соединений. Ввиду активного использования лазерного излучения в электронике и медицине (лазерные хирургические комплексы для

ФДТ, лазерные скальпели), поиск новых материалов, обеспечивающих защиту глаз человека и фоточувствительной оптики, также является актуальной задачей. Наличие в одной молекуле галогензамещенных фталоцианинов электронодефицитной периферии и электроноизбыточного порфиразинового ядра приводит к поляризации молекулы и проявления у данных соединений свойств оптических ограничителей. Большой вклад привносит и неплоская структура фталоцианинатов лантанидов.

Степень разработанности темы диссертации

В литературе преимущественно представлены галогензамещенные фталоцианинаты *d*-элементов. Описаны примеры тетрахлор-, тетрабром- и тетраиод-замещенных фталоцианиновых комплексов лантанидов (III), но они образовывались в виде смеси региоизомеров. Эти соединения получали методом сплавления, что приводило к большому количеству побочных продуктов олиго/полимеризации исходных фталонитрилов и снижению выходов целевых соединений. Ввиду ограниченной растворимости галогензамещенных фталоцианинов и их металлокомплексов даже в органических растворителях их области применения до недавнего времени ограничивались органической электроникой (электрохромные материалы, покрытия RV дисков) и лакокрасочными материалами. Решением проблемы солюбилизации гидрофобных молекул фталоцианинов в водных средах явилось использование мицелл, внутрь которых внедряется краситель, с целью доставки фотосенсибилизатора в опухоль. Стоит отметить, что для гидрофобных фталоцианинатов лантанидов данный метод ранее не применялся.

Цели и задачи работы

Целью работы является выявление взаимосвязи между строением целевых фталоцианинатов лантанидов (природой периферических групп и центрального лантанид-иона), их оптическими (линейными и нелинейными) и активностью в отношении генерации АФК. Поиск наиболее активного соединения, обладающего поглощением, смещенным в окне прозрачности биологических тканей, термической и фотохимической устойчивостью, способного эффективно генерировать активные формы кислорода, в том числе *in vitro*. Для выполнения данной цели будут решены следующие задачи:

- разработка селективных и эффективных методов синтеза новых галогензамещенных фталоцианинатов лантанидов, начиная со стадии синтеза исходных нитрилов;
- изучение линейных оптических свойств растворов галогензамещенных фталоцианинатов лантанидов в органических растворителях, определение положения и интенсивности основных максимумов поглощения;
- изучение нелинейных оптических свойств целевых соединений с привлечением метода Z сканирования, определение основных нелинейнооптических характеристик (сечение поглощения возбужденного состояния, нелинейный коэффициент поглощения, пороговые значения интенсивности);
- определение выходов генерации $^1\text{O}_2$ и качественное определение возможности генерации супероксид анион-радикала;
- исследование темновой и фоточитотоксичности для солюбилизированных в биоразлагаемые «наноконтейнеры» форм галогензамещенных фталоцианинатов лютеция.

Объект и предмет исследования

Объектами исследования являлись окта и гексадекагалогензамещенные фталоцианинаты лантанидов (III) состава $\text{Cl}_x\text{PcLuOAc}$ ($x = 8$ или 16), а также окта-(*n*-пара-

галогенфенокси)-замещенные фталоцианинаты лантанидов. Предметом исследования являлось изучение их оптических (линейных и нелинейных) и фотохимических свойств, оценка темновой и фотоцитотоксичности.

Методология и методы исследования

В работе использовали физико-химические методы анализа для подтверждения состава и структуры соединений: ИК, ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопия, MALDI TOF масс-спектрометрия и рентгеноструктурный анализ. Исследование линейных оптических свойств проводили с помощью электронной спектроскопии поглощения (ЭСП). Нелинейнооптические свойства изучали с использованием метода z сканирования. Выходы генерации $^1\text{O}_2$ определялись методом химической «ловушки». Способность генерации супероксид анион-радикала оценивали качественно с использованием тест восстановления нитросинего тетразолия (NBT) в присутствии восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАДН). Темновую и световую цитотоксичность оценивали с использованием МТТ-теста на клеточных линиях рака шейки матки HeLa.

Научная новизна

Несмотря на то, что в литературе описано много примеров галогензамещенных фталоцианиновых комплексов d-элементов (*e.g.* Zn, Cu), комплексы с лантанидами мало изучены. В настоящей работе впервые синтезированы и охарактеризованы галоген- и *para*-галогенфенокси-замещенные фталоцианиновые комплексы лантанидов (III) с использованием темплатного метода, исходя из фталонитрилов, и исходя из фталоцианинового лиганда. Показано, что использование микроволнового излучения для активации процесса макроциклизации позволяет уменьшить время протекания реакции с 4 ч до 8 мин по сравнению с термической активацией. Получены в виде стабильной анионной формы новые гомолептические комплексы сэндвичевого строения. Произведена оптимизация синтеза исходных дибром- и диод-замещенных фталонитрилов, которые в дальнейшем использовались для получения соответствующих фталоцианиновых комплексов лантанидов (III).

Проведено исследование способности целевых соединений к генерации активных форм кислорода, как по первому (генерация супероксид анион-радикала), так и по второму (синглетный кислород) механизму активации. Обнаружено увеличение выхода генерации синглетного кислорода за счёт эффекта тяжелого атома при переходе от хлор- к иод-замещенным фталоцианинам, а также при увеличении количества заместителей. Обратная зависимость наблюдалась при генерации супероксид анион-радикала.

Впервые получены полилактидные мицеллы-«наноконтейнеры», содержащие галогензамещенные фталоцианинаты лантанидов (III), изучена устойчивость данных контейнеров по отношению к ферментативному гидролизу. Обнаружен фотодинамический эффект полилактидных мицелл, содержащих комплексы фталоцианинов, на клетках рака шейки матки HeLa.

Теоретическая и практическая значимость работы

Оптимизированы методики синтеза галогензамещенных фталоцианинов, позволившие получить целевые соединения с высокими выходами и провести необходимые исследования фотохимических свойств и в особенности фотодинамической активности *in vitro*.

Возможность дальнейших модификаций галогензамещенных фталоцианинатов лантанидов (III) продемонстрирована на примере введения их в реакцию кросс-сочетания по Соногашире.

Продemonстрировано наличие одновременно двух механизмов генерации активных форм кислорода для полученных фталоцианинов: с образованием супероксид анион-радикала (качественное определение) и синглетного кислорода (количественное определение).

Методом термогравиметрического анализа с масс-спектрометрическим детектированием выделяющихся газов показано, что галогензамещенные фталоцианиновые комплексы лантанидов(III) термически стабильны вплоть до 220°C.

Получены солюбилизованные в биоразлагаемых полилактидных мицеллах хлорзамещенные фталоцианинаты лютеция, для которых исследованы темновая и фотоцитотоксичность *in vitro* на клеточной линии рака шейки матки HeLa. Показано, что данные соединения обладают фотоцитотоксичностью (вплоть до $IC_{50}=0.11 \pm 0.03$ мкМ для гексадека-хлорзамещенного фталоцианина лютеция), превышающей значения, полученные для широко используемой во многих препаратах для ФДТ (*Фотолон*, *Талапорфин*, *Радахлорин*) натриевой соли хлорина е6 ($IC_{50} = 0.7 \pm 0.13$ мкМ).

Обнаружено, что полученные галоген-замещенные фталоцианины обладают эффектом обратного насыщения поглощения. Ключевым фактором, влияющим на величину отклика, является природа центрального лантанид-иона.

Положения, выносимые на защиту

-Селективным и эффективным методом получения галогензамещенных фталоцианинатов середины (Eu, Gd, Tb, Dy) и конца (Er, Yb, Lu) ряда лантанидов является одностадийный темплатный синтез исходя из соответствующих фталонитрилов. Селективное получение галогензамещенных фталоцианинатов элементов начала (Pr, Nd) ряда лантанидов осуществляется с использованием многостадийного метода синтеза на основе фталоцианинового лиганда.

-Природа периферических заместителей во фталоцианинах играет ключевую роль в положении их максимума поглощения. Максимум поглощения смещается в область окна прозрачности биологических тканей (вплоть до 700 нм) при переходе от окта- к гексадекагалоген-замещенным фталоцианиновым комплексам и в ряду заместителей $F < Cl < Br < I$.

-Галогензамещенные фталоцианинаты Nd(III), Pr(III) и Eu(III) перспективны для использования в качестве оптических ограничителей мощного лазерного излучения за счет следующих свойств: наличия эффекта обратного насыщения поглощения, высоких значений сечений возбужденного состояния, и проявления пороговых значений интенсивности, при которых наблюдается уменьшение интенсивности падающего излучения на 50%.

- Генерация синглетного кислорода 1O_2 и образование супероксид анион-радикала галогензамещенными фталоцианинатами лютеция являются конкурирующими процессами. $I_8PcLuOAc$ наиболее эффективно генерирует 1O_2 ($\Phi_{\Delta}=0.45$), а $Cl_8PcLuOAc$ эффективнее генерирует супероксид анион-радикал.

-Гексадекахлорзамещенный фталоцианинат лютеция проявил себя как наиболее перспективный фотосенсибилизатор, который обладает хорошим выходом генерации синглетного кислорода ($\Phi_{\Delta}=0.54$) и максимумом поглощения при 700 нм.

-Гексадекахлорзамещенный фталоцианинат лютеция, внедрённый в биоразлагаемые полилактидные мицеллы-«наноконтейнеры», демонстрирует фотодинамический эффект *in vitro* на примере клеток рака шейки матки HeLa (фотоцитотоксичность $IC_{50}=0.11 \pm 0.03$ мкМ).

Личный вклад автора состоит в проведении анализа литературы по основным направлениям работы, постановке синтетического эксперимента, решении задач оптимизации процессов модификации целевых соединений. Автор принимала непосредственное участие в постановке цели и задач исследования, синтезе целевых и промежуточных соединений, обработке и интерпретации полученных экспериментальных данных по нелинейнооптическим свойствам, измерении квантовых выходов генерации синглетного кислорода и качественном измерении генерации супероксид-анион радикала. Также автор принимала участие в представлении результатов работы на конференциях, в подготовке материалов к публикации в научных журналах.

Апробация работы и публикации.

Основное содержание работы изложено в 20 публикациях в виде 8 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. Во всех опубликованных работах личный вклад автора является определяющим.

Основные материалы работы были представлены в виде стендовых и устных докладов на конференциях: Международные научные конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2018», «Ломоносов – 2019», «Ломоносов-2020», «Ломоносов-2021», «Ломоносов-2022» (Москва, Россия, 2018, 2019, 2020, 2022 гг.), Tenth International Conference On Porphyrins & Phthalocyanines «ICPP-10» (Мюнхен, Германия, 2018), The Fifth International Scientific Conference «Advances in synthesis and complexing» (Москва, Россия, 2019), XIII International Conference “Synthesis and Application of Porphyrins and Their Analogues” (Серебряный Плес, Россия, 2019), International Symposium on Dyes & Pigments. Modern Colorants «The Synthesis and Applications of π -systems» (Севилья, Испания, 2019).

Работа выполнена при финансовой поддержке

- грантов РФФИ № 17-13-01197 (2017-2019 гг) и №21-73-00162 (2021-2023 гг) исполнитель;
- гранта Президента РФ № 14.W01.18.3115-МК (2018-2019 гг) исполнитель;
- грантов РФФИ № 18-53-76006 ЭРА (2018-2020 гг), № 18-33-00519 мол_а (2018-2019 гг) исполнитель, № 21-33-70004 мол_а_мос (2021-2023 гг) исполнитель и № 20-33-90157 Аспиранты (2020-2022 гг) исполнитель.

Структура и объем работы

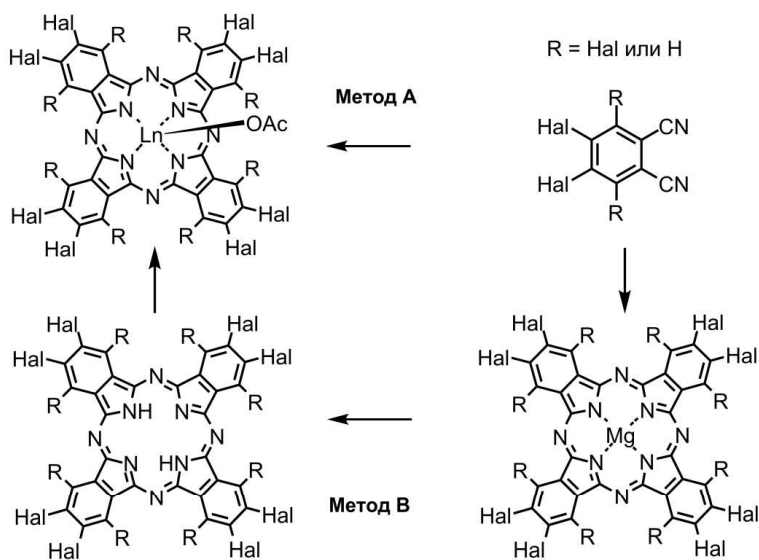
Материал диссертации изложен на 149 страницах машинописного текста и состоит из 6 разделов: включает введение, обзор литературы, обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы и список цитируемой литературы. Диссертационная работа содержит 39 рисунков, 13 таблиц и 36 схем. Список литературы включает 168 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Синтез новых галогензамещенных фталоцианиновых комплексов лантанидов (III)

Монофталоцианиновые комплексы лантанидов (III), содержащие по периферии макрокольца атомы галогена состава $\text{Hal}_x\text{PcLnOAc}$, где $\text{Hal} = \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$; $x = 8$ или 16 , получены с использованием двух подходов. Метод А - одностадийный темплатный метод, позволяющий получать целевые соединения напрямую из нитрилов и солей лантанидов. Метод В - многостадийный подход, включающий в себя стадию синтеза фталоцианинового лиганда и дальнейшее его металлирование солями лантанидов (Схема 1).

Схема 1.



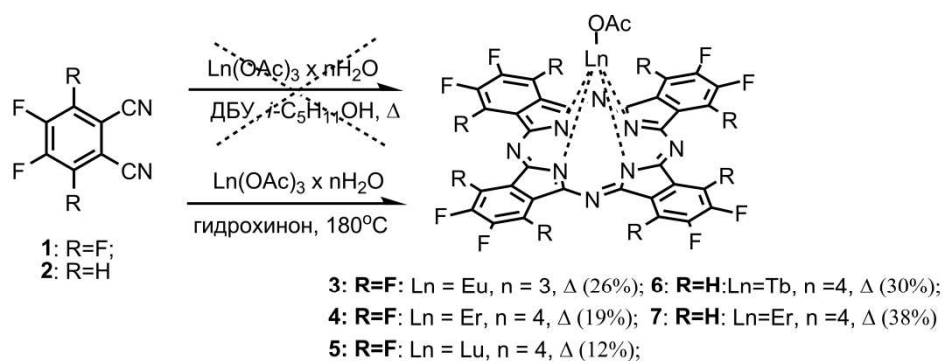
Предпринята попытка провести синтез окта и гексадекафторзамещенных фталоцианинатов лантанидов (III) в среде органического растворителя. С привлечением методов ЯМР и масс-спектрометрии показано, что проведение реакции темплатным методом в кипящем изоамиловом спирте приводит к преобладанию процесса нуклеофильного замещения атомов фтора на изоамилат-ионы, инициируемого сильным отрицательным индуктивным эффектом фтора. В связи с этим, синтез фторированных комплексов проводили путем сплавления исходных фторированных динитрилов и соответствующей соли лантанида. Основным отличием используемого протокола от классического метода сплавления является использование гидрохинона (Схема 2). Гидрохинон является одновременно средой протекания реакции, а также восстановителем, необходимым для сборки 18 π -электронной ароматической системы фталоцианина. Проведения синтеза в среде восстановителя (гидрохинона) позволило избежать побочного процесса нуклеофильного замещения и направить реакцию по пути синтеза фталоцианина.

Выходы целевых комплексов сопоставимы с данными, представленными в литературе для комплексов цинка и переходных металлов (18%)^{1,2}. Показано, что ввиду сильной агрегации и соответственно низкой растворимости данных соединений они не могут быть перспективными фотосенсибилизаторами для фотодинамической терапии.

¹ *J. Mater. Chem.* **1998**. Vol. 8, № 4, P. 945–954.

² *J. Porphyr. Phthalocyanines.* **2005**. Vol. 9, № 9. P. 626–636.

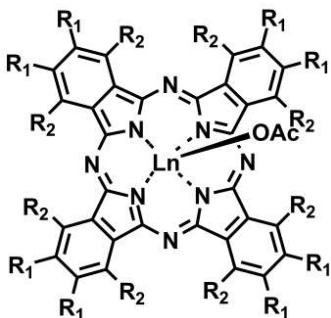
Схема 2.



В случае хлорзамещенных фталоцианинов отрицательный индуктивный эффект атома галогена не настолько силен, как для фтора. При использовании темплатного метода синтеза хлорзамещенных фталоцианинов не наблюдалось образование продуктов нуклеофильного замещения. Для этого в качестве основания достаточно было использовать 1,8-диазацикло[5.4.0]ундец-7-ен (ДБУ). Более сильные нуклеофилы – алколяты щелочных металлов, которые часто используют в качестве оснований, в данном случае не могут быть введены в реакцию, так как они вступают в конкурирующий процесс ароматического нуклеофильного замещения хлоров. Ещё одним преимуществом использования ДБУ является то, что он способен координироваться по центральному иону металла. Это препятствует сборке таких побочных продуктов, как комплексы сэндвичевого строения состава лантанид:фталоцианиновый лиганд 1:2 или 2:3.

Хлорзамещенные фталоцианины получены с использованием одностадийного и многостадийного подходов (Схема 1, Таблица 1). Интересно отметить, что многостадийный метод Б более эффективен для получения элементов середины и особенно начала ряда лантанидов (Pr и Nd). В случае комплексов празеодима и неодима метод А не позволил получить значимые количества целевых монофталоцианинов. Преимущественно образовывались олиго/полимеры и продукты сэндвичевого строения. Так, для неодимового комплекса удалось выделить соответствующий дифталоцианин с выходом 10%. Задача выделения сэндвичевого комплекса не была тривиальной, так как за счёт электроноакцепторных функциональных групп хлорзамещенный дифталоцианин неодима образуется в виде восстановленной анионной формы состава $[Pc^2-Nd^{3+}-Pc^2]^-$ и при использовании колоночной хроматографии, его подвижность очень низкая ($R_f=0$), также, как и соответствующий монофталоцианин. Отделить сэндвичевый комплекс от соответствующего монофталоцианина удалось лишь с использованием гель-проникающей хроматографии.

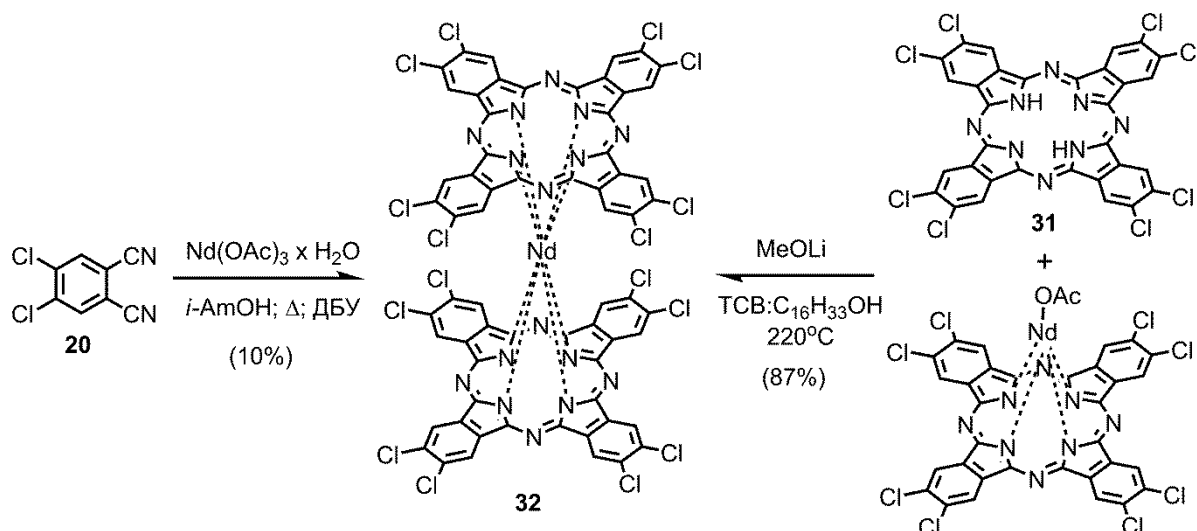
Таблица 1. Выходы фталоцианиновых комплексов лантанидов, полученных по Схеме 1.



Соединение	R ₁	R ₂	Ln	Выход по методу А, %	Суммарный выход по методу В, %
Cl ₁₆ PcPrOAc 10	Cl	Cl	Pr	след.кол-ва	44
Cl ₁₆ PcNdOAc 11	Cl	Cl	Nd	след.кол-ва	49
Cl ₁₆ PcEuOAc 12	Cl	Cl	Eu	44	52
Cl ₁₆ PcTbOAc 13	Cl	Cl	Tb	81	-
Cl ₁₆ PcDyOAc 14	Cl	Cl	Dy	93	-
Cl ₁₆ PcErOAc 15	Cl	Cl	Er	64	44
Cl ₁₆ PcYbOAc 16	Cl	Cl	Yb	93	-
Cl ₁₆ PcLuOAc 17	Cl	Cl	Lu	78	52
Cl ₈ PcPrOAc 21	Cl	H	Pr	след.кол-ва	46
Cl ₈ PcNdOAc 22	Cl	H	Nd	след.кол-ва	35
Cl ₈ PcEuOAc 23	Cl	H	Eu	93	-
Cl ₈ PcGdOAc 24	Cl	H	Gd	81	-
Cl ₈ PcTbOAc 25	Cl	H	Tb	87	49
Cl ₈ PcDyOAc 26	Cl	H	Dy	95	-
Cl ₈ PcErOAc 27	Cl	H	Er	85(Δ)	-
				83(MW)	
Cl ₈ PcYbOAc 28	Cl	H	Yb	89	-
Cl ₈ PcLuOAc 29	Cl	H	Lu	98	-

Строение продуктов сэндвичевого строения было подтверждено данными ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии. Кроме того, проведён встречный синтез октахлорзамещенного дифталоцианина неодима на основе двух готовых синтетических блоков: фталоцианинового лиганда и соответствующего монофталоцианинового комплекса неодима. Выход продукта реакции при этом составил 87% (Схема 3), что позволило в дальнейшем подробно изучить нелинейнооптические свойства данного соединения.

Схема 3.



При попытке использования в реакции темплатного синтеза Cl₁₆PcLuOAc соли лутетия, подвергшейся высушиванию при 150°C, и по данным ТГА содержащей меньше воды (состав соли Lu(OAc)₃·xH₂O), чем соль высушенная при 70°C, в качестве основного продукта реакции образуется не монофталоцианин лутетия, а трёхпалубный

комплекс сэндвичевого строения состава металл : лиганд 2:3. Вероятно, это связано с увеличением координационной ненасыщенности лантанид-иона за счет потери внутрисферной воды.

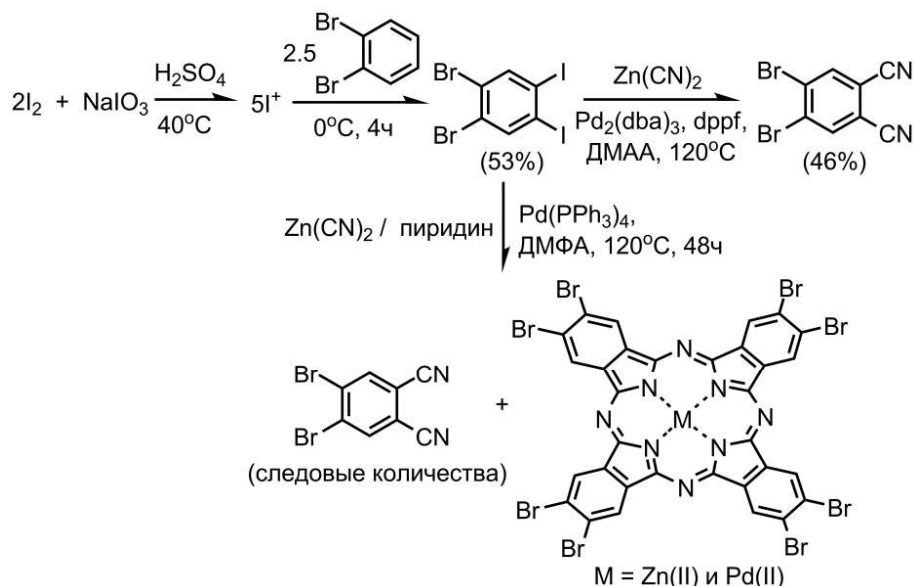
Галогензамещенные фталоцианины, содержащие галогены конца группы (Br, I), привлекают особый интерес исследователей в связи с проявлением эффекта тяжелого атома. Данный эффект обеспечивает увеличение заселенности триплетного состояния фталоцианина. Это в свою очередь может приводить к увеличению квантового выхода генерации синглетного кислорода, а также улучшению нелинейнооптических характеристик³.

Однако исходные 4,5-дибром- и 4,5-диод-замещенные нитрилы необходимо было предварительно синтезировать.

Для синтеза 4,5-дибром-фталонитрила изначально использовался подход, описанный М. Юричком и соавторами (M. Juríček et al.)⁴ (Схема 4).

Первая стадия представляла собой окислительное иодирование дибромбензола, проходящее в мягких условиях, а вторая стадия – палладий катализируемое цианирование. На первой стадии молекулярный иод окисляется иодатом натрия (NaIO_3) в присутствии серной кислоты с образованием I^+ (в виде $\text{I}^+\text{OSO}_3\text{H}$). Иодирование приводит к селективному иодированию 4-го и 5-го положений бензольного кольца. Однако уже на второй стадии Pd-катализируемого цианирования было обнаружено, что протокол, описанный в литературе ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ / пиридин) плохо воспроизводится. В качестве побочных соединений образуется большое количество фталоцианинатов цинка и палладия (подтверждено данными ЭСП и масс-спектрометрии).

Схема 4.



Для достижения селективного образования 4,5-дибром-фталонитрила была выбрана другая каталитическая система, которая ранее использовалась для синтеза замещенных фталонитрилов: $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ и 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен (dppf). Это позволило

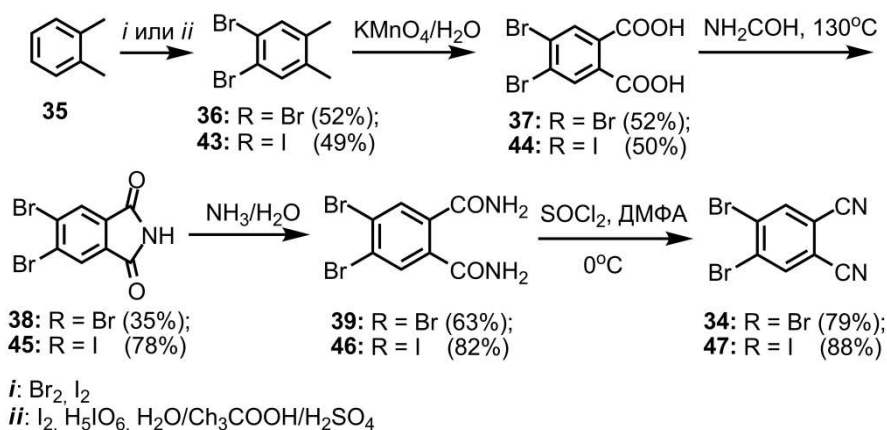
³ *J. Organomet. Chem.* **2014**, 752, P. 115–122.

⁴ *J. Org. Chem.* **2009**, 74 (1), P. 21–25.

получить целевое соединение с приемлемым выходом (46%) и ввести данный нитрил в реакцию темплатного синтеза соответствующих фталоцианинов. Недостатком этого метода является то, что побочный продукт моноцианирования имеет очень близкий R_f с динитрилом, поэтому полностью разделить их удалось только с привлечением ВЭЖХ.

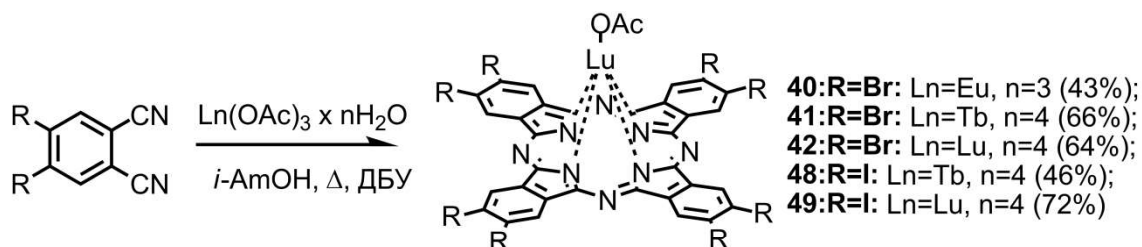
В связи с этим, для получения 4,5-дибром-фталонитрила в мультиграммовых количествах была использована другая схема, исключая наиболее трудоёмкую стадию цианирования (Схема 5). В качестве исходного соединения использовался коммерчески доступный *o*-килол. С использованием этой же синтетической схемы был получен 4,5-дииод-фталонитрил.

Схема 5.



Данный подход предпочтительнее методики синтеза 4,5-дииод-фталонитрила через стадию прямого иодирования фталимида, которая была описана в работе⁵, так как в этом случае не образуется трудноотделимых побочных продуктов (региоизомеров, образующихся в результате неселективного иодирования).

Схема 6.



Темплатный синтез октабром- и октаиод-замещенных фталоцианинов проводился в кипящем изоамиловом спирте в присутствии ДБУ в качестве основания и ацетатов соответствующих лантанидов.

Идентификация октагалоген-замещенных монофталоцианиновых комплексов проводилась с привлечением масс-спектрометрии высокого разрешения, ЯМР спектроскопии и ИК спектроскопии. Регистрация ИК спектров была необходима для подтверждения присутствия в структуре соединений ОАс группы, которая в масс-спектрах как правило подвергалась фрагментации. Кроме того, присутствие аксиального ацетата подтвердили данные термогравиметрического анализа с масс-спектрометрическим

⁵ J. Porphyr. Phthalocyanines. 1999. 3. P. 406–416

детектированием выделяющихся газов. Так первая стадия разложения (250–400°C) представляет собой элиминирование $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ фрагмента $m/z = 43$.

В ЯМР спектрах целевых монофталоцианинов интересно отметить следующую особенность, общую для всех фталоцианиновых комплексов лантанидов⁶. Природа центрального парамагнитного лантанид-иона значительно влияет на положение синглета ароматического протона (H_{Pc}). Если для комплексов Eu и Er наблюдался сдвиг сигналов ароматических протонов в слабое поле относительно реперных значений комплекса диамагнитного лютеция ($\text{H}_8\text{PcLuOAc}$), то в случае комплексов Pr(III), Nd(III) и особенно Tb(III) сигналы протонов H_{Pc} смещаются в сильное поле (Таблица 2).

Таблица 2. Данные спектроскопии ^1H ЯМР для октахлор-замещенных фталоцианинов.

Соединение	R_1	R_2	Ln	$\delta \text{H}_{\text{Pc}}$ в м.д.	Растворитель
$\text{Cl}_8\text{PcPrOAc}$ 21	Cl	H	Pr	2.04	ТГФ- d_8
$\text{Cl}_8\text{PcNdOAc}$ 22	Cl	H	Nd	4.74	ТГФ- d_8
$\text{Cl}_8\text{PcEuOAc}$ 23	Cl	H	Eu	11.19	ТГФ- d_8
$\text{Cl}_8\text{PcTbOAc}$ 25	Cl	H	Tb	-49.05	ТГФ- d_8
$\text{Cl}_8\text{PcDyOAc}$ 26	Cl	H	Dy	-31.84	ТГФ- d_8
$\text{Cl}_8\text{PcErOAc}$ 27	Cl	H	Er	38.21	ТГФ- d_8
$\text{Cl}_8\text{PcYbOAc}$ 28	Cl	H	Yb	10.60	ТГФ- d_8
$\text{Cl}_8\text{PcLuOAc}$ 29	Cl	H	Lu	9.54	ТГФ- d_8
$\text{Br}_8\text{PcEuOAc}$	Br	H	Eu	10.84	ДМФА- d_7
$\text{Br}_8\text{PcTbOAc}$	Br	H	Tb	-28.97	ДМФА- d_7
$\text{Br}_8\text{PcLuOAc}$	Br	H	Lu	9.86	ДМФА- d_7
$\text{I}_8\text{PcTbOAc}$	I	H	Tb	-52.11	ДМФА- d_7
$\text{I}_8\text{PcLuOAc}$	I	H	Lu	8.02	ДМФА- d_7

Проведено исследование синтетического потенциала полученного октаиод-замещенного фталоцианина лютеция на примере реакции Соногаширы. Данная реакция наиболее популярна при создании линкеров для гибридных материалов. Это направление можно рассматривать как перспективное для дальнейшего развития тематики получения фотосенсибилизаторов на основе фталоцианинов.

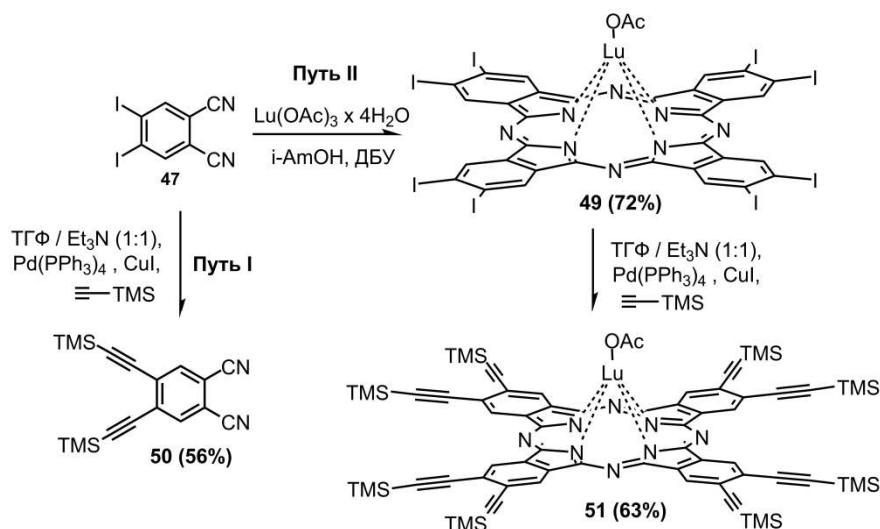
Модифицирование фталоцианинового макрокольца с использованием реакции кросс-сочетания теоретически может осуществляться в двух направлениях – модификация нитрила и *постсинтетическая* модификация, когда реакцию проводят в уже сформированном фталоцианиновом макрокольце (Схема 7). В нашем случае попытка получить фталоцианиновый комплекс лютеция из соответствующего нитрила оказалось неудачной. Это, по-видимому, связано со снятием защиты в присутствии основания в высококипящем растворителе и последующей полимеризацией (ЭСП контроль) исходного нитрила по тройным связям.

В качестве исходного соединения для получения продукта реакции Соногаширы выбран иод-замещенный фталоцианин, так как атомы иода – наиболее активные

⁶ *Russ. Chem. Bull.* **2005**, 54, P. 2087–2093.

функциональные группы на стадии окислительного внедрения по связи С-галоген. В качестве катализаторов выбраны *тетракис*(трифенилфосфин) палладий (0) и CuI.

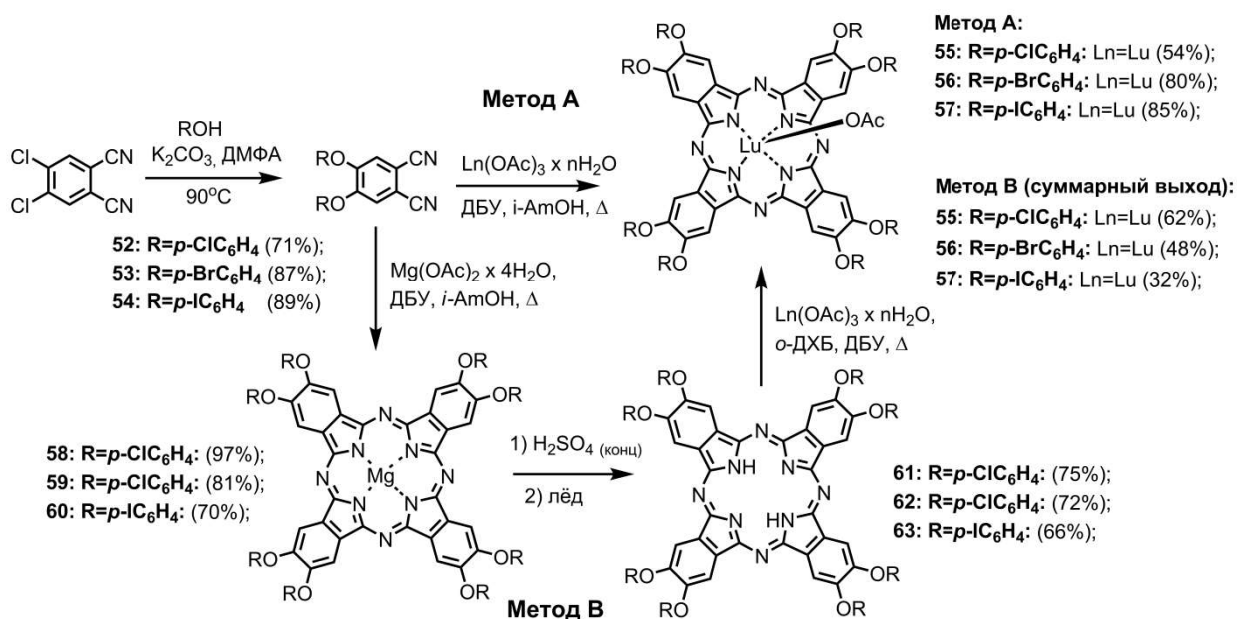
Схема 7.



В качестве растворителя использовался ТГФ в смеси с триэтиламином (основание), так как координирующий ТГФ позволяет избежать агрегации фталоцианина. Ранее данные условия использовали для реакции Соногаширы с участием тетраидозамещенных фталоцианинатов. Выходы целевых соединений оказались достаточно высоки.

С целью получения галоген-замещенных фталоцианинов, содержащих атом галогена и одновременно прекрасно растворимых в органических растворителях, синтезированы арилокси-замещенные фталонитрилы, содержащие в *пара*-положениях арилокси групп атомы галогена (Схема 8).

Схема 8.



Синтез арилокси-замещенных нитрилов проводили по реакции нуклеофильного ароматического замещения. Данная реакция для 4,5-дихлор-фтало нитрила активирована

электроноакцепторными CN группами. Соответствующие галоген-замещенные фталоцианиновые комплексы получены двумя методами. Многостадийный подход, через стадию синтеза лиганда, оказался наиболее эффективен для *para*-хлор-замещенного фталоцианина лютеция. В то же время для бром- и иод-замещенных аналогов более высокие выходы наблюдались в случае одностадийного темплатного синтеза.

Для исходных фталонитрилов удалось получить монокристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа (Рис.1). Как и ожидалось, арилокси группы не лежат в одной плоскости с бензольным кольцом фталонитрила, и в дополнение к этому, расположены под углом друг к другу. Для хлор- и бром-замещенных соединений угол между плоскостями арилокси-групп составляет примерно 50° . В случае объёмного иода арилокси группы расположены практически параллельно друг другу.

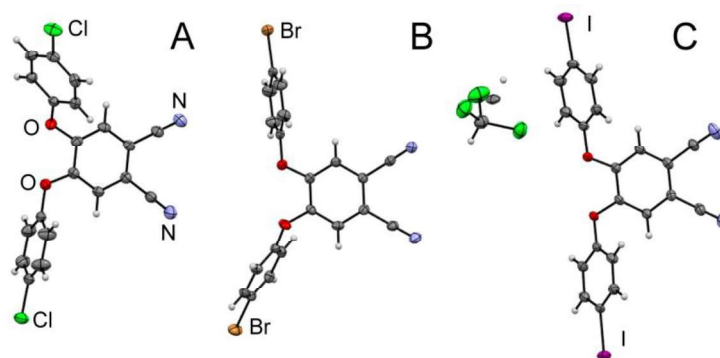


Рис.1. Молекулярные структуры (*para*-галоген)арилокси-замещенных фталонитрилов: Hal=Cl (A); Hal=Br (B); Hal=I (C), полученные методом рентгеноструктурного анализа. Для иод-замещенного нитрила кристалл являлся сольватом, содержащим молекулу CHCl_3 .

Поиск зависимостей между строением новых галогензамещенных фталоцианиновых комплексов лантанидов, их оптическими свойствами

Зарегистрированы спектры поглощения целевых соединений и определены их молярные коэффициенты поглощения (ϵ). Q полосы целевых соединений расположены на границе видимой и ближней ИК области (680-700 нм). Значение молярного коэффициента поглощения в области Q полосы достигает $\lg \epsilon \sim 5$ (Рис.2). Это особенно важно для их потенциального применения в качестве фотосенсибилизаторов, так как в данном спектральном диапазоне проницаемость биологических тканей составляет около 3-4 мм, в то время как при 500 нм проницаемость составляет ~ 2.5 мм.

Были выявлены следующие взаимосвязи между структурой и линейными оптическими свойствами целевых соединений.

Природа центрального лантанид-иона не влияет на положение Q полосы. Напротив, введение атома галогена приводит к батохромному смещению Q полосы для галогензамещенных фталоцианинов относительно незамещенных аналогов (Таблица 3). Природа периферических атомов галогенов позволяет добиться дополнительного смещения полосы поглощения в длинноволновый диапазон спектра. Этому способствует: (1) введение атомов галогенов в α -положения фталоцианинового макрокольца; (2) использование более тяжелых атомов галогенов. Например, максимум поглощения смещается батохромно в ряду заместителей $\text{F} < \text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$, что вероятно обусловлено уменьшением отрицательного индуктивного эффекта заместителя и дестабилизацией ВЗМО орбитали. Длинноволновое

смещение максимума поглощения также наблюдается при переходе от окта-замещенных фталоцианинов к гексадеказамещенным (Рис.2).

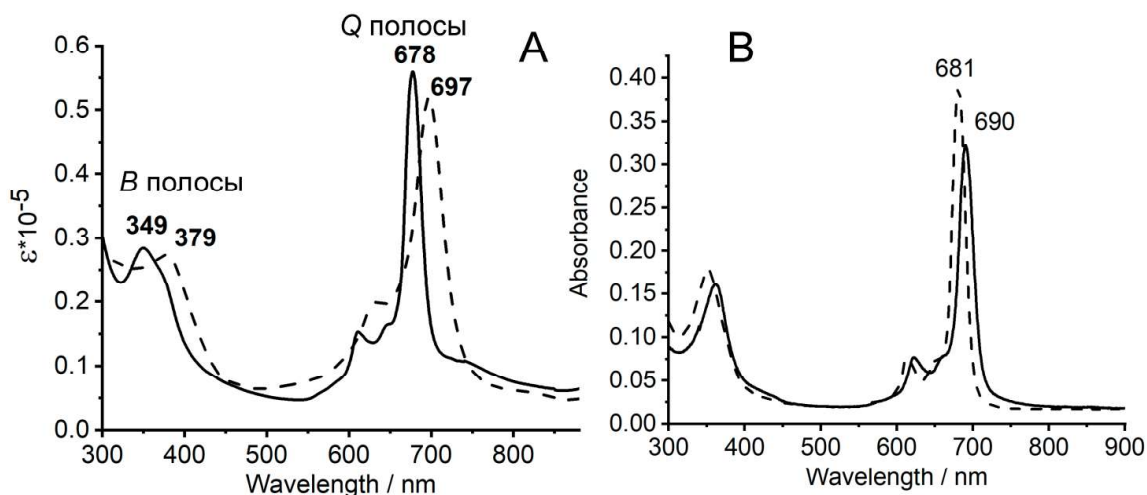


Рис.2. UV-Vis (электронные спектры поглощения) спектры $\text{Cl}_8\text{PcLuOAc}$ (сплошная линия, $c=10^{-5}$ М) и $\text{Cl}_{16}\text{PcLuOAc}$ (пунктирная линия, $c=10^{-5}$ М) в ДМФА (А). UV-Vis спектры $\text{Br}_8\text{PcLuOAc}$ (пунктирная линия, $c=5 \times 10^{-6}$ М) и $\text{I}_8\text{PcLuOAc}$ (сплошная линия, $c=5 \times 10^{-6}$ М) комплексов лютеция, зарегистрированные в ТГФ (В).

Таблица 3. UV-Vis данные для растворов монофталоцианиновых комплексов.

Соединение	Положение В полосы, нм	Положение Q полосы, нм	Растворитель
$\text{I}_8\text{PcTbOAc}$	360	688	ТГФ
$\text{I}_8\text{PcLuOAc}$	362	689	ТГФ
$\text{Br}_8\text{PcEuOAc}$	350	682	ТГФ
	352	683	ДМФА
$\text{Br}_8\text{PcTbOAc}$	353	682	ТГФ
	354	683	ДМФА
$\text{Br}_8\text{PcLuOAc}$	354	682	ТГФ
	353	683	ДМФА
$\text{Cl}_8\text{PcEuOAc}$	346	677	ТГФ
$\text{Cl}_8\text{PcErOAc}$	349	676	ТГФ
$\text{Cl}_8\text{PcLuOAc}$	349	676	ТГФ
$\text{F}_8\text{PcLuOAc}$	338	664	ТГФ
PcEuOAc	347	669	ТГФ
	349	670	ДМФА
PcTbOAc	339	668	ТГФ
	345	669	ДМФА
PcLuOAc	339	669	ТГФ
	346	669	ДМФА
$(p\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{O})_8\text{PcLuOAc}$	355	675	ТГФ
$(p\text{-BrC}_6\text{H}_4\text{O})_8\text{PcLuOAc}$	357	675	ТГФ
$(p\text{-IC}_6\text{H}_4\text{O})_8\text{PcLuOAc}$	358	675	ТГФ

К сожалению, получить гексадекабром- и гексадекаиод-замещенные фталоцианины представляется затруднительным ввиду стерических препятствий, связанных с объёмностью заместителей.

В связи с этим наиболее перспективными для целей ФДТ выглядят $\text{Cl}_{16}\text{PcLuOAc}$ и $\text{I}_8\text{PcLuOAc}$, имеющие максимум поглощения при 690 нм и 697 нм соответственно. Кроме линейных оптических свойств изучены также нелинейнооптические свойства полученных фталоцианиновых комплексов.⁷

Галогензамещенные фталоцианиновые комплексы обладают повышенной устойчивостью по отношению к фотоокислению, что позволяет рассматривать их как перспективные материалы для создания на их основе оптических ограничителей для защиты глаза наблюдателя от мощного лазерного излучения.

Изучена взаимосвязь между строением целевых соединений и их нелинейнооптическими характеристиками: нелинейный коэффициент поглощения ($\beta_{\text{эфф}}$), соотношение сечений поглощения возбуждённого и основного состояний (σ_1), пороговые значения интенсивности при которых пропускается только 50% проходящего излучения Nd:YAG лазера $I_{50\%}$.

Показано, что все полученные фталоцианинаты лантанидов проявляют эффект обратного насыщения поглощения, то есть проявляют свойства оптических ограничителей. Наблюдались следующие закономерности при варьировании природы центрального иона и периферических групп.

Для монофталоцианинового комплекса неодима $\text{Cl}_{16}\text{PcNdOAc}$ наблюдалось наилучшее значение σ_1/σ_0 . Вероятно это обусловлено большей интенсивностью поглощения в районе 532 нм (длина волны излучения, испускаемого Nd:YAG лазером) для данного комплекса в связи с тем, что центральный ион у данного комплекса - Nd, как и в используемом лазере. Также высокие значения σ_1/σ_0 продемонстрировали комплексы празеодима, у которого электронная структура близка к электронной структуре неодима.

Увеличение значения σ_1/σ_0 наблюдается при увеличении количества атомов хлора в макрокольце от 8 до 16. Вероятно, это связано с увеличением поляризации молекулы фталоцианина за счёт возрастания количества электроноакцепторных групп по периферии макрокольца.

Еще одна интересная закономерность – снижение значения σ_1/σ_0 при переходе к дифталоцианиновому комплексу состава металл : лиганд 1:2. Это возможно обусловлено увеличением симметричности молекулы при переходе от монофталоцианинового комплекса к дифталоцианиновому.

Показано, что в сравнении с влиянием центрального иона влияние периферических групп на нелинейнооптические свойства проявляется гораздо слабее.

Проведено сравнение октабром-замещенных комплексов с незамещенными (Таблица 4). Уменьшение значений нелинейного коэффициента поглощения ($\beta_{\text{эфф}}$) и гиперполяризуемости (γ) от Eu^{3+} до Tb^{3+} и Lu^{3+} для бромзамещенных комплексов и от Tb^{3+} до Lu^{3+} для незамещенных фталоцианинов можно объяснить уменьшением ионного радиуса.

⁷ Измерения нелинейнооптических свойств проводились к.ф.-м.н. Красовским В.И. (ИОФ РАН, Москва) и к.ф.-м.н. Герасименко А.Ю. (МИЭТ, Зеленоград) при непосредственном участии соискателя.

С увеличением энергии лазерного излучения ионы с большим радиусом захватывают больше фотонов и возбуждаются быстрее, что приводит к более высокому нелинейно-оптическому отклику.

Таблица 4. Нелинейнооптические характеристики растворов галоген-замещенных фталоцианинатов лантанидов в растворе в ДМФА ($c=10^{-4}$ М).

Соединение	$\beta_{\text{эфф}}$, см/ГВт	Пороговая интенсивность $I_{50\%}$, ГВт/см ²	Мнимая часть нелинейной восприимчивости третьего порядка $\text{Im}[\chi(3)]$ (esu) $\times 10^{-9}$	Гиперполяризуемость второго порядка γ (esu) $\times 10^{-32}$
Br ₈ PcEuOAc	20.1	0.575	1.05	5.17
Br ₈ PcTbOAc	14.4	-	0.77	3.65
Br ₈ PcLuOAc	8.4	-	0.44	2.19
PcEuOAc	12.2	-	0.64	3.14
PcTbOAc	39.9	0.780	2.13	10.12
PcLuOAc	24.9	1.065	1.29	6.49

Таким образом, можно заключить, что, в отличие от линейных оптических свойств, для которых ключевую роль играют периферические группы, в случае нелинейнооптических свойств важнее природа центрального лантанид-иона.

Определение взаимосвязи между строением синтезированных соединений и активностью по отношению к генерации АФК

Следующим этапом исследования стало определение возможности генерации целевыми соединениями активных форм кислорода, а именно супероксид анион-радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$) и синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$). Исследования проводились для комплексов лютеция, содержащих диамагнитный центральный ион, так как наличие парамагнитных ионов препятствует эффективной генерации АФК.

Образование супероксид анион-радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$) оценивали с использованием реакции восстановления нитро-синего тетразолия (NBT) до темно-синей формы диформаза (Схема 9), которая имеет максимум поглощения при 560 нм. Реакцию проводят в присутствии никотинамидадениндинуклеотида (НАДН). Восстановление NBT происходит селективно супероксид анион-радикалом, который образуется под действием фотосенсибилизатора (Ps) в процессе фотореакции I типа.

Увеличение интенсивности поглощения диформаза наблюдалось после облучения исследуемого раствора видимым светом ($\lambda_{\text{лазер}}=650$ нм). Чтобы исследовать влияние периферических атомов на процесс образования активных форм кислорода, кроме целевых комплексов лютеция, мы изучили незамещенный фталоцианиновый комплекс (Рис.3). Установлено, что введение атомов хлора в макроцикл приводит к увеличению скорости образования супероксид анион-радикала. Однако при переходе от октахлор- к гексадекахлор-замещенному фталоцианину лютеция происходит снижение эффективности генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$.

Определение выхода генерации синглетного кислорода (Φ_{Δ}) проводили с использованием метода химической ловушки - дифенилизобензофурана (DPBF).

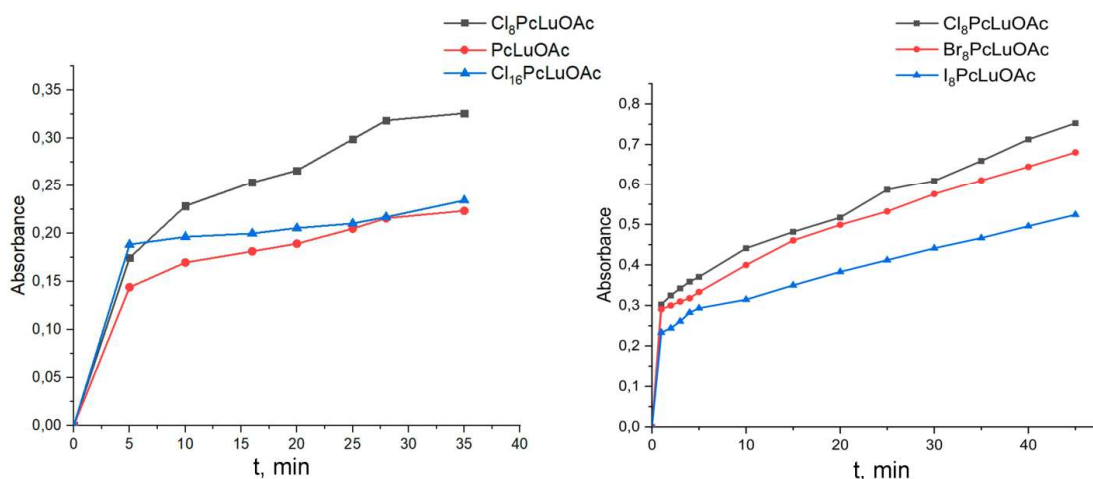


Рис. 3. Временные зависимость увеличения интенсивности абсорбции диформаза при 560 нм в системе ДМФА/вода.

Схема 9.

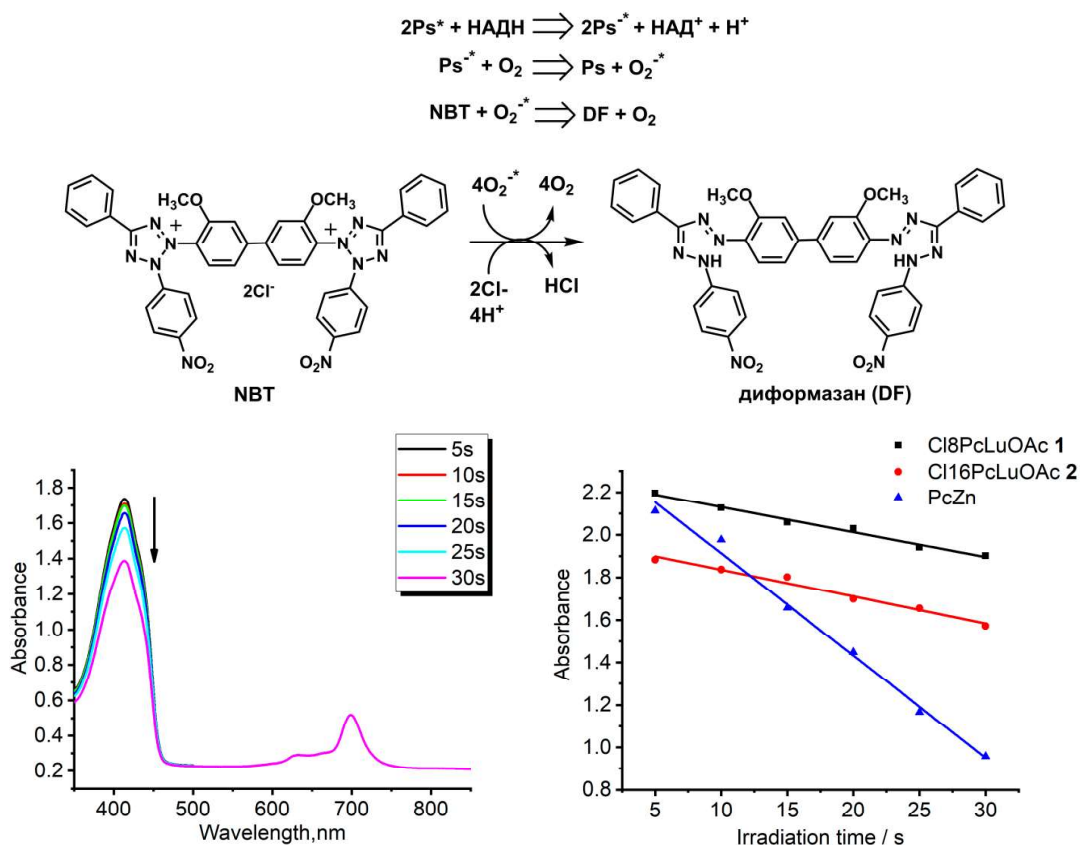
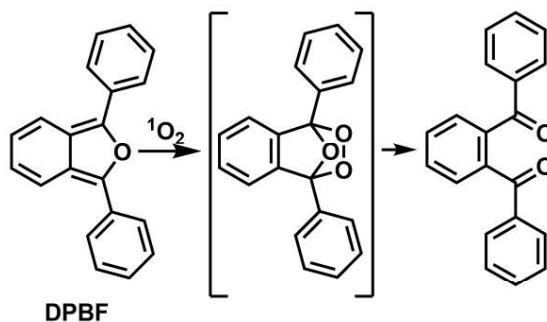


Рис. 4. Спектр деградации «ловушки» - DPBF с использованием $\text{Cl}_{16}\text{PcLuOAc}$ в ДМФА (слева). Линейные зависимости уменьшения интенсивности поглощения при 413 нм от времени облучения для целевых комплексов и эталонного соединения (незамещенный фталоцианин цинка) в ДМФА (справа).

В результате нарушения ароматической системы изобензофурана за счет реакций Дильс-Альдера/*ретро*Дильс-Альдера (Схема 10) наблюдается снижение интенсивности поглощения DPBF при 413 нм.

Схема 10.



Наилучшие значения Φ_{Δ} наблюдались для перхлорированного комплекса лютеция $\text{Cl}_{16}\text{PcLuOAc}$, неплохой результат продемонстрировал также иодзамещенный фталоцианин лютеция. Можно отметить закономерность: за счёт эффекта тяжёлого атома выход генерации $^1\text{O}_2$ растёт в ряду заместителей $\text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$. Эта закономерность характерна и для арилокси-замещенных фталоцианинов состава $(p\text{-HalC}_6\text{H}_4\text{O})_8\text{PcLuOAc}$ (Таблица 5).

Таблица 5. Значения Φ_{Δ} для целевых комплексов лютеция и литературные данные (растворитель - ТГФ).

Соединение	Φ_{Δ}	Ссылка
$\text{Cl}_{16}\text{PcLuOAc}$ 17	0.54	данная работа
$\text{Cl}_8\text{PcLuOAc}$ 29	0.23	данная работа
$\text{Br}_8\text{PcLuOAc}$ 42	0.32	данная работа
$\text{I}_8\text{PcLuOAc}$ 49	0.45	данная работа
$(p\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{O})_8\text{PcLuOAc}$ 55	0.06	данная работа
$(p\text{-BrC}_6\text{H}_4\text{O})_8\text{PcLuOAc}$ 56	0.09	данная работа
$(p\text{-IC}_6\text{H}_4\text{O})_8\text{PcLuOAc}$ 57	0.12	данная работа
$\text{CTESZnPc}^{\text{a}}$	0.52	8
PcZn	0.53	

^a 2,9,16,23-хлор-3,10,17,24-триэтиленоксисульфанил-замещенный фталоцианин цинка.

В случае арилокси-замещенных фталоцианиновых комплексов, наблюдалось снижение выходов генерации синглетного кислорода, что вероятно было вызвано гибкостью сочленения заместителя и периферии фталоцианинового макрокольца (связь $C_{Ar}-O-C_{Pc}$), т.е. отсутствием сопряжения с макрокольцом, что подтверждают данные РСА для исходных нитрилов.

Полученное значение выхода генерации синглетного кислорода для перхлорированного комплекса сопоставимо с незамещенным фталоцианином цинка и 2,9,16,23-хлор-3,10,17,24-триэтиленоксисульфанил-замещенным фталоцианином цинка (Таблица 5). Однако оно выше, чем для фотосенсибилизатора *Фотосенс* ($\Phi_{\Delta}=0.19$), одобренного для ФДТ.

Таким образом, показано, что целевые комплексы являются перспективными фотосенсибилизаторами для ФДТ, которые демонстрируют тенденцию генерировать две формы АФК: супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$) и синглетный кислород (O_2^1). Интересно отметить, что способность к генерации этих АФК изменяется в ряду заместителей $Cl < Br < I$

⁸. *Synthetic Metals*, **2008**, 158, P. 839-47.

в противоположных направлениях. Иод-замещенный фталоцианин лютеция $I_8PcLuOAc$, эффективно генерирующий синглетную форму кислорода, хуже других фталоцианинов из представленной выборки генерирует супероксид анион-радикал. Это можно объяснить тем, что оба механизма генерации АФК связаны с триплетным уровнем фотосенсибилизатора и являются конкурирующими.

Получение водорастворимых форм хлорзамещенных фталоцианинов лютеция

Основной проблемой полученных галогензамещенных фталоцианинов является низкая растворимость в органических растворителях и отсутствие растворимости в воде. Для решения данной проблемы предприняты попытки получения мицелл, содержащих хлорзамещенные фталоцианины.

Хлорзамещенные фталоцианины лютеция включали в мицеллы, приготовленные на основе блок-сополимера полилактид-полиэтиленгликоль PLA-PEG (полилактид-блок-полиэтиленгликоль-блок-полилактид).⁹ Мицелла состоит из гидрофильной оболочки, обеспечивающей растворимость в воде и гидрофобных фрагментов, которые обеспечивают накопление в мембране клеток. Гидрофобные молекулы фталоцианина распределяются между данными гидрофобными «хвостами».

Получены водорастворимые формы хлорзамещенных фталоцианинов лютеция, устойчивые при хранении вплоть до 30 дней. Мониторинг стабильности мицелл проводился путём измерения их гидродинамического радиуса с течением времени. Сферическая форма полученных мицелл и их размеры дополнительно подтверждены данными просвечивающей электронной микроскопии (Рис.5). На протяжении указанного периода времени радиус мицелл оставался неизменным и составлял около 380 нм. Данный размер является достаточным для обеспечения пассивной адресной доставки «наноконтейнера» с фотосенсибилизатором в опухоль.

При сравнении спектров поглощения хлорзамещенных фталоцианинов в органическом растворителе (ТГФ и ДМФА) и в водной суспензии в составе мицелл можно заключить, что наблюдается частичная агрегация, что выражается в виде уширения основного максимума поглощения и его bathochromic смещении (Q полосы) (Рис.5).

Мицеллярный «наноконтейнер» обеспечивает устойчивость к ферментативному гидролизу, индуцированному трипсином, в течение не менее 24 ч. Фермент трипсин обладает эстеразной активностью и обеспечивает гидролиз сложноэфирных связей.

Однако в данном случае важна не только устойчивость к гидролизу, но и способность «контейнера» к биоразложению с целью высвобождения красителя непосредственно в опухоли.

Продemonстрировано, что полученный наноконтейнер обладает способностью к биологическому разложению при более длительной инкубации с ферментом.

⁹ Приготовление мицелл и изучение биоразложения производилось доцентом кафедры высокомолекулярных соединений МГУ имени М.В. Ломоносова к.х.н., Сыбачиным А.В.

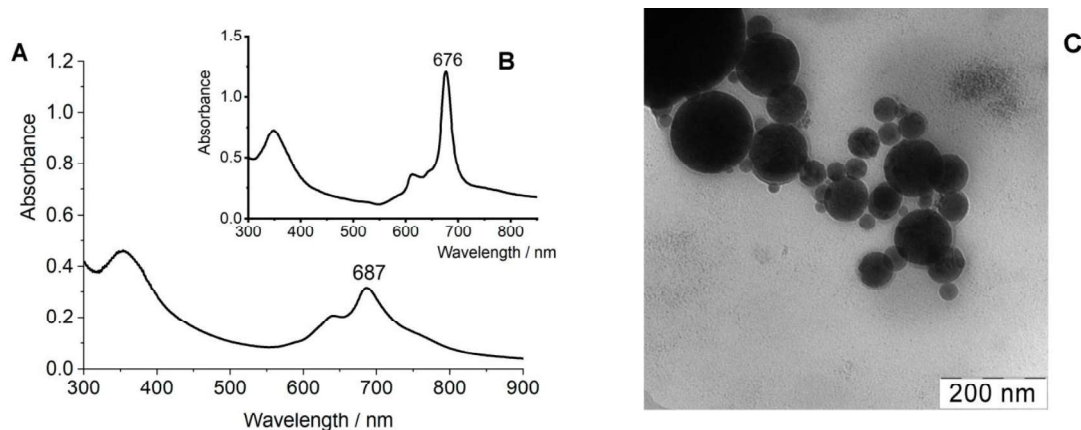


Рис. 5. ЭСП водной суспензии мицелл с внедренным октахлорзамещенным фталоцианином лютеция (А) и спектр индивидуального октахлор-замещенного фталоцианината лютеция в ТГФ (В). Изображение мицелл с внедренным октахлорзамещенным фталоцианином лютеция, полученное с помощью просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) (С).

Все вышеперечисленное делает галогензамещенные фталоцианиновые комплексы лантанидов, включенные в полилактидные мицеллы, перспективными кандидатами для формирования наноразмерных терапевтических агентов.

Изучение темновой цитотоксичности и фотодинамической активности хлорзамещенных фталоцианинатов лютеция

Фотодинамический эффект полилактидных мицелл, содержащих комплексы фталоцианинов, изучен на примере клеточной линии рака шейки матки HeLa.¹⁰ В качестве положительного контроля использовалась натриевая соль хлорина e_6 (Se_6) (Рис. 6). Себ является водорастворимым производным хлорина e_6 , активного соединения нескольких высокоэффективных фотосенсибилизаторов (*Фотодитазин*, *Фотолон*), используемых в настоящее время в клинической практике. Для исследования выбран фталоцианин проявивший лучшее значение выхода генерации синглетного кислорода и максимум поглощения которого наиболее смещен к границе видимая/ближняя ИК область – перхлорированный фталоцианин лютеция. Также для сравнения использовался октахлор-замещенный фталоцианин лютеция.

Перед началом проведения экспериментов было показано, что «пустые» мицеллы, не содержащие фотосенсибилизатор, не проявляют цитотоксичности ни в темноте, ни после облучения (Рис.6, Таблица 5).

Соединение Se_6 показало умеренную темновую токсичность в клетках HeLa (Рис. 7А); его доза IC_{50} составила 13.4 ± 1.1 мкМ (Таблица 6). Мицеллы с комплексами показали более выраженную темновую токсичность; их значения IC_{50} составили около 1.3-1.4 мкМ.

Мицеллы с комплексом $Cl_8PcLuOAc$ показали значительно более эффективное фототоксическое действие – IC_{50} составила 0.22 ± 0.09 . Мицеллы с комплексом $Cl_{16}PcLuOAc$ показали еще более эффективное фототоксическое действие ($IC_{50} = 0.11 \pm 0.03$ мкМ).

¹⁰ Изучение темновой и фотоцитотоксичности производилось к.б.н. Рыбкиным А.Ю. (Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка)

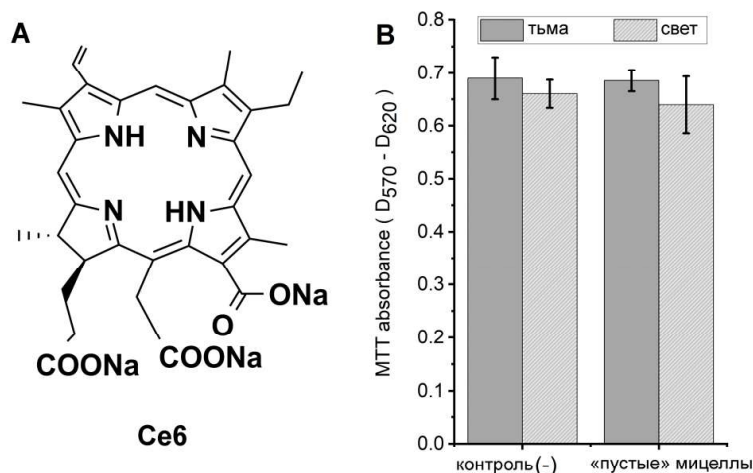


Рис.6. Структура натриевой соли хлорина e_6 (A) и данные МТТ теста для клеточной линии HeLa после облучения (свет) и без облучения (тьма) (B): отрицательный контроль – контроль (-) (клетки без добавления фотосенсибилизатора); клетки с добавлением мицелл - "пустые" мицеллы, 0.21 мг/мл.

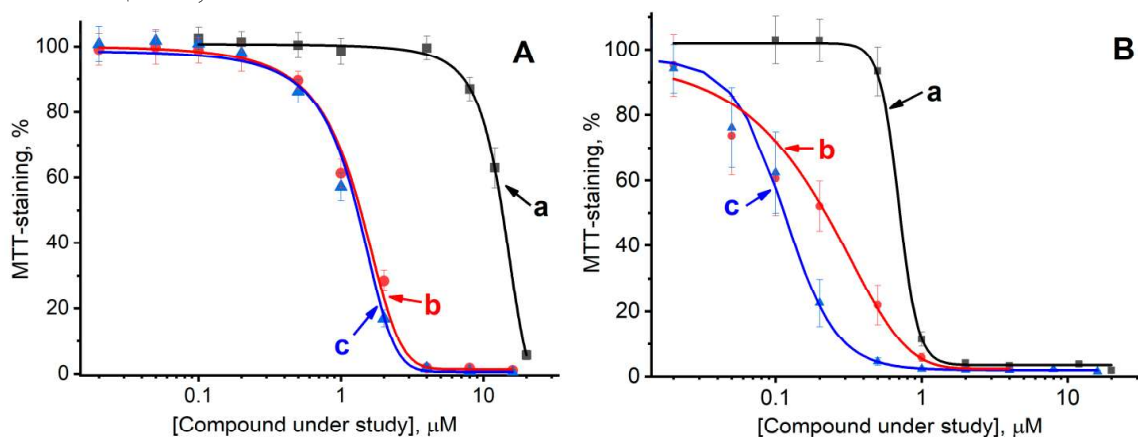


Рис.7. Фототоксичность исследуемых соединений для клеточной линии HeLa в темноте (A) и при 30–минутном облучении светом $\lambda > 630$ нм (B): а – Ce_6 ; б – мицеллы с комплексом $Cl_8PcLuOAc$; в – мицеллы с комплексом $Cl_{16}PcLuOAc$.

Таблица 6. Значения IC_{50} для темновой и фототоксичности на клеточной линии HeLa.

Соединение	Темновая цитотоксичность IC_{50} , μM	Фототоксичность IC_{50} , μM
Ce_6	13.4 ± 1.1	0.7 ± 0.13
«пустые» мицеллы	>100	>100
Мицеллы с $Cl_8PcLuOAc$	1.4 ± 0.2	0.22 ± 0.09
Мицеллы с $Cl_{16}PcLuOAc$	1.3 ± 0.18	0.11 ± 0.03

Наблюдаемое различие хорошо согласуется с квантовыми выходами синглетного кислорода - Φ_Δ для комплекса $Cl_{16}PcLuOAc$ примерно в два раза больше, чем соответствующее значение для комплекса $Cl_8PcLuOAc$ (Таблица 5).

Следует отметить, что клеточная среда с исследуемыми соединениями во всех экспериментах была удалена и заменена свежей средой непосредственно перед облучением. Поэтому фототоксический эффект мог быть вызван только фотосенсибилизаторами, которые либо накапливались в клетках, либо были встроены в их мембрану.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

1. Разработаны селективные и эффективные подходы к синтезу галогензамещенных фталоцианинатов начала (Pr, Nd), середины (Eu, Gd, Tb, Dy) и конца (Er, Yb, Lu) ряда лантанидов, начиная от стадии синтеза соответствующих нитрилов. Фталоцианиновые скаффолды декорированы галогенами, сочлененными с макрокольцом через σ -связь и через арилокси-группу.
2. Показано, что на линейные оптические свойства большее влияние оказывает природа периферических групп. Смещение максимума поглощения в область увеличения прозрачности биологических тканей вплоть до 700 нм наблюдается при переходе от окта- к гексадекагалоген-замещенным комплексам, а также в ряду заместителей $F < Cl < Br < I$.
3. Показано, что галогензамещенные фталоцианинаты Nd(III), Pr(III) и Eu(III) перспективны для использования в качестве оптических ограничителей мощного лазерного излучения благодаря наличию у них эффекта обратного насыщения поглощения и пороговых значения интенсивности падающего излучения.
4. Обнаружено, что способность к генерации двух видов активных форм кислорода (синглетный кислород и супероксид анион-радикал) галогензамещенными фталоцианинатами лютеция изменяется в ряду заместителей Cl, Br, I в противоположных направлениях. Иод-замещенный фталоцианин лютеция $I_8PcLuOAc$, наиболее эффективно генерирует 1O_2 ($\Phi_\Delta=0.45$), а хлорзамещенный фталоцианин $Cl_8PcLuOAc$ эффективнее генерирует супероксид анион-радикал.
5. Выявлено наиболее активное соединение – гексадекахлорзамещенный фталоцианинат лютеция, который обладает необходимыми качествами фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии: интенсивным максимумом поглощения на границе видимого и ближнего ИК диапазонов (700 нм), хорошим выходом генерации синглетного кислорода ($\Phi_\Delta=0.54$).
6. Проведенные *in vitro* эксперименты по определению цитотоксичности показали, что солюбилизированные в биоразлагаемые полилактидные мицеллы хлорзамещенные фталоцианинаты лютеция проявляют фотоцитотоксичность по отношению к клеточной линии рака шейки матки HeLa. При этом мицеллы с соединением $Cl_{16}PcLuOAc$ продемонстрировали фотодинамическую активность в несколько раз больше ($IC_{50} = 0.11 \pm 0.03$ мкМ), чем у хориона e_6 ($IC_{50} = 0.7 \pm 0.13$ мкМ), который входит в состав препаратов для ФДТ, применяющихся на практике.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях

Публикации в журналах Scopus, Web of Science, RSCI, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ:

1. **Elena A. Kuzmina (Gorbunova)**, Tatiana V.Dubinina, Pavel N.Vasilevsky, Mikhail S.Saveliev, Alexander Yu.Gerasimenko, Nataliya E.Borisova, Larisa G.Tomilova, Novel octabromo-substituted lanthanide(III) phthalocyanines – Prospective compounds for nonlinear optics // *Dyes and Pigments*, **2021**, Vol. 185, P. 108871. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108871>., Q1, IF=4.889 (Web of Science).
2. **Elena A. Kuzmina (Gorbunova)**, Tatiana V.Dubinina, Nataliya E.Borisova, Boris N.Tarasevich, Vitaly I.Krasovskii, Ivan N.Feofanov, Alexander V.Dzuban, Larisa G.Tomilova, Planar and sandwich-type Pr(III) and Nd(III) chlorinated phthalocyaninates: Synthesis, thermal

stability and optical properties // *Dyes and Pigments*, **2020**, Vol. 174, P. 108075. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.108075>., **Q1**, IF=4.889 (Web of Science).

3. **Elena A. Gorbunova**, Darya A.Stepanova, Anton D.Kosov, Anastasia V.Bolshakova, Natalia V.Filatova, Lev R.Sizov, Alexander Y.Rybkin, Vasily V.Spiridonov, Andrey V.Sybachin, Tatiana V.Dubinina, Elena R.Milaeva, Dark and photoinduced cytotoxicity of solubilized hydrophobic octa-and hexadecachloro-substituted lutetium(III) phthalocyanines // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **2022**, Vol. 426, P. 113747. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2021.113747>., **Q1**, IF=4.291 (Web of Science).

4. M.S. Kotova, K.A. Drozdov, T.V. Dubinina, **Elena A. Kuzmina (Gorbunova)**, L.G. Tomilova, R.B. Vasiliev, A.O. Dudnik, L.I. Ryabova, D.R. Khokhlov. In situ impedance spectroscopy of filament formation by resistive switches in polymer based structures. // *Scientific reports*, **2018**, Vol. 8, P. 9080. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27332-1>., **Q1**, IF= 4.011 (Web of Science).

5. **Elena A. Kuzmina (Gorbunova)**, T. V. Dubinina and L. G. Tomilova, Recent advances in chemistry of phthalocyanines bearing electron-withdrawing halogen, nitro and N-substituted imide functional groups and prospects for their practical application // *New Journal of Chemistry*, **2019**, Vol. 43, P. 9314-9327. <https://doi.org/10.1039/C9NJ01755K>., **Q1**, IF=3.288 (Web of Science).

6. **Elena A. Kuzmina (Gorbunova)**, Tatiana V.Dubinina, Alexander V.Dzuban, Vitaly I.Krasovskii, Olga A.Maloshitskaya, Larisa G.Tomilova, Perchlorinated europium, terbium and lutetium mono(phthalocyaninates): Synthesis, investigation of thermal stability and optical properties // *Polyhedron*, **2018**, Vol. 156, P. 14-18. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.08.076>., **Q2**, IF = 2.290 (Web of Science).

7. **Elena A. Kuzmina (Gorbunova)**, Tatiana V.Dubinina, Anton V.Zasedatelev, Anton V.Baranikov, Maria I.Makedonskaya, Tolganay B.Egorova, Larisa G.Tomilova, Hexadecachloro-substituted lanthanide(III) phthalocyaninates and their hybrid conjugates with gold nanoparticles: Synthesis and optical properties // *Polyhedron*, **2017**, Vol. 135, P. 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.06.048>., **Q2**, IF = 2.119 (Scopus, Web of Science).

8. **Elena A. Kuzmina (Gorbunova)**, Tatiana V. Dubinina, Nataliya E. Borisova, and Larisa G. Tomilova, Octachloro- and Hexadecafluoro-Substituted Lanthanide(III) Phthalocyaninates: Synthesis and Spectral Properties // *Macroheterocycles*, **2017**, Vol. 10, P. 520-525. doi: 10.6060/mhc171253d, **Q4**, IF = 1.085 (Web of Science).

Другие публикации:

1. **Кузьмина Е.А. (Горбунова)**, Дубинина Т.В., Томилова Л.Г., Гексадекахлорзамещенные фталоцианинаты лантанидов и гибриды с наночастицами Au: синтез, исследование оптических свойств // сборник тезисов докладов V Международной конференции «Супрамолекулярные системы на поверхности раздела», Туапсе, Россия, Стр. 43, **2017**.

2. **Кузьмина Е.А. (Горбунова)**, Окта- и гексадекагалогензамещенные фталоцианинаты лантанидов (III): синтез, оптические свойства и гибридные материалы на их основе // Материалы IX научной конференции молодых ученых «Инновации в химии: достижения и перспективы» Стр. 619, [Электронный ресурс] / М.: Издательство «Перо», Москва, **2018**.

3. **Kuzmina E.A. (Gorbunova)**, Tomilova L.G., Krasovskii V.I., Dubinina T.V., Perchlorinated europium, terbium and lutetium mono(phthalocyaninates): synthesis and

investigation of physicochemical properties // Book of abstracts The Fifth International Scientific Conference, Vol. 2, P. 83, Moscow, RUDN University, **2018**.

4. **Kuzmina E.A. (Gorbunova)**, Tomilova L.G., Borisova N.E., Dubinina T.V., Halogen-substituted lanthanide (III) phthalocyaninates: synthesis and optical properties // book of abstracts Tenth International Conference On Porphyrins & Phthalocyanines (ICPP-10), P.502, Munich, Germany, **2018**.

5. **Кузьмина Е.А. (Горбунова)**, Котова М.С., Косов А.Д., Хлорзамещенные фталоцианинаты лантанидов планарного и сэндвичевого типа: синтез и оптические свойства // Школа-конференция для молодых ученых «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (с международным участием): тезисы докладов, Стр. 100, ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия, **2019**.

6. **Кузьмина Е.А. (Горбунова)**, Фталоцианиновые комплексы планарного и сэндвичевого строения элементов начала ряда лантанидов: синтез, изучение физико-химических свойств // Материалы XXVI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019», секция «Химия», Стр. 588, [Электронный ресурс] / М.: Издательство «Перо», Москва, **2019**.

7. **Kuzmina E.A. (Gorbunova)**, Dubinina T.V., Tomilova L.G., Krasovskii V.I., Dzuban A.V., Borisova N.E., Synthesis, thermal stability and optical properties of chloro-substituted lanthanide(III) phthalocyaninates // International Symposium on Dyes & Pigments. Modern Colorants; The Synthesis and Applications of π -systems, Seville, Spain, **2019**.

8. **Кузьмина Е.А. (Горбунова Е.А.)**, Томилова Л.Г., Дубинина Т.В., New planar and sandwich type phthalocyanine complexes of praseodymium and neodymium: synthesis and properties // Book of abstracts XIII International Conference “Synthesis and Application of Porphyrins and Their Analogues, P.122, “Silver Plyos” Kostroma region Ivanovo, Россия, **2019**.

9. **Кузьмина Е.А. (Горбунова)**, Новые октафтор- и октабромзамещенные фталоцианинаты лантанидов (III): синтез, изучение свойств // Материалы XXVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», секция «Химия», Стр. 824, [Электронный ресурс] / М.: Издательство «Перо», Москва, **2020**.

10. **Горбунова Е.А.**, Степанова Д.А., Синтез и солубилизация окта- и гексадека-хлорзамещенных фталоцианинов лантанидов // Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2021», секция «Химия», Стр. 547, [Электронный ресурс] / М.: Издательство «Перо», Москва, **2021**.

11. **Горбунова Е.А.**, Степанова Д.А., Сыбачин А.В., Беклемишев М.К., Дубинина Т.В., Галоген-замещенные фталоцианины лантанидов: синтез и солубилизация // 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021», Том 1, стр. 344, ВолгГМУ, Волгоград, Россия, **2021**. DOI: 10.19163/MedChemRussia2021-2021-344.

12. **Горбунова Е.А.**, Галогензамещенные фталоцианины: перспективные фотосенсибилизаторы // Материалы XXIX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», секция «Химия», Стр. 472, [Электронный ресурс] / М.: Издательство «Перо», Москва, **2022**.