

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ им А.Н. НЕСМЕЯНОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

БЕЛЯЕВА Елизавета Викторовна

**ПРОИЗВОДНЫЕ ПОРФИРИНОВ, РАСТВОРИМЫЕ ВО
ФТОРУГЛЕРОДАХ, КАК ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ ДЛЯ
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА**

02.00.03 – Органическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
д.х.н. Чкаников Николай Дмитриевич

Москва – 2017

Автор выражает глубокую благодарность д.м.н. Штилю А.А. (зав. лабораторией механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина Российской академии медицинских наук) и н.с. к.б.н. Марковой А.А. (ИНЭОС РАН, лаб. ФАФТОР) за проведение биологических испытаний; д.х.н. профессору Кузьмину В.А. (зав. лабораторией процессов фотосенсибилизации ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН), а также к.х.н. Дурандину Н.А. и к.х.н. Лисицыной Е.С. за помощь в проведении спектральных исследований; с.н.с. к.ф.-м.н. Гуляеву М.В. и с.н.с. к.б.н. Силачеву Д.Н. (Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова) за проведение МРТ-исследований; с.н.с. к.ф.-м.н. Молчанову В.С. (Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова) за измерение размеров частиц эмульсий; сотрудникам ИНЭОС РАН н.с. Стрелковой Т.В. (лаб. ЯМР) за регистрацию ЯМР-спектров, с.н.с. к.х.н. Кононовой Е.Г. (лаб. ЛМС) за регистрацию электронных спектров поглощения, с.н.с. к.х.н. Иконникову Н.С. (лаб. ЛМР) и с.н.с. к.х.н. Каграманову Н.Д. (лаб. ФТОС) за регистрацию масс-спектров, а также коллективу лаборатории ФАФТОР, в которой проводилось выполнение диссертационной работы, в особенности Гервицу Л.Л., н.с. к.б.н. Марковой А.А., с.н.с. к.х.н. Сигану А.Л. и н.с. к.х.н. Гусеву Д.В. за помощь в выполнении диссертационной работы и всестороннюю поддержку.

Содержание

1.	Введение	5
2.	Список сокращений	7
3.	Литературный обзор	8
3.1.	Фотодинамическая терапия рака: основные понятия	8
3.1.1.	Механизм ФДТ	8
3.1.2.	Активные формы кислорода	10
3.1.3.	Кислород в опухоли	12
3.1.4.	Фотосенсибилизаторы для ФДТ	13
3.2.	Особенности фторсодержащих порфириноидов, как ФС для ФДТ, и перспективы их использования в смежных областях	14
3.2.1.	Улучшение базовых характеристик ФС	14
3.2.2.	Использование в качестве контрастных агентов	15
3.3.	Методы синтеза фторсодержащих порфириноидов	17
3.3.1.	Введение заместителей в β - и мезо-положения порфиринового ядра	18
3.3.1.1.	Перфторалкилиодиды	18
3.3.1.2.	Реактивы Руперта и Гриньяра	23
3.3.1.3.	Другие перфторалкилирующие агенты	24
3.3.2.	Введение заместителей в боковые цепи порфириноидов	26
3.3.2.1.	Модификация порфириноидов природного происхождения	26
3.3.2.2.	Модификация порфириноидов, содержащих пента- или тетрафторфенильный фрагмент	30
3.3.2.3.	Модификация других синтетических порфириноидов	36
3.3.3.	Сборка макроцикла из фторалкилсодержащих исходных соединений	39
3.3.3.1.	Порфирины	39
3.3.3.2.	Фталоцианины (тетраазатетрабензопорфирины)	45
3.4.	Заключение	49
4.	Обсуждение результатов	50
4.1.	Синтез фторсодержащих порфириноидов	50
4.1.1.	Дизайн фторсодержащих ФС	50
4.1.2.	Синтез мезо-полифторалкил-замещенных порфиринов	51
4.1.3.	Синтез мезо-арил-замещенных порфиринов	54
4.1.4.	Поиск подходов к синтезу хлоринов и бактериохлоринов из порфирина 3с	65

4.2.	Изучение фторсодержащих порфиринов в составе фторуглеродных эмульсий как ФС для ФДТ	70
4.2.1.	Растворимость в ПФУ и спектральные характеристики порфиринов.....	70
4.2.2.	Приготовление фторуглеродных эмульсий.....	76
4.2.3.	Исследование цитотоксичности порфиринов и эмульсий с ними	78
4.2.4.	МРТ-исследования эмульсий.....	81
4.3.	Заключение	86
5.	Экспериментальная часть	87
5.1.	Синтез	87
5.2.	Спектры.....	101
5.3.	Растворимость порфиринов	102
5.4.	Приготовление эмульсий	102
5.5.	Испытания на цитотоксичность	103
5.6.	МРТ-исследования эмульсий.....	104
6.	Выводы.....	106
7.	Список литературы.....	107

1. Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является неинвазивным методом лечения различных злокачественных новообразований и применяется в клинической практике в Российской Федерации с 1996 года. Принцип действия ФДТ основан на использовании токсичных активных форм кислорода, образующихся из молекул кислорода при облучении в присутствии препаратов-фотосенсибилизаторов (ФС). Эффективность этого метода лечения зависит не только от способности ФС к генерации активных форм кислорода, но и от содержания самого кислорода в опухолевой ткани. Ряд исследований [1, 2, 3,] показывает, что оксигенация опухоли положительно сказывается на эффективности всех видов противоопухолевой терапии (химиотерапия, радиотерапия, ФДТ). Одним из способов локальной оксигенации тканей является использование фторуглеродных эмульсий (ФУЭ), в частности препарата Перфторан® [4, 5, 6], который полностью разрешен для применения на человеке. Первоначально создаваемые как искусственные кровезаменители такие эмульсии впоследствии оказались полезны и как противошоковые, противоишемические и кардиопротекторные средства, а возможности использования ФУЭ в онкологии изучаются с 1980-х годов. Перспективность применения ФУЭ в онкологии, в частности в ФДТ, продиктована возможностью использования ФУЭ в качестве контрастного агента для диагностики методом ^{19}F -МРТ. Таким образом, появляется возможность создания мультифункциональных препаратов на основе ФУЭ, обладающих противоопухолевым действием, являющихся средством локальной оксигенации и контрастным агентом для мультисредоточной МРТ-визуализации. В качестве примера использования Перфторана в ФДТ можно привести композицию с хорошо известными ФС Радахлорином [7], использование которой показало положительные результаты в экспериментах на малых лабораторных животных. Эти композиции представляют собой смесь эмульсии Перфторан и водорастворимого ФС, где каждый компонент обладает собственными фармакокинетическими свойствами. Чтобы обеспечить одновременную локализацию ФС и фторуглерода в опухоли, мы предлагаем поместить противоопухолевый агент (ФС) внутрь наноразмерной фторуглеродной фазы. Такой шаг вместе с тем должен увеличить фотодинамическую эффективность композиции благодаря высокому содержанию кислорода во фторуглеродной фазе, что приведет к более интенсивному образованию активных форм кислорода.

Итак, **целью** данной работы является синтез фторсодержащих ФС порфиринового ряда, создание на их основе фторуглеродной эмульсионной композиции с ФС во фторуглеродной фазе, проверка эффективности этой композиции *in vitro*, а также оценка её применимости в качестве контрастного агента для ^{19}F -МРТ визуализации.

2. Список сокращений

АФК – активные формы кислорода

ГМФТА - гексаметилфосфортриамид

ДМСО - диметилсульфоксид

ДМФА - диметилформаид

ДХМ – дихлорметан

КТ – компьютерная томография

МРТ – магнитно-резонансная томография

МТТ-тест - колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток с использованием красителя 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид

ПАВ – поверхностно-активное вещество

ПМЦП - перфтор-N-(4-метилциклогексил)пиперидин

ПФД – перфтордекалин

ПФТБА - перфтортрибутиламин

ПФУ - перфторуглерод

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

РЭС – ретикулоэндотелиальная система

ТГФ – тетрагидрофуран

ТСХ – тонкослойная хроматография

УЗИ – ультразвуковое исследование

¹⁸F-ФДГ - 2-фтор-2-дезоксид-Д-глюкоза

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФС - фотосенсибилизатор

ФУЭ – фторуглеродная эмульсия

DDQ - 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон

EDC - 1-{3-(N,N- диметиламино)пропил}-3-этилкарбодиимид

FBC - Fluorous Biphasic Catalysis

GE – градиентно эхо

SE - спиновое эхо

TF₂₀PPH₂ – *мезо*-тетраakis(пентафторфенил)порфирин

IC₅₀ – показатель цитотоксичности, концентрация соединения, при которой достигается гибель 50% клеток в культуре

3. Литературный обзор

В этой главе будет рассмотрена роль фторсодержащих порфириноидов в Фотодинамической терапии рака (ФДТ), методы синтеза таких соединений, а также свойства, обусловленные наличием в их структуре атомов фтора или фторсодержащих фрагментов. Прежде чем приступить к рассмотрению свойств и методов синтеза, кратко остановимся на механизме ФДТ и основных понятиях, используемых для его описания.

3.1. Фотодинамическая терапия рака: основные понятия

3.1.1. Механизм ФДТ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является высокоэффективным методом для избирательного разрушения опухолей. Впервые метод был реализован в 1975 году [8] и впоследствии получил широкое распространение в США, Европе, Китае и Японии, а с 1996 применяется в Российской Федерации.

ФДТ является бинарным методом химиотерапии, при использовании которого цитотоксический эффект достигается посредством взаимодействия двух нетоксичных активных начал - фотосенсибилизатора (ФС) и лазерного излучения. Упрощенная схема процесса проведения ФДТ показана на Рисунке 1. После введения в организм ФС и достижения его необходимого содержания в опухолевой ткани ее облучают видимым светом подходящей длины волны. При облучении происходит фотовозбуждение молекулы ФС, которая дезактивируется с образованием высокорекреационноспособных частиц. Эти частицы оказывают токсическое воздействие на опухолевые клетки, приводя к их гибели. Выделяют три типа дезактивации: по первому и второму образуются активные формы кислорода (АФК), по третьему сам ФС в возбужденном состоянии оказывает токсическое воздействие [9].

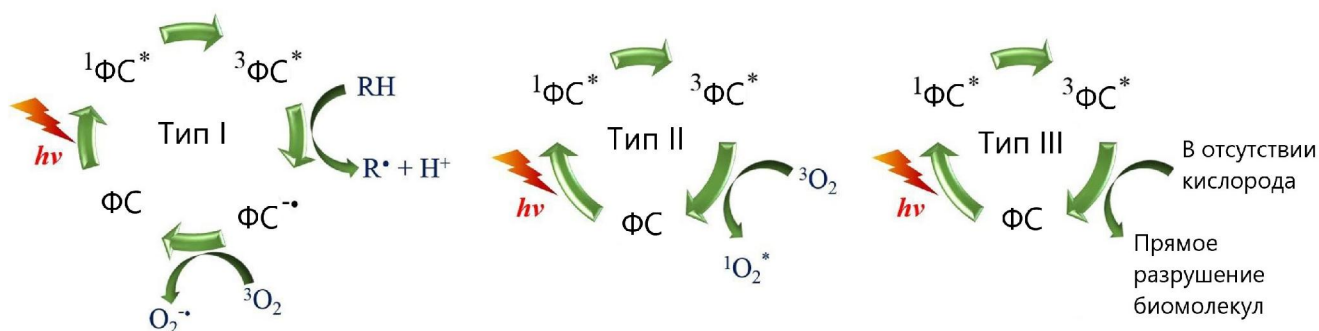
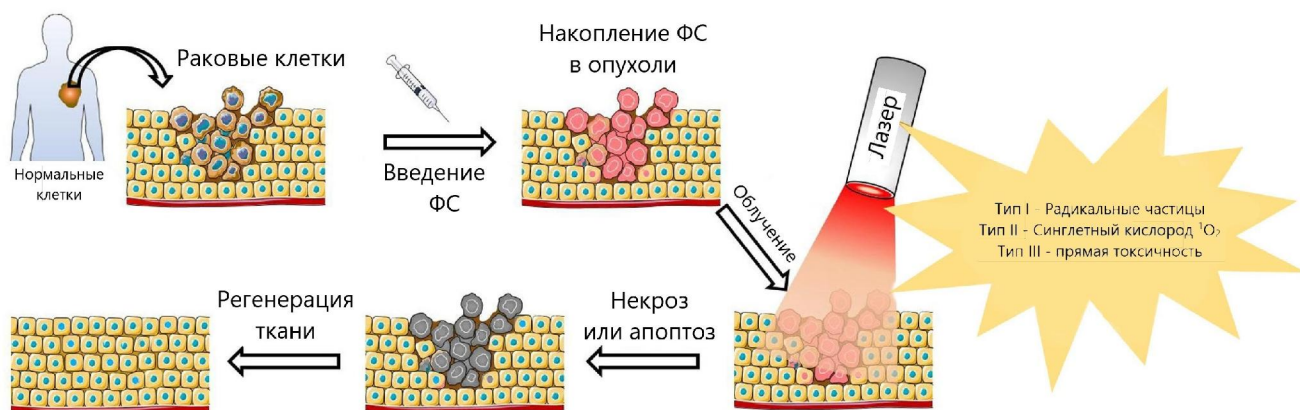


Рисунок 1. $^1\text{ФС}^*$ - ФС в возбужденном синглетном состоянии, $^3\text{ФС}^*$ - ФС в возбужденном триплетном состоянии, $^3\text{O}_2$ – кислород в основном триплетном состоянии, $^1\text{O}_2$ –кислород в возбужденном синглетном состоянии, $\text{O}_2^{\bullet -}$ - анион-радикал кислорода (или супероксид-анион)

Ряд биомолекул, входящих в состав мембран (ненасыщенные жирные кислоты, холестерин, боковые цепи альфа-аминокислот –триптофана, метионина, гистидина), активно реагируют с АФК , что позволяет рассматривать их в качестве наиболее вероятных мишеней. Более подробно процессы, происходящие с клеткой во время проведения ФДТ, обсуждаются в ряде статей и обзоров [10, 11, 12, 13].

Основным преимуществом при применении метода ФДТ является избирательное разрушение опухолевой ткани при отсутствии системного (общего) воздействия на организм, характерного для химиотерапии. Ограничением метода является небольшая глубина проникновения видимого света через живые ткани. Литературные источники дают различные оценки глубины проникновения света, но в одном они единогласны – максимальные значения (от 2-х до 7 мм) наблюдаются при использовании излучения с длиной волны от 630 нм, т.е. «красного» и ближнего ИК-диапазона [14]. В настоящее время в клинической практике используют облучение «красным светом» - 630-650 нм. Большое количество исследований в настоящий момент направлено на разработку ФС с длинноволновым поглощением (до 800 нм), но они пока находятся на различных этапах предклинических и клинических испытаний.

3.1.2. Активные формы кислорода

Под понятием АФК подразумевается ряд высоко реакционноспособных частиц, образующихся при фотосенсибилизированном воздействии на молекулы кислорода. По механизму образования их условно можно разделить на два типа (см. Рисунок 1): частицы, образованные путем переноса электрона (I тип) и путем переноса энергии (II тип). АФК, образованные по первому типу, представляют собой частицы радикальной природы, преимущественно образующиеся в водной среде при распаде нестабильных продуктов реакции с синглетным кислородом ($^1\text{O}_2$). К частицам, которые удалось надежно идентифицировать и охарактеризовать, относятся анион-радикал кислорода ($\text{O}_2^{\circ -}$) и гидроксильный радикал (HO°). Они обладают коротким временем жизни и дают начало каскаду радикальных превращений [12]. По второму типу образуется только одна частица - молекула кислорода в синглетном состоянии ($^1\text{O}_2$). Принято считать, что в процессе ФДТ основным типом АФК является именно $^1\text{O}_2$. Его образование схематично показано на Рисунок2 – облучение ФС приводит к его переходу сначала в возбужденное синглетное состояние ($^1\text{ФС}^*$), затем в триплетное ($^3\text{ФС}^*$), которое дезактивируется с переносом энергии на молекулу кислорода в основном триплетном состоянии ($^3\text{O}_2$), переводя ее в возбужденное синглетное состояние ($^1\text{O}_2$). Побочными процессами в данном случае являются флуоресценция и фосфоресценция, т.е. излучательный переход $^1\text{ФС}^*$ и $^3\text{ФС}^*$ в основное состояние, при этом $^1\text{O}_2$ не образуется.

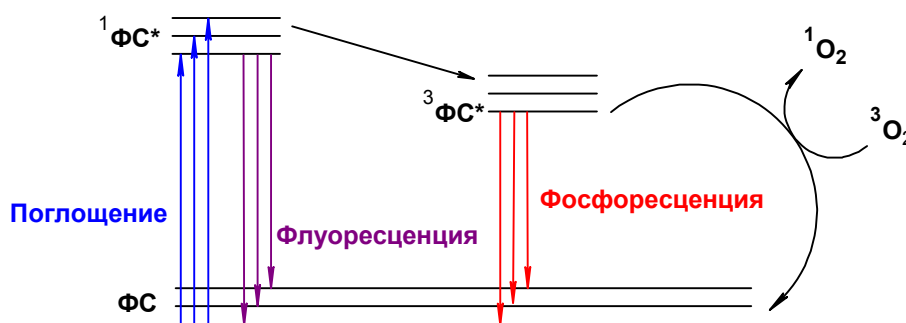


Рисунок 2. $^1\text{ФС}^*$ - ФС в возбужденном синглетном состоянии, $^3\text{ФС}^*$ - ФС в возбужденном триплетном состоянии

Сведения о химических превращениях различных органических соединений под действием $^1\text{O}_2$ можно найти в обзоре Clennan [10]. Как правило, взаимодействие с $^1\text{O}_2$ сводится к трем типам превращений: циклоприсоединению к ненасыщенным С-С связям, образованию гидропероксидов или окисей гетероатомов, последующие трансформации которых весьма разнообразны.

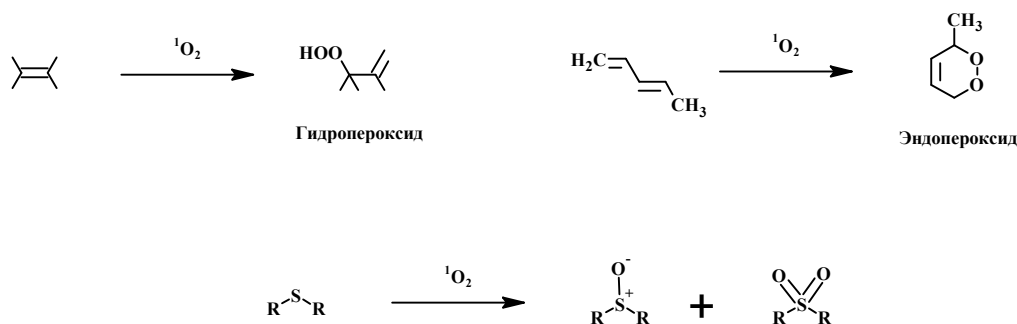


Схема 1.

В обзоре Devasagayam, Thomas P A Kamat, Jayashree P. [11] подробно описано действие синглетного кислорода на различные биомолекулы. Наиболее восприимчивыми к окислению являются липиды клеточных мембран. Входящие в их состав ненасыщенные жирные кислоты реагируют с $^1\text{O}_2$ с образованием гидропероксидов, которые в свою очередь запускают каскад окислительно-восстановительных процессов, приводящих к разрушению клеточной мембраны. Ненасыщенный фрагмент молекулы холестерина тоже подвергается окислению, причем продукты реакции будут зависеть от типа АФК. Таким образом, появляется возможность определить приблизительное соотношение различных АФК при фотосенсибилизации. Среди аминокислот, наиболее подверженных окислению, выделяют гистидин, триптофан, метионин и тирозин. При их взаимодействии с $^1\text{O}_2$ образуются сульфоксиды и нестабильные эндопероксиды, являющиеся токсичными для биологических объектов. Также окислению подвержена и ДНК, при этом происходит разрыв нитей или модификация азотистых оснований. В зависимости от места накопления ФС в клетке (в ядре, в органеллах или на мембране) и интенсивности облучения механизмом гибели может быть некроз (накопление вблизи мембраны), апоптоз (программируемая гибель клетки) и смешанные типы [15].

В качестве одного из основных критериев отбора потенциальных ФС рассматривается эффективность генерации АФК, которая количественно выражается в концентрации АФК, образующихся при облучении. В большинстве работ принято измерять содержание $^1\text{O}_2$, используя для его количественного определения спектральные методы, основанные на прямом измерении интенсивности флуоресценции и фосфоресценции или времени жизни $^1\text{O}_2$, или на косвенном определении – по флуоресценции продуктов взаимодействия различных красителей с $^1\text{O}_2$ [11]. Способы количественного определения других видов АФК достаточно подробно рассмотрены в обзоре Paul Held [12].

3.1.3. Кислород в опухоли

Растворенный или связанный кислород присутствует в том или ином количестве во всех тканях живого организма. Недостаток кислорода по сравнению со средним уровнем называют гипоксией, которая может быть «острой» (при временном сокращении кровоснабжения) или «хронической» (при метаболических нарушениях, в том числе вызванных растущей опухолью). Считается, что гипоксия вблизи и внутри опухоли обусловлена ускоренным метаболизмом питательных веществ и слишком быстрым ростом опухоли, из-за которого сосудистая система характеризуется наличием множественных дефектов и не может своевременно обеспечивать кислородом окружающие ткани. В состоянии гипоксии опухоль претерпевает ряд изменений: клетки переходят на анаэробный тип дыхания, что способствует «закислению» опухоли и окружающих тканей. В условиях недостатка питательных веществ скорость мутации раковых клеток возрастает – опухоль становится более злокачественной, увеличивается вероятность метастазирования. Такие изменения значительно снижают эффективность противоопухолевой терапии всех видов – радиационной, химической и фотодинамической, а также уменьшают среднюю продолжительность жизни пациента [16].

Для количественной оценки уровня кислорода в тканях, а, следовательно, и идентификации гипоксии на настоящий момент предложено большое количество методов, которые принято делить на три группы – прямые, эндогенные и физиологические методы. До сих пор самым надежным и распространенным методом является прямое измерение содержания кислорода с помощью электрода Кларка. Также для клинического применения разрешены такие методы, как компьютерная томография с контрастом, УЗ-исследование (с применением эффекта Доплера) и спектрофотометрический метод. Более подробную информацию обо всех существующих методах оксиметрии можно найти в обзоре [16].

Основным способом преодоления гипоксии на настоящий момент является вдыхание пациентом газовой смеси, обогащенной кислородом, или использование кислородных гипербарических камер. Такой способ оказывает системное воздействие, повышая уровень кислорода во всем организме. Влияние дополнительной оксигенации на эффективность проведения ФДТ изучалось в работах Henderson [17] и Chen [18]. В частности, при использовании в качестве ФС широко распространенного препарата Фотофрина авторами было отмечено, что степень повышения эффективности ФДТ при дополнительной оксигенации зависит от локализации опухоли, и сделан вывод о необходимости учета этого фактора при выборе способа оксигенации.

Подробное исследование провели Nielsen и сопр. [19], авторы которого оценивали эффективность проведения ФДТ, варьируя различные параметры: уровень оксигенации

опухолевой ткани, тип опухоли, длину волны возбуждающего света. В качестве противоопухолевого препарата авторы использовали предшественник ФС – аминолевулиновую кислоту. Выяснилось, что глубина проникновения света в ткань зависит от уровня оксигенации неравномерно. Так, например, при возбуждении светом с $\lambda \approx 410$ нм глубина проникновения увеличивалась с ростом концентрации кислорода, а при использовании света $\lambda \approx 630$ нм – наоборот уменьшалась.

Перспективным способом оксигенации тканей в настоящее время является использование фторуглеродных эмульсий (ФУЭ). Однако исследования эффективности применения ФУЭ именно в ФДТ пока отрывочны и противоречивы [20, 21, 22, 23, 24, 25].

3.1.4. Фотосенсибилизаторы для ФДТ

Фотосенсибилизатор (ФС) представляет собой вещество, способное поглощать световую энергию и перенаправлять ее на осуществление каких-либо химических или фотохимических превращений. Как уже отмечалось, в случае ФДТ этими превращениями является образование различных АФК.

В процессе развития метода ФДТ исследователи пришли к выводу, что соединения, подходящие для использования в качестве ФС должны обладать следующими характеристиками:

- максимум поглощения в "красной" области видимого света и значительный коэффициент экстинкции
- высокую эффективность генерации АФК
- устойчивость к окислению под действием АФК
- низкую «темновую» токсичность (собственная токсичность соединения без воздействия света) по отношению к органам и тканям организма
- доступные методы получения или синтеза

подавляющее большинство ФС, используемых в настоящее время или проходящих различные фазы предклинических и клинических испытаний, относятся к соединениям класса порфириноидов.

Порфириноиды являются большим семейством макрогетероциклических систем (Рисунок 3) и представляют собой 16-членные макроциклы, состоящие из четырех пиррольных фрагментов, соединенных метиновыми или азотными мостиками. Такие молекулы содержат один или два сопряженных ароматических контура, обеспечивающих сильное поглощение света в видимой области спектра.

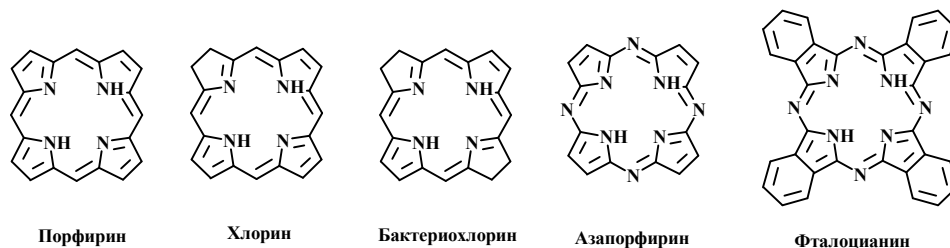


Рисунок 3. Основные типы порфириноидов.

Многие представители этого класса входят в состав биомолекул, таких как, гемоглобин, хлорофилл, витамин В₁₂ и др.. Природные порфирины и их синтетические аналоги обладают исключительной устойчивостью к нагреванию и окислению, образуют металлокомплексы со многими металлами и некоторыми неметаллами. Соединения класса порфириноидов с высокой эффективностью способствуют генерации АФК, редко оказывают токсическое воздействие на организм при отсутствии облучения светом, устойчивы при хранении и введении в организм, т.е. соответствуют перечисленным критериям, необходимым для использования в качестве ФС для ФДТ. Преимущества и недостатки основных ФС на базе порфириноидов рассмотрены в различных обзорах [26, 27, 28, 29, 30]. Наиболее актуальная информация по разрешенным и проходящим предклинические испытания ФС класса порфириноидов представлена в обзоре Abrahamse [31].

3.2. Особенности фторсодержащих порфириноидов, как ФС для ФДТ, и перспективы их использования в смежных областях

3.2.1. Улучшение базовых характеристик ФС

В последнее время появляется все больше работ, посвященных изучению фторсодержащих порфириноидов не только в качестве потенциальных ФС для ФДТ, но и для использования в других областях науки и техники – контрастных реагентов, моделей для изучения поведения природных порфиринов, катализаторов, материалов для фотовольтаических элементов и различных сенсоров. Такой интерес связан с рядом преимуществ и дополнительных функций, обусловленных введением атомов фтора или фторуглеродных заместителей в структуру фотосенсибилизатора.

Важным для ФС свойством является устойчивость к окислению АФК, генерируемым в процессе ФДТ. Соответственно особое внимание уделяется изучению электрохимического

поведения фторсодержащих порфириноидов, преимущественно порфиринов и их металлокомплексов. Показано, что введение в структуру порфиринового ядра атомов фтора или фторуглеродных заместителей значительно повышает потенциал окисления молекулы по сравнению с нефторированными аналогами [32, 33, 34, 35].

DiMagno и сотр. показали, что порфирины с перфторалифатическими заместителями не подвержены окислению как синглетным кислородом, так и пероксидами в течение длительного времени [36]. Nakazono и сотр. в процессе разработки и испытаний катализаторов фотоокисления воды выяснили, что введения даже небольшого количества атомов фтора в молекулу порфирина достаточно, чтобы исключить влияние кислорода на эффективность катализатора [37].

Smirnov и сотр. показали, что фторсодержащие заместители в металлопорфинах способствуют увеличению квантового выхода синглетного кислорода по сравнению с нефторированными аналогами [38].

Введение полифторалифатических заместителей в большей степени, чем алифатических, способствует увеличению липофильности молекулы. Это является весьма распространенным приемом при разработке лекарственных препаратов для улучшения их проникновения через клеточную мембрану [39]. Кроме того объемные перфторалифатические заместители используют для предотвращения образования агрегатов в растворе, т.к. они уменьшают межмолекулярное взаимодействие и способствуют лучшей сольватации.

3.2.2. Использование в качестве контрастных агентов

Контрастные агенты – это вещества, которые вводят в организм для визуализации внутренних органов без оперативного вмешательства различными диагностическими методами (рентген, УЗИ, МРТ, КТ, ПЭТ и т.д.). В настоящее время все более активно в качестве контрастных агентов для таких методов, как **магнитно-резонансная томография (МРТ)** и **позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ)** используются фторсодержащие соединения.

МРТ является одним из основных современных методов диагностики в медицинской практике и позволяет получать, как 2D, так и 3D изображения всего тела и отдельных внутренних органов. Этот метод визуализации основан на эффекте ядерного магнитного резонанса – изображение получается посредством сканирования электромагнитных волн, испускаемых ядрами атомов водорода при возбуждении постоянным магнитным полем высокой напряжённости. В свою очередь использование наложения сигналов от ^1H и ряда других ядер (^{13}C , ^{23}Na , ^{31}P и ^{19}F), позволяет реализовать мультаядерные МРТ-исследования с визуализацией т.н. «двухцветных» изображений. Наиболее привлекательным для

мультиядерных МРТ-исследований по всем параметрам является изотоп ^{19}F (см. табл. 1), так как он почти не содержится в организме, имеет практически 100%-ную изотопную распространенность в природе, его физические параметры (спиновое квантовое число, гиромагнитное отношение, относительная чувствительность) близки к соответствующим характеристикам изотопа ^1H .

Таблица 1. Основные характеристики изотопов, используемых в МРТ-исследованиях

Изотоп	Гиромагнитное отношение (МГц/Тл)	Спиновое квантовое Число	Относительное содержание	Относительная чувствительность
^1H	42,6	$\frac{1}{2}$	99	1,0
^{13}C	10,7	$\frac{1}{2}$	1,1	0,016
^{17}O	5,8	$\frac{5}{2}$	0,1	0,029
^{19}F	40,0	$\frac{1}{2}$	100	0,83
^{23}Na	11,3	$\frac{3}{2}$	100	0,093
^{31}P	17,2	$\frac{1}{2}$	100	0,07

Таким образом, фотосенсибилизаторы, содержащие в структуре фторные заместители, помимо своей основной функции могут также использоваться для диагностики опухолей и очагов воспаления методом ^{19}F -МРТ. Основные достижения в этой области, а также перспективы её развития весьма подробно изложены в обзорах [40, 41].

Возможность контролировать содержание фторированных ФС и следить за их перемещениями в организме является весьма ценным дополнением к существующим методам диагностики опухолей. Однако использование такого метода возможно лишь при наличии достаточного количества атомов фтора (желательно магнитно эквивалентных или обладающих близкими химическими сдвигами) в молекуле ФС. Примеры тетрапиррольных макроциклов, использовавшихся для визуализации методами ^{19}F -МРТ и ^{18}F -ПЭТ, рассмотрены в обзоре [42] и в статье [43].

Не менее востребованным методом диагностики опухолей является **Позитронно-эмиссионная томография** на ядрах ^{18}F (^{18}F -ПЭТ). Контрастные препараты на основе ^{18}F считаются наиболее удобными для ПЭТ, так как период полураспада ядер ^{18}F составляет 110 мин (на порядок больше, чем у других используемых радионуклидов). Поэтому весьма актуальным направлением в химии фторсодержащих порфириноидов является поиск быстрых и приводящих к высоким выходам методов введения изотопной метки ^{18}F . Отработка таких методик позволит создавать многофункциональные препараты, обладающие лечебной и диагностической функциями. В настоящее время уже опробовано несколько синтетических методов введения изотопа ^{18}F в структуру порфириноидов (Рисунок .4) [44, 45, 46, 47]. а

некоторые из полученных образцов были опробованы в качестве контрастных агентов *in vitro* [47] и *in vivo* [46].

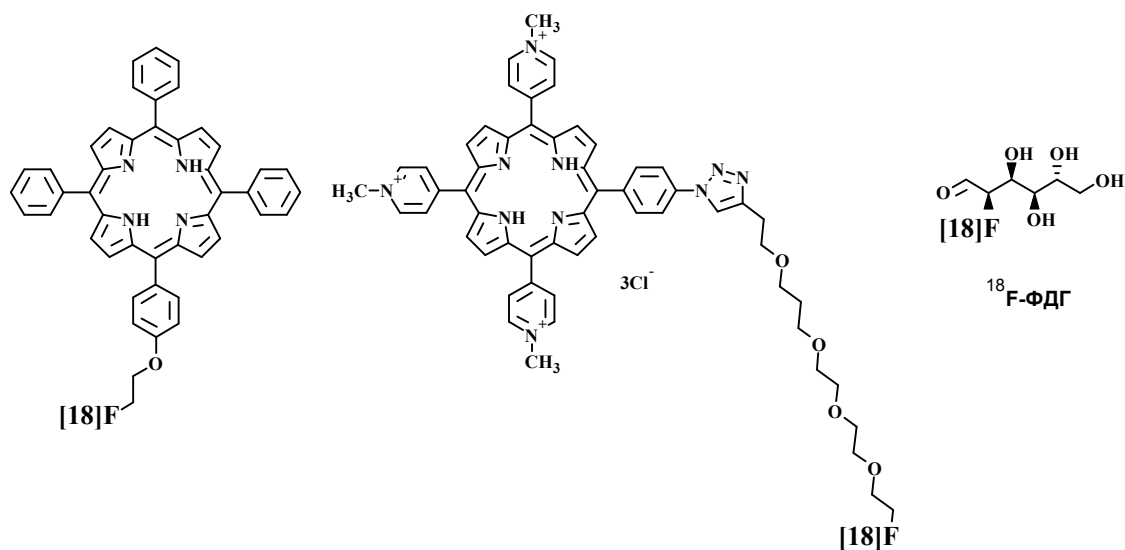


Рисунок 4. Контрастные агенты для ¹⁸F-ПЭТ порфиринового типа (в стадии изучения) и ¹⁸F-ФДГ (2-фтор-2-дезоксид-Д-глюкоза) (полностью разрешена для применения на человеке)

Тем не менее, пока наиболее доступным контрастным препаратом является ¹⁸F-ФДГ (2-фтор-2-дезоксид-Д-глюкоза), синтез которого тщательно отработан. ¹⁸F-ФДГ также обладает дополнительным неоспоримым преимуществом - способностью быстро накапливается в опухоли за счет гипергликолиза, свойственного для большинства раковых новообразований.

3.3. Методы синтеза фторсодержащих порфириноидов

Методы синтеза фторсодержащих порфириноидов подразделяются на два основных типа: введение в структуру макроцикла атомов фтора или фторсодержащих функциональных групп и сборка макроцикла из фторсодержащих исходных соединений. Прямое фторирование порфириноидов практически не используется, примеров использования молекулярного фтора для синтеза порфиринов в литературе не найдено, есть лишь упоминание о получении полностью фторированного порфирина с помощью фторидов серебра и кобальта [48].

3.3.1. Введение заместителей в β- и мезо-положения порфиринового ядра

Из всего класса порфириноидов реакции по β-положению пиррольного цикла свойственны, в основном, порфиринам, причем это может быть не только замещение атома водорода или галогена, но и присоединение по "квазидвойной" связи пиррольного цикла с образованием хлорина. Замещение по С-Н- и С-Нal- связям проводят традиционными перфторалкилирующими агентами, чаще всего перфторалкилиодидами в присутствии меди и ряда других переходных металлов. Для получения структур хлоринового типа используют присоединение реактива Руперта или Гриньяра к карбонильной группе. Ниже представлены примеры реакций, сгруппированные по типу перфторалкилирующего (арилирующего) агента.

3.3.1.1. Перфторалкилиодиды

Chen и сотр. разработали ряд методов алкилирования порфиринов и их металлокомплексов перфторалкилиодидами.

Первый способ, предложенный авторами, заключается в перфторалкилировании мезо-тетраарилпорфиринов **1** избытком перфторалкилиодида в присутствии смеси дитионита и гидрокарбоната натрия – так называемый метод сульфинатодегалогенирования (Схема 2).

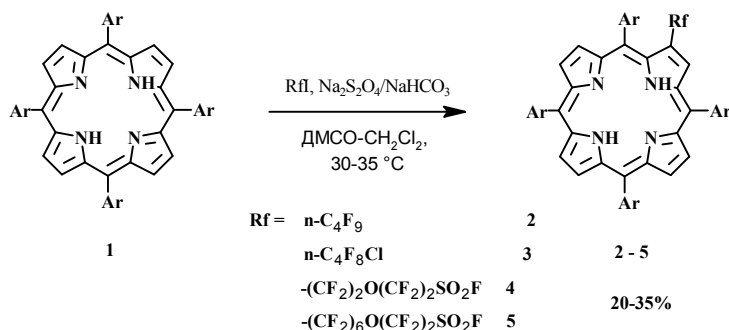


Схема 2.

Предполагаемый авторами механизм этого превращения состоит в следующем: перфторалкилиодид взаимодействует с анион-радикалом $\text{SO}_2^{\cdot-}$, образовавшимся при разложении дитионита натрия, и генерирует перфторуглеродный радикал Rf^{\cdot} , который атакует β-положение пиррольного цикла порфирина. Выходы перфторалкил-замещенных порфиринов **2-5** составляли 20-35%. Помимо основного продукта реакции, наблюдалось также образование хлорина в следовых количествах [49].

Данный метод был позднее использован теми же авторами для модификации 5,15-дифенилпорфирина с двумя свободными мезо-положениями и его комплекса с цинком (**6**) (Схема 3). Они показали, что при использовании эквимольного количества

перфторалкилиодида атака идет преимущественно по *мезо*-положению - выход *мезо*-замещенных металлопорфиринов **7a-d** составлял 30-45%, а β -замещенных продуктов **8a-d** - 5-10%. Небольшое различие в региоселективности наблюдалось между свободными порфиринами и их металлокомплексами. Например, при перфторалкилировании металлопорфирина **6** и его свободного основания продукты *мезо*- и β -алкилирования были выделены в соотношении 8:1 и 2:1 соответственно. Перфторалкилирование замещенного металлопорфирина **9** не показало никакой региоселективности - продукты *мезо*- и β -алкилирования **10** и **11** получались в соотношении 1:1 при действии как эквимолярного количества перфторалкилиодида, так и 3-х кратного избытка [50].

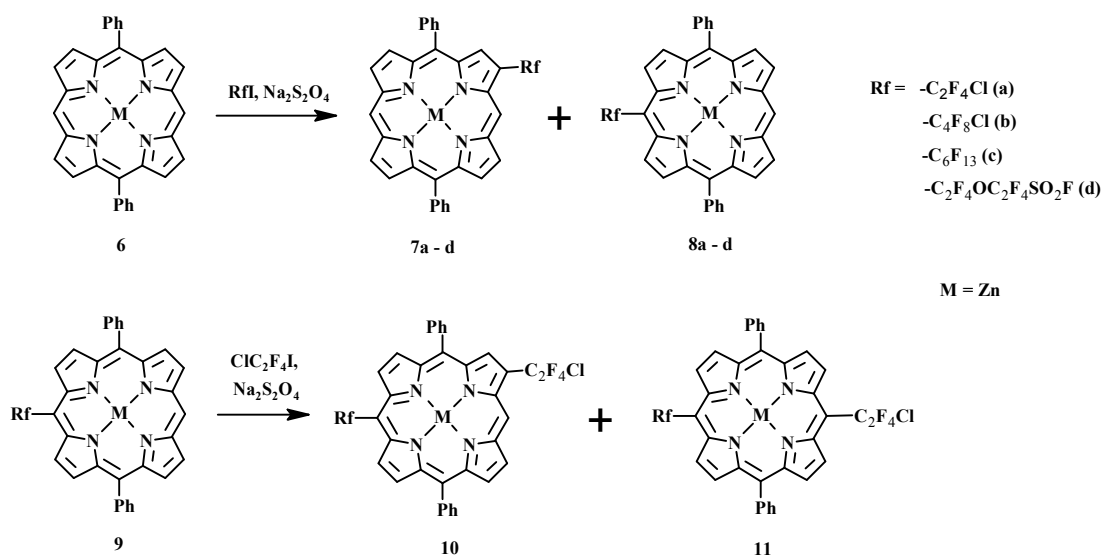


Схема 3.

Кроме того, в процессе перфторалкилирования порфирина **6** наблюдается образование не только ожидаемых перфторалкилированных порфиринов **13a-b**, но и побочных продуктов **14a-b**, которые без выделения могут быть превращены в алкены путем отщепления HF под действием основания, что показано на примере синтеза соединения **12** (Схема 4) [51].

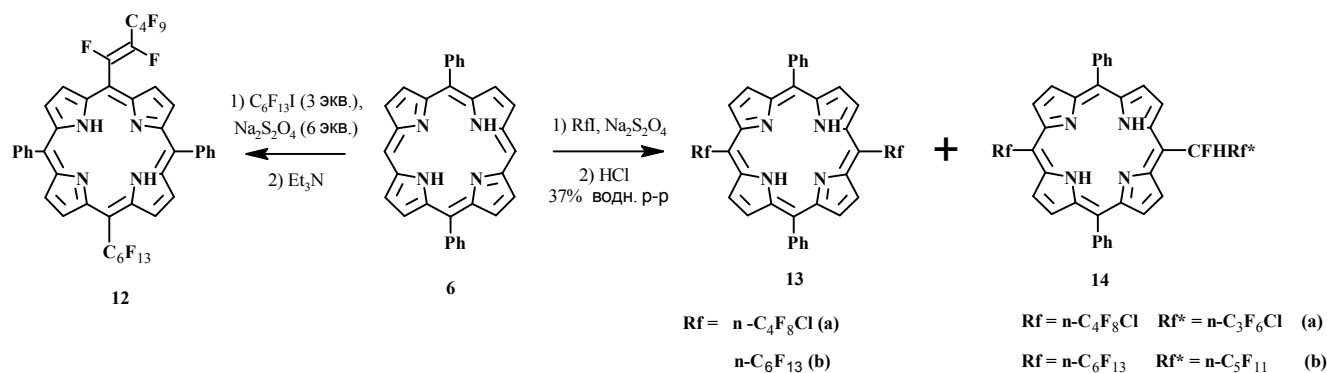


Схема 4.

Интересными также являются продукты взаимодействия порфирина **15** со свободным *мезо*-положением и 1,3-дииодоперфторпропана в условиях реакции сульфинатодегалогенирования (Схема 5). На первом этапе превращения была получена смесь β - и *мезо*-замещенных порфиринов **16** и **18** в соотношении 1:3. Далее каждый индивидуально или их смесь можно в тех же условиях, но за большее время, превратить в циклический продукт **19**. Интересно отметить, что циклизации по β , β -положениям (продукт **17**) не происходит. Продукт **19** также может быть получен сразу из исходного порфирина **15**. Такие же превращения можно осуществить и с использованием 1-иод-3-хлор-перфторпропана но уже при более высокой температуре (100 °С) [52].

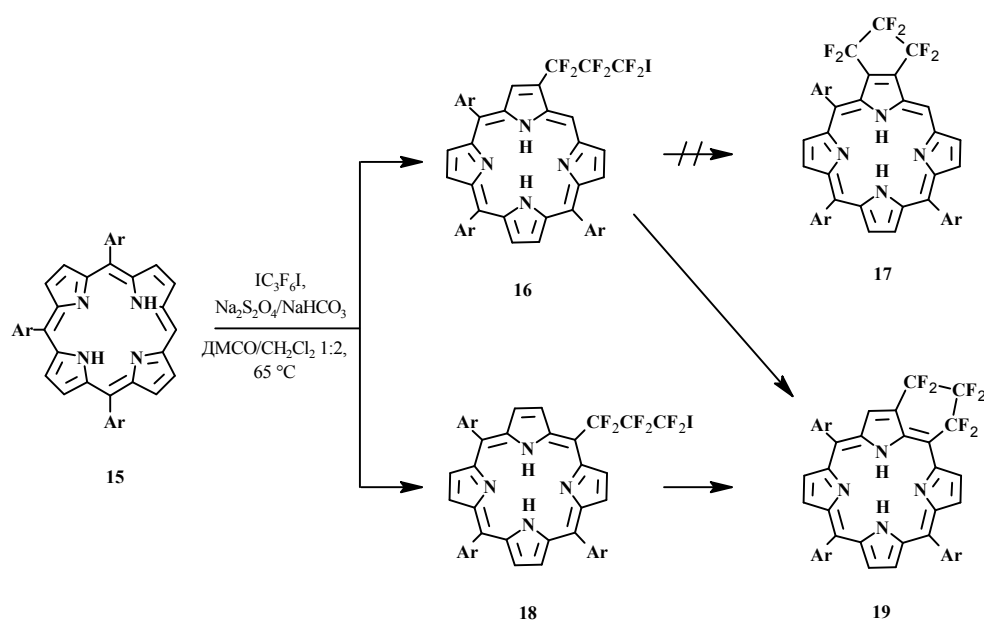


Схема 5.

Второй, предложенный авторами способ, заключался в алкилировании металлопорфирина перфторалкилиодидами с образованием порфирина или хлорина в присутствии избытка медного порошка. Как уже отмечалось, в более ранних работах авторами наблюдалось в реакции сульфинатодегалогенирования помимо замещенных порфиринов образование в следовых количествах соответствующих хлоринов [49, 50, 51, 52]. С целью направления реакции в сторону образования хлорина, а также создания условий для повышения его устойчивости в ходе реакции был использован более эффективный инициатор электронного переноса (порошок меди вместо дитионита натрия), а также произведена замена ДМСО на растворители, не обладающие свойствами окислителя. В результате было показано, что исход реакции существенно зависел от их полярности: в слабополярных средах (диоксан, диглим, ТГФ) наблюдалось образование хлорина в качестве основного продукта, в сильнополярных (ДМСО, ДМФА, ГМФТА) - замещенного порфирина. Стоит отметить, что получение хлоринов

таким способом в литературе ранее не встречалось. Механизмы образования хлорина **21** или порфирина **22** авторы представили следующим образом (Схема 6): в диоксане **RfI** посредством электронного переноса с меди образует ионную пару - радикал **Rf[•]** и анион **I⁻** в сольватной оболочке, затем эта пара атакует β-положение металлопорфирина **20** с образованием интермедиата **A**, который превращается в хлорин **21** путем отрыва радикала **H[•]** от растворителя; в ДМСО такая ионная пара нестабильна и распадается с образованием радикала **Rf[•]**, который дает с медью промежуточное соединение **RfCu**, оно образует с порфирином **20** интермедиат **B**, который превращается в замещенный порфирин **22** [53].

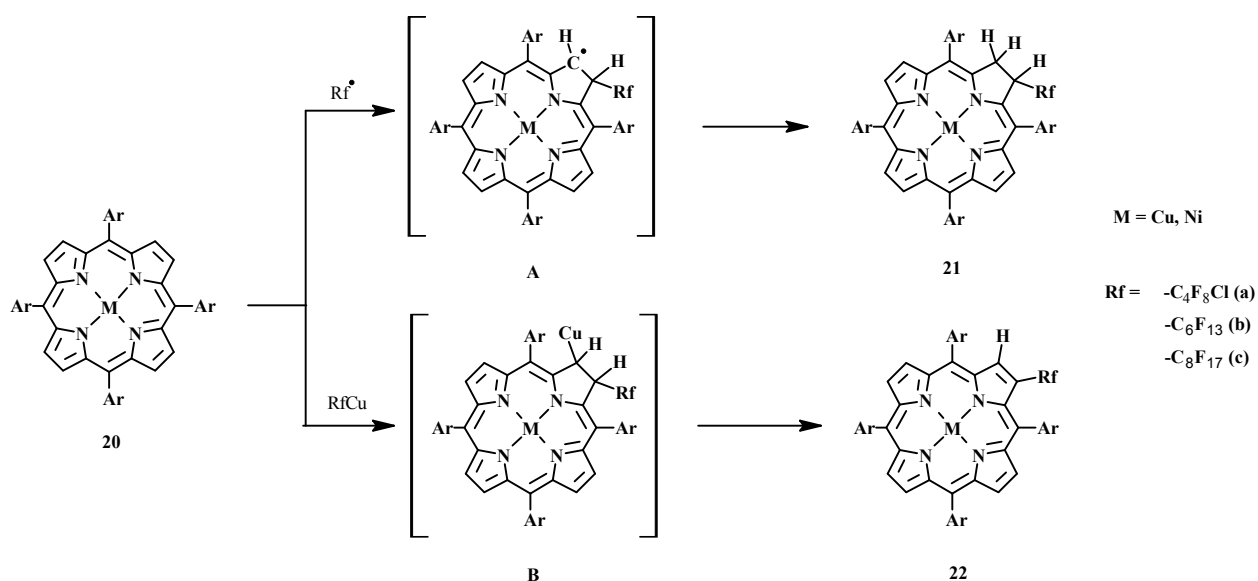


Схема 6.

Наконец, еще одним способом перфторалкилирования порфиринов является взаимодействие их β- и мезо-бромированных металлокомплексов с перфторалкилиодидами в присутствии порошка меди и палладиевого катализатора. Chen и сотр. обнаружили, что кросс-сочетание перфторалкилиодида и 5,15-дибром-10,20-дифенилпорфиринатоникеля в условиях классического медного катализа не приводит к получению ожидаемого перфторалкил-замещенного порфирина. Задача была решена путем замещения атома брома в присутствии палладиевого катализатора. На примере реакции металлопорфирина **23** и 1-иод-4-хлор-перфторбутана была подобрана оптимальная каталитическая система - Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (dba = дибензилиденацетон) и AsPh₃ (Схема 7). Мезо-перфторалкил-замещенные металлопорфирины **24** в таких условиях были получены с выходами 40-85%, а β-замещенные металлопорфирины - с выходами 51-82%. При использовании комплекса порфирина с цинком в условиях реакции происходило переметаллирование с заменой центрального атома металла на медь. Интересно отметить, что при замещении атомов брома в β-положении порфиринов **25 а-с** алкилированию

подвергалась только половина из них, в остальных случаях наблюдалось замещение атомов брома на водород. Также авторы отметили зависимость выхода продуктов реакции по мезо-положению от природы металла, и ее отсутствие в случае замещения по β-положению. [54].

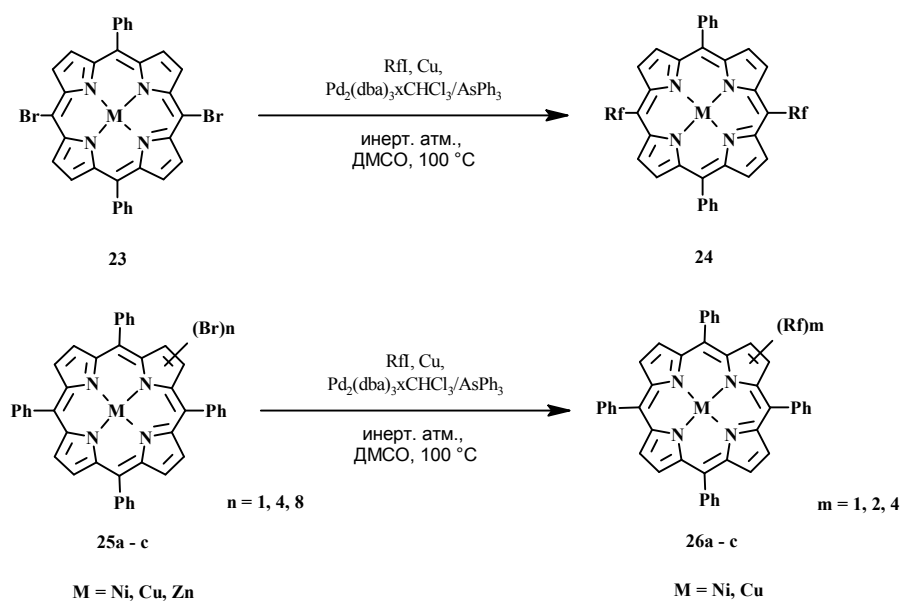


Схема 7.

В той же работе был продемонстрирован интересный 2-стадийный синтез бис(тетрафторбензо)порфирина **28**. На первой стадии происходило палладий-катализируемое замещение атомов брома в β-положениях металлопорфирина, затем на второй стадии (Схема 8) полученный продукт **27** с помощью реакции сульфитатодегалогенирования замыкался в тетрафторфенильный цикл.

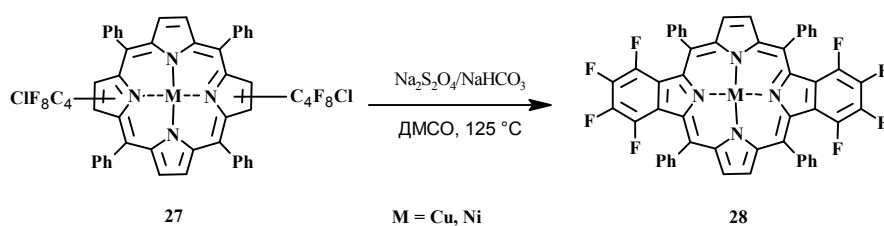


Схема 8.

Рассмотренные методы с использованием перфторалкилиодидов являются хорошим инструментом в синтезе перфторалкил-замещенных порфиринов. Chen и сотр. провели большую работу по выяснению региоселективности реакции и подбору условий для достижения максимального выхода замещенных порфиринов, а также обнаружили ряд любопытных превращений – внутримолекулярную циклизацию с диод- и хлор-иод-перфторалканами и присоединение перфторалкилиодидов с образованием хлоринов.

3.3.1.2. Реактивы Руперта и Гриньяра

Фторсодержащие хлорины и бактериохлорины с выходами, близкими к количественным, получают с помощью реакции присоединения реактива Руперта к карбонильной группе в β -положении порфиринового цикла. Так, при взаимодействии кетохлорина **29** и дикетобактериохлорина **31** с эквивалентным количеством реактива Руперта были получены соответствующие трифторметилированные продукты **30** и **32** с выходами 82 и 74% соответственно (Схема 9). Причины, по которым реакции присоединения наблюдались только по одной кето-группе дикетобактериохлорина **31**, авторами не уточнялись. Таким же образом реагировал с реактивом Руперта бактериопурпурин **33** с образованием продукта **34**, причем другие функциональные группы в условиях реакции не затрагивались. Проведение реакции с металлокомплексами порфириноидов **29**, **31** и **33** приводили к получению аналогичных трифторметилированных продуктов со схожими выходами [55].

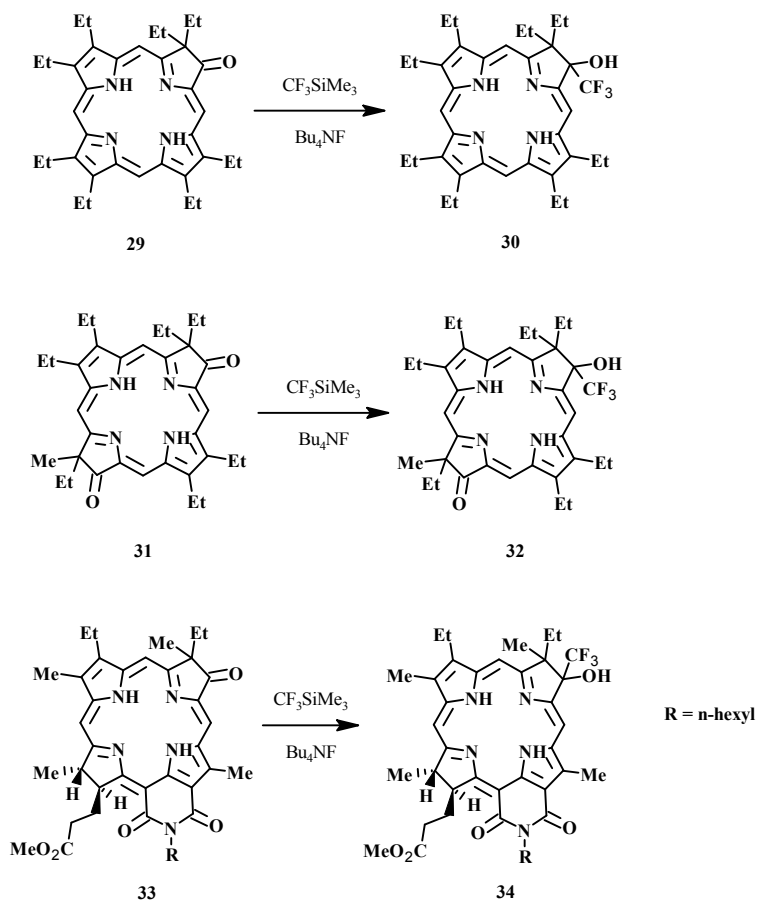


Схема 9.

Интересную стратегию синтеза хлоринов и бактериохлоринов с фторсодержащими заместителями в соседних β -положениях предложили Aicher и сотр. (Схема 10) [56]. Полученное в трехстадийном синтезе β,β -дикетопроизводное **35** реагировало с реактивом

Руперта (или Гриньяра) с образованием трифторметил-содержащих хлоринов **37** и **36** соответственно, причем реакция проводилась как по одной, так и по двум карбонильным группам с использованием двух эквивалентов реагента.

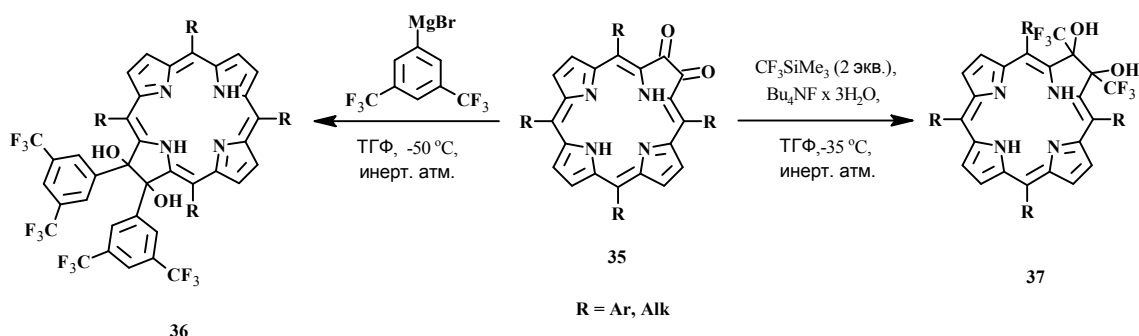


Схема 10.

Присоединение по карбонильной группе является эффективным методом синтеза перфторалкилзамещенных порфириноидов, реакции осуществлялись с хорошими, иногда близкими к количественным, выходами. Однако, пока этот метод не получил большого распространения, что может быть связано с малой доступностью исходных кетопорфириноидов, которые синтезируют в 3-4 стадии с использованием специфических окислителей, и ограниченным количеством подходящих перфторалкилирующих агентов.

3.3.1.3. Другие перфторалкилирующие агенты

Для синтеза β - и мезо-трифторметилпорфиринов Dolphin и сотр. [57] проводили замещение атомов брома в β -положении порфирина **38** с образованием β -трифторметил-замещенных порфиринов **39-42**, используя в качестве трифторметилирующего агента CF_3Cu , образующийся *in situ* из коммерчески доступных $(\text{CF}_3)_2\text{Cd}$, CF_3CdBr и соли одновалентной меди (Схема 11). Среди продуктов реакции были обнаружены не только трифторметил-замещенные порфирины, но также и порфирин **42** с заместителем C_2F_5 -, что авторы объясняют диспропорционированием нестабильного CF_3Cu с образованием $\text{C}_2\text{F}_5\text{Cu}$.

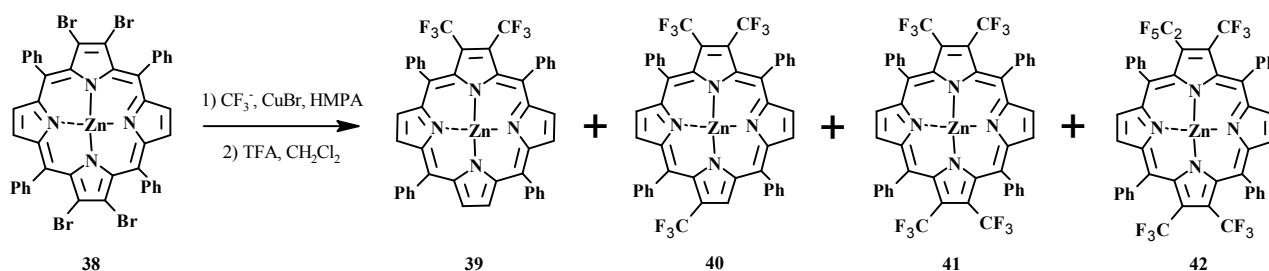


Схема 11.

Трифторметирующий агент CF_3Cu также может быть получен *in situ* из более доступного (фторсульфонил)дифторацетата, что было использовано Chen и сотр. [58] для трифторметилирования *мезо*-бром замещенных фенилпорфиринов **43** с образованием продуктов **44** в условиях палладиевого катализа (Схема 12). Этот метод был использован теми же авторами для получения трифторметильных производных из β -бром-замещенных тетрафенилпорфиринов [59].

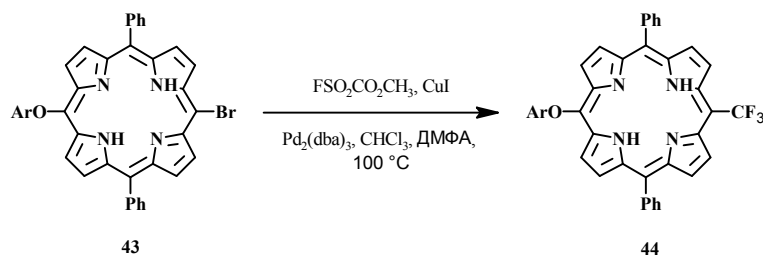


Схема 12.

Еще один способ трифторметилирования порфиринов в *мезо*- и β -положения заключался в использовании S-(трифторметил)-3,7-динитробензотиофена трифторметансульфоната – эффективного трифторметилирующего агента для ароматических систем. Реакции замещения подвергались как свободные порфирины, так и их металлокомплексы. Авторы [60] продемонстрировали метод на примере *мезо*-диарилпорфирина **45**, среди продуктов реакции были обнаружены два *мезо*-замещенных порфирина **46** и **48**, а также β -замещенный порфирин **47** (Схема 13). Выходы *мезо*-замещенных продуктов традиционно оказались выше, чем β -замещенных производных.

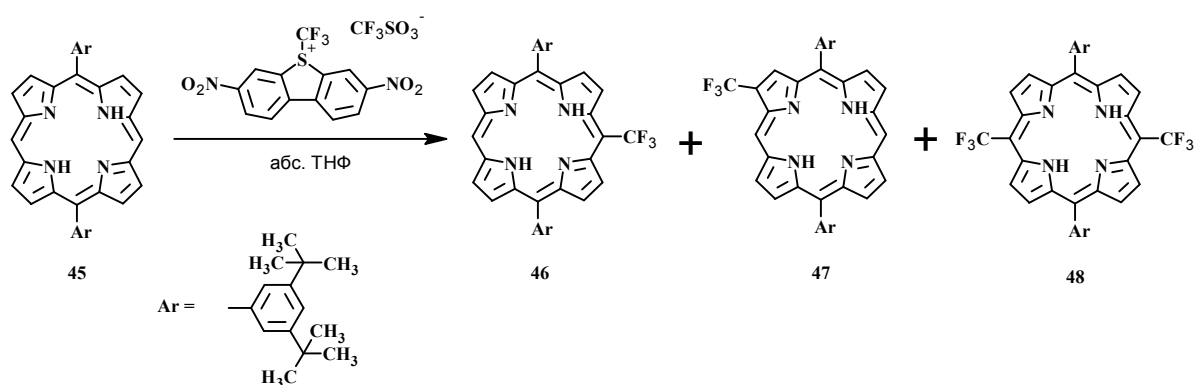


Схема 13.

Этот метод был расширен и на природные порфириноиды – авторы осуществили трифторметилирование бактериофеофорбида **49** и после хроматографического разделения получили ряд моно- (**50a-c**) и ди- (**50d**) трифторметил-замещенных продуктов (Схема 14).

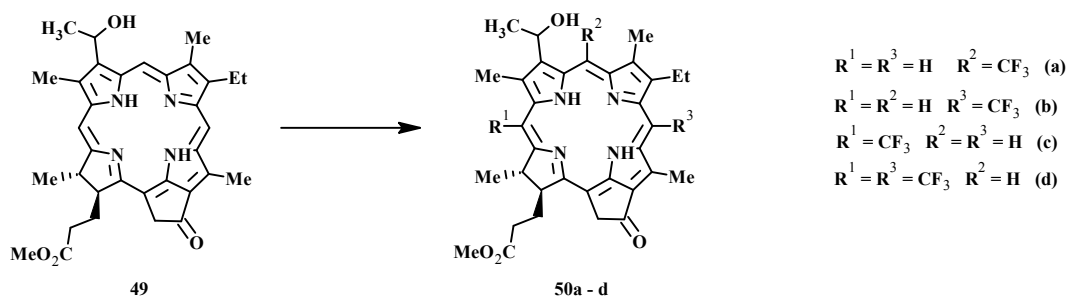


Схема 14.

Kumadaki и сотр. [61]. проводили синтез фторсодержащих аналогов гематопорфирина **52-54** путем гидроксилалкилирования **51** в β -положение пиррольного цикла трифторацетальдегидом или его полуацеталью в присутствии хлористого алюминия (Схема 15).

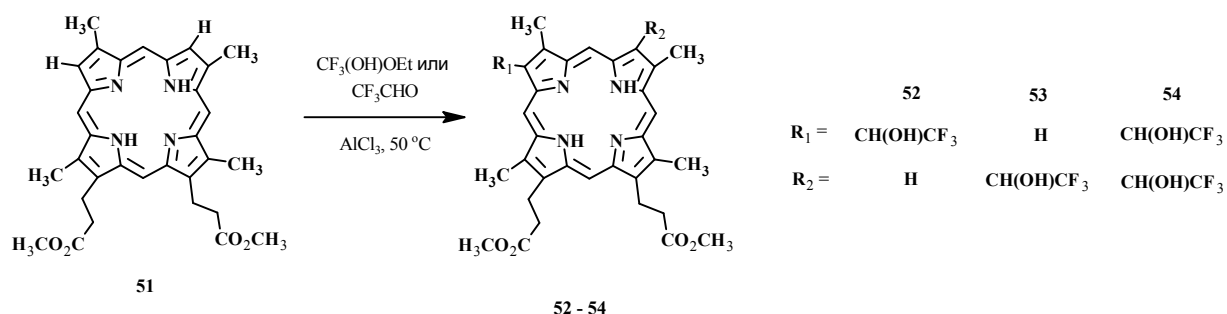


Схема 15.

Роль вводимого 2,2,2-трифтор-1-гидроксиэтильного фрагмента, по мнению авторов, заключалась в повышении биохимической стабильности замещенного порфирина, а также увеличении его липофильности. Действительно, в экспериментах по накоплению производных этих соединений (с гидролизованными сложноэфирными группами) в опухолевой ткани, наилучшие результаты продемонстрировало соединение с двумя фторсодержащими фрагментами.

3.3.2. Введение заместителей в боковые цепи порфириноидов

3.3.2.1. Модификация порфириноидов природного происхождения

Порфириноиды природного происхождения (некоторые из них показаны на Рисунок 5) обладают разнообразным набором функциональных групп. Одна часть работ, посвященных модификации таких структур, посвящена изучению роли тех или иных функциональных групп природных порфириноидов в биохимических процессах. Другая - использованию производных природных порфириноидов в качестве ФС, где введение фторсодержащих заместителей

используется для варьирования спектральных, электрохимических и липо-/фторофильных свойств молекулы.

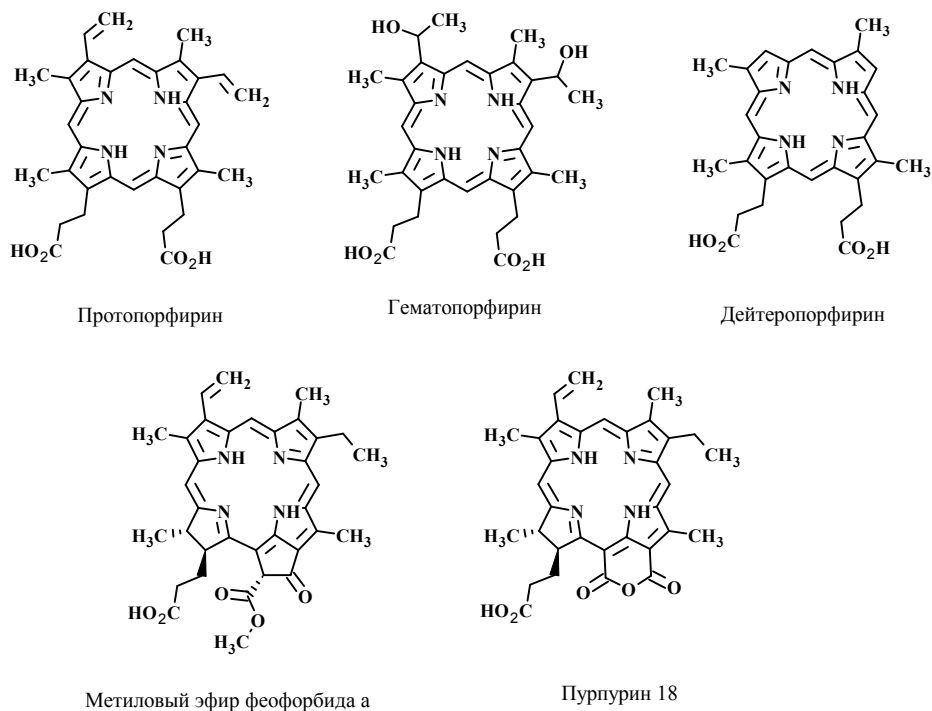


Рисунок 5. Порфириноиды природного происхождения

С целью исследования накопления фторированных производных порфириноидов природного происхождения в опухолевых клетках японскими авторами был получен широкий ряд фторсодержащих аналогов протопорфирина и гематопорфирина, в том числе оптически чистых [61] (Схема 16). Синтез фторсодержащих аналогов диметилового эфира протопорфирина проводили в три стадии с получением продукта **57** с двумя дифторвинильными фрагментами. 2,2-Дифторвинильные группы вводили в структуру протопорфирина путем взаимодействия карбонильной группы соединения **56** с 2-хлор-2,2-дифторацетатом натрия. Для получения моно-дифторвинильных производных из исходного протопорфирина в три стадии получали соответствующие моно-карбонильные производные. Фторирование винильных заместителей протопорфирина было необходимо авторам для выяснения их роли в накоплении ФС опухолевой тканью.

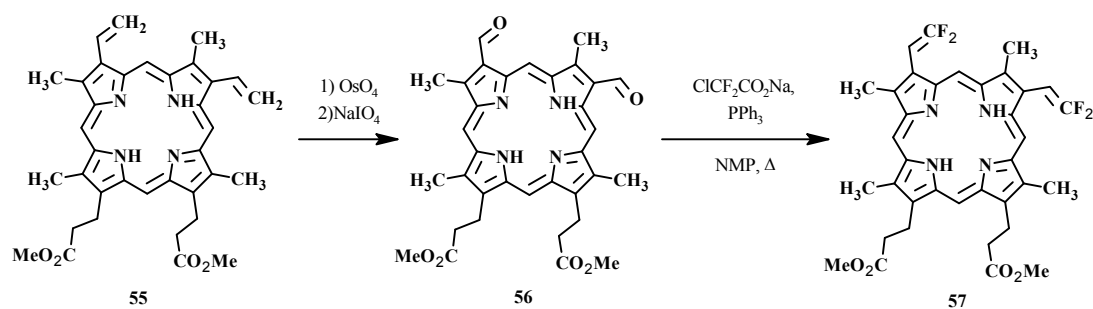


Схема 16.

Альтернативный способ синтеза 2,2-дифтор-, а также и 1,2,2-трифторвинильных производных протопорфирина, предложенный группой Kumadaki, заключался в замещении атомов иода в β -положениях порфирина **59** 1,2,2-трифтор- и 2,2-дифторвинилцинковыми реагентами (Схема 17).

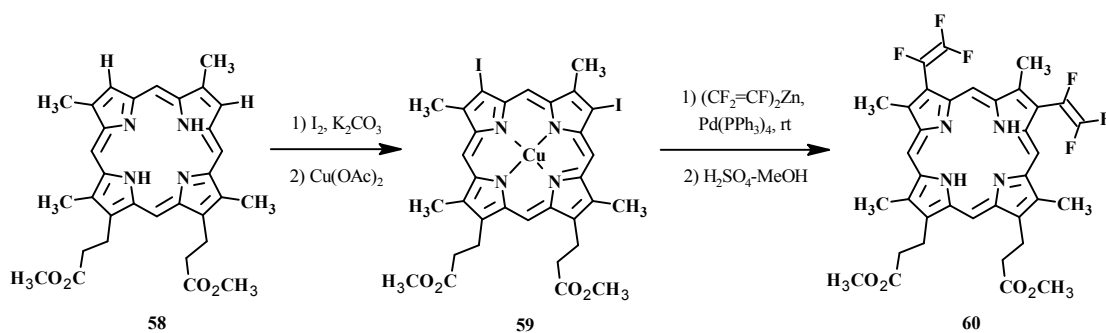


Схема 17.

Порфириноиды, содержащие 2,2,2-трифтор-1-гидроксиэтильный фрагмент могут быть получены путем взаимодействия альдегидной группы в β -положении пиррольного цикла 3-формил-N-гексилпурпуринимида **61** с реагентом Руперта [55]. Таким образом, авторами данной работы еще раз был продемонстрирован большой синтетический потенциал реагента Руперта в реакциях с порфириноидами (природными и синтетическими), содержащими карбонильный фрагмент (Схема 18).

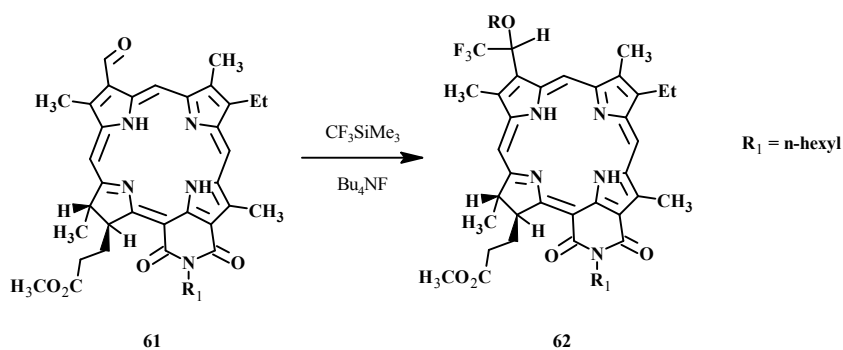


Схема 18.

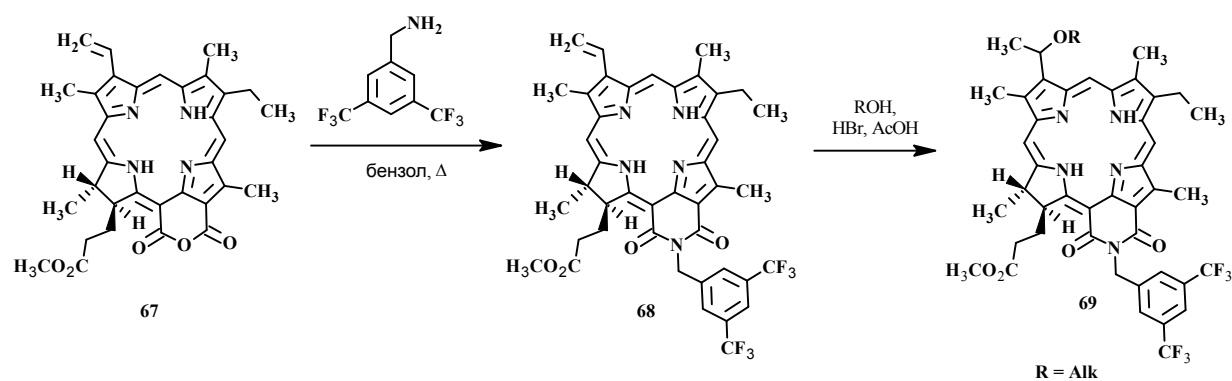


Схема 20.

Shibata и сотр. [64] получали фторзамещенные феофорбиды путем модификации сложноэфирной части метилфеофорбида-d (**70**) и использовали полученные соединения (**72**) для изучения их способности к самоагрегации. Перфторуглеродный заместитель вводили в структуру различными способами, но лишь путь, показанный на схеме 21, привел к получению стабильного соединения с хорошим выходом. Введение в молекулу фрагментов RfCH₂O-, RfCH₂CH₂O- и RfCOCH₂CH₂O- приводило к получению нестабильных и плохорастворимых соединений.

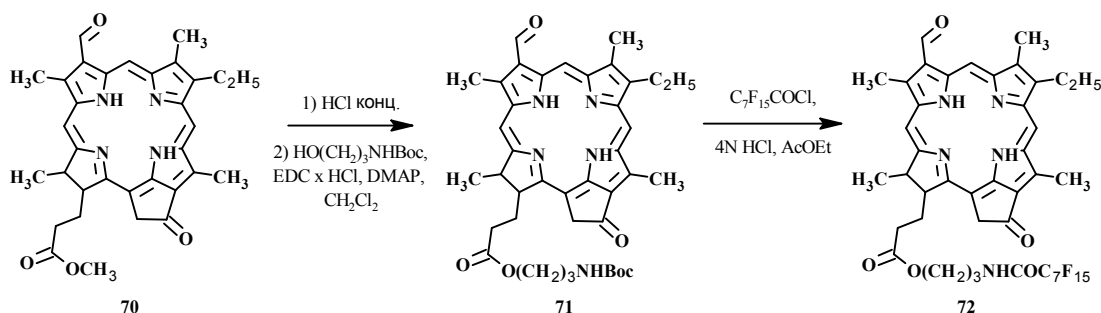


Схема 21.

Способы модификации порфириноидов природного происхождения по боковым цепям весьма разнообразны, чего нельзя сказать о вводимых фторсодержащих заместителях. Чаще всего в роли фторсодержащего фрагмента выступает трифторметильная группа, реже – ди- и трифторвинильный фрагмент и известен всего один пример длинноцепочечного заместителя - перфторгептильного.

3.3.2.2. Модификация порфириноидов, содержащих пента- или тетрафторфенильный фрагмент

Среди фторсодержащих порфириноидов наиболее распространенными являются соединения, содержащие один или несколько пентафторфенильных заместителей (Рисунок 6).

В большинстве своем они рассматриваются как наиболее синтетически удобные промежуточные звенья на пути к потенциальным ФС. Атом фтора в 4-м положении пентафторфенильного фрагмента (или в 3-м и 4-м положениях тетрафторфенильного фрагмента в случае фталоцианинов) способен сравнительно легко замещаться на различные нуклеофилы (спирты, амины, тиолы), что открывает широкие возможности для модификации таких соединений разнообразными функциональными группами.

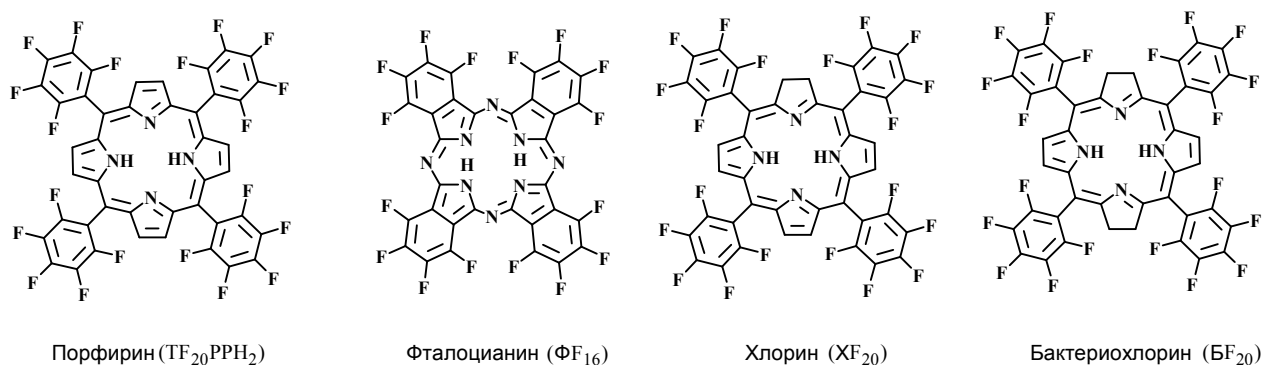


Рисунок 6. Симметричные порфириноиды с пента- и тетрафторфенильными фрагментами

Модификации и использованию порфириноидов, содержащих пента- и тетрафторфенильные фрагменты, посвящен обзор [65]. Здесь мы остановимся на методах введения только фторсодержащих заместителей на примере симметричного мезо-тетракис(пентафторфенил)порфирина ($\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$). Методы сгруппированы по природе вводимого заместителя (спирты, амины, тиолы).

Спирты. Wjiza и соотр. [66] использовали $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ в качестве основы для получения высокофторированных дендримеров (**76 a,b**) (Схема 22). Нуклеофильное замещение атомов фтора в 4-м положении $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ на 3,4,5-тризамещенные бензиловые спирты (**75 a,b**) проводилось в присутствии гидрида натрия в ДМФА. Фторсодержащие спирты предварительно были получены в две стадии из эфира галловой кислоты (**73**) путем замещения 3-х гидроксильных групп трифлатами полифторалифатических спиртов в присутствии гидрида натрия с последующим восстановлением сложноэфирной группы до спиртовой. Такой путь позволил авторам осуществить введение двенадцати полифторалифатических заместителей в структуру порфирина.

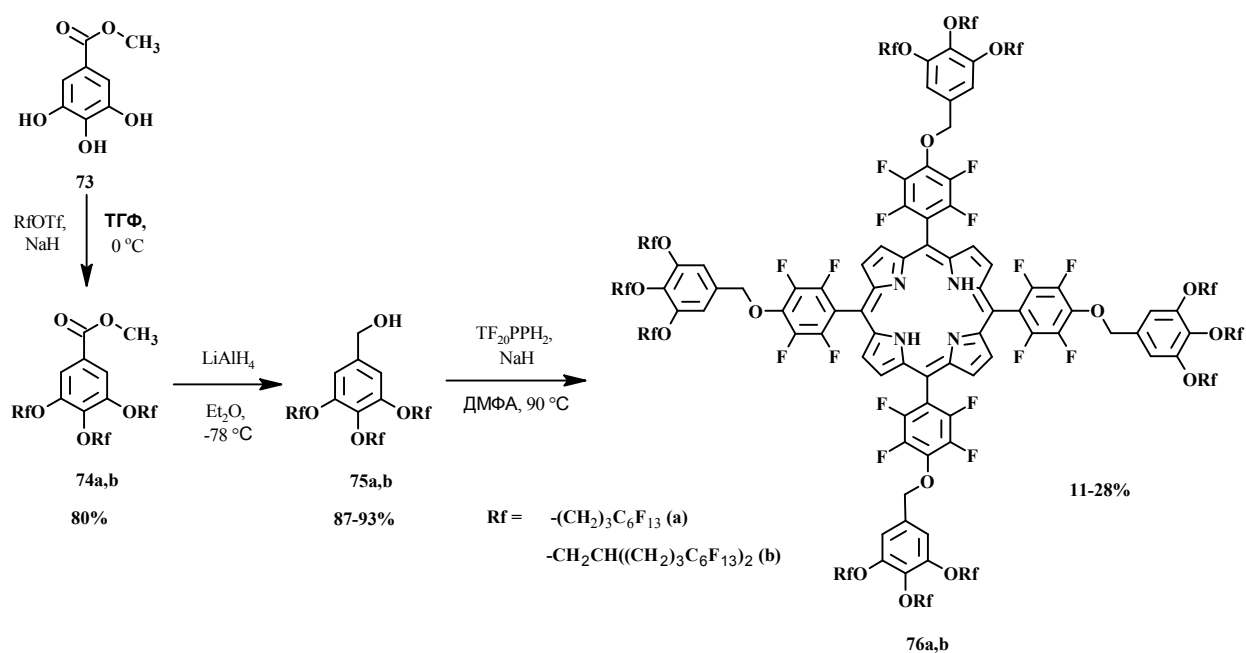


Схема 22.

Аналогичное замещение атомов фтора в 4-м положении пентафторфенильных заместителей $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ на более простые по структуре алифатические спирты, включая фторсодержащие, было осуществлено Golf с сотр. [67] В этом случае реакции проводились при комнатной температуре в TF_2O , в качестве основания использовали гидроксид калия. При этом наличие 4-х положений для нуклеофильной атаки в молекуле порфирина неизбежно приводило к получению смеси продуктов разной степени замещения. Такие смеси в общем случае трудноразделимы и характеризуются невысокими выходами целевых продуктов, что понижает препаративную ценность метода. Однако в данном случае авторам путем тщательного изучения влияния растворителя, температуры и времени реакций удалось добиться высоких выходов тетразамещенных порфиринов **77a-c** (Схема 23).

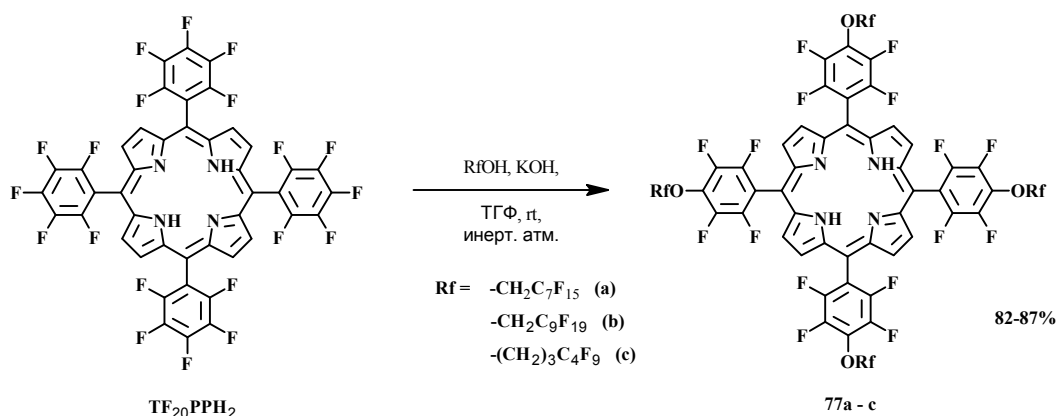


Схема 23.

Интересный тип превращения продемонстрировали Nyland и сотр. [68] - они провели внутримолекулярное замещение атома фтора в орто-положении пентафторфенильного фрагмента на гидроксигруппу в *мезо*-тетракис(пентафторфенил)-2,3-дигидрохлорине **78** (Схема 24). Авторы опробовали различные варианты реакции – под действием гидрида натрия в ТГФ при комнатной температуре и без использования основания при кипячении в ДМФА. Также выяснилось, что с одинаковым результатом в такие реакции вступают как свободное основание хлорина, так и его металлокомплексы с различными центральными атомами. Полученные соединения (моно- (**79**, **81**) и бис- (**80**) хромен-аннелированные хлорины) в своей структуре содержали хроменовый цикл, встроенный в ароматическую систему порфириноида. За счет дополнительного сопряжения в спектрах поглощения и флуоресценции таких соединений наблюдался сдвиг максимумов в «красную область». Хлорин **78** авторы получали по типовой методике – окислением тетраоксидом осмия с последующим разложением осмиевого комплекса водным бисульфитом натрия.

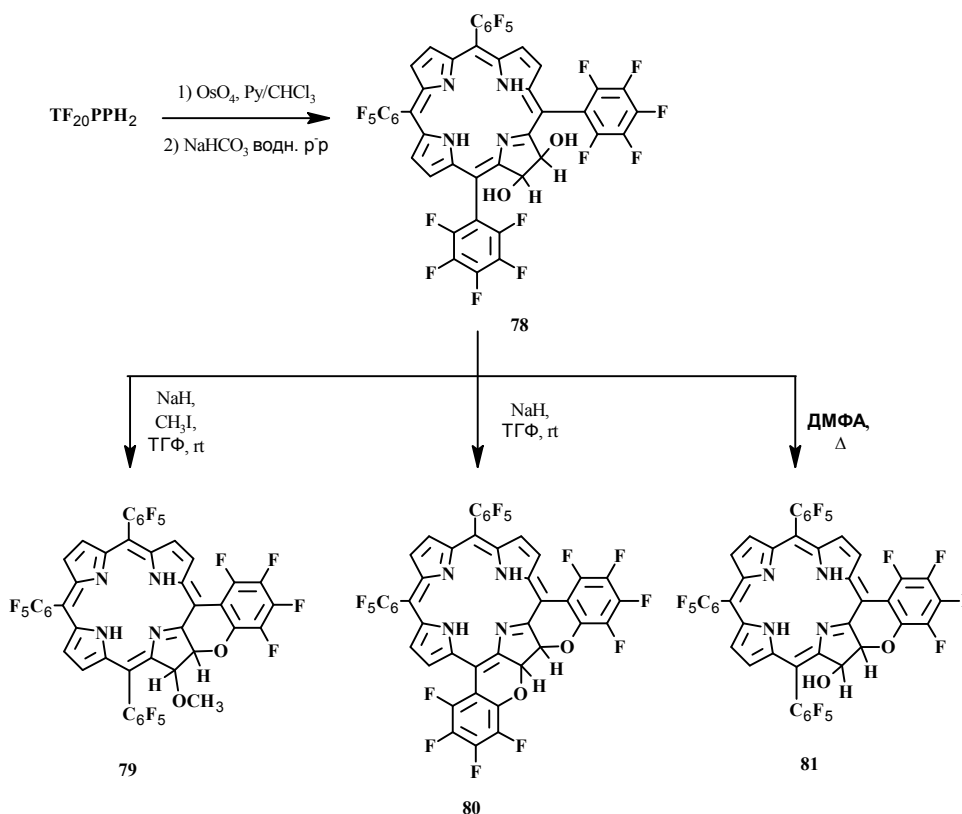


Схема 24.

С использованием этого метода теми же авторами впоследствии были получены моно- и бис-хромен-аннелированные бактериохлорины и подробно изучены их особенности их строения и спектральные характеристики [69].

Амины. Түхен и сотр. [70] проводили замещение атомов фтора в $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ на полифторзамещенные первичные амины под действием микроволнового излучения по методике предложенной Samaroo и сотр. [71] для нефторированных аминов. Было показано, что при использовании микроволнового излучения значительно сокращалось время реакции, доля побочных продуктов и увеличивался выход тетразамещенных порфиринов **82a,b** (Схема 25).

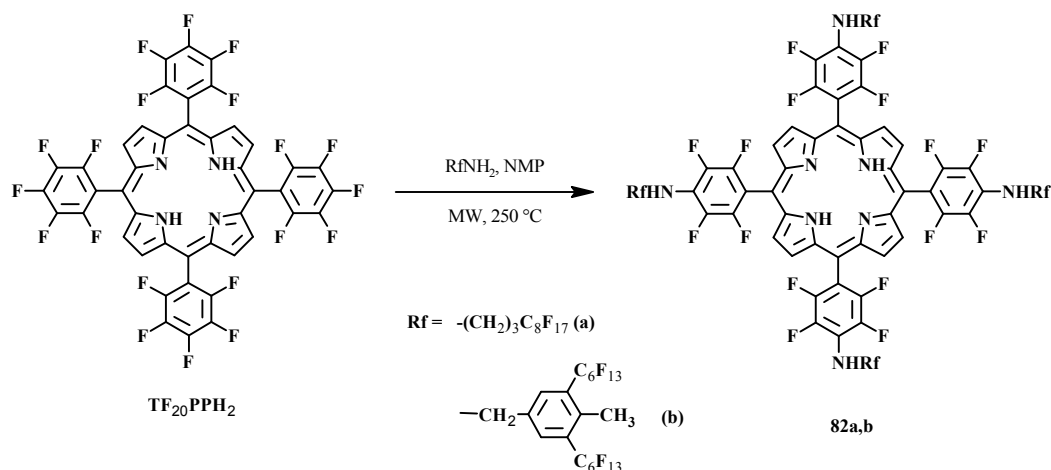


Схема 25.

Используемый в этой работе фторсодержащий бензиламин **86** был получен в 3 стадии исходя из метилового эфира 3,5-дибром-4-метил-бензойной кислоты (**83**). Перфторалкилирование осуществляли с использованием перфторалкилиодида в присутствии медного порошка (Схема 26).

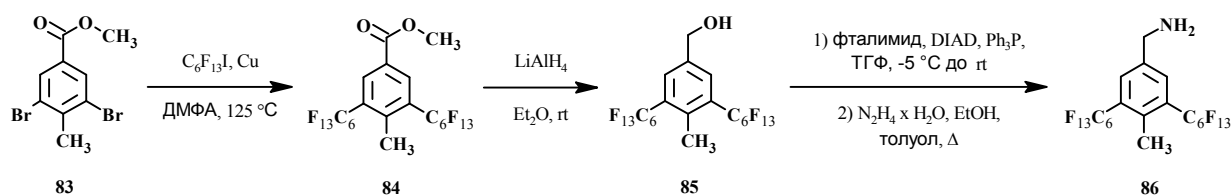


Схема 26.

Тиолы. Широкий ряд высокофторированных порфиринов **87a,b** и **88a-d** был получен различными авторами по сходной методике замещения атомов фтора в $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ на полифторалифатические тиолы в присутствии оснований, в качестве которых использовались диизопропилэтиламин [72, 73]. или диэтиламин [70] (Схемы 27, 28).

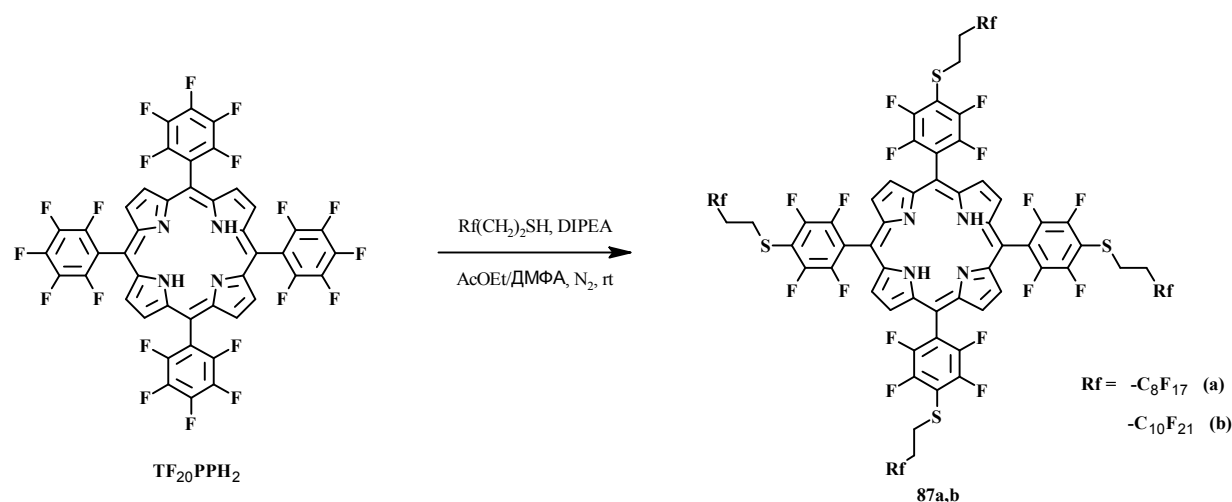


Схема 27.

Используемые в реакции тиолы были получены в несколько стадий - алкилированием перфторалклилиодидами в присутствии порошка меди и замещением гидроксигруппы на трифлат полифторалифатического спирта в присутствии гидрида натрия.

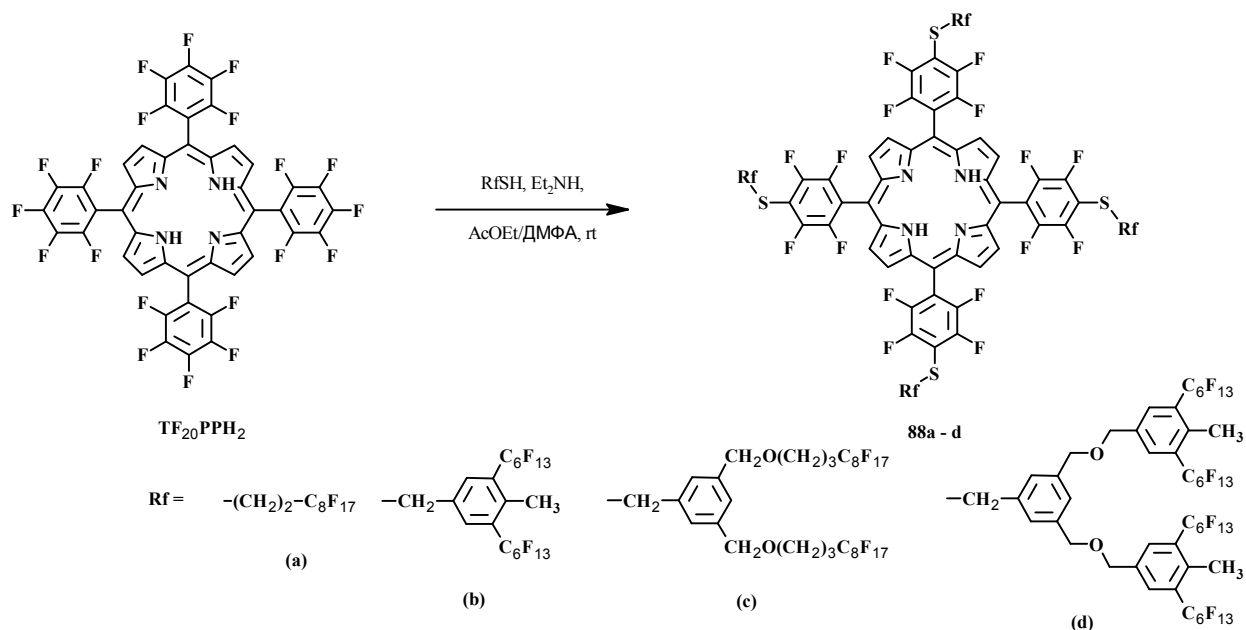


Схема 28.

Порфирины, содержащие пentaфторфенильный фрагмент, являются удобной базовой структурой для введения простых перфторалифатических групп и для построения дендримеров. Большинство реакций с ними относится к нуклеофильному замещению атома фтора в 4-м положении пentaфторфенильного фрагмента. Но есть и неожиданные примеры – построение аннелированного хроменого цикла путем внутримолекулярного замещения атома фтора в орто-положении пentaфторфенильного фрагмента соседней гидроксигруппой хлорина. В данной подборке мы ограничились рассмотрением симметричных порфиринов, но описанные

методы модификации применимы и к несимметричным аналогам, содержащим один, два или три пентафторфенильных фрагмента. В принципе объектами такого рода превращений могут являться хлорины, бактериохлорины и фталоцианины. Однако для них примеров введения именно фторсодержащих фрагментов путем нуклеофильного замещения атомов фтора в литературе не найдено. Хлорины и бактериохлорины с модифицированными пентафторфенильными фрагментами исследователи предпочитают получать из соответствующих порфиринов.

3.3.2.3. Модификация других синтетических порфириноидов

На схемах 29 и 30 продемонстрировано получение порфиринов **90** и **92** с высокой массовой долей фтора (~60%) для повышения их растворимости во фторуглеродах [74, 75]. Фторсодержащие заместители вводились двумя способами: ацилированием анилинового фрагмента порфирина **89** хлорангидридом перфторкарбоновой кислоты и алкилированием фенольного фрагмента порфирина **91** 3,5-диперфторалкилбензилбромидом в присутствии карбоната калия.

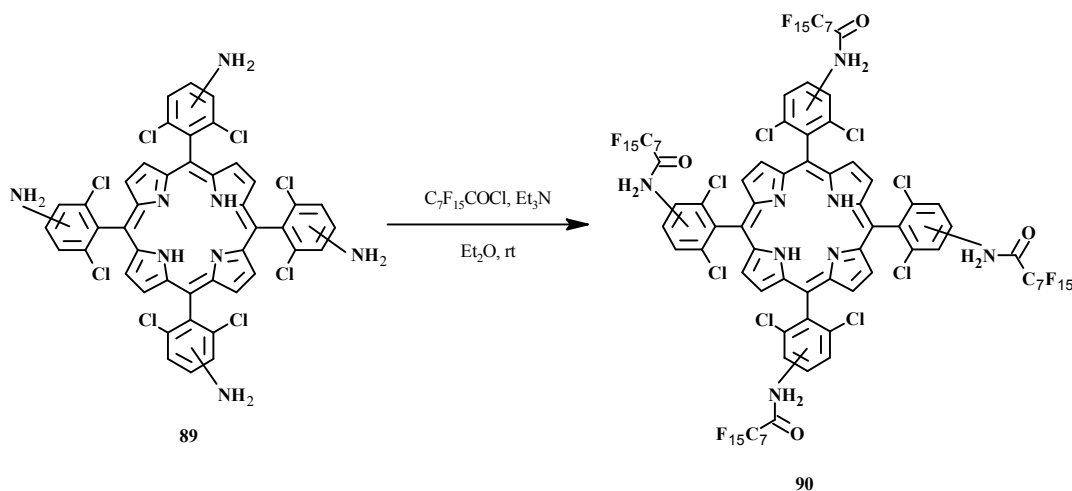


Схема 29.

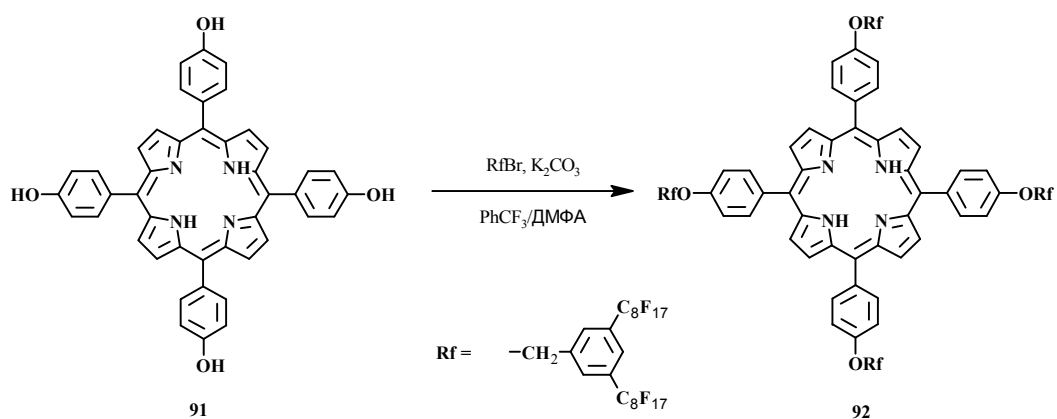


Схема 30.

Pandey и сотр. [76] для алкилирования гидроксигрупп порфирина **93** использовали 3,5-бис(трифторметил)бензилбромид в присутствии карбоната калия (Схема 31). Из полученного продукта **94** были синтезированы хлорин и бактериохлорин путем окисления тетраоксидом осмия. Эти соединения рассматривались авторами в качестве потенциальных ФС, а также контрастных агентов для ^{19}F -МРТ.

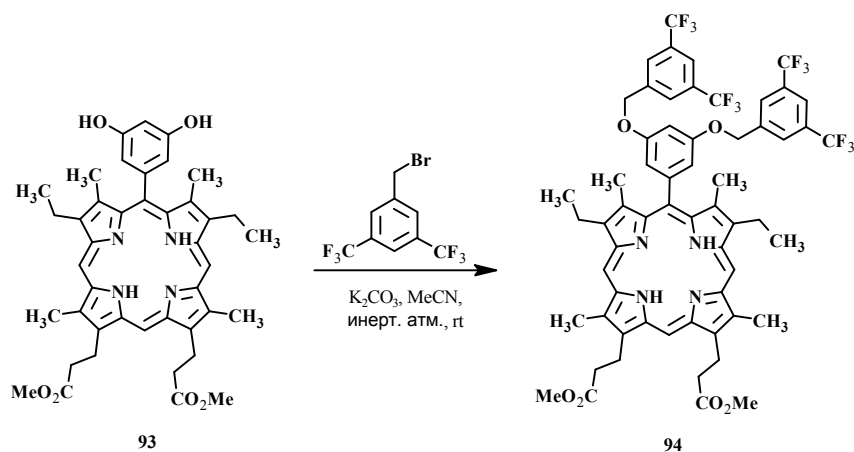


Схема 31.

Другие авторы [77] для получения ацилированного производного **96** использовали ангидрид трифторуксусной кислоты в присутствии пиридина (Схема 32).

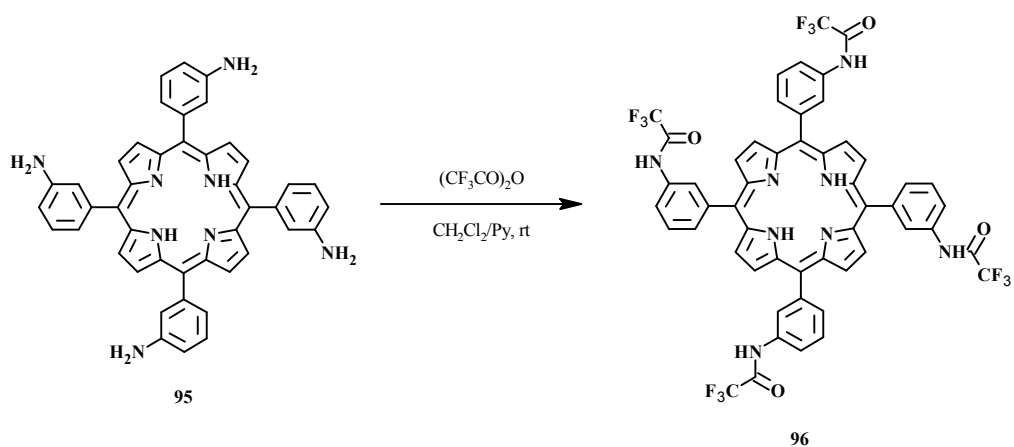


Схема 32.

Широкий ряд трифторметил-содержащих хлоринов, бензохлоринов и изобактериохлоринов был получен путем внутримолекулярной циклизации [78, 79]. В качестве примера показан синтез бензохлорина **99** из октаэтилпорфирина **97** с акролеиновым фрагментом в *мезо*-положении. На первой стадии проводилось присоединение реактива Руперта к карбонильной группе, а затем кислотнo-катализируемое замыкание шестичленного цикла с одновременным деметаллированием (Схема 33).

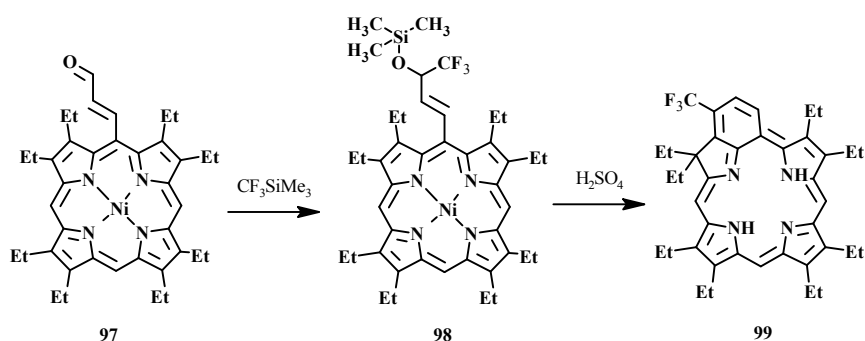


Схема 33.

Среди всех методов модификации порфириноидов по боковым цепям наиболее распространенным можно назвать нуклеофильное замещение атомов фтора в $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$. Что касается о порфириноидов природного происхождения, то количество методов их модификации столь же разнообразно, как и количество присутствующих там функциональных групп. Однако можно выделить наиболее распространенный прием – введение фторсодержащего заместителя в амидную часть пурпуринимида. Модификация других синтетических порфириноидов встречается реже, по-видимому, исследователи предпочитают собирать такие структуры их исходных фторсодержащих блоков.

3.3.3. Сборка макроцикла из фторалкилсодержащих исходных соединений

Среди подходов к синтезу фтор- и фторалкил-замещенных порфириноидов сборка из фторсодержащих исходных соединений является самым универсальным, позволяющим получить наиболее широкий спектр разнообразных структур. Наиболее характерные примеры его применения в синтезе фторсодержащих порфиринов и фталоцианинов представлены в этой главе.

3.3.3.1. Порфирины

Классическим методом синтеза симметричных порфиринов является конденсация пиррола и альдегида в присутствии кислотных катализаторов. Однако, DiMugno и сотр. показали, что в случае алифатических, в том числе полифторалифатических альдегидов его применение приводило к получению порфиринов лишь в следовых количествах [80]. В качестве альтернативы было предложено разбить реакцию на две стадии с выделением промежуточного продукта взаимодействия пиррола с альдегидом - пирролил-2-карбинола **101** (схема 34). Для предотвращения поликонденсации последнего реакцию проводили в избытке щелочи. Тот же пирролил-2-карбинол **101** может быть получен в две стадии исходя из пиррола и хлорангидрида соответствующей кислоты. В целом такая схема синтеза порфиринов в сочетании с азеотропной отгонкой воды в процессе реакции позволила повысить выход конечного продукта **102** до 37%.

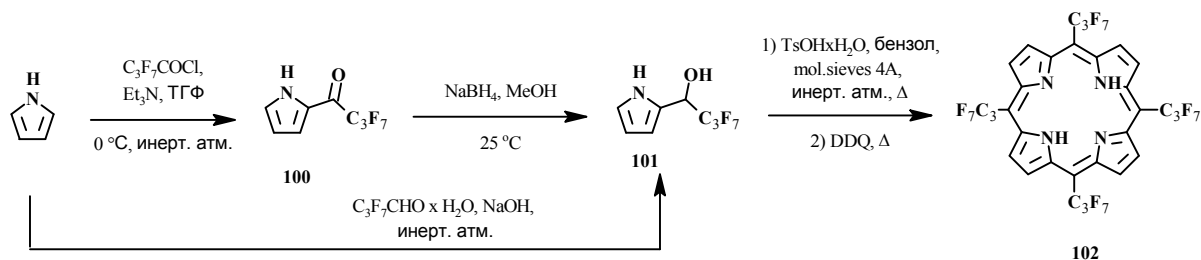


Схема 34.

Тем же способом был получен ряд порфиринов и их металлокомплексы с другими перфторалифатическими заместителями (CF_3 [35], C_3F_7 [35, 81], C_7F_{15} [35]), изучено влияние электроноакцепторных перфторалифатических групп на фотофизические и электрохимические характеристики порфиринов, а также возможность их использования в качестве катализаторов фотоиндуцированного окисления алкенов [35, 81, 36, 82].

Аналогичная последовательная сборка продемонстрирована Campestrini и сотр. в синтезе симметричного порфирина с перфторполиэфирными заместителями в мезо-положении [83].

При этом авторами была разработана трехстадийная схема синтеза исходного пирролил-2-карбинола **106** (Схема 35).

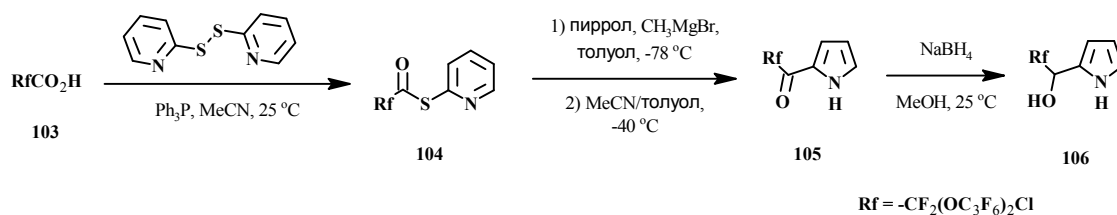


Схема 35.

Несимметричные порфирины **108** типа A_2B_2 с полифторалкильными заместителями в *мезо*-положении могут быть получены в двухстадийном синтезе через 5-полифторалкилдипиррометаны **107** [84]. (схема 36). Последние были получены путем кислотно-катализируемой конденсации двух эквивалентов пиррола с соответствующим альдегидом. Использование кислоты достаточной силы (HCl) позволило ускорить реакцию между изначально образующимся пирролил-2-карбинолом и второй молекулой пиррола, что привело к повышению выхода дипиррометана и свело к минимуму образование полимерных побочных продуктов.

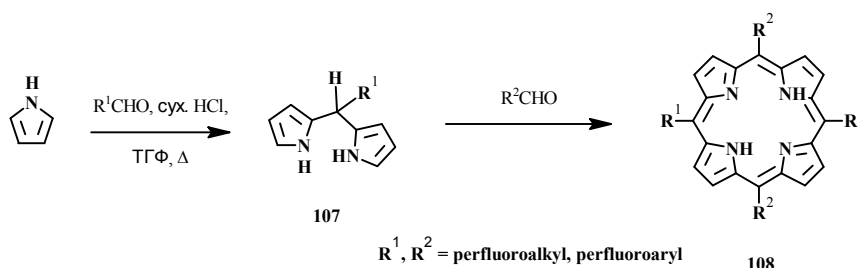


Схема 36.

Также фторалкил-замещенные дипиррометаны использовались для синтеза порфиринов с типом замещения A_2BC и A_3B [85, 86].

Возможность использования в синтезе несимметричных порфиринов других низкомолекулярных продуктов взаимодействия пиррола и альдегида - трипирранов - в литературе рассматривается редко из-за неконтролируемого образования их смеси с дипиррометанами и более высокомолекулярными продуктами. Тем не менее, синтез пентафторфенил-замещенного трипиррана **109** (Схема 37) и получение на его основе соответствующего порфирина предложен Galezowski и сотр. [87]

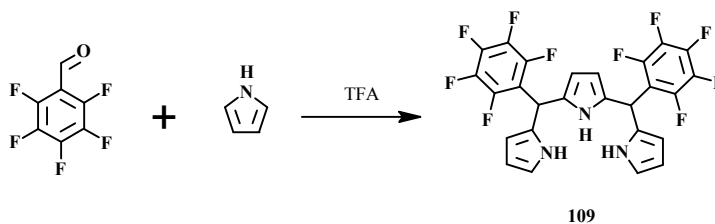


Схема 37.

Фторсодержащие пирролы со свободными α -положениями плохо конденсируются с альдегидами с образованием порфиринов из-за снижения их электронодонорных свойств, поэтому при необходимости получения порфириноидов с фторсодержащими заместителями в β -положении для их синтеза используют пирролы со специальными заместителями в α -положениях. Kaesler и сотрудники использовали метод восстановительного перфторалкилирования для синтеза β, β' -дизамещенных пирролов **111a,b** из доступного 2,5-диметилпиррола **110** (Схема 38). Затем метильные группы были преобразованы в ацетоксиметиновые, и полученные пирролы **112a,b** были успешно тетрамеризованы с образованием соответствующих порфиринов **113a,b** [88].

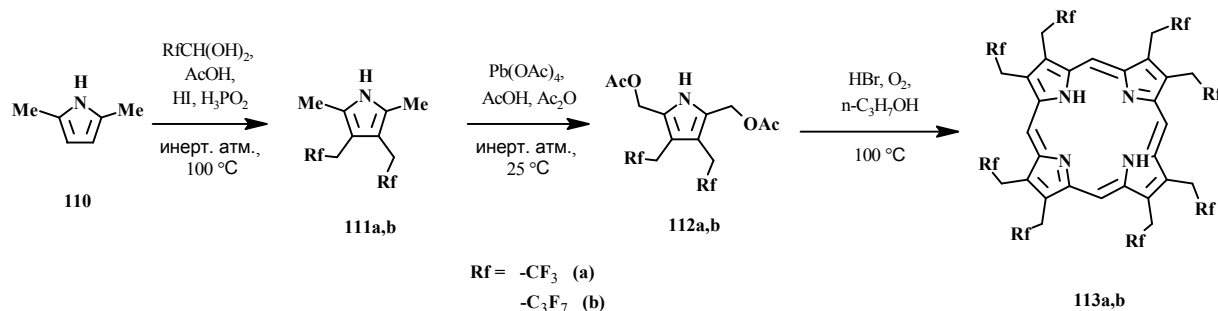


Схема 38.

Модельный синтез трифторметил-содержащего аналога гематопорфирина **123** предложен Kumadaki и сотр. [61] (Схема 39). Трифторметильную группу вводили в молекулу на начальных этапах синтеза путем гидроксиалкилирования замещенного пиррола **114** в β -положение по реакции с полуацеталью трифторацетальдегида в присутствии кислоты Льюиса.

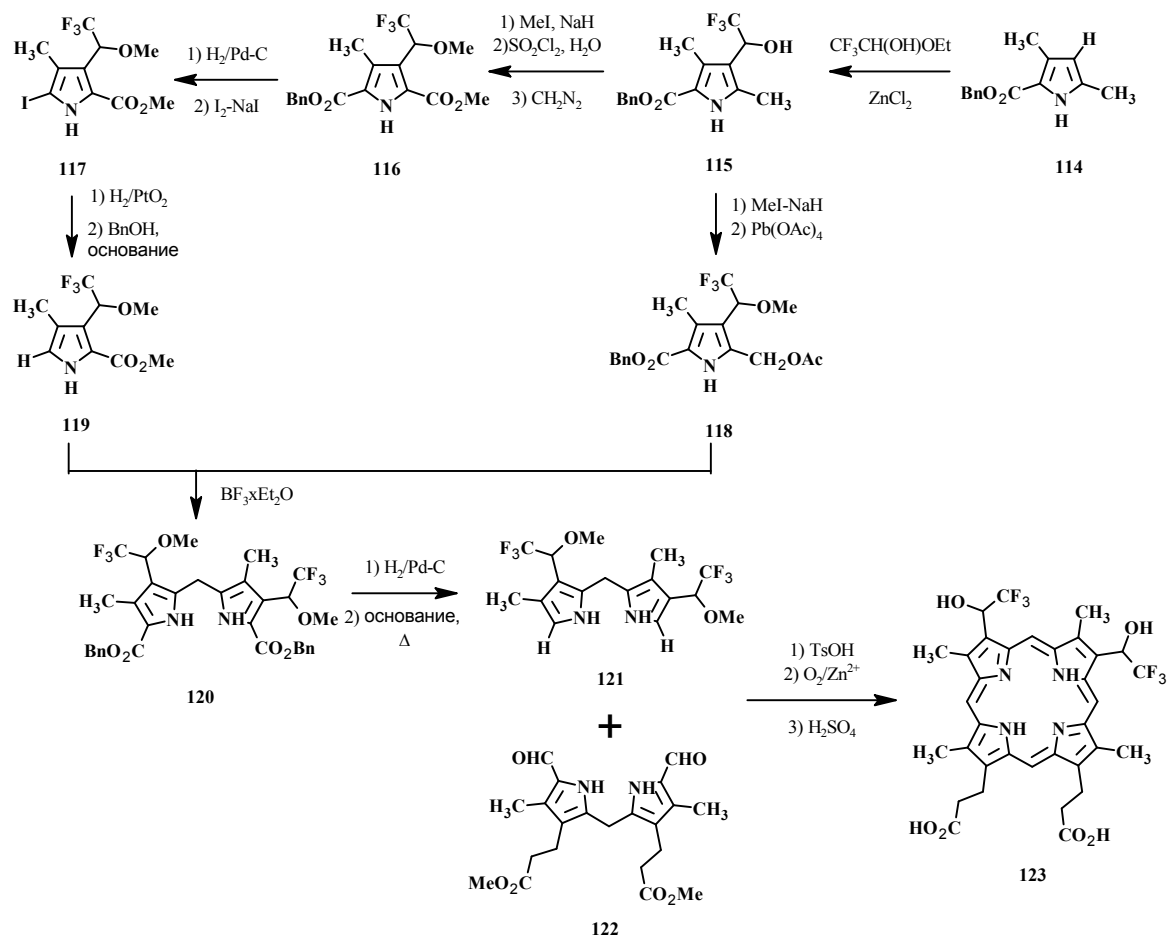


Схема 39.

Нотта и сотр.осуществители синтетическую схему получения трифторметил-замещенного аналога этиопорфина **128**, в ходе которой трифторметильный заместитель вводили на стадии сборки пиррольного цикла **125** [89] (Схема 40).

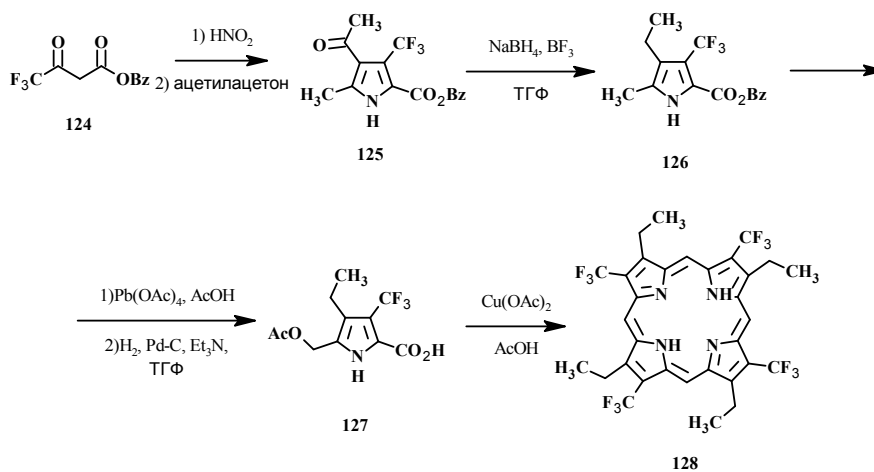


Схема 40.

Для синтеза порфиринов с ароматическими заместителями в *мезо*-положении чаще всего используют сборку из пирролов с замещенными бензальдегидами или хлорангидами бензойных кислот.

Интересный пример получения водорастворимого фторсодержащего *мезо*-тетрапиридилпорфирина **133** - потенциального ФС для ФДТ - был предложен Ко и сотр. [90]. При этом исходный фторзамещенный альдегид **131** получали в две стадии из дибромпиридина **129** (Схема 41).

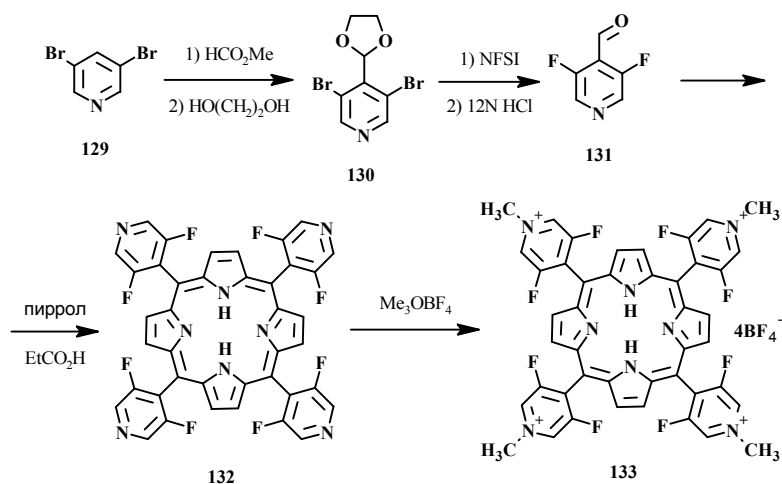


Схема 41.

Разнообразные полифторалкоксибензальдегиды **134** были использованы Wei-Yuan и сотр. [91]. в синтезе широкого ряда порфиринов **135**, сборка которых проводилась по классическому методу Линдси [92] (Схема 42). В работе использовались моно- и дизамещенные бензальдегиды с длиной полифторалифатической части от 2 до 8 атомов углерода, однако синтез самих бензальдегидов, к сожалению, не опубликован в открытой печати.

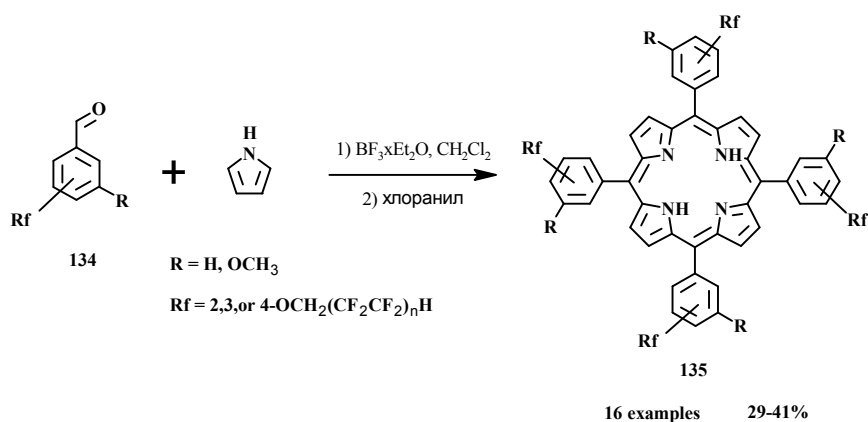


Схема 42.

В работе Pozzi и сотр. [93] было показано, что для синтеза порфирина **140** (Схема 43) с восьмью перфторуглеродными заместителями традиционный путь конденсации пиррола с соответствующим бензальдегидом не приводит к нужному результату. В данном случае авторами была использована альтернативная стратегия, используемая обычно для синтеза мезо-перфторалкил-замещенных порфиринов, а именно трехстадийное получение исходного хлорангидрида **137**. Введение перфторалифатических заместителей осуществляли путем алкилирования в присутствии порошка меди, из полученного далее хлорангидрида **137** в две стадии синтезировали пироллил-2-карбинол **139**, который затем тетрамеризовали в порфириновый макроцикл **140** в присутствии ацетата цинка.

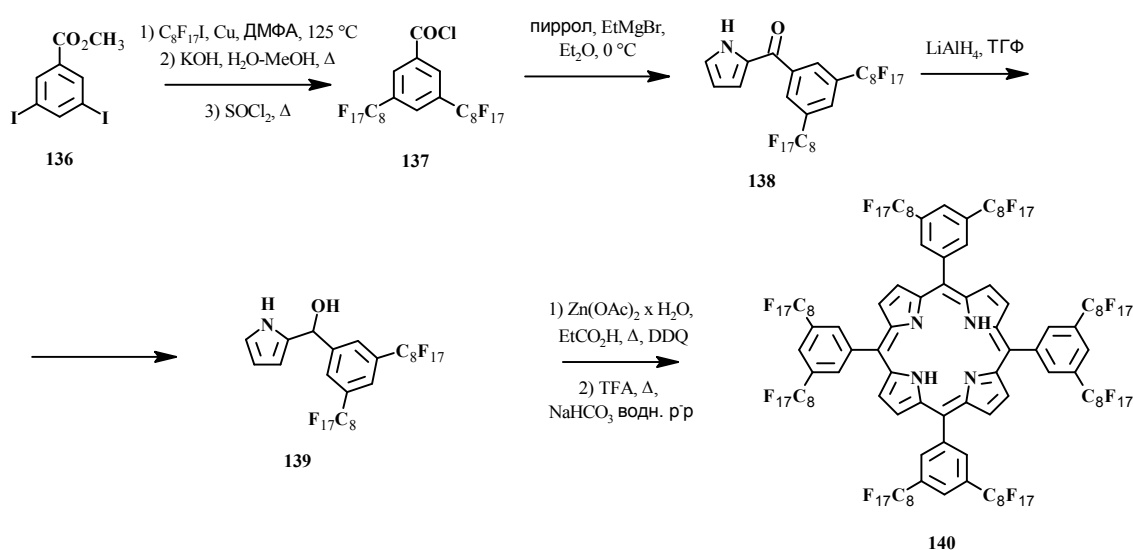


Схема 43.

Теми же авторами был проведен синтез ряда порфиринов из моно-перфторалкил-замещенных бензальдегидов. Введение перфторалифатических заместителей осуществляли по аналогичной методике – алкилированием перфторалкилиодидами в присутствии порошка меди. В качестве примера показана 3-х стадийная схема синтеза перфторзамещенного бензальдегида **144** [94] (Схема 44).

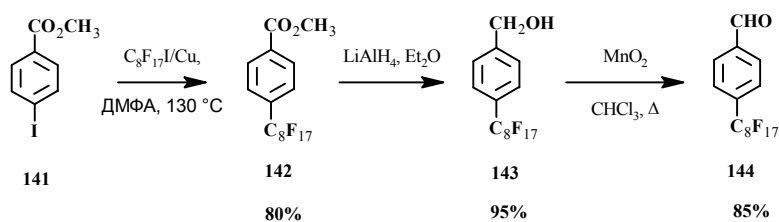


Схема 44.

Таким образом, метод последовательной сборки из исходных фторсодержащих соединений чаще всего используется для синтеза симметричных фторсодержащих порфиринов. Исключение составляют несколько примеров синтеза несимметричных порфиринов из дипиррометанов и трипиранов, а также модельный синтез трифторметил-содержащего аналога гематопорфирина.

3.3.3.2. Фталоцианины (тетраазатетрабензопорфирины)

Исходными соединениями в синтезе фторсодержащих фталоцианинов, как правило, являются динитрилы фталевой кислоты (фталодинитрилы). Их дальнейшая тетрамеризация в присутствии солей цинка или других темплатных агентов приводит к сборке фталоцианиновой структуры.

Типичным примером является работа Pozzi и сотр. [95], которые получали несимметричные полифторалкил-замещенные фталоцианины **148** путем статистической сборки макроцикла исходя из соответствующих фталодинитрилов **146** и **147** (схема 45). Полифторалкилирование проводили путем замещения нитрогруппы во фталодинитриле **145** на полифторированный спирт в присутствии карбоната калия. Выбор таких объемных фторсодержащих заместителей обусловлен стремлением авторов избежать самоагрегации полученных потенциальных ФС и, как следствие, изменения спектральных характеристик. Также преимуществом фторсодержащего пентаэритритного фрагмента (**Rf**) является то, что он предотвращает влияние электроноакцепторного эффекта перфтортретбутильных заместителей на фталоцианиновое ядро.

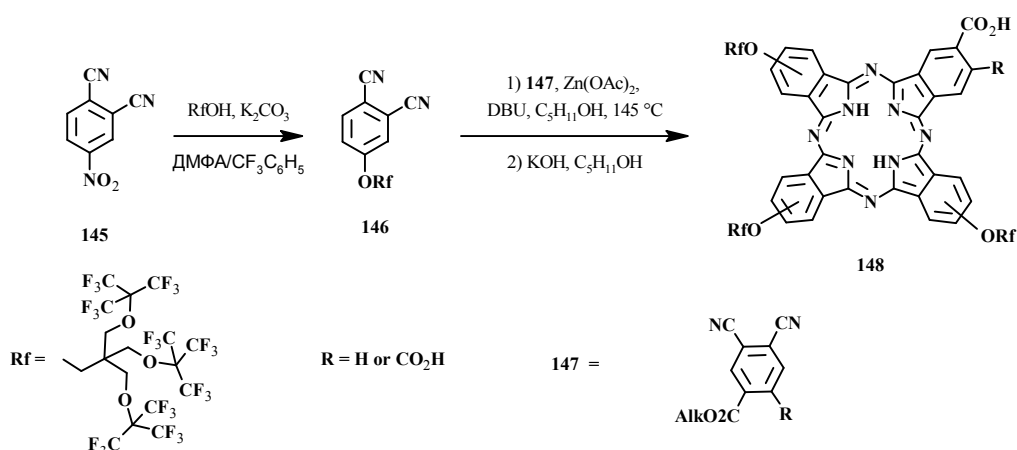


Схема 45.

Al-Raqa и сотр. [96] получили ряд дифторфенокси-замещенных фталоцианинов для изучения их люминисцентных характеристик. В качестве примера показан синтез несимметричного

фталоцианина **151** с шестью фторсодержащими заместителями. Фторсодержащий фталонитрил **150** был получен путем замещения атомов хлора на 3,5-дифторфенокси-группу в присутствии карбоната калия (Схема 46).

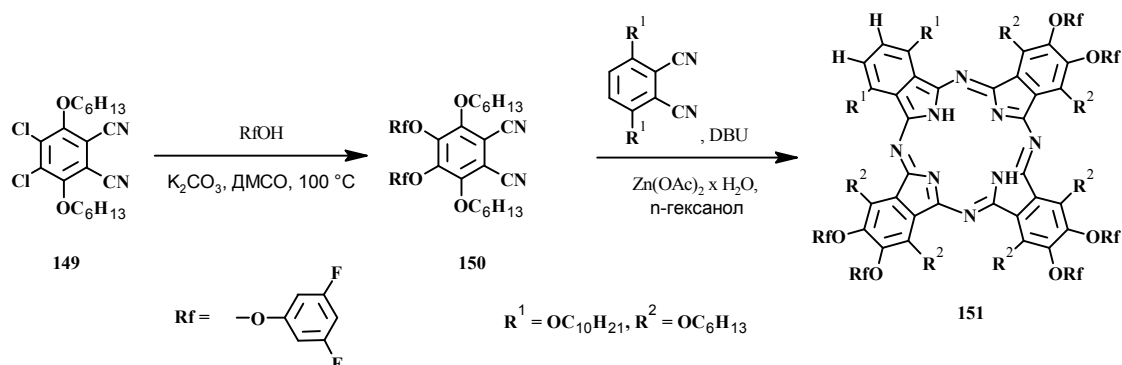


Схема 46.

В свою очередь Weitman и сотр. [97] для синтеза фталонитрила **152** проводили замещение атомов фтора в тетрафторфталоцианириде на трифторэтанол в присутствии гидрида натрия (Схема 47). Авторы изучали различные спектральные и фотохимические свойства полученного симметричного фталоцианина **153**, в том числе измеряли эффективность генерации синглетного кислорода.

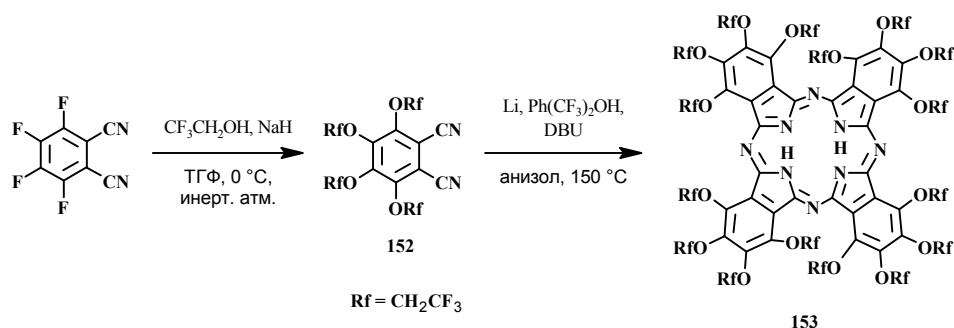


Схема 47.

Тот же фталонитрил **152** был использован в работе Shibata и сотр. для синтеза комплекса sub-фталоцианина **154** с хлористым бором (Схема 48), который затем использовали для получения конъюгатов с другими фталоцианинами и с фуллереном [98].

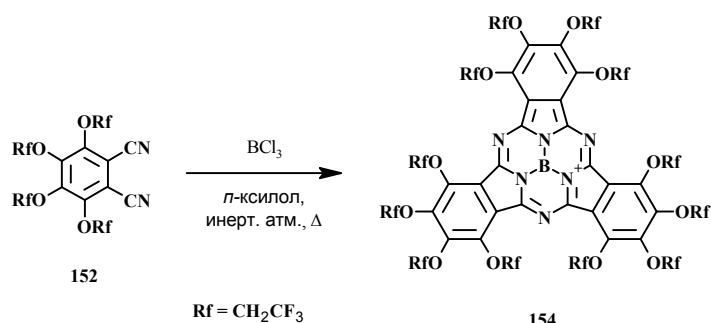


Схема 48.

Этими же авторами была также синтезирована серия биядерных полифторалкилзамещенных фталоцианинов, например **157**, для изучения их в качестве потенциальных ФС [99] (Схема 49). Отличительными особенностями таких соединений является высокий потенциал окисления и способность оставаться в мономерном состоянии в растворе независимо от концентрации. Недостатком многих ФС является образование агрегатов в водных растворах. Эти процессы снижают их способность к генерации АФК, и многие исследователи прилагают значительные усилия для их предотвращения. Авторы получали такие фталоцианины путем статистической сборки из фторсодержащего фталонитрила **155** и 4-иодфтало-1,2-динитрила. Перфторизопропильные заместители вводили путем реакции тетрафторфталонитрила с гексафторпропиленом в присутствии фторида цезия [100].

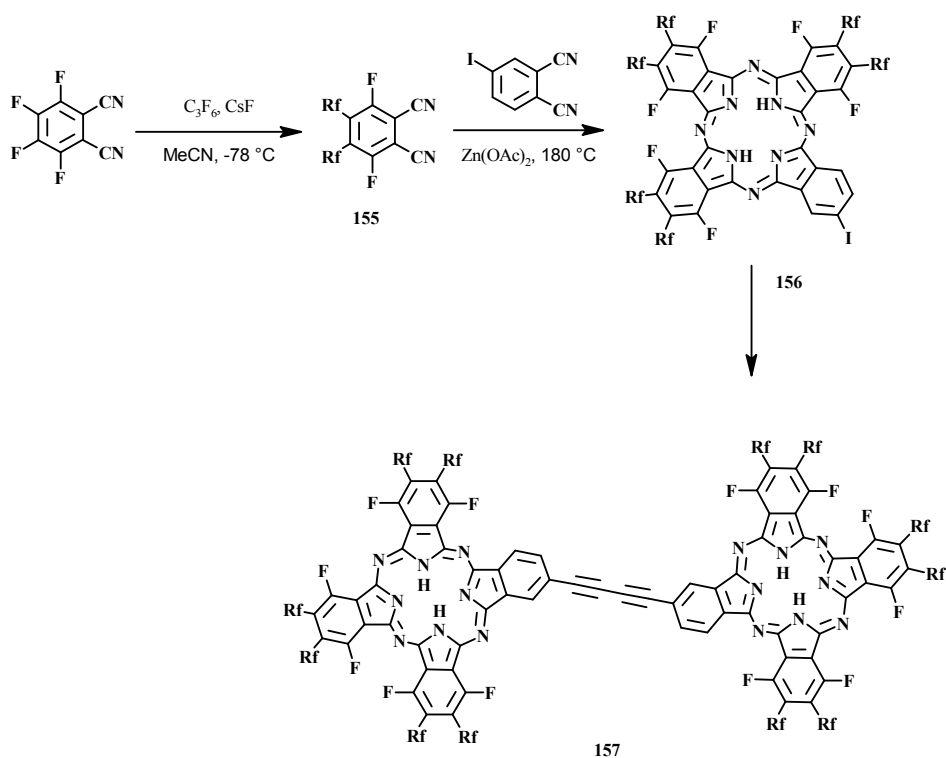


Схема 49.

В работе Bench и сотр. [101] тот же фталонитрил **155** был использован в синтезе соответствующего цинкового комплекса симметричного фталоцианина. Авторы исследовали этот комплекс в качестве потенциального ФС для ФДТ и выяснили, что введение в структуру ФС объемных перфторалкилфатических заместителей усиливает фототоксический эффект по сравнению с F_{16} (Рисунок 6).

Позднее Qiu и сотр. [102] использовали для синтеза фталонитрилов **158a,b** реакцию алкилирования перфторалкилиодидами в присутствии порошка меди. Полученные фталоцианины **159 a,b** авторы исследовали *in vitro* на опухолевых клетках человека HL-60 и A375 (Схема 50).

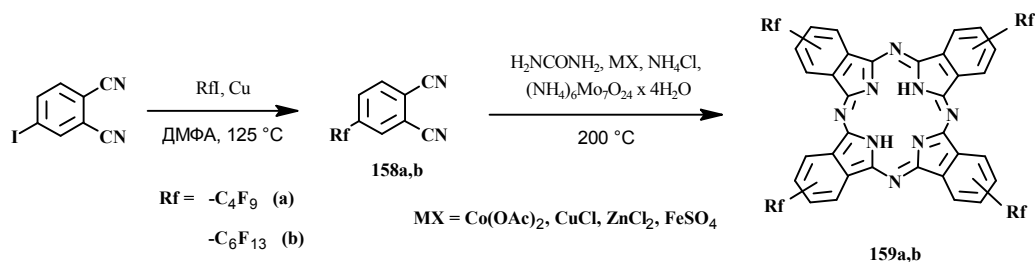


Схема 50.

Гао и сотр. получили симметричный фталоцианин **161** из фторсодержащего фталонитрила **160** и исследовали его эмульгированную форму *in vitro* на опухолевых клетках миеломы [103].

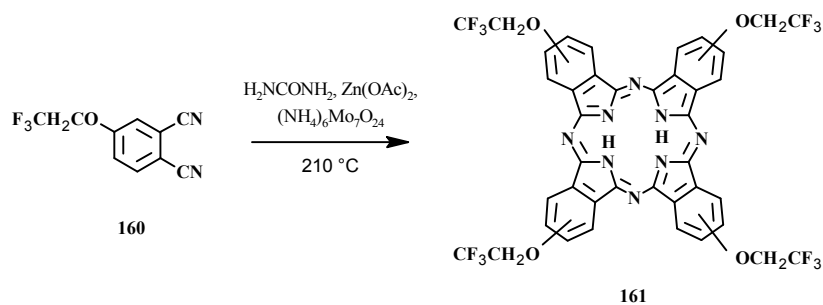


Схема 51.

Такой подход к синтезу порфириноидов, как сборка из исходных фторсодержащих соединений, к настоящему времени применялся только для порфиринов и фталоцианинов. Методов получения других порфириноидов (хлорины, бактериохлорины и т.д.) путем сборки из исходных фторсодержащих соединений в литературе найдено не было.

3.4. Заключение

В заключение можно сказать, что фторсодержащие порфириноиды отвечая всем необходимым требованиям к потенциальным ФС для ФДТ обладают также и рядом дополнительных преимуществ. Особенно стоит отметить высокую, по сравнению с нефторированными аналогами, устойчивость к окислению под действием АФК и повышенную липофильность за счет наличия перфторалифатических (чаще трифторметильных) заместителей. К настоящему времени исследователями получен широкий ряд фторсодержащих порфириноидов с ароматическими и алифатическими заместителями, многие из них имеют высокий потенциал для применения в медицине в качестве контрастных агентов и ФС для ФДТ. Разработано много методов введения небольших фторсодержащих фрагментов в молекулу порфириноида, тогда как длинные перфторуглеродные заместители используются реже. Поэтому поиск простых и доступных методов введения длинноцепочечных перфторуглеродных фрагментов в структуру порфириноидов остается актуальным.

4. Обсуждение результатов

Для создания фторуглеродной эмульсионной композиции нам в первую очередь необходимо было подобрать подходящий ФС. Большинство ФС, используемых в ФДТ, относятся к классу порфириноидов. До последнего времени в связи с недостаточной эффективностью средств доставки гидрофобных препаратов в опухолевые ткани, дизайн подходящих ФС был ориентирован на получение водорастворимых соединений, т.е. практически все ФС, применяемые в ФДТ, содержат гидрофильные фрагменты, неизбежно препятствующие растворению во фторуглеродах. Немногочисленные примеры структур фторсодержащих порфириноидов, разрабатываемых для ФДТ, содержат в себе лишь небольшое количество фторных заместителей, недостаточное для растворения во фторуглеродах. Таким образом, первостепенной задачей данного исследования являлась разработка методов синтеза фторсодержащих соединений порфиринового ряда, растворимых во фторуглеродах, и отвечающих всем требованиям, предъявляемым к ФС для ФДТ.

4.1. Синтез фторсодержащих порфириноидов

4.1.1. Дизайн фторсодержащих ФС

Особенностью перфторуглеродов (ПФУ) является не только их выраженная гидрофобность, но и некоторая липофобность, что затрудняет растворение в них многих органических веществ. Опыт предыдущих исследователей области создания катализаторов порфириновой природы для использования в системах FBC (Fluorous Biphasic Catalysis) [75] показал, что для достижения растворимости в ПФУ в молекуле должно присутствовать не менее 4-х перфторуглеродных заместителей. Стоит отметить, что именно перфторалифатические фрагменты в молекуле порфирина обеспечивают ему необходимую растворимость в ПФУ, в то время как ароматические, например пентафторфенильные, фрагменты никак не влияют на растворимость.

Следовательно, перед нами стояла задача сконструировать молекулу потенциального ФС таким образом, чтобы с одной стороны обеспечить достаточную растворимость в ПФУ, а с другой – сохранить ключевые характеристики порфиринового макроцикла, за счет которых он собственно и является эффективным ФС. Кроме того, мы стремились максимально упростить

структуру будущего ФС – добиться минимального содержания функциональных групп, усложняющих его синтез и спектральный анализ, а также потенциально приводящих к нежелательным дополнительным эффектам при *in vitro* экспериментах.

Учитывая эти условия и проанализировав доступные методы и подходы к синтезу перфторалкил-замещенных порфиринов, мы остановились на двух типах симметричных порфириновых структур (Схема 1) – с четырьмя перфторалифатическими заместителями непосредственно в *мезо*-положениях (тип I) и с перфторалифатическими фрагментами, связанными с макроциклом через арильный «спейсер» (тип II).

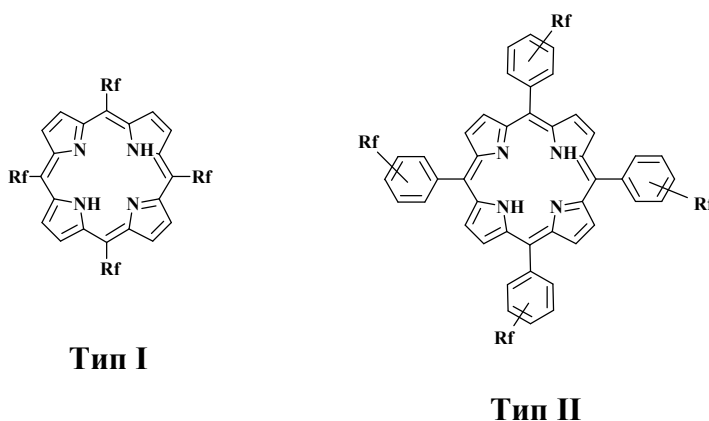


Схема 1. Структуры потенциальных ФС порфиринового ряда.

Структуры первого типа обеспечивают набор необходимых качеств, т.е. порфириновое ядро, ответственное за поглощение света в «красном» диапазоне, способность к генерации АФК и перфторуглеродные заместители, придающие молекуле растворимость в ПФУ. Структуры второго типа отличаются тем, что арильный «спейсер» минимизирует возможное влияние перфторуглеродных фрагментов на спектральные свойства порфиринового макроцикла, а также позволяет вводить в молекулу большее количество перфторуглеродных или иных заместителей.

4.1.2. Синтез мезо-полифторалкил-замещенных порфиринов

Анализ доступных методов получения симметричных *мезо*-перфторалкил-замещенных порфиринов позволил наметить две потенциальные стратегии синтеза (Схема 2):

1. Алкилирование перфторалкилиодидами порфина (или его β -замещенных производных),
2. Сборка порфиринового макроцикла из фторсодержащих пирролил-2-карбинолов.

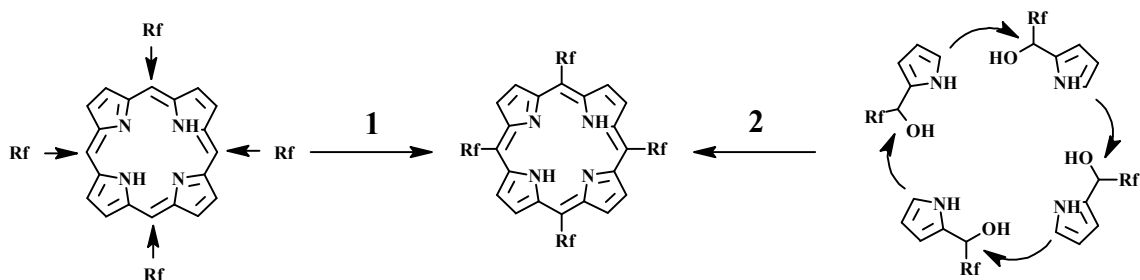


Схема 2. Пути синтеза симметричных мезо-алкил-замещенных порфиринов.

Первый метод отличается хорошими выходами конечных продуктов, но не является селективным. Дело в том, что порфириновый макроцикл имеет несколько центров для атаки алкилирующего агента – в простейшем представителе класса порфиринов, порphine, ими являются четыре *мезо*-положения и восемь β -положений. Из приведенных в литературном обзоре примеров следует, что атака по *мезо*-положению является более предпочтительной, т.е. реакция перфторалкилирования обладает некоторой региоселективностью. Однако и в этих случаях неизбежно образование смеси продуктов различной степени замещения, требующей тщательного хроматографического разделения.

Второй метод представляет собой тетрамеризацию пирролил-2-карбинолов с последующим окислением полученного порфириногена в порфирин. Такой путь представлялся нам более простым и эффективным, так как в нем используются более доступные фторсодержащие реагенты (альдегиды или хлорангидриды карбоновых кислот) и селективно получается тетра-замещенный порфирин, который сравнительно легко очищается от побочных продуктов, имеющих совершенно иную природу (линейные олигомеры).

Синтез пирролил-2-карбинолов

Для синтеза необходимых фторсодержащих пирролил-карбинолов карбинолов первоначально была использована литературная методика [80], которая заключается во взаимодействии незамещенного пиррола и перфторалифатического альдегида (Схема 3). Реакции проводились без растворителя в инертной атмосфере в присутствии избытка щелочи. Таким способом были получены соединения **1a** и **1c**, с перфторуглеродными радикалами C_2F_5- $HCF_2(CF_2)_4CF_2-$ с выходами 40 % и 37 %, соответственно.

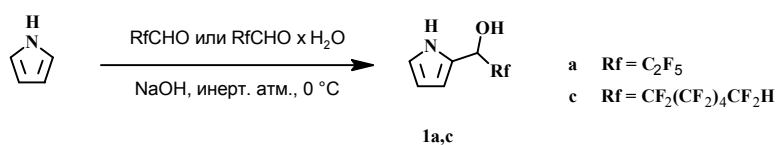


Схема 3.

Недостатками такого метода синтеза является саморазогрев реакционной смеси и ее высокая вязкость, препятствующая перемешиванию, что в результате приводило к невысокому выходу пирролил-2-карбинолов и образованию побочных высокомолекулярных продуктов. В нашей лаборатории была проведена модификация этой методики – проведение реакции в абс. этаноле. Это позволило повысить выход пирролил-2-карбинола **1c** до 75% [104].

В ходе наших дальнейших экспериментов выяснилось, что взаимодействие пирролов и перфторалифатических альдегидов с образованием пирролил-2-карбинолов возможно осуществить и без добавления щелочи (Схема 4, Таблица 1). Образование побочных продуктов полимеризации удалось избежать за счет проведения реакции при пониженной температуре (-18°C), а также за счет подбора смешанного растворителя - смеси хлористого метилена с гексаном - из которой пирролил-2-карбинол выпадал в осадок в ходе реакции в осадок. Вместо гексана также можно использовать петролейный эфир легких фракций.

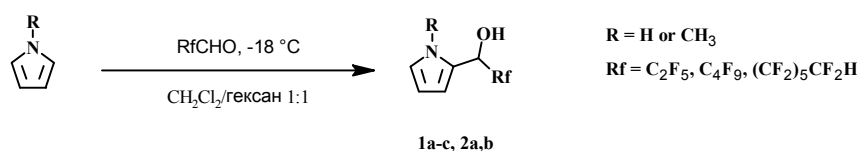
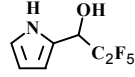
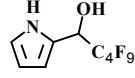
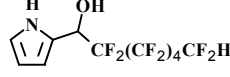
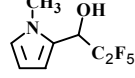
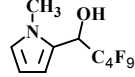


Схема 4.

Таблица 1. Продукты взаимодействия пирролов и перфторалифатических альдегидов.

№ в-ва	реагенты		продукт	выход, %
	R	Rf		
1a	H	C ₂ F ₅		56
1b	H	C ₄ F ₉		57
1c	H	(CF ₂) ₅ CF ₂ H		73
2a	CH ₃	C ₂ F ₅		74
2b	CH ₃	C ₄ F ₉		52

Снижение выхода конечного продукта при уменьшении длины фторуглеродного фрагмента объясняется нами тенденцией короткоцепочечных перфторалифатических альдегидов к быстрой гидратации даже при наличии следов воды. Тем не менее, приведенный способ синтеза значительно упрощает процесс выделения - пирролил-2-карбинолы выпадали в осадок из реакционной смеси и не нуждались в дополнительной очистке. Этот метод был успешно применен нами для гидроксиалкилирования N-метилпиррола (Таблица 1) и нескольких индолов

[105] – соответствующие пирролил-2- и индолил-3-карбинолы были получены с хорошими выходами.

Синтез порфиринов

Сборка порфиринов из полученных пирролил-2- карбинолов осуществлялась по литературной методике [80] - их тетрамеризацией в бензоле в присутствии каталитического количества *para*-толуолсульфонокислоты с азеотропной отгонкой воды и последующим окислением порфириногена 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохиноном (DDQ). После хроматографической очистки порфирины **3a** и **3c** с заместителями $-C_2F_5$ и $-(CF_2)_5CF_2H$ были получены с выходами 5 и 21% соответственно (Схема 5).

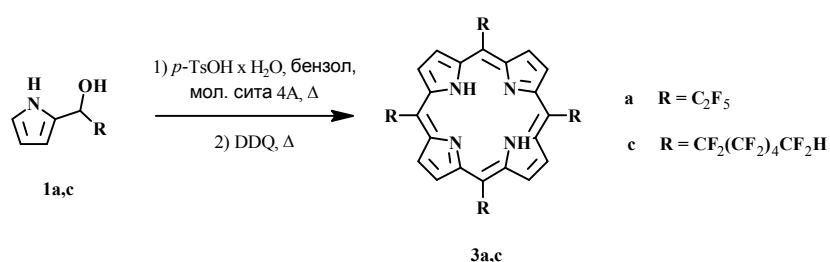


Схема 5.

К особенностям проведения реакции конденсации молекул пирролил-2-карбинолов следует отнести необходимость эффективного удаления воды из реакционной смеси. Также стоит отметить, что на выход конечного продукта чрезвычайно сильно влияла степень осушки растворителя. Лишь при его тщательном обезвоживании и использовании свежeproкаленных сит удалось добиться выходов продуктов порядка 20%. Отметим также возможность использования толуола в качестве растворителя – скорость реакции в этом случае увеличивалась, по-видимому, за счет повышения температуры кипения и возможности более эффективного отделения азеотропной смеси толуол-вода.

4.1.3. Синтез мезо-арил-замещенных порфиринов

Для синтеза мезо-арил-замещенных фторсодержащих порфиринов также можно предложить два подхода (Схема 6): модификацию готового порфиринового цикла фторсодержащими заместителями (1) и сборку макроцикла из фторсодержащих фрагментов (2).

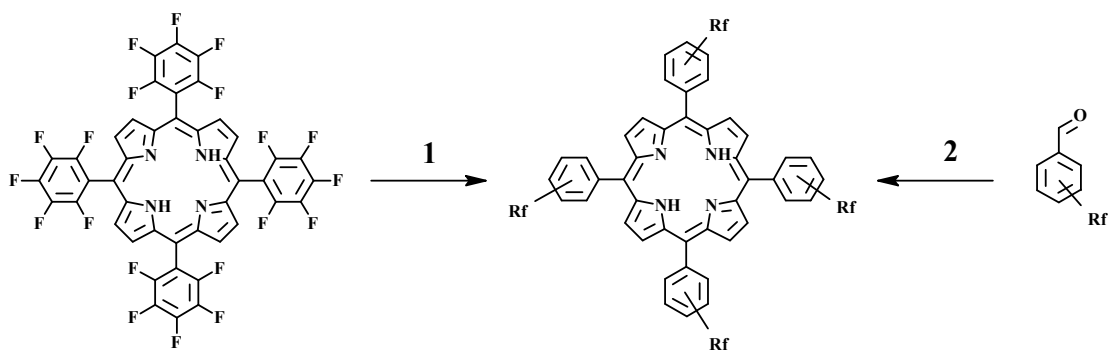


Схема 6. Подходы к синтезу симметричных *мезо*-арил-замещенных порфиринов.

Для реализации первого подхода в качестве остова был выбран *мезо*-тетракис(пентафторфенил)порфирин – удобное соединение для введения различных функциональных групп путем нуклеофильного замещения атомов фтора в *пара*-положении пентафторфенильных фрагментов. Для реализации второго подхода изначально проводился синтез перфторалкил-замещенного бензальдегида, который затем конденсировали с пирролом в порфириновый макроцикл.

Замещение атома фтора в мезо-тетракис(пентафторфенил)порфирине

Мезо-тетракис(пентафторфенил)порфирин ($\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$) часто используется в качестве основы для модификации различными функциональными группами, часть этих методов рассмотрена в Литературном обзоре.

В качестве фторсодержащего заместителя для модификации $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ были выбраны полифторалифатические спирты, они коммерчески доступны и разнообразны по структуре. Взаимодействие $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ с различными фторсодержащими N,S,O-нуклеофилами под действием оснований описано в работе [106]. Однако примеров использования в этих реакциях длинноцепочечных полифторалифатических спиртов в литературе известно не было, поэтому мы взяли за основу методику, предложенную для их нефторированных аналогов [107]. Стоит отметить, что одновременно с нами данный подход исследовался в работе [67], где изучалось взаимодействие $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ с широким рядом нефторированных спиртов и несколькими полифторалифатическими спиртами.

Первоначально реакцию замещения проводили в соответствии с [107] путем кипячения смеси $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ (1 экв.) и 2,2,3,3-тетрафторпропанола (12 экв.) в ТГФ с добавлением основания (KOH) в инертной атмосфере (Схема 7).

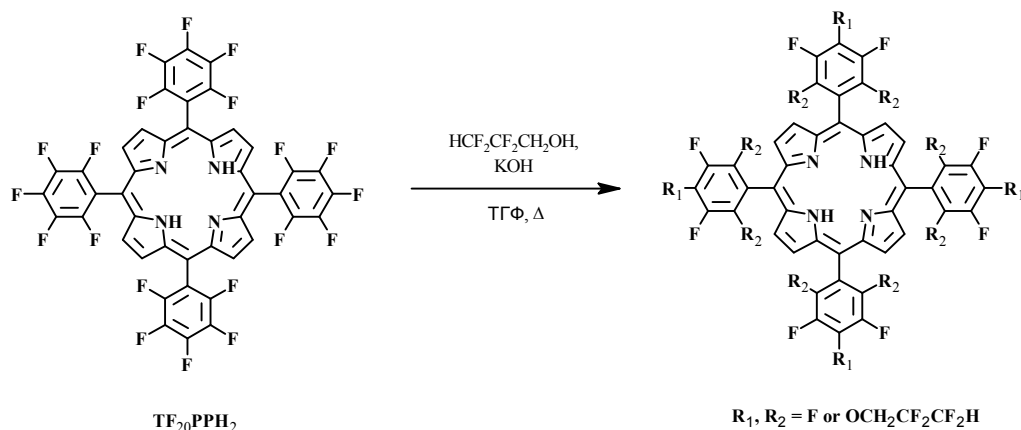


Схема 7.

После 4-х часов кипячения продукты реакции были выделены путем экстракции диэтиловым эфиром, полученная смесь была проанализирована методами масс-спектрологии и ЯМР на ядрах ^1H и ^{19}F . По данным масс-спектрологии (Рисунок 1, Таблица 2 пп. 2) изучаемая смесь состояла из четырех порфиринов, содержащих от четырех до семи полифторалкоксильных заместителей.

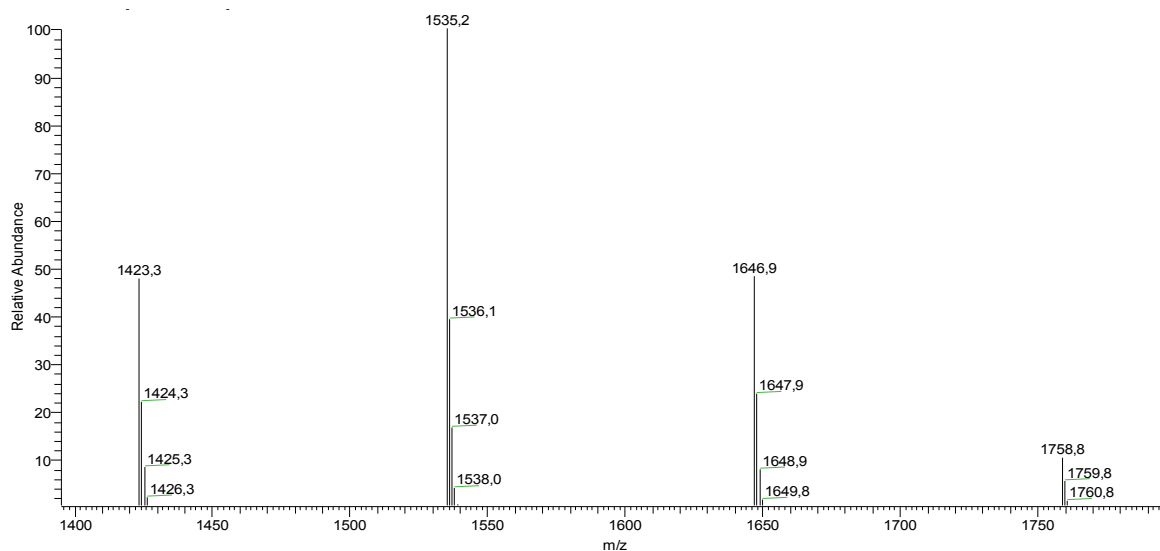


Рисунок 1. Масс-спектр (ESI-MS) реакционной смеси, полученной при взаимодействии $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ (1 экв.) с 2,2,3,3-тетрафторпропанола (12 экв.) в ТГФ

Спектры ЯМР на ядрах ^1H и ^{19}F оказались малоинформативны из-за наложения сигналов - определение состава смеси по ним не представляется возможным. Исходя из данных масс-спектрологии и ТСХ мы предположили, что нуклеофильная атака идет не только по *para*-положению пентафторфенильного фрагмента, но и по *орто*- или *мета*-положениям.

Для проверки влияния мольного соотношения $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ – спирт на тип продуктов реакции были проведены реакции при соотношениях $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ – спирт 1:4.5 и 1:80. Продукты реакции

были проанализированы в составе смеси также как и ранее. В первом случае наблюдалось ожидаемое нами отсутствие замещения атомов фтора в другие положения пентафторфенильного фрагмента кроме *para*-. однако, в результате была получена смесь порфиринов с количеством заместителей от 1-го до 4-х (Таблица 2 пп. 1). При использовании значительного избытка спирта (80 экв.) можно было ожидать получения продукта исчерпывающего замещения, однако снова была получена смесь порфиринов с количеством заместителей уже от 4-х до 8-ми (Таблица 2 пп. 3). Стоит отметить, что в данном случае реакция проводилась дольше рекомендованных четырех часов - ее ход контролировался методом ТСХ до прекращения изменений на хроматограмме в течение нескольких часов.

Таблица 2. Продукты реакции $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ с 2,2,3,3-тетрафторпропанолом общей формулы $\text{TF}_{20-n}\text{PPH}_2(\text{OCH}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{H})_n$, полученные при разных соотношениях реагентов.

пп.	соотношение $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ – спирт	общий выход продуктов, %	тип продуктов по данным ESI-MS	
			n	m/z
1	1:4,5	32	1	1086,8
			2	1197,7
			3	1310,8
			4	1422,7
2	1:12	75	4	1423,3
			5	1532,2
			6	1646,9
			7	1758,8
3	1:80	84	4	1423,2
			5	1535,4
			6	1647,1
			7	1758,9
			8	1870,7

Параллельно было изучено взаимодействие $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ с длинноцепочечными спиртами – $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{CH}_2\text{OH}$ и $\text{C}_8\text{F}_{17}\text{CH}_2\text{OH}$ (Схема 8). В данном случае при использовании соотношения реагентов $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ – спирт = 1:12 продуктов с количеством заместителей большим, чем четыре, не наблюдалось. Мы полагаем, что этот результат обусловлен большим объемом молекулы спирта, способной подойти для атаки пентафторфенильного фрагмента только в *para*-положение. В результате были получены преимущественно тетразамещенные порфирины **4a** и **4b**, которые были индивидуально выделены с выходами 47 и 35% соответственно.

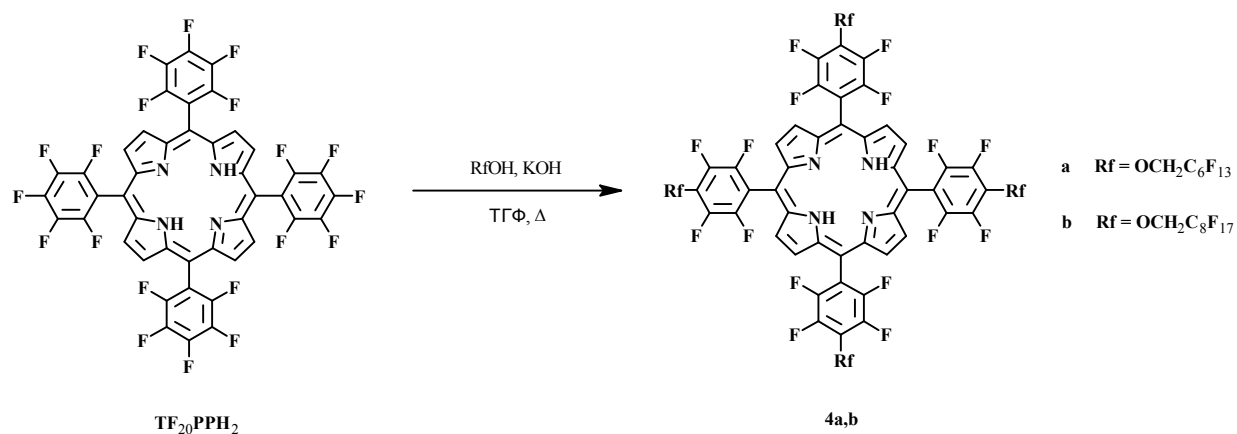


Схема 8.

Использование в данном превращении более мягких оснований (K_2CO_3 и KF) не привело к заметному увеличению селективности получения тетра-замещенного порфирина. Таким образом, нуклеофильное замещение атомов фтора в *para*-положениях пentaфторфенильных фрагментов $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ можно рекомендовать для введения исключительно длинноцепочечных полифторсодержащих фрагментов. К недостаткам данного подхода также стоит отнести отсутствие заметной селективности замещения, что затрудняет очистку целевого тетра-замещенного продукта.

Сборка макроцикла из полифторалкил-замещенных бензальдегидов

Второй подход к синтезу полифторалкил-замещенных *мезо*-тетраарилпорфиринов заключался в первоначальном получении полифторалкокси-замещенных бензальдегидов, а затем их конденсации с пирролом с образованием порфирина.

Синтез фторзамещенных бензальдегидов

В качестве фторсодержащих фрагментов было решено использовать те же полифторалифатические спирты и вводить их в молекулу бензальдегида путем нуклеофильного замещения атома фтора в *para*- или *para*- и *ortho*-положения.

Замещение атома фтора в 4-фторбензальдегиде

Для синтеза полифторалкил-замещенных бензальдегидов в качестве исходного соединения был выбран 4-фторбензальдегид, а реакция замещения проводилась по методике [108, 109] – первоначально был получен алкоголят полифторалифатического спирта путем взаимодействия с гидридом натрия, затем раствор алкоголята прибавляли к раствору бензальдегида в ДМСО и перемешивали при комнатной температуре 10 часов (Схема 9). После соответствующей обработки альдегид **5** был получен с выходом 16%.

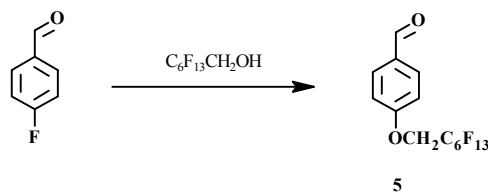


Схема 9.

С целью увеличения выхода продукта и оптимизации методики его выделения были предприняты попытки использования для реакции и других растворителей. Так, в ТГФ реакция шла медленно, за 15 часов не удалось добиться полной конверсии исходного альдегида (по ТСХ). Реакцию в ДМФА проводили при кипячении в течение 6-ти часов, также изменив методику приготовления алкоголята полифторалкилатического спирта – его получали путем взаимодействия спирта с метилатом натрия. Однако в этом случае удалось повысить выход продукта **5** лишь до 33% (при полной конверсии исходного альдегида).

Замещение атома фтора в пентафторбензальдегиде

В отличие от 4-фторбензальдегида пентафторбензальдегид является более активным в реакциях нуклеофильного замещения за счет влияния пяти атомов фтора. Также он имеет пять (вместо одного) положений для атаки нуклеофила – в работе [110] сообщалось о замещении всех пяти атомов фтора на тиофенол. Однако по причине меньшей активности О-нуклеофилов в реакциях с пентафторбензальдегидом отмечается замещение максимум трех атомов фтора (в *пара*- и двух *орто*-положениях) [111].

Нуклеофильное замещение атомов фтора в пентафторбензальдегиде на полифторалкилатические спирты проводилось в ДМФА с использованием в качестве оснований фторидов калия и цезия (Схема 10). Авторы метода успешно получали таким способом различные фенилокси-бензальдегиды [112]. Так как фенолы и полифторалкилатические спирты достаточно близки по кислотным свойствам, в нашем случае реакция также прошла успешно. При этом было показано, что проведение реакции при комнатной температуре приводило лишь к *пара*-замещению вне зависимости от времени реакции. Тогда как при нагревании до 60 °С образовывались бензальдегиды с тремя полифторалкокси-заместителями (Таблица 3). Эта температура является оптимальной - при нагревании до 80 °С реакционная смесь начинала осмоляться и выход целевого продукта снижался.

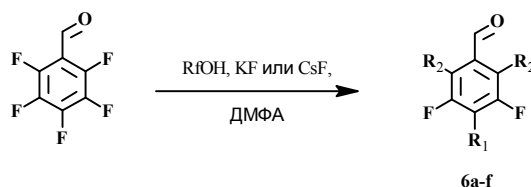


Схема 10.

Таблица 3. Продукты нуклеофильного замещения атомов фтора в *para*- и *ortho*-положениях пентафторбензальдегида на остатки различных фторсодержащих спиртов

№ в-ва	Rf	условия реакции	R ₁	R ₂	выход продукта, %
6a	C ₂ F ₅ CH ₂ -	KF, rt	C ₂ F ₅ CH ₂ O-	F	38
6b	C ₄ F ₉ CH ₂ -	KF, rt	C ₄ F ₉ CH ₂ O-	F	27
6c	HCF ₂ (CF ₂) ₇ CH ₂ -	KF, rt	HCF ₂ (CF ₂) ₇ CH ₂ O-	F	55
6d	C ₆ F ₅ -	CsF, rt	C ₆ F ₅ O-	F	50
6e	C ₆ F ₁₃ CH ₂ -	KF, 60 °C	C ₆ F ₁₃ CH ₂ O-	C ₆ F ₁₃ CH ₂ O-	42
6f	C ₆ F ₅ -	KF, 60 °C	C ₆ F ₅ O-	C ₆ F ₅ O-	27

Полученные замещенные бензальдегиды в чистом виде представляют собой желтые вязкие маслянистые жидкости или светло-желтые кристаллические вещества в зависимости от количества и длины полифторуглеродных фрагментов. Все они были выделены из реакционной смеси путем экстракции диэтиловым эфиром, в некоторых случаях для дополнительной очистки была использована флеш-хроматография.

Синтез порфиринов

Сборку симметричных *мезо*-тетраарилпорфиринов как правило осуществляют путем конденсации бензальдегидов с пирролами по методу Адлера-Лонго [113] или Линдси [92]. Первый метод представляет собой кипячение смеси пиррола и альдегида в уксусной или пропионовой кислоте. В качестве окислителя порфириногена в порфирин используется кислород воздуха. Этот метод удобен в исполнении, продукты реакции обычно выделяют простым фильтрованием. Однако, выход порфиринов по такому методу, как правило, ниже, чем по методу Линдси, а также из-за использования высоких температур он подходит не для всех реагентов. Второй метод более мягкий – альдегид-пиррольная конденсация проводится при комнатной температуре или при небольшом нагревании до 40-60 °C под действием кислоты Льюиса (чаще всего эфирата трехфтористого бора), в качестве окислителя используется DDQ.

В качестве основного метода получения соответствующих порфиринов нами был выбран предложенный в работе Линдси (Схема 11). Он отличается хорошими выходами конечных продуктов и более мягкими условиями по сравнению с методом Адлера Лонго, что особенно

важно из-за непредсказуемости поведения полифторалкокси-бензальдегидов при высоких температурах. Альдегид-пиррольную конденсацию проводили в дихлорметане (ДХМ) при комнатной температуре в присутствии эфирата трехфтористого бора, окисление образовавшегося порфириногена проводили с использованием DDQ при нагревании до 40 °С. Соответствующие симметричные порфирины **7a,b,d** и **8** (Таблица 4) были получены с хорошими для этого класса соединений выходами (10-20%) и охарактеризованы методами ЯМР- и масс-спектроскопии.

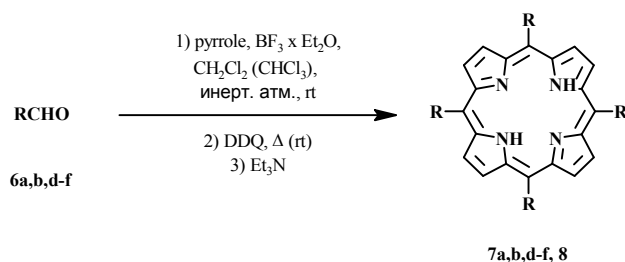

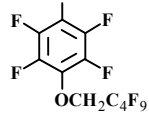
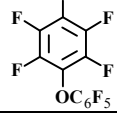
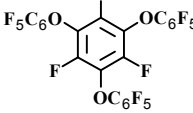
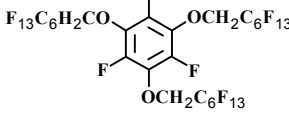
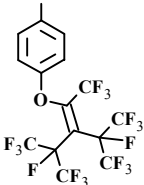


Схема 11.

Согласно литературным данным наличие у бензальдегидов в 2-м и/или 6-м положении заместителей даже небольшого размера (например метил- или метокси-группы) значительно затрудняет возможность образования порфиринов по упомянутому выше методу. Конденсация *орто*-замещенных бензальдегидов с пирролом с образованием порфирина требует использования сокатализатора (этанола), что было впервые продемонстрировано на примере мезитилальдегида [114]. Использование этой методики для конденсации альдегида **6e** с пирролом привело к получению соответствующего порфирина **7e**, но выход продукта не превышал 2%. Попытка провести реакцию с альдегидом **6f** оказалась неудачной, что может быть связано с большим объемом заместителей (1,1-Н,Н-перфторгептилокси- по сравнению с пентафторфенокси-группой) или с низкой растворимостью промежуточных соединений в хлороформе, наблюдаемой нами в обоих случаях.

Таблица 4. Порфирины с полифторалкоксильными заместителями, полученные путем сборки макроцикла из пиррола и фторсодержащих бензальдегидов.

№	R	условия реакции	выход продукта, %
7a		1) пиррол, BF ₃ ·xH ₂ O, ДХМ, аргон, комнатная температура 2) DDQ, 40 °С 3) Et ₃ N	23
7b		1) пиррол, BF ₃ ·xH ₂ O, ДХМ, аргон, комнатная температура 2) DDQ, 40 °С 3) Et ₃ N	21
7d		1) пиррол, BF ₃ ·xH ₂ O, ДХМ, аргон, комнатная температура 2) DDQ, 40 °С	18
7e		1) пиррол, BF ₃ ·xH ₂ O, CHCl ₃ (+EtOH об. 0,8%), аргон, комнатная температура 2) DDQ, комнатная температура 3) Et ₃ N	1
7f		1) пиррол, BF ₃ ·xH ₂ O, CHCl ₃ (+EtOH об. 0,8%), аргон, комнатная температура 2) DDQ, комнатная температура 3) Et ₃ N	-
8		1) пиррол, BF ₃ ·xH ₂ O, ДХМ, аргон, комнатная температура 2) DDQ, 40 °С 3) Et ₃ N	2

Для конденсации пиррола с альдегидами **5** и пентафторбензальдегидом был использован метод Адлера-Лонго (Схема 12). Как и ожидалось, в среднем выходы оказались немного ниже, соответствующие порфирины *мезо*-тетракис(4-(1,1-Н,Н-перфторгептилокси)фенил)порфирин (**9**) и TF₂₀PPH₂ были получены с выходами 17 и 6-10% (Таблица 5). Полифторалкокси-группы оказались в условиях реакции незатронутыми, т.е. среди продуктов реакции альдегида **5** с пирролом был обнаружен только порфирин **9**, других продуктов порфириновой природы найдено не было.

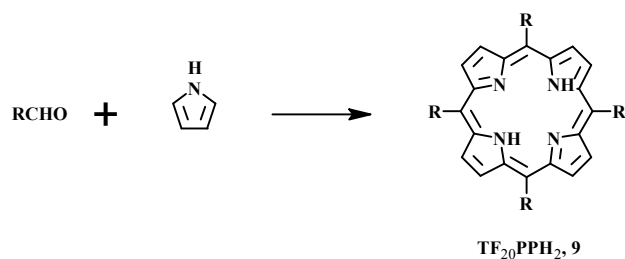
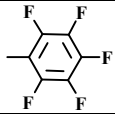
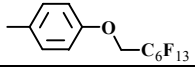


Схема 12.

Таблица 5.

№	R	условия реакции	выход продукта, %
$TF_{20}PPH_2$		$C_2H_5CO_2H$, кипячение	6-10
9		$CH_3CO_2H/PhNO_2$ 3:2, кипячение	17

Итак, нами было испробовано несколько путей синтеза фторсодержащих порфиринов и получен ряд таких соединений с алифатическими и ароматическими заместителями (Таблица 6).

Таблица 6. Фторсодержащие порфирины с алифатическими и ароматическими заместителями, полученные в данной работе.

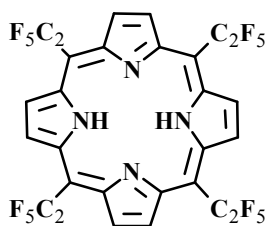
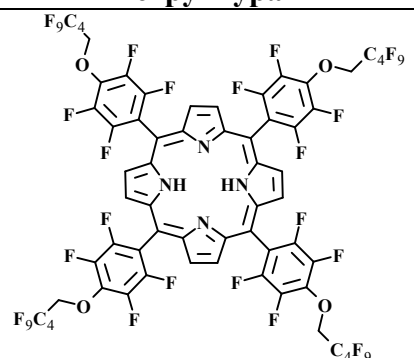
№	структура	№	структура
3a		7b	

Таблица 6 (продолжение).

№	структура	№	структура
3c		7d	
4a		7e	
4b		8	
7a		9	

Порфирины с алифатическими заместителями в *мезо*-положении (**3a** и **3c**) были получены по схеме, разработанной DiMagno и сотр., которую мы немного улучшили путем упрощения синтеза необходимых пирролил-2-карбинолов. Порфирины с ароматическими заместителями в

мезо-положении (**4a,b**; **7a,b,d,e**; **8** и **9**) были синтезированы с использованием двух подходов. Наиболее эффективным подходом оказалась сборка порфиринового макроцикла из полифторалкил-замещенных бензальдегидов путем конденсации их с пирролом по методу Линдси. Для ее реализации был разработан удобный метод синтеза таких бензальдегидов в одну стадию путем замещения атомов фтора в пентафторбензальдегиде на полифторалифатические спирты под действием фторида калия.

4.1.4. Поиск подходов к синтезу хлоринов и бактериохлоринов из порфирина 3c

Одним из способов увеличения эффективности порфиринов, используемых в качестве ФС для ФДТ, является их превращение в хлорины и бактериохлорины – производные порфиринов, с восстановленной «квазидвойной» связью. Такие соединения характеризуются более интенсивным поглощением в «красном» (хлорины) и ближнем ИК (бактериохлорины) диапазонах. Потенциальным преимуществом подобных ФС является то, что свет в этом диапазоне лучше проникает в ткани, следовательно, при терапии потребуются меньшая доза облучения. Также в этом диапазоне уже не поглощают эндогенные порфирины, следовательно снижается риск фотосенсибилизации здоровых тканей. Методы синтеза хлоринов и бактериохлоринов достаточно разнообразны, наиболее полную информацию о них можно почерпнуть в обзоре [115]. Большинство из них направлено на модификацию порфирина и лишь некоторые основаны на непосредственной сборке хлоринового (или бактериохлоринового) макроцикла.

Мы решили исследовать возможность синтеза перфторалкил-замещенных хлоринов и бактериохлоринов для их дальнейшего изучения в качестве ФС для ФДТ. Объектом для модификации был выбран порфирин **3c**, как наиболее активный по действию на опухолевые клетки (см. раздел Биологические испытания). Так как в литературе не описано получение *мезо*-перфторалкилзамещенных хлоринов и бактериохлоринов, мы тестировали методы, применявшиеся для других, чаще нефторированных, порфиринов.

Восстановление тозилгидразином

Восстановление порфиринов тозилгидразином является, пожалуй, самым часто используемым методом синтеза хлоринов и бактериохлоринов. Роль восстановителя здесь играет диимид (HN=NH), образующийся *in situ* из тозилгидразина под действием высокой температуры или микроволнового излучения. Мы проводили реакцию в по аналогии с [116] (Схема 13).

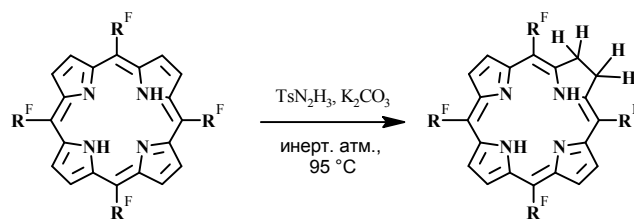


Схема 13.

Уже через два-три часа нагревания наблюдалось исчезновение исходного порфина с образованием сложной смеси неидентифицированных продуктов. На УФ-спектре не наблюдалось пиков ни исходного порфирина, ни ожидаемых продуктов (хлорина или бактериохлорина). Уменьшение времени, как и температуры реакции также не приводило к положительным результатам. Такой исход реакции может быть связан с сильным электроноакцепторным эффектом перфторуглеродных заместителей, в связи с чем восстановление «квазидвойных» связей порфирина происходит очень легко и реакцию не удается остановить на стадии образования желаемых хлорина или бактериохлорина.

Циклоприсоединение

Мы опробовали несколько базовых типов циклоприсоединения по «квазидвойной» связи порфиринового макроцикла (Схема 14) – [4+2] (присоединение по Дильсу-Альдеру, где порфирин является диенофилом), [3+2] (1,3-диполярное циклоприсоединение азометин-илида) и [1+2] (циклопропанирование диазосоединениями).

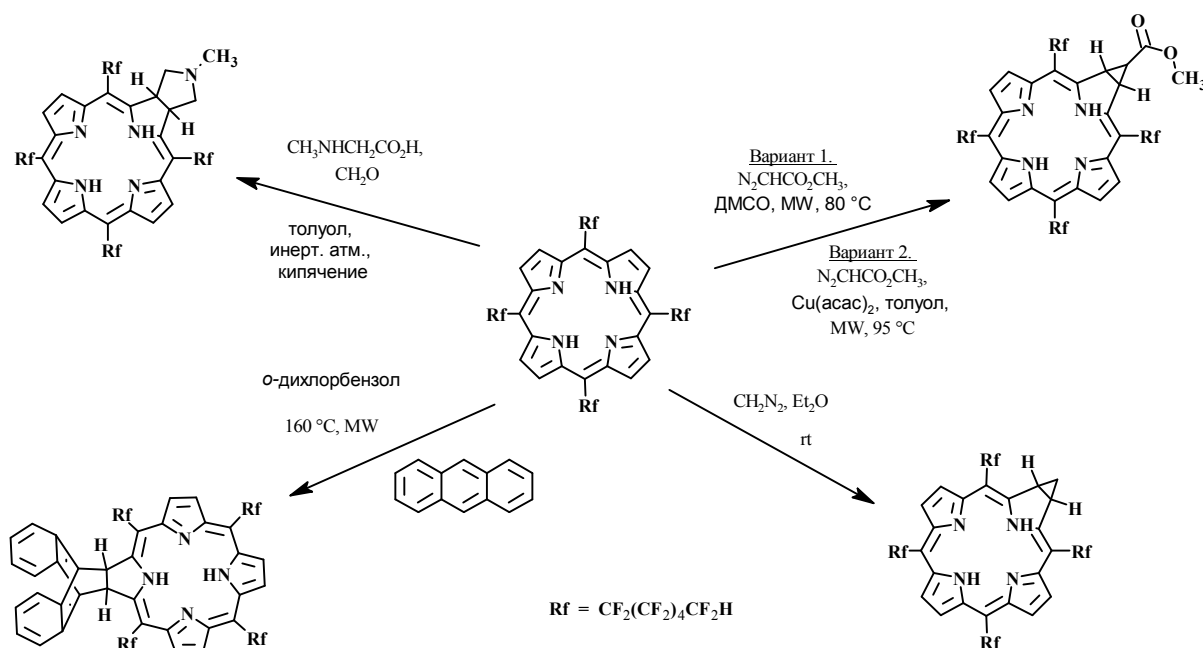


Схема 14.

Присоединение по Дильсу-Альдеру

Для реакции [4+2]-циклоприсоединения за основу была взята методика [117]. В качестве диена мы выбрали антрацен, реакцию проводили при температуре 160 °С в течение часа. На УФ-спектре охлажденной реакционной смеси были обнаружены сигналы только от исходного порфирина, продуктов присоединения обнаружено не было.

Присоединение азометин-илида

Для [3+2] циклоприсоединения к «квазидвойной» связи порфирина выбрали азометин-илид, получаемый *in situ* из N-метилглицина и параформальдегида. Реакцию проводили по методике, описанной в [118], путем кипячения порфирина **3c** со смесью N-метилглицина и параформальдегида в толуоле. Контроль реакции, как и в предыдущих случаях, осуществляли по ТСХ и УФ-спектрам реакционной смеси. По результатам спектрального анализа после 10-ти часов в реакционной смеси был обнаружен только исходный порфирин, продуктов присоединения азометин-илида обнаружено не было.

Циклопропанирование

В качестве реагентов для [1+2] циклоприсоединения были использованы диазометан метилдиазоацетат.

Диазометан получали из N-метил-N-нитрозомочевины под действием гидроксида калия в диэтиловом эфире по методике, описанной в [119]. Полученный раствор диазометана в эфире использовали сразу после приготовления. Реакцию циклопропанирования проводили при комнатной температуре в эфире в течение 13-ти дней, периодически добавляя свежеприготовленный раствор диазометана, контроль процесса осуществляли по УФ-спектрам реакционной смеси (Рисунок 2). Через 3 дня на спектре помимо сигналов от исходного порфирина появилась слабая полоса поглощения $\lambda = 677$ нм, отнесенная нами к хлорину. В последующие 10 дней значительных изменений в содержании хлорина в реакционной смеси относительно исходного порфирина не появилось, и выбранный метод, по-видимому, можно считать синтетически неперспективным.

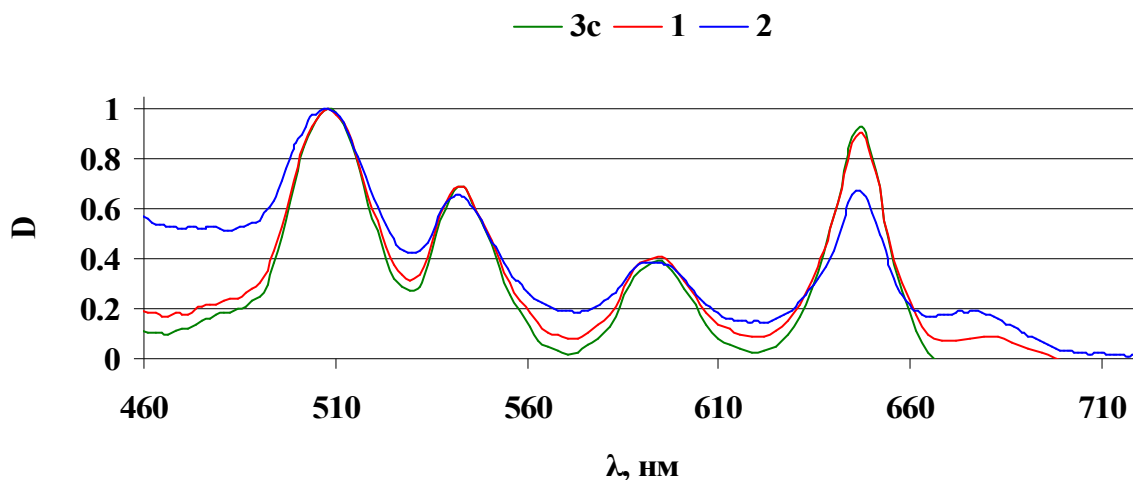


Рисунок 2. Спектры поглощения порфирина **3c** и реакционной смеси на третий (1) и тринадцатый (2) день проведения реакции. Все спектры сняты в диэтиловом эфире. Оптическая плотность нормирована на единицу.

Метилдиазоацетат получали из гидрохлорида метилового эфира глицина диазотированием по методике, описанной в [120]. Полученный продукт использовали в виде 7%-ного раствора в ДХМ. Присоединение диазоуксусного эфира проводили по методике, описанной в [121] под действием микроволнового излучения в двух вариантах. Некаталитическое присоединение проводили в ДМСО при нагревании до 80 °С. Каталитическое присоединение проводили в присутствии ацетилацетоната меди в толуоле при нагревании до 95 °С. И в том и в другом случае на УФ-спектрах реакционных смесей наблюдались сигналы только от исходного порфирина.

Окисление тетраоксидом осмия

Еще один метод синтеза хлоринов и бактериохлоринов, опробованный нами, заключается к окислительном дигидроксилировании «квазидвойной» связи порфиринового цикла тетраоксидом осмия (OsO_4). Реакция проводится в две стадии (Схема 15) – на первой стадии происходит присоединение OsO_4 по двойной связи с образованием эфира осмиевой кислоты, который затем разлагают водным раствором сульфита натрия или газобразным сероводородом. За основу мы взяли методику [122].

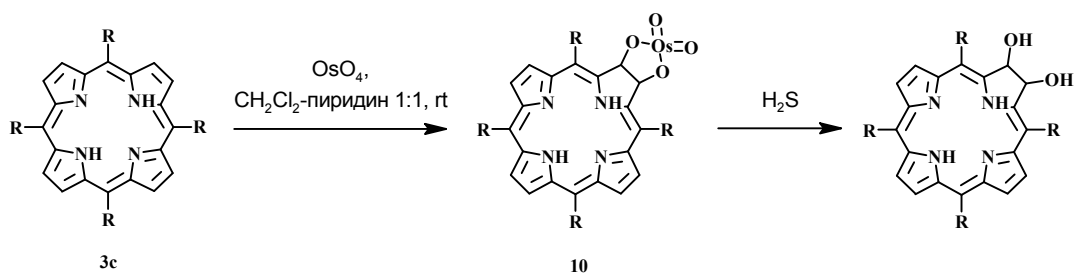


Схема 15.

Реакцию присоединения OsO_4 проводили в смеси ДХМ-пиридин (соотношение 1:1) в запаянной ампуле при комнатной температуре и перемешивании в течение 14-ти дней, реагенты брали в соотношении порфирин- $\text{OsO}_4 = 1:5$ (рекомендованное авторами соотношение для синтеза бактериохлоринов). Контроль процесса осуществляли методом УФ-спектроскопии (Рисунок 3). На 7-й день наблюдались полосы поглощения, характерные для хлорина (410, 631, 687 нм) и бактериохлорина (356, 520, 786 нм), сигналы от исходного порфирина отсутствовали. На 14-й день реакции изменений в спектре поглощения реакционной смеси отмечено не было.

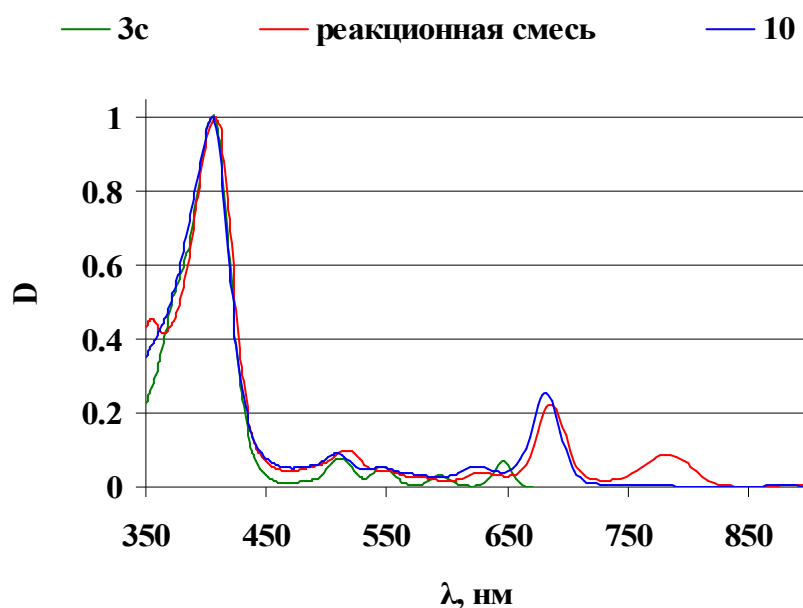


Рисунок 3. Спектры поглощения исходного порфирина **3c**, реакционной смеси (14 день) и хлорина **10**, выделенного индивидуально, в растворах ДХМ-пиридин = 1:1

Полученную смесь разделяли последовательно методами колоночной и препаративной тонкослойной хроматографии. В чистом виде были выделены исходный порфирин **3c** и осмиевый эфир хлорина (**10**) с выходом 68%, который при стоянии в закрытом сосуде постепенно превращается в исходный порфирин (по ТСХ).

Итак, нами были опробованы различные методы синтеза хлоринов из порфирина **3c**. Выяснилось, что единственный метод, приводящий к хорошим результатам это окисление «квазидвойной» связи порфирина тетраоксидом осмия.

4.2. Изучение фторсодержащих порфиринов в составе фторуглеродных эмульсий как ФС для ФДТ

Для оценки применимости полученных фторсодержащих порфиринов в качестве потенциальных ФС для ФДТ, а также для отбора наиболее перспективных структур для дальнейших испытаний *in vitro* и *in vivo* нами были проведены исследования их растворимости в перфторуглеродах, спектральных характеристик (поглощение в видимой области и флуоресценция) и способности к фотосенсибилизированной генерации синглетного кислорода. Сравнение свойств было проведено в ряду порфиринов **3c**, **4a**, **8** (Рисунок 4) с максимально отличающихся структурой и положением фторуглеродных заместителей.

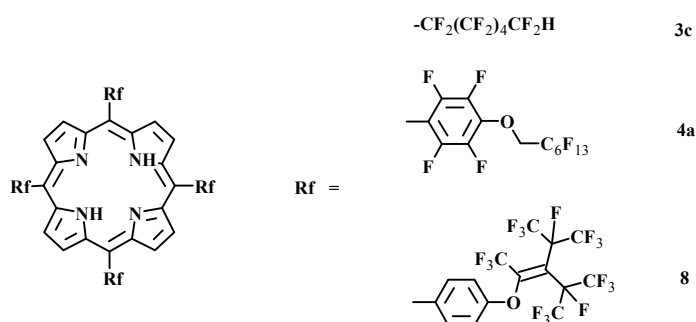


Рисунок 4. Порфирины, отобранные для исследований.

4.2.1. Растворимость в ПФУ и спектральные характеристики порфиринов

Растворимость

Растворимость порфиринов в ПФУ является для нас одним из ключевых параметров, характеризующих пригодность полученных ФС для создания фторуглеродной эмульсионной композиции. Результаты измерений показали, что максимальные концентрации всех трех порфиринов, независимо от типа и месторасположения перфторуглеродных фрагментов, находятся на уровне 1мМ (Таблица 7).

Таблица 7. Растворимость порфиринов в ПФД.

№	с(макс.), мМ
4а	1,10
8	1,23
3с	1,13

Определение максимально достижимых концентраций фторсодержащих порфиринов в ПФД при комнатной температуре производили спектрофотометрическим методом.

Электронные спектры поглощения

Для порфиринов **3с**, **4а**, и **8** были определены максимумы поглощения в бензоле и ПФД (Рисунок 5). Выбор именно таких растворителей обусловлен тем, что ПФД является основным фторуглеродным компонентом создаваемой нами эмульсии, а данные по поглощению в растворах бензола были необходимы для оценки эффективности генерации $^1\text{O}_2$, а также для сравнения с литературными данными. Для расчета коэффициентов экстинкции брали растворы с концентрацией 10^{-7} - 10^{-5} моль/л (не менее трех для каждого соединения), среднеквадратичное отклонение составляло $\geq 0,95$.

Для всех порфиринов наблюдались характерные спектры поглощения - полоса Soret и 4 Q-полосы. В случае **4а** наблюдалось наложение Q_у-полос, что затрудняло точное определение максимума и коэффициента экстинкции.

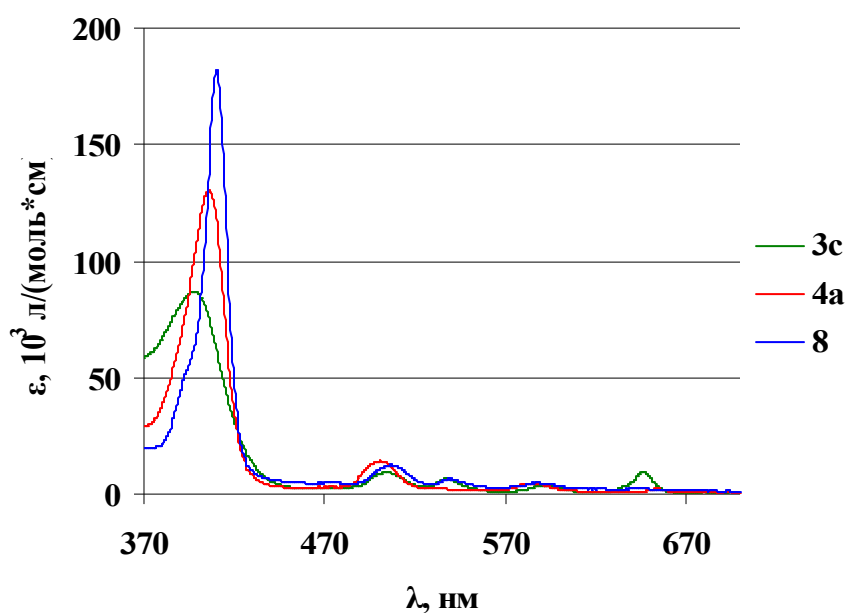


Рисунок 5. Спектры поглощения порфиринов **3с** (зеленый), **4а** (красный) и **8** (синий) в растворах ПФД в координатах ϵ (коэффициент экстинкции) – λ (длина волны) видимой области.

Сравнение спектров поглощения в растворах бензола и ПФД (Таблица 8) показало, что для всех порфиринов наблюдался сдвиг максимумов поглощения в "красную область" в бензоле по отношению к ПФД. Общей тенденцией являлся заметный сдвиг полосы Soret (на 10-14 нм), Q-полосы смещены немного меньше.

Таблица 8. Максимумы поглощения и коэффициенты экстинкции порфиринов **3с**, **4а** и **8** в бензоле (λ_1) и в ПФД (λ_2), $\Delta\lambda = \lambda_1 - \lambda_2$, * - невозможно определить максимум поглощения из-за наложения полос.

№	λ , нм (ϵ , $10^3 M^{-1} \cdot cm^{-1}$)														
	Soret			Q _y (1,0)			Q _y (0,0)			Q _x (1,0)			Q _x (0,0)		
	λ_1	λ_2	$\Delta\lambda$	λ_1	λ_2	$\Delta\lambda$	λ_1	λ_2	$\Delta\lambda$	λ_1	λ_2	$\Delta\lambda$	λ_1	λ_2	$\Delta\lambda$
TF ₂₀ PPH ₂	416			508 (28,4)			537 (4,1)			586 (8,9)			658 (6,4)		
3с	410	398 (89,4)	12	514	505 (9,1)	9	547	537 (6,5)	10	598	595 (3,7)	3	650	647 (9,3)	3
4а	417	406 (137,2)	11	510	501 (13,9)	9	*	*	*	587	583 (4,7)	4	659	654 (2,3)	5
8	420 (175,5)	410	10	515 (9,0)	507 (12,7)	8	550 (4,5)	539	11	591	587 (4,9)	4	650	643	7

Порфирин **3с** с алифатическим заместителем в *мезо*-положении сильнее поглощает в "красной области", а у порфиринов с ароматическими заместителями (TF₂₀PPH₂, **4а** и **8**) значительная доля поглощенной энергии приходилась на полосу Soret, что хорошо согласуется с литературными данными.

Флуоресценция

Возможность использования ФС не только для терапии но и для диагностики опухолей, предполагает наличие заметной флуоресценции порфиринов. Исследование флуоресцентных характеристик полифторалкил-замещенных порфиринов проводили в растворах ПФД и бензола.

Для оценки эффективности флуоресценции производили расчет относительного квантового выхода флуоресценции (ϕ), используя в качестве стандарта TF₂₀PPH₂ и имеющиеся на него литературные данные [123]. Для расчета ϕ (Таблица 9) регистрировали спектры не менее 3-х растворов разной концентрации для каждого соединения. Возбуждение проводили при длине волны $\lambda = 406$ нм. Концентрации растворов составляли 10^{-7} - 10^{-6} моль/л и выбирались таким образом, чтобы оптическая плотность (при $\lambda = 406$ нм) была не более 0,1. Для расчета ϕ

выбрали величины интенсивности при длине волны 660 нм (точка наибольшего перекрытия полос испускания всех порфиринов). Расчет φ проводили по формуле (1).

$$\varphi = \varphi_{st} \times \frac{a_{exp}}{a_{st}}, \quad (1)$$

где φ – квантовый выход, a – тангенс угла наклона прямой на графике I-D (I – интенсивность испускания, D – оптическая плотность).

Таблица 9. Максимумы флуоресценции и относительные квантовые выходы (φ) порфиринов **3c**, **4a**, и **8** в бензоле.

№ в-ва	λ , нм		φ
	Q (0,0)	Q (0,1)	
TF ₂₀ PPH ₂	660	710	0.032
8	650	720	0.032
4a	660	715	0.016
3c	655	720	0.011

Полученные значения квантовых выходов (Таблица 9) оказались равны или меньше, чем для выбранного стандарта. При этом, как оказалось порфирин **3c** с алифатическим заместителем флуоресцирует слабее, чем образцы с арильными заместителями (**4a** и **8**). Соответствующие примеры спектров флуоресценции в бензоле приведены на Рисунке 6. Вид спектров согласуется с литературными данными для подобных соединений.

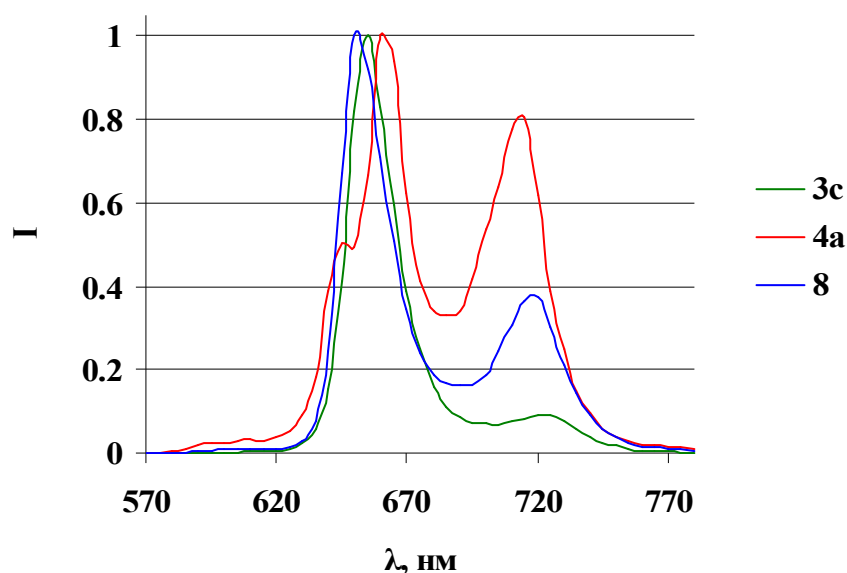


Рисунок 6. Спектры флуоресценции порфиринов **3c**, **4a**, и **8** в бензоле.

Интенсивность (I) нормирована на единицу.

Также на качественном уровне мы оценивали способность наших порфиринов к флуоресценции в растворах ПФД. Провести количественную оценку квантового выхода флуоресценции в этом растворителе не представлялось возможным, так как не хватало литературных данных для сравнения.

Фотосенсибилизированная генерация синглетного кислорода

Из известных методов оценки уровня синглетного кислорода было выбрано прямое измерение интенсивности его фосфоресценции (Рисунок 7). Критерием для сравнения с литературными данными стала величина квантовой эффективности фосфоресценции синглетного кислорода ($\phi(^1\text{O}_2)$). Задача осложнялась отсутствием соответствующих данных для близкого по структуре стандартного вещества. Наиболее подходящим стандартом оказался **TF₂₀PPH₂**, используемый нами ранее для расчета квантового выхода флуоресценции. Для выбранного стандарта известны величины $\phi(^1\text{O}_2)$ в бензоле, поэтому эксперименты проводились и в ПФД, и в бензоле. Используемое значение $\phi(^1\text{O}_2)$ было рассчитано в работе [123] из зависимости интенсивности фосфоресценции $^1\text{O}_2$ при $\lambda = 1270$ нм от интенсивности возбуждающего излучения (при $\lambda = 532$ нм) относительно стандарта - мезо-тетрафенилпорфирина.

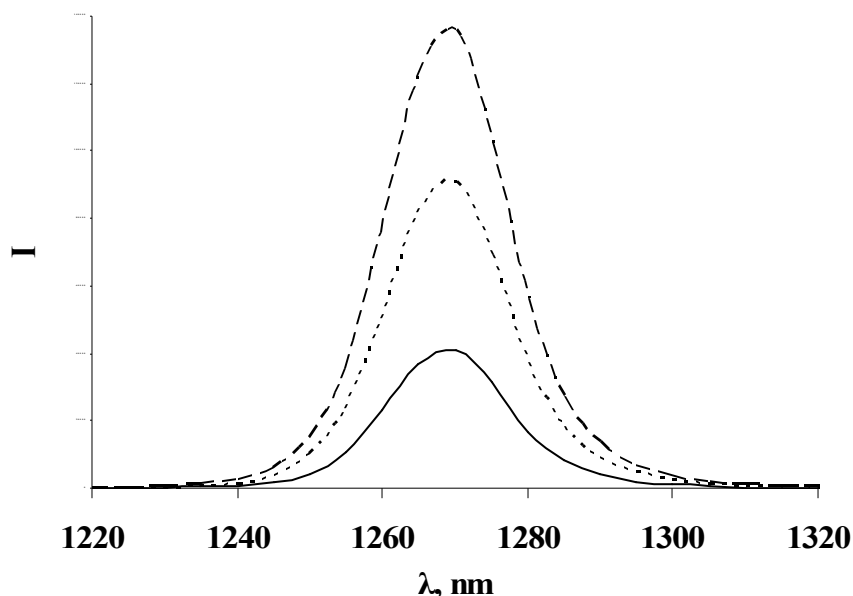


Рисунок 7. Фосфоресценция $^1\text{O}_2$ в бензоле при разных концентрациях порфирина.

В качестве метода расчета был выбран анализ зависимости интенсивности фосфоресценции $^1\text{O}_2$ от оптической плотности раствора (Рисунок 8). Возбуждение проводили при длине волны $\lambda = 532$ нм, максимум фосфоресценции $^1\text{O}_2$ наблюдался при $\lambda = 1275$ нм. Для каждого

исследуемого соединения регистрировались спектры флуоресценции при 3-х и более концентрациях. Полученные величины для практически всех исследуемых порфиринов хорошо ложились на прямую ($R^2 \geq 0.95$). Тангенс угла наклона полученных прямых использовался для расчета $\phi(^1O_2)$ по формуле (1). Значения $\phi(^1O_2)$ приведены в Таблице 10.

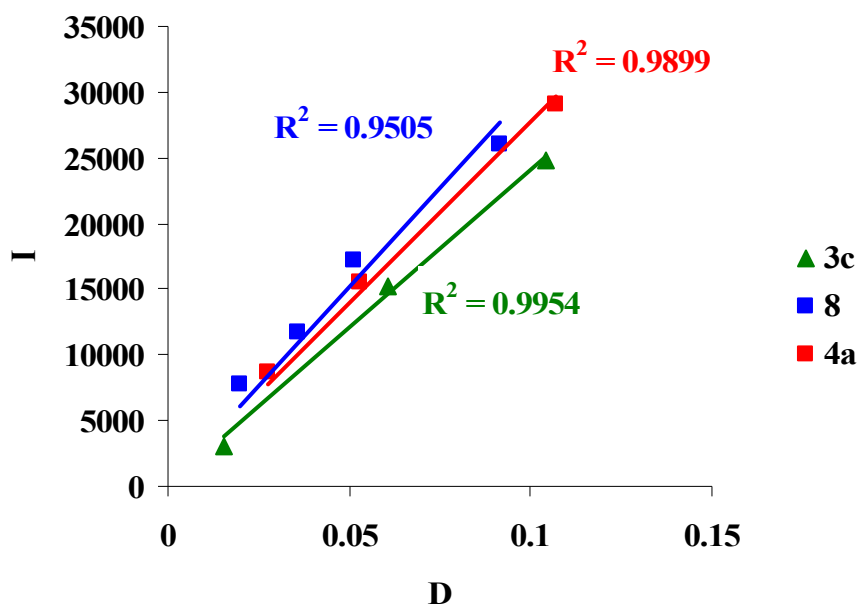


Рисунок 8. Зависимость интенсивности (I) флуоресценции 1O_2 от оптической плотности (D) растворов порфиринов **3c**, **4a**, и **8** в бензоле.

Таблица 10. Относительные квантовые выходы синглетного кислорода $\phi(^1O_2)$ для порфиринов **3c**, **4a**, и **8** в бензоле.

№ в-ва	TF ₂₀ PPH ₂	3c	4a	8
$\phi(^1O_2)$	0.7	0.72	0.83	0.91

Также нами были исследованы растворы порфиринов **3c**, **4a** и **8** в ПФД. При облучении светом с длиной волны $\lambda = 505$ нм во всех перечисленных образцах также наблюдалась интенсивная флуоресценция 1O_2 . Полученные зависимости интенсивности флуоресценции от оптической плотности оказались близки к линейным ($R^2 \geq 0,93$) только в случае порфиринов с арильными заместителями (**4a** и **8**). Зависимость I-D для раствора **3c** не ложится на прямую, что исключает расчет величины $\phi(^1O_2)$. Тем не менее, на качественном уровне была продемонстрирована способность упомянутых соединений генерировать 1O_2 в растворах ПФД.

В процессе ФДТ производится облучение светом с длиной волны 630-780 нм, поэтому нам было важно выяснить способность изучаемых порфиринов к генерации 1O_2 в таких условиях.

Действительно, при облучении светом с длиной волны $\lambda = 650$ нм фосфоресценция $^1\text{O}_2$ наблюдалась в растворах всех порфиринов.

Таким образом, можно заключить, что полученные нами полифторалкил-замещенные порфирины отвечают требованиям, предъявляемым к потенциальным ФС в плане генерации $^1\text{O}_2$, одного из основных типов АФК. По величинам квантовой эффективности генерации $^1\text{O}_2$ они не уступают их нефторированным аналогам.

4.2.2. Приготовление фторуглеродных эмульсий

Фторуглеродные эмульсии (ФУЭ) представляют собой коллоидные системы масло-в-воде, стабилизированные ПАВами. Эмульсии, предназначенные для использования *in vivo* стабилизированы проксанолами (блоксополимеры окиси этилена и окиси пропилена) или фосфолипидами, полученными из яичного желтка или сои. ФУЭ изначально разрабатывались для использования в качестве кровезаменителей благодаря уникальным свойствам ПФУ (химическая инертность, биохимическая стабильность, способность к растворению O_2 и CO_2 в больших концентрациях и т.д.).

В настоящее время существует лишь один препарат на основе ФУЭ («Перфторан»), разрешенный для применения не только на животных, но и на людях. «Перфторан» представляет собой эмульсию фторуглеродов (*цис*- и *транс*- изомеров перфтордекалина (ПФД), перфтор-N-(4-метилциклогексил)пиперидин (ПМЦП)) в физиологическом растворе, стабилизированную проксанолом-268 (блок-сополимер окиси этилена и окиси пропилена $\text{H}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-(\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{O})_n-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{H}$, где $n \sim 45$, $m \sim 118$) [4, 5]. Он и был выбран нами как объект для модификации.

Внедрить фторсодержащие порфирины в готовую ФУЭ не представляется возможным, поэтому эмульсий с порфиринами мы готовили самостоятельно, взяв за образец состав препарата «Перфторан». Небольшие изменения были внесены в состав водной фазы эмульсии (Таблица 11) – вместо раствора нескольких неорганических компонентов и глюкозы был использован физиологический раствор, содержащий 0.9% NaCl. Изменение солевого состава не повлияло на стабильность эмульсии, и, как будет показано далее, не оказало влияния на цитологические эксперименты.

Таблица 11. Состав эмульсий Перфторан® и эмульсий с порфиринами **3c** и **4a**.

«Перфторан»	Эмульсия с порфиринами
ПФД – 13,0 г	Р-р порфирина в ПФД – 1,3 г ПМЦП – 0,65 г Р-р проксанола-268 (10%-ный в физ. р-ре) – 4 г физ. р-р (0,9% NaCl) – 10 мл
ПМЦП – 6,5 г	
проксанол-268 — 4 г,	
NaCl — 0,6 г,	
KCl — 0,039 г,	
MgCl ₂ — 0,019 г,	
NaHCO ₃ — 0,065 г,	
Na ₂ HPO ₄ — 0,02 г	
глюкоза — 0,2 г	
Вода – до 100 мл	

Среди полученных фторсодержащих порфиринов мы остановились на **3c** и **4a**, выбранных по ряду критериев (эффективность генерации синглетного кислорода, фототоксичность в свободном виде, доступность получения). Для приготовления эмульсии первоначально готовились растворы порфиринов в ПФД и проксанола-268 в физ. растворе (растворение полимера происходит при нагревании и в течение длительного времени). Затем компоненты смешивали и готовили эмульсию методом ультразвукового диспергирования. Холостая эмульсия готовилась аналогичным образом. Визуально холостая эмульсия не отличается от препарата «Перфторан» - прозрачная опалесцирующая жидкость с голубоватым оттенком. Эмульсия с порфиринами имела желтоватый или красноватый оттенок. Образцы эмульсий хранили в морозильной камере при температуре -18 °С.

Размер частиц полученных эмульсий определяли методом динамического светорассеяния, в качестве примера показаны результаты для эмульсии с порфирином **4a** (Рисунок 9). Для холостой эмульсии и эмульсии с порфирином **3c** средний размер частиц также составлял 169 нм.

Angle	Parameter	Calculated Results					
	SDP Range (nm)	Size (nm)	%amt (nm)	Std.Dev (nm)	Mean Size (nm)	Mean SD (nm)	%Dust
90.0°	2.0-5000.0	169.4	100.00	63.2	169.4	63.2	0.296

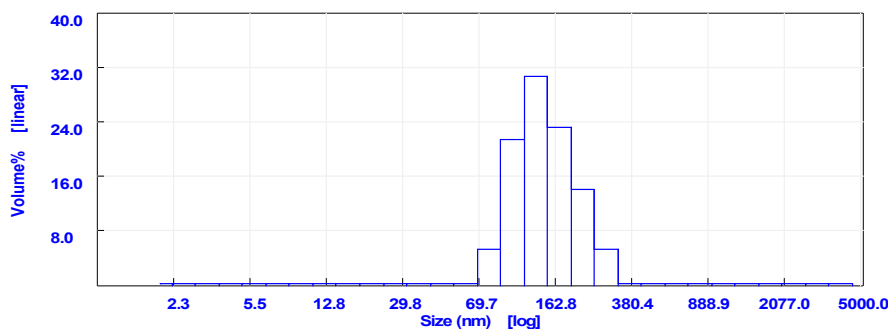


Рисунок 9. Распределение по размерам частиц эмульсии на основе ПФД с порфирином **4a**.

Стоит отметить, что минимальный средний размер частиц ФУЭ зависит не только от способа приготовления, но и от состава фторуглеродной фазы и типа ПАВ. Природа компонентов, используемых в препарате «Перфторан», позволяет готовить эмульсии со средним размером частиц до 50 нм путем последовательного диспергирования (на первом этапе готовится «грубая» эмульсия с размером частиц ~170 нм, затем «тонкая» - частицы измельчают до 50 нм путем гомогенизации под давлением. Однако для экспериментов на клетках не было необходимости делать «тонкую» эмульсию, поэтому мы ограничились только первым этапом.

4.2.3. Исследование цитотоксичности порфиринов и эмульсий с ними

Потенциальные ФС должны обладать низкой темновой токсичностью и как можно большей фототоксичностью – эти критерии в первую очередь определяют эффективность ФС-кандидатов в лекарственные препараты. Под понятием «темновая токсичность» подразумевается величина цитотоксичности ФС в отсутствии облучения. Фотоиндуцированная цитотоксичность – это, соответственно, цитотоксичность при облучении. Для проверки соответствия наших полифторалкил-замещенных порфиринов этим требованиям были проведены исследования их цитотоксичности в лаборатории Механизмов гибели опухолевых клеток (НИИ Канцерогенеза РОНЦ им. Блохина) под руководством д.м.н. А.А. Штиля. Сотрудником нашей лаборатории к.б.н. А.А. Марковой были проведены испытания полученных образцов *in vitro* – исследование проводилось на культивируемых опухолевых клетках человека НСТ116 (аденокарцинома толстой кишки). Выживаемость клеток определяли методом МТТ-теста [124], а также оценивали с помощью фазовой и флуоресцентной микроскопии.

Эмульсия «Перфторан» и все её компоненты являются разрешенными для клинического применения на человеке, в достаточно больших дозах не оказывают токсического или другого

негативного воздействия на человека и лабораторных животных. Однако перед началом эксперимента мы должны были убедиться, что перфтордекалин и приготовленная нами «холостая» эмульсия не будут обладать цитотоксическими эффектами, чтобы потом их можно было использовать в качестве контрольных образцов. Перфтордекалин и «холостая» эмульсия были протестированы на темновую и фототоксичность по отношению к опухолевым клеткам. Результаты экспериментов показали, что они не обладают фототоксичностью, а при отсутствии облучения «холостая» эмульсия способствует небольшому (в пределах 10% за 24ч) увеличению количества клеток, предположительно за счет их насыщения кислородом в условиях нормоксии. Выживаемость клеток при действии «холостой» эмульсии была идентична таковой при действии препарата «Перфторан».

Цитотоксичность порфиринов **3c** и **4a**, а также образцы эмульсий ними определяли в темноте и после освещения, в гипоксии и нормоксии. Так как фторсодержащие порфирины гидрофобны, то для внесения в водную клеточную среду использовались их растворы в ДМФА. Тесты без облучения показали отсутствие темновой токсичности всех порфиринов (Таблица 12) при концентрациях до 50мкМ (принятой максимальной в таких экспериментах), т.е. величины IC₅₀ были больше 50 мкМ. Таким образом, доказано, что они не оказывают токсического действия в отсутствие облучения по отношению к опухолевым клеткам.

Таблица 12. Темновая токсичность **3c** и **4a**.

Образец	Выживаемость опухолевых клеток в темноте, %			
	Контроль	5 мкМ	10 мкМ	20 мкМ
Эмульсия с 4a	100	100	98	96
4a в ДМФА	100	100	94	87
Эмульсия с 3c	100	100	97	95
3c в ДМФА	100	100	96	90

Фототоксичность порфиринов и образцов эмульсий была протестирована на той же клеточной линии НСТ116 при облучении монохроматичным светом с длиной волны 633 нм. Показано, что исследуемые порфирины проявляют фототоксичность в субмикромольных концентрациях. Из сравнения фототоксичности свободных порфиринов (**3c** и **4a**) и эмульсий с ними можно сделать вывод, что введение ФС в состав эмульсии способствует усилению его действия (Таблица 13, Рисунок 10А). Стоит также отметить, что помимо того, что **3c** обладает большим фототоксическим эффектом, чем **4a**, он также в большей степени вызывает гибель опухолевых клеток при введении в составе эмульсии, чем сам **4a**. Это может служить

дополнительным подтверждением вывода, что фототоксичность усилилась благодаря фторуглеродной эмульсии.

Таблица 13. Фототоксичность 3с и 4а.

Образец	Выживаемость опухолевых клеток после освещения, %			
	Контроль	5 мкМ	10 мкМ	20 мкМ
Эмульсия с 4а	100	94	93	49
4а в ДМФА	100	95	92	77
Эмульсия с 3с	100	89	48	16
3с в ДМФА	100	90	74	58

Идея применения фторуглеродных эмульсий в ФДТ основана на их способности к оксигенации опухолевых тканей, находящихся в состоянии гипоксии. Для проверки эффективности наших эмульсионных систем были проведены *in vitro* эксперименты в условиях гипоксии (содержание O_2 – 0,5%). Фототоксичность порфиринов 3с и 4а в условиях гипоксии (Рисунок 10В) не достигла 50%, что считается малой токсичностью. В тоже время под действием этих же порфиринов в составе эмульсии выживаемость клеток оказывается ниже 50%, то есть показатели IC_{50} достигнуты, при этом эмульсия с порфирином 3с также оказывает больший фототоксический эффект чем эмульсия с 4а.

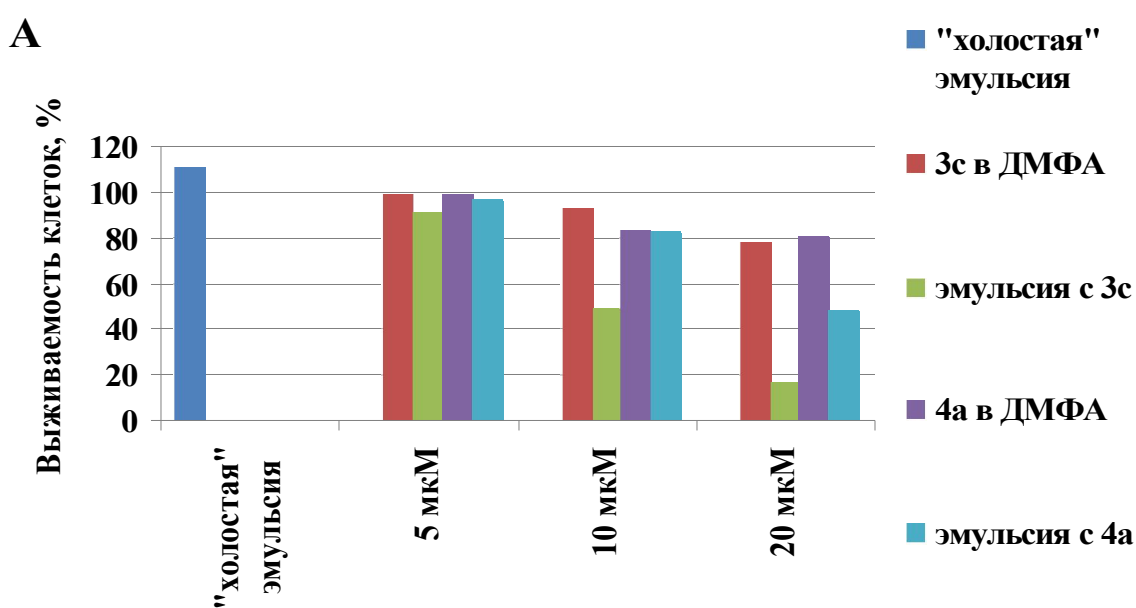


Рисунок 10А. Фототоксичность порфиринов 3с и 4а в растворах ДМФА и в составе эмульсий, нормоксия - 20.9% O_2 .

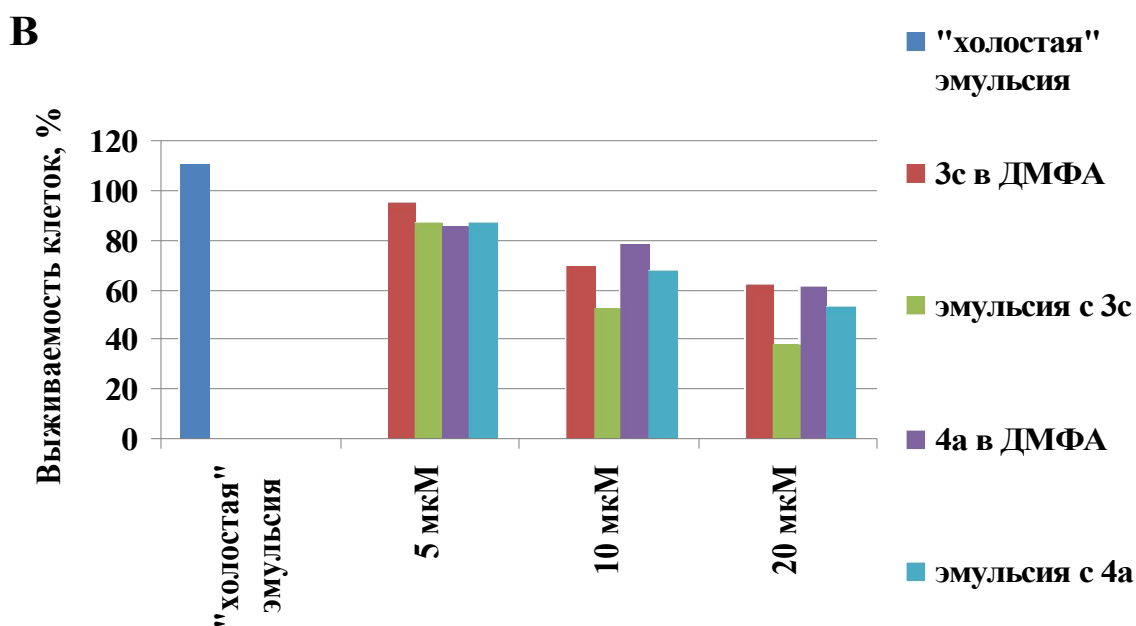


Рисунок 10В. Фототоксичность порфиринов **3c** и **4a** в растворах ДМФА и в составе эмульсий, гипоксия - 0.5% O₂.

Таким образом, в результате данных исследований показана перспективность фторсодержащих порфиринов для дальнейшего более обширного изучения в качестве ФС в ФДТ, и преимущества фторуглеродных эмульсий, которые являются не только пассивным средством доставки, но и средством оксигенации, усиливающим эффект ФС. Продемонстрирована принципиальная возможность проведения ФДТ в условиях гипоксии благодаря оксигенирующему действию перфторуглеродных эмульсий. В дальнейшем планируется исследовать эмульсии с различным содержанием ФС, а также с другими типами ФС, растворимыми во фторуглеродах. Также полученные результаты испытаний фторуглеродных эмульсий с ФС позволяют перейти на следующий уровень исследований таких эмульсионных систем – на лабораторных животных (*in vivo*).

4.2.4. МРТ-исследования эмульсий

При разработке потенциальных лекарственных и диагностических средств важной информацией является кинетика их накопления и распределения в организме, так как именно она определяет временной интервал проведения терапии или диагностики. Многообещающим инструментом для определения места и скорости накопления фторсодержащей субстанции *in vivo* является визуализация методом ¹⁹F-МРТ. При условии, конечно, что содержание атомов фтора в изучаемой субстанции достаточно для проведения такого исследования.

В лаборатории магнитной томографии и спектроскопии факультета фундаментальной медицины МГУ им.М.В. Ломоносова совместно с ИНЭОС РАН в рамках проекта «Фторуглеродные соединения в биомедицинских исследованиях *in vivo* с применением мультядерной МРТ визуализации» был разработан метод определения места и времени накопления модифицированных ФУЭ *in vivo* путем ^{19}F -МРТ визуализации [125]. Опыты проводились на малых лабораторных животных (мыши и крысы) – здоровых и имеющих спонтанные опухоли. В качестве ФУЭ использовали «Перфторан» (как известный стандарт) и эмульсию с порфирином **4a**.

Области накопления эмульсии порфирином 4a в организме здоровых крыс

МРТ эксперименты по определению мест накопления модифицированных ФУЭ в результате их внутрибрюшинного и внутривенного введения в организме крыс проводили с эмульсией на основе препарата Перфторан®. В качестве лабораторных животных использовались крысы, которые были сформированы в две опытные группы – по 3 крысы в каждой. Крысам первой и второй опытной группы вводили эмульсию в количестве 2 мл внутрибрюшинно и внутривенно соответственно. Внутривенное введение проводили через бедренную вену.

На Рисунке 11 представлены полученные ^{19}F - и ^1H МРТ-изображения всего тела одной из крыс, используемых в данном эксперименте после внутривенного введения эмульсии в количестве 2 мл, через 3,5 часа, 1, 2,3,6,14 и 21 день.

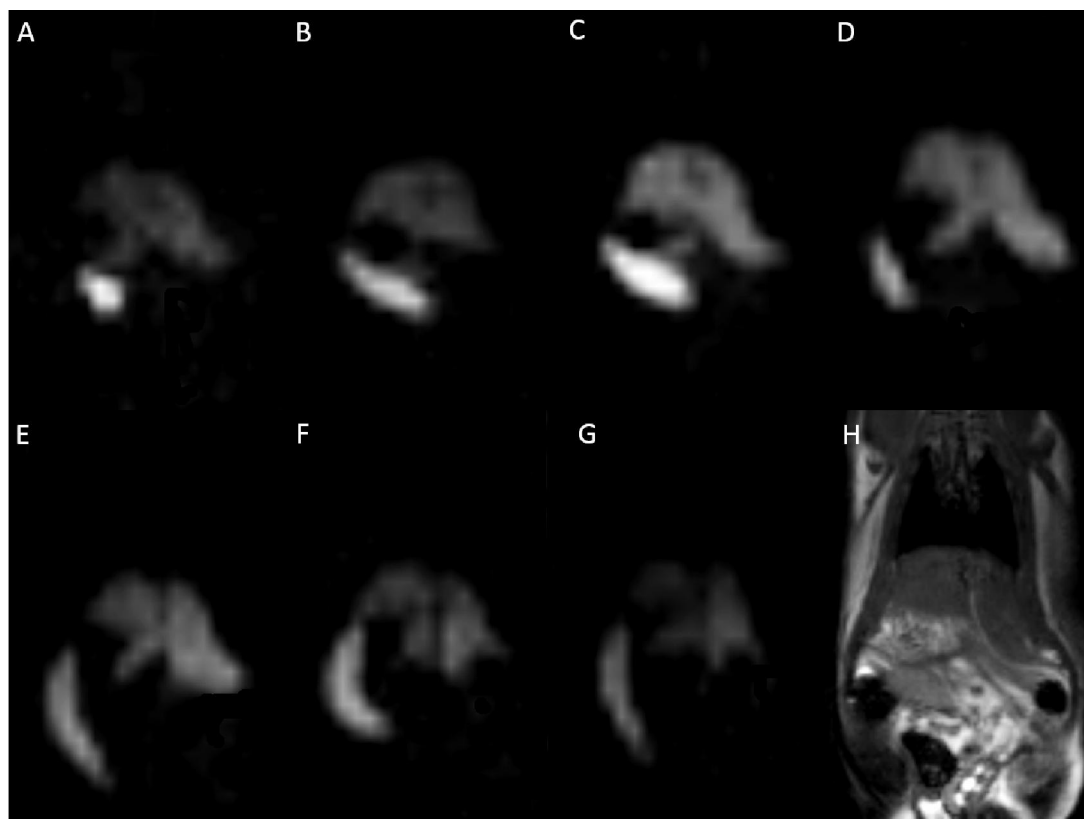


Рисунок 11. ^{19}F -МРТ-изображения всего тела крысы спустя 3,5 часа (А), 1 день (В), 2 дня (С), 3 дня (D), 6 дней (Е), 14 дней (F) и 21 день (G) после внутривенного введения эмульсии порфирином **4a** в количестве 2 мл; Н: ^1H -МРТ-изображение.

Из анализа полученных ^{19}F -МРТ-изображений можно сделать вывод, что при внутривенном введении ПФУ начинают накапливаться сначала в селезенке, затем в печени. После 6-ти дней начинается процесс выведения ПФУ из этих органов и организма в целом в той же последовательности. На этом примере фактически регистрируется работа присущей организму системы очищения от инородных частиц – ретикулоэндотелиальной системы (РЭС). Макрофаги РЭС отвечают за удаление частиц эмульсии из системы циркуляции, в результате чего они оказываются через какое-то время в селезенке и печени. Таким образом, ПФУ выступает меткой для клеток РЭС. Этот процесс неспецифического и ненаправленного поглощения частиц клетками является «пассивным таргетированием». Маркированные ПФУ клетки можно детектировать в форме позитивного контраста. Изображение имеет яркость пропорциональную количеству ПФУ, содержащемуся в помеченных клетках. ПФУ не искажают локального магнитного поля и не изменяют вид изображения, получаемого с помощью ^1H МРТ визуализации, что позволяет использовать методы ^1H и ^{19}F МРТ вместе. Такие изображения позволяют контролировать локализацию меченых клеток, как в местах инъекций, так и в зонах их миграций – органах и лимфатической системе. Очень важно, что ПФУ не изменяют свойств самих клеток, не изменяют их фенотип или поведение. В случае возникновения в организме очагов воспаления или других патологий меченые ПФУ клетки РЭС должны накапливаться в этих зонах и могут обнаруживаться при достаточной концентрации методом ^{19}F -МРТ визуализации. В научной литературе описано достаточно много примеров фиксации зон воспаления с помощью ^{19}F -МРТ на примере использования других ПФУ [126]. Нашими экспериментами показано, что препарат «Перфторан» также является хорошим контрастом для обнаружения зон воспаления и других патологий, например опухолей.

Области накопления эмульсий ПФУ в организме мышей со спонтанными опухолями.

Спонтанными называют опухоли, возникшие без какого-либо воздействия экспериментатора. Некоторые опухоли встречаются постоянно у отдельных видов животных, другие встречаются редко или до сих пор еще никем не идентифицированы. Классическими объектами экспериментальной онкологии являются млекопитающие, прежде всего мыши и

крысы. Чаще всего у мышей встречаются опухоли молочных желез. У самок мышей пять пар молочных желез, и в каждой железе может возникнуть опухоль. Как модель такие спонтанные опухоли привлекают исследователей легкостью наблюдений, возможностью измерения, а также получения штаммов перевиваемых опухолей.

МРТ исследования по накоплению препарата Перфторан® и модифицированных ФУЭ проводили на 2-х опытных группах мышей со спонтанными опухолями молочной железы – по 5 мышей в каждой группе. На Рисунке 12 представлены ^{19}F -, ^1H - и совмещенное $^1\text{H}+^{19}\text{F}$ -МРТ-изображение одной из мышей, полученные с помощью оптимизированных протоколов на следующий день после внутривенного введения препарата Перфторан® в количестве 0,24 мл. В качестве ^1H -МРТ-изображений представлено T_1 -взвешенное изображение на основе GE. Как видно из Рисунка 12, ^{19}F -ЯМР-сигнал получается довольно приличным, хорошо визуализирующим печень. Этот эксперимент показывает, что чувствительность метода ^{19}F -МРТ на МР-томографе BioSpec 70/30 USR с помощью оптимизированной модели SE позволяет получать ^{19}F -ЯМР-изображения эмульсий, введенных мелким лабораторным животным – мышам.

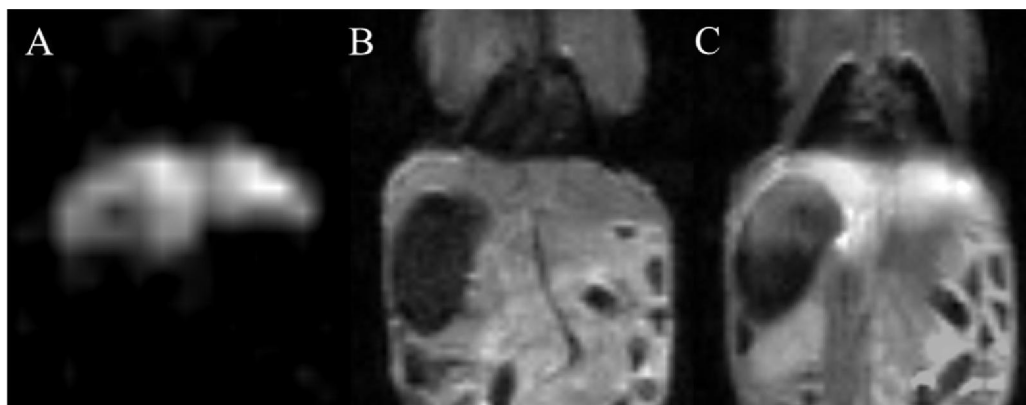


Рисунок 12. ^{19}F -, ^1H - и совмещенное $^1\text{H}+^{19}\text{F}$ -МРТ-изображения мыши, полученные с помощью оптимизированных протоколов.

К сожалению, наглядное изображение распространения эмульсии на основе ПФД по всему телу мыши, а главное в зоне спонтанной опухоли получить не удалось. Причиной является небольшой размер мыши и, как следствие, небольшой максимально допустимый объем вводимой эмульсии (0,24 мл). Поэтому для получения ^{19}F -МРТ-изображения зоны опухоли было решено использовать эмульсии на основе перфтортрибутиламина (ПФТБА), который дает более интенсивный ^{19}F -ЯМР-сигнал. Состав фторуглеродной фазы эмульсии не влияет на ее распределение в организме животного [127], а только на время выведения компонентов

эмульсии из организма. Это позволяет проводить прямое сравнение ^{19}F -МРТ-изображений, полученных с разными эмульсиями.

На Рисунке 13 представлены ^{19}F -МРТ-изображения всего тела мыши сразу после внутривенного введения 0,24 мл эмульсии **ПФТБА-4а**, а также спустя 1 и 2 дня после инъекции. На рисунке также показаны ^1H -МРТ-изображения всего тела мыши и ее $^1\text{H}+^{19}\text{F}$ -МРТ-изображение.

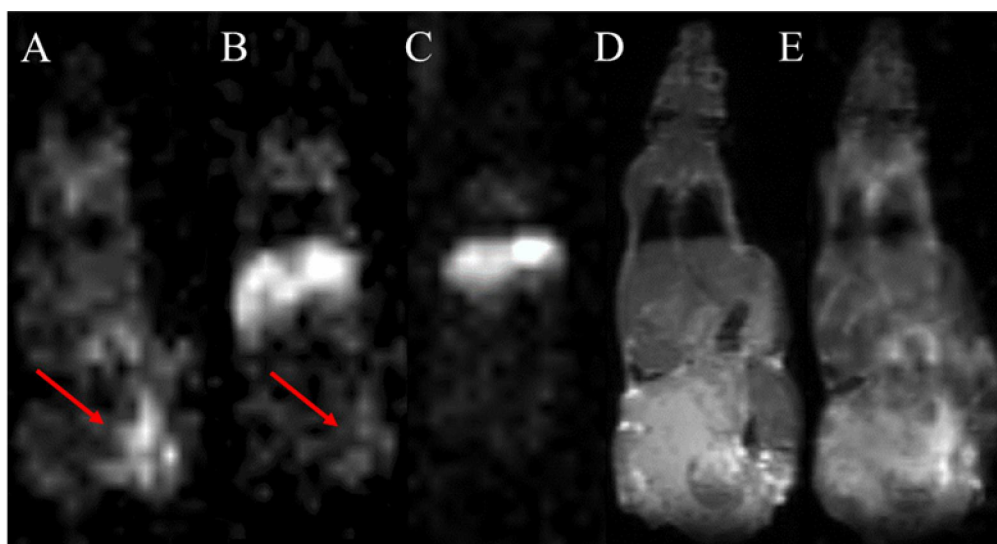


Рисунок 13. ^{19}F -МРТ-изображения всего тела мыши сразу после внутривенного введения 0,24 мл эмульсии ПФТБА-порфирин (А), спустя 1 день (В) и 2 дня (С) после введения. D, E: ^1H - и $^1\text{H}+^{19}\text{F}$ -МРТ-изображение всего тела мыши, соответственно. Красной стрелкой отмечены ^{19}F -ЯМР-сигналы эмульсии, скопившейся вблизи сосудистой сети ангиогенеза.

^{19}F -МРТ-изображения дают наглядную картину распространения введенной эмульсии **ПФТБА-4а** по всему организму мыши. Из рисунка видно, что сразу после введения эмульсия равномерно перемешивается в кровеносном русле – причем на ^{19}F -МРТ-изображении (А) можно видеть контур всей мыши – видна шея, печень, задние лапы, однако наибольший ^{19}F -ЯМР-сигнал наблюдается в самом низу тела мыши – данная область помечена красной стрелкой. Эту область можно характеризовать, как область ангиогенеза, в ней находится множество мелких капилляров, сосудов, питающих опухоль. Очевидно, «нагруженные» эмульсионными частицами ПФУ с порфирином макрофаги присутствуют в этой области в значительной концентрации. Поэтому в зоне, отмеченной красной стрелкой, виден сильный ^{19}F -ЯМР-сигнал. Спустя один день ^{19}F -ЯМР-сигнал в этой области начинает постепенно уменьшаться, так как «нагруженные» макрофаги постепенно мигрируют из зоны патологии и

уносят эмульсионные частицы в печень. Еще через один день ^{19}F -ЯМР-сигнал в зоне интереса уже практически не наблюдается, и сильный ^{19}F -ЯМР-сигнал обнаруживается только в печени. Таким образом, ^{19}F -МРТ исследования модифицированных ФУЭ, содержащих порфирин **4a** показали, что подобные эмульсии могут служить не только основой для создания препаратов для ФДТ, но также средствами их адресной доставки в зоны опухолей и диагностическим инструментом для более эффективного проведения терапии.

4.3. Заключение

В целом проведенное исследование демонстрирует перспективность использования фторуглеродных эмульсионных систем с ФС во фторуглеродной фазе в разработке multifunctional препаратов для ФДТ, дополнительно обладающих функцией контрастных агентов. На примере полученных фторсодержащих порфиринов показано, что фотодинамическая активность ФС, помещенного внутрь фторуглеродной фазы эмульсии, не только сохраняется, но и усиливается благодаря высокому содержанию кислорода во фторуглеродах. Показан потенциал использования таких эмульсионных систем для ФДТ опухолей, находящихся в состоянии гипоксии, что было продемонстрировано нами *in vitro* на примере созданной эмульсионной системы. Результаты ^{19}F -МРТ-исследований *in vivo* позволяют сделать вывод о потенциальной пригодности таких эмульсионных систем в качестве контрастного агента и средства адресной доставки лекарственного средства в зону опухоли. По мнению автора, данная работа заслуживает продолжения в направлении поиска новых, более эффективных фторсодержащих фотосенсибилизаторов (как порфиринового ряда, так и относящихся к другим классам гетероциклических и полициклических органических соединений), детального изучения действия таких фторуглеродных эмульсионных систем на биологические объекты и перехода на исследования *in vivo*.

5. Экспериментальная часть

5.1. Синтез

Спектры ЯМР ^1H и ^{19}F регистрировали на спектрометрах Bruker AMX-400 и AMX-300 с частотой 400.13 и 376.50 МГц при 20 °С, отнесение сигналов проведено относительно сигнала остаточных протонов растворителя (CDCl_3) и трифторуксусной кислоты (TFA) в качестве внешнего стандарта.

Масс-спектры ESI (1) и APCI (2) регистрировали на тандемном динамическом масс-спектрометре Finnigan LCQ Advantage, масс-анализатор с октапольной ионной ловушкой, насос MS Surveyor, автосамплер Surveyor, генератор азота Schmidlin-Lab. Распыляющий и вспомогательный газ азот с потоками 10/0 (1) и 70/10 (2). Температура испарителя 400 °С. (2). Температура трансферного капилляра 150 °С, напряжение поля между иглой и противозлектродом 4.50 (1) и 6.0 kV (2). Образцы в растворе ацетонитрила 10^{-4} моль/литр вводили в ионный источник со шприцевого ввода со скоростью потока ацетонитрила 50 (1) и 350 (2) мкл/мин через инжектор Reodyne с петлей на 5 мкл. Масс-спектры (EI-DIP) регистрировали на масс-спектрометре Finnigan Polaris Q, энергия ионизирующего излучения 70 эВ, способ ввода образца - прямой ввод.

Синтезы с использованием микроволнового излучения проводили в системе микроволнового синтеза Milestone MicroSynth.

Ход реакций контролировали методом ТСХ на пластинках Merck Kieselgel 60 F254. Для колоночной хроматографии использовали силикагель (MN Kieselgel 60) и окись алюминия (нейтральная, 100-200мкм). Элементный анализ был выполнен в лаборатории элементного анализа ИНЭОС РАН.

Реактивы и растворители: ТГФ, триэтиламин (Et_3N) и ДМФА осушали по стандартным методикам. Хлорофом и хлористый метилен для синтеза порфиринов осушали над CaCl_2 и CaH_2 соответственно и перегоняли. Пиррол и эфират трехфтористого бора перегоняли перед использованием. Фториды калия и цезия прокаливали и хранили в герметичной таре. Полифторалифатические спирты, пентафторбензальдегид, перфтордекалин (ПФД) и перфторметилциклогексилпепиридин (ПМЦП) использовались производства фирмы "P&M Invest". Для приготовления эмульсий использовали проксанол-286, в качестве водной фазы брали раствор для инфузий (0.9 % NaCl, остальное – вода для инъекций).

Синтез пирролил-2-карбинолов

Метод 1

2,2,3,3,3-пентафтор-1-(1Н-пиррол-2-ил)-1-пропанол (1a)

В сосуд Шленка (20 мл) в атмосфере аргона прибавили пентафторпропаналь гидрат (0.83 г, 5 ммоль), пиррол (0.6 г, 9 ммоль) и NaOH (0.48 г, 12 ммоль). Получившуюся смесь перемешивали в течение 6-ти часов до образования осадка. Удалили в вакууме жидкие компоненты смеси, остаток поместили в воду (20 мл). Экстрагировали продукт хлористым метиленом (4x10 мл), объединенные органические фракции сушили над Na₂SO₄, затем растворитель удаляли. Твердый светло-коричневый остаток перекристаллизовали из толуола. Получен белый кристаллический порошок, выход 80%. T_{пл.} = 64°C.

Вычислено для C₇H₆F₅NO, (%): C, 39,08; H, 2,80; N, 6,51. Найдено, (%): C, 38,87; H, 2,70; N, 6,46. ¹H ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): 2,69 (с, 1H, OH); 5,21 (кв., J = 8.5 Гц, 1H, CH); 6,29 (с, 1H, Pуг-H); 6,39 (с, 1H, Pуг-H); 6,93 (с, 1H, Pуг-H); 8,58 (с, 1H, NH). ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -3,96 (с, 3F, CF₃); -44,80 (дд, J = 275 и 9 Гц, А часть АВ-системы, 1F, CF₂); -50,72 (дд, J = 275 и 17 Гц, В часть АВ- системы, 1F, CF₂).

1,7-2Н-перфтор-1-(1Н-пиррол-2-ил)гептан-1-ол (1с) получали по аналогичной методике из 7-Н-перфторгептанала за исключением того, что реакция проводилась в абс. этаноле (5 мл), выход 75%. ¹H ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): 2,51 (д, 1H, J₁ = 4,77 Гц, OH); 5,31 (дм, 1H, J = 16,75 Гц, CH(OH)); 6,07 (тт, 1H, J_{HF} = 51,98 Гц, J_{HF} = 5,25 Гц, CF₂H); 6,24 (м, 1H, Pуг-H); 6,35 (м, 1H, Pуг-H); 6,90 (м, 1H, Pуг-H); 8,55 (с, 1H, NH). ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -59,37 (д, 2F, J = 30,52 Гц); -51,89 (с, 2F); -46,85 (д, 1F, J = 280,43 Гц, А часть АВ-системы); -45,76 (д, 2F, J = 70,19 Гц); -44,39 (д, 2F, J = 42,72 Гц); -43,89 (с, 2F); -40,97 (дт, 1F, J = 280,43 и 15,78 Гц, В часть АВ- системы).

Метод 2

Общая методика

К 1,0 мл предварительно охлажденного 1М раствора пиррола в смеси ДХМ-гексан (1:1) в атмосфере аргона добавляли 1,0 мл также охлажденного 1М раствора альдегида в смеси ДХМ-

гексан (1:1), полученный раствор оставляли при -15°C . Ход реакции контролировали методом ТСХ (силикагель, элюент – ДХМ). Выпавший осадок промывали небольшим количеством холодного гексана (не более 2 мл). В случае если осадок не выпадал сразу, упаривали реакционную смесь, заливали гексаном и оставляли при -15°C .

2,2,3,3,3-пентафтор-1-(1Н-пиррол-2-ил)-1-пропанол (1a)

В реакции использовали пиррол и перфторпропаналь. Из реакционной смеси выпадает белый кристаллический осадок, выход 56%. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 5,16 (дт, 1H, $J_1 = 20,09$ Гц, $J_2 = 6,10$ Гц, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,03 (м, 1H, Pyr-H); 6,16 (с, 1H, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,68 (д, 1H, $J = 5,34$ Гц, Pyr-H); 6,77 (м, 1H, Pyr-H); 10,98 (с, 1H, NH). ^{19}F ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): -50,89 (д, 1F, $J = 268,55$ Гц, CF_2), -40,88 (д, 1F, $J = 271,61$ Гц, CF_2), -2,26 (с, 3F, CF_3). MS (EI-DIP), m/z: 68,1; 96,0; 128,9; 197,9; 214,8 [M^+].

1-Н-перфтор-1-(1Н-пиррол-2-ил)пентан-1-ол (1b)

В реакции использовали пиррол и перфторпентаналь. Из реакционной смеси выпадает белый кристаллический осадок, выход 57%. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 5,23 (дт, 1H, $J_1 = 20,85$ Гц, $J_2 = 5,59$ Гц, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,03 (м, 1H, Pyr-H); 6,17 (с, 1H, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,71 (д, 1H, $J = 5,59$ Гц, Pyr-H); 6,77 (м, 1H, Pyr-H); 11,01 (с, 1H, NH). ^{19}F ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): -47,74 (м, 3F, $\text{CHCF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2$), -44,88 (д, 1F, $J = 296,02$ Гц, CHCF_2CF_2), -42,91 (д, 1F, $J = 296,02$ Гц, CHCF_2CF_2), -38,14 (д, 1F, $J = 271,61$ Гц, CHCF_2), -2,27 (с, 3F, CF_3).

1,7-2Н-перфтор-1-(1Н-пиррол-2-ил)гептан-1-ол (1c)

В реакции использовали пиррол и 7-Н-перфторгептаналь. Из реакционной смеси выпадает белый объемный осадок, выход 73%. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 5,22 (дт, 1H, $J_1 = 20,98$ Гц, $J_2 = 5,72$ Гц, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,03 (м, 1H, Pyr-H); 6,16 (с, 1H, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,68 (д, 1H, $J = 5,72$ Гц, Pyr-H); 6,77 (м, 1H, Pyr-H); 7,17 (тт, 1H, $J_1 = 50,07$ Гц, $J_2 = 5,25$ Гц, CF_2H); 11,00 (с, 1H, NH). ^{19}F ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): -60,75 (д, 1F, $J = 312,80$ Гц, А часть АВ-системы, CF_2H); -59,74 (д, 1F, $J = 310,26$ Гц, В часть АВ-системы, CF_2H); -50,96 (с, 2F, $\text{CF}_2\text{CF}_2\text{H}$); -46,67 (д, 1F, $J = 277,20$ Гц, $\text{CF}_2\text{C}(\text{OH})$); -44,94 (д, 2F, $J = 180,56$ Гц, CF_2); -43,85 (д, 2F, $J = 137,33$ Гц, CF_2); -43,00 (д, 2F, $J = 175,48$ Гц, CF_2); -38,17 (д, 1F, $J = 274,66$ Гц, $\text{CF}_2\text{C}(\text{OH})$). MS (EI-DIP), m/z: 67,2; 68,1; 96,0; 129,0; 379,9; 396,7 [M^+].

2,2,3,3,3-пентафтор-1-(1-метилпиррол-2-ил)пропан-1-ол (2a)

Осадок не выпадает ни из реакционной смеси, ни из гексана. Раствор в гексане упаривали под вакуумом водоструйного насоса и дополнительно сушили в вакууме масляного насоса, получена светло-желтая маслянистая жидкость, выход 74%. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 3,63 (с, 3H, CH_3); 5,27 (дт, 1H, $J_1 = 21,09$ Гц, $J_2 = 6,11$ Гц, $\text{CH}(\text{OH})$); 5,99 (м, 1H, Pyr-H); 6,20 (с, 1H, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,65 (д, 1H, $J = 6,11$ Гц, Pyr-H); 6,78 (м, 1H, Pyr-H). ^{19}F ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): -50,70 (д, 1F, $J = 268,55$ Гц, CF_2), -40,25 (д, 1F, $J = 268,55$ Гц, CF_2), -2,40 (с, 3F, CF_3).

1-Н-перфтор-1-(1-метилпиррол-2-ил)пентан-1-ол (2b)

Осадок не выпадает ни из реакционной смеси, ни из гексана. Раствор в гексане упаривали под вакуумом водоструйного насоса и дополнительно сушили в вакууме масляного насоса, получена желтая маслянистая жидкость, выход 52%. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 3,63 (с, 3H, CH_3); 5,34 (дт, 1H, $J_1 = 21,49$ Гц, $J_2 = 5,52$ Гц, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,00 (м, 1H, Pyr-H); 6,22 (с, 1H, $\text{CH}(\text{OH})$); 6,66 (д, 1H, $J = 6,11$ Гц, Pyr-H); 6,78 (м, 1H, Pyr-H). ^{19}F ЯМР (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): -48,89 - -45,93 (м, 3F, $\text{CHCF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2$); -45,18 - -42,09 (м, 2F, CHCF_2CF_2); -37,61 (д, 1F, $J = 274,66$ Гц, CHCF_2); -2,23 (с, 3F, CF_3).

Синтез порфиринов с алифатическими заместителями

Мезо-тетракис(перфторэтил)порфирин (3a)

Моногидрат пара-толуолсульфокислоты (0,05 г, 0,26 ммоль) растворили в сухом бензоле (600 мл) и кипятили с насадкой Дина-Старка, заполненной свежeproкаленными молекулярными ситами (4\AA), и снабженной эффективным холодильником в течение 30 минут. Пропускали через реакционную смесь аргон в течение 20 минут. Прибавили **1a** (0,22 г, 1 ммоль) и кипятили 45 минут, прибавили DDQ (0,6 г, 2,6 ммоль) и продолжили кипячение еще 30 минут. Прибавили пиридин (5 мл) при перемешивании, затем удалили растворитель. Растворили остаток в хлороформе и пропустили через слой силикагеля. Полученный твердый остаток промыли метанолом на фильтре до бесцветного раствора, нерастворенный остаток очищали хроматографически (силикагель, элюент гексан-хлороформ = 2:1). Получен

фиолетово-коричневый порошок, m = 10 мг. Выход 5%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -2,22 (с, 2H, NH); 9,61 (с, 8H, Pуг-Н). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -83,65 (с, 8F, CF_2); -79,68 (с, 12F, CF_3).

Мезо-тетраakis(6-Н-перфторгексил-1)порфириин (3с) получали аналогичным способом из **1с**. Выход 21%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -2,28 (с, 2H, NH); 6,28 (т, 4H, $J_{\text{HF}} = 52,30$ Гц, CF_2H); 9,55 (с, 8H, Pуг-Н). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -61,10 (с, 2F); -53,37 (с, 2F); -47,15 (с, 2F); -45,27 (с, 2F); -37,96 (с, 2F). УФ (ПФД) (λ , нм (ϵ , $10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)): 398 (89,4); 505 (9,1); 537 (6,5); 595 (3,7); 647 (9,3).

Синтез порфиринов с ароматическими заместителями

Замещение атомов фтора в $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$

мезо-тетраakis(2,3,5,6-тетрафтор-4-(1,1-Н,Н-перфторгептил-1-окси)фенил)порфириин (4а)

К раствору $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ (0,5 г, 0,51 ммоль) и 1,1-Н,Н-перфторгептанола-1 (2,16 г, 6,2 ммоль) в ТГФ (200 мл) прибавляли КОН (2,86 г, 51 ммоль) и кипятили в инертной атмосфере 4 часа. Растворитель удалили, остаток поместили в воду, экстрагировали диэтиловым эфиром. Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2 x 40 мл) и сушили над CaCl_2 . После удаления растворителя полученную массу очищали методом колоночной хроматографии (силикагель, хлороформ). Получено 0,55 г порошка фиолетового цвета (выход 47%). ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.): -2,86 (с, 2H, NH); 5,11 (т, 8H, $J_1 = 12,79$ Гц, $J_2 = 12,56$ Гц, OCH_2); 8,97 (с, 8H, Pуг-Н). ЯМР ^{19}F (CDCl_3 , δ , м.д.): -78,48 (м, 8F, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{ortho}}$), -59,44 (дд, 8F, $J_1 = 13,79$ Гц, $J_2 = 8,19$ Гц, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{meta}}$), -48,38 (м, 8F, CF_2), -45,14 (м, 8F, CF_2), -44,33 (м, 8F, CF_2), -42,73 (м, 8F, CF_2), -2,98 (т, 12F, $J = 9,05$ Гц, CF_3). Вычислено для $\text{C}_{72}\text{H}_{18}\text{F}_{68}\text{N}_4\text{O}_4$ (%): C, 35,00; H, 0,43; N, 2,00; F, 56,50. Найдено (%): C, 37,68; H, 0,79; N, 2,44; F, 56,30.

мезо-тетраakis(2,3,5,6-тетрафтор-4-(1,1-Н,Н-перфторнонил-1-окси)фенил)порфириин (4b)

В раствор $\text{TF}_{20}\text{PPH}_2$ (0,1 г, 0,1 ммоль) в ТГФ (50 мл) поместили 1,1-Н,Н-перфторнонанол-1 (1,2 г, 0,54 ммоль) и K_2CO_3 (1,38 г, 10 ммоль) и кипятили в инертной атмосфере 12 часов, контролировали ход реакции по ТСХ (силикагель, гексан - хлороформ = 1:1). Из охлажденной реакционной смеси растворитель удалили, остаток поместили в воду, экстрагировали диэтиловым эфиром. Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 ,

после осушки над CaCl_2 растворитель удалили. Полученный остаток очищали флеш-хроматографией (окись алюминия, гексан - хлороформ = 1:1), затем колоночной хроматографией (окись алюминия, градиентное элюирование гексан - хлороформ). Получено 95 мг порошка фиолетового цвета (выход 35%). ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -2,89 (с, 2H, NH); 5,06 (т, 8H, $J = 12,72$ Гц, OCH_2); 8,94 (с, 8H, Pyr-H). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -78,47 (м, 8F, $\text{C}_{\text{Ar-F}^{\text{ortho}}}$); -59,43 (м, 8F, $\text{C}_{\text{Ar-F}^{\text{meta}}}$); -48,34 (с, 8F, CF_2); -45,17 (с, 8F, CF_2); -44,92 (с, 8F, CF_2); -44,07 (с, 24F, $\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2$); -42,65 (с, 8F, CF_2); -3,00 (с, 12F, CF_3). Масс-спектр (APCI), m/z : 1834,6 $[\text{M}+\text{H}-2\text{C}_8\text{F}_{17}\text{CH}_2]^+$.

Синтез бензальдегидов

Замещение в 4-фторбензальдегиде

4-(1,1-Н,Н-перфторгептил-1-окси)бензальдегид (5)

К 0,82 г свежеприготовленного раствора метилата натрия в метаноле (8,48%) прибавили 2,1 г 1,1-Н-перфторгептан-1-ола (2,1 г, 6 ммоль), перемешивали 5 мин при комнатной температуре, затем удалили метанол в вакууме. Полученное твердое вещество белого цвета растворили в ДМФА и по каплям добавили к нему 4-фторбензальдегид (0,5 г, 6 ммоль). Смесь нагрели до 80°C и выдерживали при этой температуре 6 часов до полной конверсии исходного 4-фторбензальдегида (контроль по ТСХ). Затем вылили реакционную смесь в воду, экстрагировали продукт этилацетатом. Органическую фазу сушили на Na_2SO_4 , растворитель удалили в вакууме. Получено 0,90 г твердого светло-желтого вещества. Выход 33%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 4,11 (т, 2H, $J = 14,16$ Гц, OCH_2); 7,12 (д, 2H, $J = 7,77$ Гц, $\text{C}_{\text{Ar-H}}$); 7,92 (д, 2H, $J = 8,22$ Гц, $\text{C}_{\text{Ar-H}}$), 9,96 (с, 1H, CHO). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д., от фреона): -126,12 (с, 2F, CF_2); -123,59 (м, 1F, CF_2); -123,23 - -122,02 (м, 6F, $\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2$); -119,31 (м, 1F, CF_2); -80,82 (с, 3F, CF_3).

Замещение в пентафторбензальдегиде

4-(1,1-Н,Н-Перфторпропил-1-окси)-2,3,5,6-тетрафторбензальдегид (6a)

К раствору 1,1-Н,Н-перфторпропан-1-ола (3,37 г, 23 ммоль) в ДМФА (40 мл) прибавляли пентафторбензальдегид (2,65 г, 20 ммоль) и KF (2,65 г, 50 ммоль), перемешивали при комнатной температуре 5 часов (ход реакции контролировали по ТСХ). В реакционную массу

добавляли 70 мл диэтилового эфира, промывали насыщенным водным раствором NH_4Cl (2 x 40 мл) и водой (2 x 40 мл). Органическую фазу сушили над CaCl_2 , после удаления растворителя получали частично кристаллизирующуюся вязкую жидкость желтого цвета. После очистки продукта флеш-хроматографией (окись алюминия, гексан-хлороформ = 1:1) получали 2,77 г жидкости светло-желтого цвета (выход 38%). ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 4,78 (т, 2H, $J = 12,08$ Гц, OCH_2); 10,20 (с, 1H, CHO). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -78,85 (с, 2F, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{ortho}}$); -68,04 (с, 2F, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{meta}}$); -47,35 (с, 2F, CF_2); -6,34 (с, 3F, CF_3). Вычислено для $\text{C}_{10}\text{H}_3\text{F}_9\text{O}_2$ (%): C, 36,83; H, 0,93; F: 52,43. Найдено (%): C, 36,48; H: 1,02; F, 52,12.

4-(1,1-Н,Н-перфторпентил-1-окси)-2,3,5,6-тетрафторбензальдегид (6b)

К раствору 1,1-Н,Н-перфторпентан-1-ола (4,21 г, 17 ммоль) в ДМФА (40 мл) прибавляли пентафторбензальдегид (3,00 г, 15 ммоль) и KF (2,05 г, 30 ммоль), перемешивали при комнатной температуре 5 часов (ход реакции контролировали по ТСХ). После охлаждения в реакционную массу добавили 70 мл диэтилового эфира, промывали насыщенным водным раствором NH_4Cl (2 x 40 мл) и водой (2 x 40 мл). Органическую фазу сушили над CaCl_2 , после удаления растворителя получали частично кристаллизирующуюся вязкую жидкость желтого цвета. После очистки продукта флеш-хроматографией (окись алюминия, гексан-хлороформ = 1:1) получали 1,97 г жидкости светло-желтого цвета (выход 27%). ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 4,82 (т, 2H, $J = 2,72$ Гц, OCH_2); 10,23 (с, 1H, CHO). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -78,63 (д, 2F, $J = 11,00$ Гц, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{ortho}}$); -67,79 (дд, 2F, $J_1 = 11,00$ Гц, $J_2 = 8,25$ Гц, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{meta}}$); -49,03 (с, 2F, CF_2); -46,78 (с, 2F, CF_2); -43,57 (с, 2F, CF_2); -3,73 (с, 3F, CF_3). Масс-спектр (EI-DIP), m/z : 477,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 459,1 $[\text{C}_4\text{F}_9\text{CFCHOC}_6\text{F}_4\text{CHF}]^+$; 193,2 $[\text{M}-\text{C}_5\text{F}_{11}\text{CH}_2]^+$; 151,2 $[\text{CF}_3\text{CFHCF}_2]^+$.

4-(1,1,9-Н,Н,Н-перфторнонан-1-окси)-2,3,5,6-тетрафторбензальдегид (6c)

К раствору 1,1,9-Н,Н,Н-перфторнонан-1-ола (8,64 г, 20 ммоль) в ДМФА (20 мл) прибавляли пентафторбензальдегид (3,92 г, 20 ммоль), KF (2,32 г, 40 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 10 часов (ход реакции контролировали по ТСХ). После охлаждения в реакционную массу добавляли диэтиловый эфир (70 мл), промывали насыщенным водным раствором NH_4Cl (2 x 40 мл) и водой (2 x 40 мл). Органическую фазу сушили над CaCl_2 , после удаления растворителя получали частично кристаллизирующуюся вязкую жидкость желтого цвета. После очистки продукта флеш-хроматографией (силикагель, элюент - этилацетат) получали 6,72 г твердого вещества бледно-желтого цвета (выход 55%). ^1H

ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 4,82 (т, 2H, $J_1 = 12,72$ Гц, $J_2 = 12,47$ Гц, OCH_2); 6,08 (тт, 1H, $J_1 = 51,84$ Гц, $J_2 = 5,14$ Гц, CF_2H); 10,27 (с, 1H, CHO). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -78,03 (дд, 2F, $J_1 = 11,97$ Гц, $J_2 = 8,98$ Гц, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{ortho}}$); -67,10 (дд, 2F, $J = 8,98$ Гц, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{meta}}$); -59,34 (с, 2F, CF_2); -51,63 (с, 2F, CF_2); -45,64 (с, 2F, CF_2); -45,44 (с, 2F, CF_2); -44,29 (с, 6F, $\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2$); -42,92 (с, 2F, CF_2). Масс-спектр (EI-DIP), m/z : 608,3 $[\text{M}]^+$; 193,2 $[\text{M}-\text{HCF}_2\text{C}_7\text{F}_{14}\text{CH}_2]^+$.

4-(пентафторфенилокси)-2,3,5,6-тетрафторбензальдегид (6d)

К раствору пентафторфенола (1,84 г, 10 ммоль) в ДМФА (10 мл) прибавляли пентафторбензальдегид (1,96 г, 10 ммоль) и CsF (2,84 г, 20 ммоль) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 2-х часов. Реакционную массу поместили в воду, экстрагировали этилацетатом, органическую фазу сушили над CaCl_2 , после удаления растворителя получали частично кристаллизующееся масло желтого цвета. После перекристаллизации полученного продукта из диэтилового эфира получено 1,81 г твердого вещества бледно-желтого цвета (выход 50%). ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 10,28 (с, 1H, CHO). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -83,26 (т, 2F, $J = 20,53$ Гц, $\text{C}_6\text{F}_5\text{O}$ (*meta*-F)); -80,13 (т, 1F, $J = 21,80$ Гц, $\text{C}_6\text{F}_5\text{O}$ (*para*-F)); -78,12 (д, 2F, $J = 10,90$ Гц, $\text{C}_6\text{F}_4\text{CHO}$ (*meta*-F)); -77,89 (д, 2F, $J = 19,62$ Гц, $\text{C}_6\text{F}_5\text{O}$ (*ortho*-F)); -66,52 (дд, 2F, $J_1 = 10,90$ Гц, $J_2 = 8,72$ Гц, $\text{C}_6\text{F}_4\text{CHO}$ (*ortho*-F)). Вычислено для $\text{C}_{13}\text{HF}_9\text{O}_2$ (%): C, 43,36; H, 0,28. Найдено (%): C, 43,25; H, 0,28.

2,4,6-три(1,1-Н,Н-перфторгептил-1-окси)-3,5-дифторбензальдегид (6e)

К раствору 1,1-Н-перфторгептан-1-ола (11,55 г, 33 ммоль) в сухом ДМФА (15 мл) прибавляли пентафторбензальдегид (1,96 г, 10 ммоль) и KF (3,83 г, 66 ммоль) при интенсивном перемешивании. Реакционную смесь нагревали до 60°C и выдерживали при такой температуре 124 часа (ход реакции контролировали по ТСХ). После охлаждения в реакционную массу добавили 50 мл диэтилового эфира, промывали насыщенным водным раствором NH_4Cl (2 x 30 мл) и водой (2 x 20 мл). Органическую фазу сушили над CaCl_2 , после удаления растворителя получили частично кристаллизующееся масло желтого цвета. После перекристаллизации полученного продукта из дихлорметана получили 5,01 г твердого вещества бледно-желтого цвета (выход 42%). ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 10,32 (с, 1H, CHO). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -69,64 (с, 2F, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-F}^{\text{meta}}$); -48,62 (с, 6F, CF_2); -45,65 (с, 6F, CF_2); -45,26 (с, 6F, CF_2); -44,56 (с, 6F, CF_2); -43,07 (с, 6F, CF_2); -3,29 (м, 9F, CF_3).

2,4,6-три(пентафторфенилокси)-3,5-дифторбензальдегид (6f)

К раствору пентафторфенола (6,07 г, 33 ммоль) в сухом ДМФА (15 мл) прибавляли пентафторбензальдегид (1,96 г, 10 ммоль) и KF (3,83 г, 66 ммоль) при интенсивном перемешивании. Реакционную смесь нагревали до 60°C и выдерживали при этой температуре 60 часов. Реакционную массу охлаждали, добавили 50 мл диэтилового эфира, промыли насыщенным водным раствором NH₄Cl (2 x 30 мл) и водой (2 x 20 мл). Органическую фазу сушили над CaCl₂, после удаления растворителя получили частично кристаллизующееся масло желтого цвета. После перекристаллизации полученного продукта из дихлорметана получили 1,88 г твердого вещества бледно-желтого цвета (выход 27%). ¹H ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): 10,48 (с, 1H, CHO). ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -83,06 (т, 4F, J₁ = 21,36 Гц, J₂ = 18,31 Гц, орто-OC₆F₅(пара-F)); -79,64 (т, 1F, J₁ = 21,36 Гц, J₂ = 24,41 Гц, пара-OC₆F₅(пара-F)); -78,56 (д, 4F, J₁ = 18,31 Гц, орто-OC₆F₅(орто-F)); -77,70 (д, 2F, J₁ = 18,31 Гц, пара-OC₆F₅(орто-F)); -69,53 (с, 2F, C₆F₂CHO(мета-F)). Масс-спектр (EI-DIP), m/z: 520,0 [M-C₆F₅]⁺; 167,2 [C₆F₅]⁺.

Сборка порфиринов по методу Линдси

мезо-тетраakis(4-(2,2,3,3,3-пентафторпропил-1-окси)-2,3,5,6-тетрафторфенил)порфирин (7a)

В раствор **6a** (1,2 г, 3,7 ммоль) и пиррола (0,25 г, 3,7 ммоль) в сухом ДХМ (400 мл) пропускали аргон в течение 30 минут при перемешивании. Затем добавляли VF₃xEt₂O (0,14 мл, 1,1 ммоль) и перемешивали 21 час при комнатной температуре, добавляли DDQ (0,92 г, 4,07 ммоль) и кипятили 2 часа. После добавления Et₃N (0,2 мл) растворитель удаляли, твердый остаток промывали холодным метанолом до бесцветного раствора. Полученный продукт очищали в 2 этапа: 1) флеш-хроматография (силикагель, ДХМ), 2) колоночная хроматография (силикагель, гексан – хлороформ = 1:1). Получено 0,32 г порошка фиолетового цвета (выход 23%). ¹H ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -2,89 (с, 2H, NH); 5,02 (т, 8H, J = 12,08 Гц, OCH₂); 8,96 (с, 8H, Pуг-Н). ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -78,55 (м, 8F, C_{Ar}-F^{орто}); -59,44 (м, 8F, C_{Ar}-F^{мета}); -46,55 (с, 8F, CF₂); -5,52 (с, 12F, CF₃). Масс-спектр (APCI), m/z: 1495,8 [M+H]⁺.

мезо-тетраakis(4-(1,1-Н,Н-перфторпентил-1-окси)-2,3,5,6-тетрафторфенил)порфирин (7b)

В раствор **6b** (1,97 г, 4,43 ммоль) и пиррола (0,29 г, 4,43 ммоль) в сухом ДХМ (500 мл) пропускали аргон в течение 30 минут при перемешивании. Затем добавляли VF₃xEt₂O (0,17 мл,

1,33 ммоль) и перемешивали 21 час при комнатной температуре, добавляли DDQ (1,11 г, 4,87 ммоль) и кипятили 2 часа. После добавления Et₃N (0,24 мл) растворитель удаляли, твердый остаток промывали холодным метанолом до бесцветного раствора. Полученный продукт очищали в 2 этапа: 1) флеш-хроматография (силикагель, ДХМ), 2) колоночная хроматография (силикагель, гексан - хлороформ=1:1). Получено 0,23 г порошка фиолетового цвета (выход 21%). ¹H ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -2,89 (с, 2H, NH); 5,07 (т, 8H, J = 12,87 Гц, OCH₂); 8,94 (с, 8H, P_{up}-H). ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -78,51 (м, 8F, C_{Ar}-F^{орто}); -59,44 (м, 8F, C_{Ar}-F^{мета}); -48,45 (с, 8F, CF₂); -46,20 (с, 8F, CF₂); -42,93 (с, 8F, CF₂); -3,04 (с, 12F, CF₃). Масс-спектр (APCI), m/z: 1895,4 [M+H]⁺.

мезо-тетракис(2,3,5,6-тетрафтор-4-(пентафторфенилокси)фенил)порфирина (7d)

В раствор **6d** (0,72 г, 2 ммоль) и пиррола (0,18 г, 2,7 ммоль) в сухом ДХМ (200 мл) пропускали аргон в течение 30 минут при перемешивании. Затем добавили BF₃·xEt₂O (0,1 мл, 0,8 ммоль) и перемешивали 20 часов при комнатной температуре, добавляли DDQ (0,61 г, 2,7 ммоль) и кипятили 2 часа. После охлаждения растворитель удаляли, полученный продукт очищали колоночной хроматографией (окись алюминия, петролейный эфир – хлороформ = 6:1), продукт дополнительно промывали холодным метанолом. Получено 150 мг порошка фиолетово-коричневого цвета (выход 18%). ¹H ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -2,88 (с, 2H, NH); 8,96 (с, 8H, P_{up}-H). ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -83,37 (т, 8F, J = 20,65 Гц, C₆F₅O (мета-F)); -80,95 (т, 4F, J₁ = 22,95 Гц, J₂ = 20,65 Гц, C₆F₅O (пара-F)); -78,66 (д, 8F, J = 18,36 Гц, C₆F₄-Porph (мета-F)); -78,07 (д, 8F, J = 18,36 Гц, C₆F₅O (орто-F)); -58,80 (д, 8F, J = 13,77 Гц, C₆F₄-Porph (орто-F)). Вычислено для C₆₈H₁₀F₃₆N₄O₄ (%): C, 50,08; H, 0,62; N, 3,44; F, 41,94. Найдено (%): C, 50,11; H, 0,49; N, 3,34; F, 41,65.

мезо-тетракис(3,5-дифтор-2,4,6-три(пентафторфенилокси)фенил)порфирина (7f)

В раствор **6f** (0,68 г, 1 ммоль) и пиррола (0,06 г, 1 ммоль) в сухом хлороформе (100 мл) с добавкой этанола (0,8 об. %) пропускали аргон в течение 30 минут при перемешивании. Затем добавляли BF₃·xEt₂O (0,05 мл, 0,4 ммоль) и перемешивали 8 часов при комнатной температуре, добавляли DDQ (0,23 г, 1 ммоль) и перемешивали 1,5 часа. После добавления Et₃N (0,05 мл) растворитель удаляли, твердый остаток промывали холодным метанолом до бесцветного раствора. Полученный продукт очищали в 2 этапа: 1) флеш-хроматография (силикагель, хлороформ), 2) колоночная хроматография (силикагель, гексан – хлороформ = 5:1). Получено

10 мг порошка фиолетового цвета (выход 1%). ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -3,44 (с, 2H, NH); 9,01 (с, 8H, Pyr-H). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -85,65 (т, 16F, $J_1 = 18,31$ Гц, $J_2 = 21,36$ Гц, *орто*- OC_6F_5 (*мета*-F)); -84,49 (т, 8F, $J_1 = 21,36$ Гц, $J_2 = 18,31$ Гц, *пара*- OC_6F_5 (*мета*-F)); -83,27 (т, 8F, $J_1 = 18,31$ Гц, *орто*- OC_6F_5 (*пара*-F)); -81,14 (т, 4F, $J = 21,36$ Гц, *пара*- OC_6F_5 (*пара*-F)); -79,80 (д, 16F, $J = 18,31$ Гц, *орто*- OC_6F_5 (*орто*-F)), -78,55 (д, 8F, $J = 21,36$ Гц, *пара*- OC_6F_5 (*орто*-F)); -71,09 (с, 8F, $\text{C}_6\text{F}_2\text{-Porph}$ (*мета*-F)).

мезо-тетраakis-(4-(1,3-ди(трифторметил)-2-перфторизопропил-бутен-1-ил-1-окси)-фенил)порфирина (8)

5 - 4-({3,4,4,4-тетрафтор-2-[1,2,2,2-тетрафтор-1-(трифторметил)этил]-1,3-бис(трифторметил)бутен-1-ил-1}окси)бензальдегид

В раствор **5** (2,76 г, 5 ммоль) и пиррола (0,402 г, 6 ммоль) в сухом ДХМ (450 мл) пропускали аргон в течение 30 минут. Прибавили $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,19 мл, 1,5 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре 20 часов. Прибавили Et_3N (0,27 мл, 2 ммоль), затем добавили DDQ (1,25 г, 5,5 ммоль) и кипятили 2 часа. Пропустили реакционную смесь через слой силикагеля (6 x 6 см), удалили растворитель. Полученный твердый остаток очищали флеш-хроматографией (силикагель, 7 x 2 см, элюент CHCl_3 -гексан = 1:1). Получен фиолетово-коричневый порошок, $m = 60$ мг. Выход 2%. ^1H ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -2,83 (с, 2H, NH); 7,35 (д, 8H, $J = 7,95$ Гц, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}^{\text{орто}}$); 8,24 (д, 8H, $J = 8,26$, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}^{\text{мета}}$); 8,84 (с, 8H, Pyr-H). ^{19}F ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): -91,14 (м, 1F); -89,42 (м, 1F); 5,79 (д, 6F, $J = 35,74$ Гц); 7,07 (с, 6F); 22,32 (д, 3F, $J = 54,99$ Гц). UV-Vis (ПФД) (λ , nm (ϵ , $10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)): 410, 507 (12,7), 539, 587 (4,9), 643.

Сборка порфиринов по методу Адлера-Лонго

мезо-тетраakis(4-(1,1-Н,Н-перфторгептилокси)фенил)порфирина (9)

В круглодонную колбу поместили 15 мл уксусной кислоты, 10 мл нитробензола и довели до кипения. Прибавили **5** (0,91 г, 2 ммоль) и по каплям в течение 15 минут прибавили пиррол (0,15 г, 2,25 ммоль). Кипятили смесь в течение часа, охладили до комнатной температуры и упарили растворитель. Остаток промыли холодным метанолом до прозрачного раствора. Получено 0,87 г неочищенного продукта. Остаток очищали хроматографически (силикагель, элюент гексан-хлороформ-этилацетат = 50:50:1). Получено 170 мг фиолетового порошка, выход 17%. ^1H ЯМР

(CDCl₃, δ, м.д.): -2,78 (с, 2H, NH); 4,81 (т, 8H, $J = 12,67$ Гц, OCH₂); 7,37 (д, 8H, $J = 8,54$ Гц, C_{Ar}-H); 8,18 (д, 8H, $J = 8,54$ Гц, C_{Ar}-H); 8,86 (с, 8H, P_{yr}-H). ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -48,34 (м, 8F, CF₂); -45,21 (м, 8F, CF₂); -45,00 (м, 8F, CF₂); -44,33 (м, 8F, CF₂); -41,54 (м, 8F, CF₂); -2,98 (т, 12F, $J = 9,54$ Гц, CF₃).

мезо-тетракис(пентафторфенил)порфириин (TF₂₀PPH₂)

Раствор пентафторбензальдегида (5,88 г, 30 ммоль) в пропионовой кислоте (200 мл) довели до кипения, затем в течение 20 минут по каплям прибавляли пиррол (2,41 г, 36 ммоль). Затем смесь кипятили 2,5 часа, после чего удалили большую часть растворителя. Остаток поместили в насыщенный раствор NaHCO₃ (100 мл), экстрагировали диэтиловым эфиром (3 x 100 мл). Объединенные органические фракции сушили над Na₂SO₄, растворитель удалили. Полученный остаток промывали метанолом до прозрачного раствора. Получено 0,73 г порошка фиолетового цвета, выход 10%. ¹H ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): 8,94 (с, 8H, P_{yr}-H); -2,89 (с, 2H, NH). ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -58,84 (д, 8F, $J = 16,5$ Гц, C_{Ar}-F^{ortho}); -73,52 (т, 4F, $J = 19,24$ Гц, C_{Ar}-F^{para}); -83,63 (т, 8F, $J = 19,25$ Гц, C_{Ar}-F^{meta}).

Изучение реакционной способности порфирина 3с

в синтезе хлоринов и бактериохлоринов

Восстановление тозилгидразином

Вариант 1. В толстостенную ампулу поместили **3с** (50 мг, 0,033 ммоль), *n*-тозилгидразин (62 мг, 0,33 ммоль), K₂CO₃ (91 мг, 0,66 ммоль) и ДМФА (5 мл). Ампулу запаяли и нагрели до 85°C, ход реакции контролировали по ТСХ, пробу отбирали раз в час. Через 2 часа не наблюдалось ни исходного порфирина **3с**, ни ожидаемых продуктов его восстановления – хлорина и бактериохлорина.

Вариант 2. В толстостенную ампулу поместили **3с** (50 мг, 0,033 ммоль), *n*-тозилгидразин (62 мг, 0,33 ммоль), K₂CO₃ (91 мг, 0,66 ммоль) и пиридин (5 мл). Ампулу запаяли и выдерживали при комнатной температуре, через 1 час в реакционной смеси наблюдался только исходный **3с**. Запаянную ампулу нагрели до 40°C и выдерживали 1 час – изменений в составе смеси не наблюдалось. Нагрели реакционную смесь до 85°C, как и в предыдущем опыте после 2-х часов

нагревания не наблюдалось ни исходного порфирина **3с**, ни ожидаемых продуктов его восстановления – хлорина и бактериохлорина.

Циклоприсоединение антрацена по Дильсу-Альдеру

В пробирку из толстого стекла поместили **3с** (15,0 мг, 0,01 ммоль), антрацен (26,5 мг, 0,15 ммоль) и *орто*-дихлорбензол (4 мл), нагрели до 160 °С под действием микроволнового излучения и выдерживали при этой температуре 1 час. После охлаждения раствора исходный **3с** выпал в осадок. На УФ-спектрах маточного раствора и осадка, растворенного в ацетоне, наблюдались сигналы только от исходного **3с**.

Присоединение азометин-ирида

В круглодонную колбу поместили **3с** (50 мг, 0,033 ммоль) в толуоле (5 мл), затем при перемешивании прибавили N-метилглицин (6 мг, 0,067 ммоль) и параформальдегид (4 мг, 0,133 ммоль) и довели до кипения. После 5 часов кипячения на ТСХ был обнаружен только исходный **3с**. Прибавили вторую порцию N-метилглицина (6 мг, 0,067 ммоль) и параформальдегида (4 мг, 0,133 ммоль) и продолжили кипячение еще 5 часов. На ТСХ и на УФ-спектре реакционной смеси был обнаружен только исходный **3с**, реакцию прекратили.

Циклоприсоединение диазометана

В круглодонную колбу поместили **3с** (50 мг, 0,033 ммоль), диэтиловый эфир (10 мл) и при перемешивании прибавили порцию раствора диазометана в эфире, приготовленную из нитрозометилмочевины (100 мг, 0,97 ммоль) действием КОН. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре 3 дня, на УФ-спектре реакционной смеси появился слабый сигнал, характерный для хлорина (677 нм). Прибавили еще порцию раствора диазометана в эфире (из 100 мг нитрозометилмочевины) и перемешивали еще 3 дня при комнатной температуре. На УФ-спектре реакционной смеси полоса поглощения продукта немного увеличилась. Прибавили 3-ю порцию диазометана (из 100 мг нитрозометилмочевины) и перемешивали при комнатной температуре 7 дней. На УФ-спектре реакционной смеси изменений не наблюдалось, реакцию прекратили.

Циклоприсоединение метилдiazоацетата

Вариант 1. В пробирку поместили **3c** (100 мг, 0,066 ммоль) в ДМСО (20 мл), нагрели до 70 °С под действием микроволнового излучения и прибавили раствор метилдiazоацетата в ДХМ (0,86 г раствора), повысили температуру до 80 °С и выдерживали в таких условиях 2 часа при перемешивании, затем охладили. На УФ-спектре реакционной смеси обнаружены сигналы только от исходного **3c**.

Вариант 2. В двухгорлую колбу поместили **3c** (15,1 мг, 0,01 ммоль), Cu(acac)₂ (0,5 мг, 0,002 ммоль) и толуол (6 мл), снабдили колбу капельной воронкой, в которую поместили раствор метилдiazоацетата (130 мг р-ра, 0,1 ммоль). Реакционную смесь нагрели до 95 °С под действием микроволнового излучения и в течение 5 мин добавили по каплям раствор метилдiazоацетата и нагревали в течение 30 минут. На УФ-спектре реакционной смеси не наблюдалось отличий от исходного **3c**. Прибавили еще порцию метилдiazоацетата (130 мг р-ра, 0,1 ммоль) и продолжали нагревание 1 час. На УФ-спектре реакционной смеси изменений не наблюдалось, реакцию прекратили.

Окисление тетраоксидом осмия

В ампулу, снабженную магнитной мешалкой, поместили **3c** (21,3 мг, 0,014 ммоль), OsO₄ (25,9 мг, 0,102 ммоль) и смесь ДХМ-пиридин = 1:1, ампулу запаяли и оставили при комнатной температуре при перемешивании. На 7-й день вскрыли ампулу и сняли УФ-спектр реакционной смеси – на спектре наблюдались полосы поглощения, характерные для хлорина (410, 631 и 687 нм) и для бактериохлорина (356 и 786 нм). Запаяли ампулу и оставили перемешиваться при комнатной температуре. На 14-й день вскрыли ампулу, на УФ-спектре изменений не наблюдалось, раствор упарили. Полученный остаток разделяли на препаративной пластинке (силикагель, ДХМ-ацетон = 20:3). Получено 17 мг хлорина **10** в виде твердого вещества темного цвета. ¹⁹F ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): -61,19 (m, 2F); -53,57 (m, 2F); -46,74 (m, 5F); -40,30 (m, 2F); -9,34 (m, 1F).

5.2. Спектры

Исследование проведено автором в лаборатории процессов фотосенсибилизации ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН под руководством проф. д.х.н. В.А. Кузьмина.

ЭСП и флуоресценция

Электронные спектры поглощения были получены на двулучевом спектрофотометре Shimadzu UV-VIS-3101 PC. Спектры регистрировали при комнатной температуре в ПФД и бензоле ($c = 10^{-7}$ - 10^{-5} моль/л, диапазон сканирования – 370-700 нм, ширина щели – 2 нм, шаг – 0.5 нм) в кварцевых кюветах (1×0,4 см, оптический путь – 1 см). Коэффициенты экстинкции рассчитывались по результатам 3-х и более измерений оптической плотности.

Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре Shimadzu RF-5301 PC (в ПФД) и Fluo Time 200 (PicoQuant) (в бензоле) при комнатной температуре ($c = 10^{-7}$ - 10^{-6} моль/л) в кварцевых кюветах (1×0,4 см, оптический путь на испускание – 0,4 см), длина волны возбуждающего света - 406 нм (в бензоле), полоса Core (в ПФД). Квантовый выход флуоресценции (ϕ) рассчитывали относительно стандарта **TF₂₀PPH₂** по формуле (1) (см. Обсуждение результатов).

Фосфоресценция синглетного кислорода

Для определения квантовой эффективности фосфоресценции синглетного кислорода использовали флуориметр Fluo Time 200 (PicoQuant). Максимум фосфоресценции синглетного кислорода регистрировали при длине волны 1275 нм. Квантовая эффективность фосфоресценции (ϕ) синглетного кислорода рассчитывалась относительно стандарта **TF₂₀PPH₂** по формуле (1) (см. Обсуждение результатов). Исследуемые порфирины и **TF₂₀PPH₂** были растворены в бензоле и в ПФД ($c = 10^{-7}$ - 10^{-6} моль/л). Спектры фосфоресценции регистрировали при комнатной температуре в кварцевых кюветах (1×0,4 см, оптический путь на испускание – 0,4 см), длина волны возбуждающего света - 532 нм (бензол), 505 нм (ПФД).

5.3. Растворимость порфиринов

Для определения растворимости были приготовлены насыщенные при комнатной температуре растворы всех объектов в перфтордекалине. Для увеличения скорости растворения использовали нагревание и УЗ-баню, затем выдерживали полученные растворы в течение суток при комнатной температуре для установления равновесия. Насыщенные растворы разбавили в 200 раз для получения приемлемых концентраций для точного измерения оптической плотности. По известным коэффициентам экстинкции определили концентрацию растворенного вещества.

5.4. Приготовление эмульсий

Для приготовления эмульсий использовали ультразвуковой диспергатор фирмы Heat system-ultrasonics, модель Sonicator W-375.

Эмульсия с порфирином 4a

В толстостенную стеклянную пробирку на 20 мл со сферическим дном помещали 1.3 г раствора **4a** в ПФД, 0.65 г ПМЦП, 4.0 г 10% раствора проксанола-286 и 10 мл раствора для инфузий. Приготовление эмульсии осуществляли методом ультразвукового диспергирования. Полученная эмульсия представляет собой полупрозрачную опалесцирующую субстанцию, слабо окрашенную в желтый цвет, соотношение компонентов: ПФД – 8.46%, ПМЦП – 4.06%, проксанол-286 – 2.50%, **4a** – 0.037%, NaCl – 0.75%, остальное – вода.

Приготовление эмульсии с порфирином 3c осуществляли аналогичным способом. Соотношение компонентов: ПФД – 8.15%, ПМЦП – 4.08%, проксанол-286 – 2.51%, **3c** – 0.012%, NaCl – 0.77%, остальное – вода.

Эмульсию с порфирином 4a на основе перфтортрибутиламина (ПФТБА) для МРТ-исследований готовили аналогичным способом. Соотношение компонентов: ПФТБА – 12,26%, проксанол-286 – 2,51%, **4a** – 0,015%, NaCl – 0,77%, остальное – вода.

5.5. Испытания на цитотоксичность

Исследование проведено сотрудником лаборатории физиологически активных фторорганических соединений ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН к.б.н. А.А. Марковой в лаборатории механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава РФ.

Культивируемые клеточные линии

В работе использовали клеточную линию аденокарциномы кишки НСТ116, протестированную в American Type Culture Collection, США. Клетки культивировали в среде DMEM (ПанЭко, Россия). В культуральные среды добавлялось 5% эмбриональной телячьей сыворотки (GE Life Sciences, США), 2мМ L-глутамин (ПанЭко, Россия), 100ЕД/мл пенициллина (ПанЭко, Россия) и 100мкг/мл стрептомицина (ПанЭко, Россия), инкубация проводилась при 37⁰С, 5% CO₂ в увлажненной атмосфере. В экспериментах использованы культуры в логарифмической фазе роста. Для профилактики микоплазменного заражения использовался препарат Мусоkill (GE Life Sciences, США). Перед началом экспериментов проводилось не менее трех пассажей на свободной от антимиоплазменного препарата среде.

Препараты для исследований

Порфирины **3c** и **4a** использовались в виде 10 мМ стоковых растворов в ДМФА и в составе эмульсий. Растворы в ДМФА хранили при +4⁰С, эмульсии хранились в замороженном виде при -20⁰С, размораживались непосредственно перед использованием.

МТТ-тест для исследования цитотоксичности

Эксперименты по исследованию темновой токсичности проводили после 72 ч инкубации клеток с различными дозами ЛС, а световой – после 24 ч накопления ЛС и освещения гелий-неоновым лазером Galamed (длина волны 633 нм), плотность дозы 32 Дж/см². Клетки инкубировали 1 час при 37⁰С, 5% CO₂, в увлажненной атмосфере для развития эффектов гибели. Для экспериментов в нормоксии использовали CO₂-инкубатор SANYO2, для эксперимента с гипоксией инкубировали клетки 24 ч в нормоксии, для освещения помещали их в мультигазовый CO₂-инкубатор с азотом CB 150, Binder (содержание кислорода 0,5%) на 30

мин, затем в нем освещали и инкубировали клетки 1-24 ч в нормоксии для развития эффектов гибели. Для определения цитотоксичности использовали МТТ-тест.

Клетки НСТ116 рассеивали в лунки 96-луночного планшета (NUNC, США) (5000 клеток в 190 мкл культуральной среды), инкубировали 24 часа при 37 °С, 5% CO₂, в увлажненной атмосфере. Вносили по 10 мкл раствора исследуемого вещества в культуральной среде, приготовленных серийными разведениями из исходного раствора, до конечных концентраций 0,1-50 мкМ. Контролем служили клетки без препарата. Клетки инкубировали при 37°С, 5% CO₂, в увлажненной атмосфере. За 1 час до окончания инкубации в лунки вносили по 20 мкл водного раствора МТТ (5 мг/мл, ПанЭко, Россия). После окончания инкубации культуральную среду отбирали, клетки ресуспендировали в 100 мкл ДМСО и измеряли оптическую плотность раствора на планшетном спектрофотометре Multiscan FC (Thermo Scientific, США) при длине волны 571 нм. Процент клеток, выживших при действии каждой дозы, подсчитывали как частное от деления средней оптической плотности в лунках после инкубации с данной дозой к средней оптической плотности контрольных лунок (значения последних приняты за 100%). Каждую концентрацию изучали с 3-х кратной статистикой.

5.6. МРТ-исследования эмульсий

Исследование проведено к.б.н. Д.Н. Силачевым и к.ф.-м.н. М.В. Гуляевым в лаборатории магнитной томографии и спектроскопии факультета фундаментальной медицины МГУ им.М.В. Ломоносова.

Материалы и методы проведения МРТ-исследований

Исследования проводили на МР-томографе BioSpec 70/30 USR фирмы Bruker с постоянным магнитным полем 7 Тл. MR-сканер содержит модифицированный резонатор зондовой головки ¹⁹F. Он был скорректирован на основе частоты ¹H-ЯМР 300 МГц. После всех технических модификаций резонатор был настроен на частоту ЯМР ¹⁹F, равную 283 МГц.

Объекты исследований – малые лабораторные животные

В качестве объектов исследования для проведения *in vivo* экспериментов использовались лабораторные животные – половозрелые крысы самцы Wistar весом не менее 300 г и мыши

BALB/c весом не менее 30 г. Животных содержали в виварии при температуре воздуха 20-22 °С градусов в пластиковых клетках группами по 5 штук в каждой при свободном доступе к пище и воде и естественном чередовании суточной освещенности в соответствии с нормативным документом [128]. Организацию и проведение *in vivo* экспериментов выполняли в соответствии с российскими и международными правилами [129, 130]. Главными критериями при оценке общего состояния здоровья животных являлись: поведенческие факторы, аппетит, цвет кожных покровов, состояние слизистых оболочек, чистота, отсутствие видимых признаков заболеваний. Во время МРТ-экспериментов животным проводили анестезию смесью изофлурана и кислорода, которая доставлялась через специальную маску в МР-сканере.

6. Выводы

1. Разработаны доступные методы синтеза полифторалкил-содержащих пирролил-2-карбинолов и бензальдегидов – базовых соединений для сборки порфиринового макроцикла.
2. Предложены и реализованы оптимальные схемы синтеза ряда полифторированных *мезо*-алкил- и *мезо*-арил-замещенных порфиринов путем тетрамеризации фторсодержащих пирролил-2-карбинолов, сборки макроциклов из полифторалкил-замещенных бензальдегидов и пиррола, замещения атомов фтора в *мезо*-тетракис(пентафторфенил)порфирине.
3. На основании исследований спектральных характеристик полифторированных порфиринов доказана их эффективность в фотосенсибилизированной генерации синглетного кислорода. Показана перспективность использования полученных соединений в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии рака.
4. На базе препарата Перфторан® создана и изучена наноразмерная эмульсионная система с порфиринами, растворенными во фторуглеродной фазе. Продемонстрирована фотодинамическая эффективность такой системы *in vitro*, в том числе в условиях недостатка кислорода. Методом ¹⁹F-MPT визуализации *in vivo* показана способность таких эмульсий накапливаться в зоне опухоли.
5. Показана перспективность использования полученной эмульсии для создания мультифункциональных препаратов, выполняющих одновременно функции ФС в ФДТ и контрастного агента в методе ¹⁹F-MPT визуализации.

7. Список литературы

1. Митрохин А.А. Гипербарическая оксигенация и рак / Митрохин А.А. // Исследования и практика в медицине - 2015 - Т. 2 - № 1- 83-94с.
2. Oxygen Transport to Tissue X / под ред. М. Mochizuki, С.Р. Honig, Т. Koyama, Т.К. Goldstick, D.F. Bruley. – Boston, MA: Springer US, 1988.
3. Pat. 5567765 United States, Int. Cl. C08F 2/32, U.S. Cl. 524/801, 524/805, 514/822, 514/832, 514/833, 514/937, 514/941. Physiologically acceptable emulsions containing perfluorocarbon ether hydrides and methods of use / Moore, George G., Flynn, Richard M., Guerra, Miguel A. ; assignee Minnesota Mining and Manufacturing Company – 606516 ; field 23.02.1996 ; date of patent 22.10.1996.
4. Иваницкий Г.Р. Кровезаменитель "Перфторан" / Иваницкий Г.Р., Воробьев С.И. // Вестник Российской академии наук - 1997 - Т. 67 - № 11- 998-1013с.
5. Мусатов М. Кровезаменитель перфторан как эффективное средство в экспериментальной химиотерапии злокачественных опухолей / М. Мусатов, В. Козлов // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина – 2012. – Т. 10 – № 3– 30–34с
6. Мусатов М.И. Местное применение перфторана в экспериментальной химиотерапии злокачественных опухолей / М. И. Мусатов, С. Н. Белгородцев, В. А. Козлов // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, Клиническая медицина – 2014. – Т. 12 – № 1– 62–65с.
7. Пат. 2440158 Российская Федерация, МПК А61N 5/067 (2006.01), А61К 31/02 (2006.01), А61К 31/28 (2006.01), А61Р 35/00 (2006.01). Способ фотодинамической терапии субъектов, страдающих злокачественными опухолями / Белый Ю. А., Кукушкин Н. И., Склифас А. Н., Темнов А. А., Терещенко А. В. ; заявители и патентообладатели Белый Ю. А., Кукушкин Н. И., Склифас А. Н., Темнов А. А., Терещенко А. В. – 2010106294/14; заявл. 25.02.2010 ; опубл. 20.01.2012, Бюл. № 2.
8. Dougherty T.J. Photoradiation therapy. II. Cure of animal tumors with hematoporphyrin and light / T. J. Dougherty, G. B. Grindey, R. Fiel, K. R. Weishaupt, D. G. Boyle // J. Natl. Cancer Inst. – 1975. – Т. 55 – № 1– 115–121с.
9. Deda D.K. Nanotechnology, light and chemical action: An effective combination to kill cancer cells / D. K. Deda, K. Araki // J. Braz. Chem. Soc. – 2015. – Т. 26 – № 12– 2448–2470с.

-
10. Clennan E.L. Advances in singlet oxygen chemistry / E. L. Clennan, A. Pace // *Tetrahedron* – 2005. – T. 61 – № 28– 6665–6691c.;
 11. Devasagayam T.P.A. Biological significance of singlet oxygen. / T. P. A. Devasagayam, J. P. Kamat // *Indian J. Exp. Biol.* – 2002. – T. 40 – № 6– 680–92c.;
 12. Held P. An Introduction to Reactive Oxygen Species Measurement of ROS in Cells / P. Held / под ред. Intergovernmental Panel on Climate Change. – Cambridge: Cambridge University Press, 2012. – 1-14c.;
 13. Bacellar I.O.L. Photodynamic efficiency: From molecular photochemistry to cell death / I. O. L. Bacellar, T. M. Tsubone, C. Pavani, M. S. Baptista // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – T. 16 – № 9– 20523–20559c.
 14. Iani V. Measurements of light penetration into human tissues in vivo. / V. Iani, J. Moan, L. W. Ma // *Proc. SPIE-The Int. Soc. Opt. Eng.* – 1996. – T. 2625– № Photochemistry: Photodynamic Therapy and Other Modalities– 378–383c.
 15. Ryter S.W. Mechanisms of Cell Death in Oxidative Stress / S. W. Ryter, H. P. Kim, A. Hoetzel, J. W. Park, K. Nakahira, X. Wang, A. M. K. Choi // *Antioxid. Redox Signal.* – 2007. – T. 9 – № 1– 49–89c.
 16. Walsh J.C. The Clinical Importance of Assessing Tumor Hypoxia: Relationship of Tumor Hypoxia to Prognosis and Therapeutic Opportunities / J. C. Walsh, A. Lebedev, E. Aten, K. Madsen, L. Marciano, H. C. Kolb // *Antioxid. Redox Signal.* – 2014. – T. 21 – № 10– 1516–1554c.
 17. Henderson B.W. Photofrin photodynamic therapy can significantly deplete or preserve oxygenation in human basal cell carcinomas during treatment, depending on fluence rate. / B. W. Henderson, T. M. Busch, L. a. Vaughan, N. P. Frawley, D. Babich, T. a. Sosa, J. D. Zollo, A. S. Dee, M. T. Cooper, D. a. Bellnier, W. R. Greco, A. R. Oseroff // *Cancer Res.* – 2000. – T. 60 – № 3– 525–9c.
 18. Chen Q. Improvement of tumor response by manipulation of tumor oxygenation during photodynamic therapy / Q. Chen, Z. Huang, H. Chen, H. Shapiro, J. Beckers, F. W. Hetzel // *Photochem. Photobiol.* – 2002. – T. 76 – № 2– 197–203c.
 19. Nielsen K.P. Choice of Optimal Wavelength for PDT: The Significance of Oxygen Depletion / K. P. Nielsen, A. Juzeniene, P. Juzenas, K. Stamnes, J. J. Stamnes, J. Moan // *Photochem. Photobiol.* – 2005. – T. 81 – № 5– 1190c.
 20. Cheng Y. Perfluorocarbon nanoparticles enhance reactive oxygen levels and tumour growth inhibition in photodynamic therapy / Y. Cheng, H. Cheng, C. Jiang, X. Qiu, K. Wang, W. Huan, A. Yuan, J. Wu, Y. Hu // *Nat. Commun.* – 2015. – T. 6– 8785c.;

-
21. Pat. 4781676 United States, Int. Cl. A61N 1/30, U.S. Cl. 604/21, 604/51, 128/362, 128/804, 514/34, 600/1. Interstitial administration of perfluorochemical emulsions for reoxygenation of hypoxic tumor cells / Schweighardt, Frank K., Woo, David V. ; assignee Air products and chemicals Inc. – 16812 ; field 20.02.1987 ; date of patent 01.11.1988.
 22. Yao Y. Perfluorocarbon-Encapsulated PLGA-PEG Emulsions as Enhancement Agents for Highly Efficient Reoxygenation to Cell and Organism / Y. Yao, M. Zhang, T. Liu, J. Zhou, Y. Gao, Z. Wen, J. Guan, J. Zhu, Z. Lin, D. He // ACS Appl. Mater. Interfaces – 2015. – T. 7 – № 33– 18369–18378c.;
 23. Berenbaum M.C. PERFLUORO-CHEMICALS AND PHOTODYNAMIC THERAPY IN MICE / M. C. Berenbaum, S. L. Akande, F. H. Armstrong, P. K. Bentley, R. Bonnett, R. D. White, K. C. Lowe // Oxyg. Transp. to tissue XII – 1990. – 277–282c;
 24. Fingar V.H. Modification of photodynamic therapy-induced hypoxia by fluosol-DA (20%) and carbogen breathing in mice. / V. H. Fingar, T. S. Mang, B. W. Henderson // Cancer Res. – 1988. – T. 48 – № 12– 3350–4c.;
 25. Fuchs J. The Role of Oxygen in Cutaneous Photodynamic Therapy / J. Fuchs, J. Thiele // Free Radic. Biol. Med. – 1998. – T. 24 – № 5– 835–847c.
 26. Moreira L.M. Photodynamic Therapy: Porphyrins and Phthalocyanines as Photosensitizers / L. M. Moreira, F. Vieira dos Santos, J. P. Lyon, M. Maftoum-Costa, C. Pacheco-Soares, N. Soares da Silva // Aust. J. Chem. – 2008. – T. 61 – № 10– 741c.;
 27. Pandey R.K. Nature: A rich source for developing multifunctional agents. tumor-imaging and photodynamic therapy / R. K. Pandey, L. N. Goswami, Y. Chen, A. Gryshuk, J. R. Missert, A. Oseroff, T. J. Dougherty // Lasers Surg. Med. – 2006. – T. 38 – № 5– 445–467c.;
 28. Berg K. Porphyrin-related photosensitizers for cancer imaging and therapeutic applications / K. Berg, P. K. Selbo, a. Weyergang, a. Dietze, L. Prasmickaite, a. Bonsted, B. Engesaeter, E. Angell-Petersen, T. Warloe, N. Frandsen, a. Høgset // J. Microsc. – 2005. – T. 218– № May– 133–147c.;
 29. Nyman E.S. Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy / E. S. Nyman, P. H. Hynninen // J. Photochem. Photobiol. B Biol. – 2004. – T. 73 – № 1–2– 1–28c.;
 30. Allison R.R. Photosensitizers in clinical PDT / R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, X.-H. Hu, C. J. Childs, C. H. Sibata // Photodiagnosis Photodyn. Ther. – 2004. – T. 1 – № 1– 27–42c.
 31. Abrahamse H. New photosensitizers for photodynamic therapy / H. Abrahamse, M. R. Hamblin // Biochem. J. – 2016. – T. 473 – № 4– 347–364c.
 32. YANG S.I. Ground and Excited State Electronic Properties of Halogenated Tetraarylporphyrins: Tuning the Building Blocks for Porphyrin-based Photonic Devices / S. I. YANG,

-
- J. SETH, J.-P. STRACHAN, S. GENTEMANN, D. KIM, D. HOLTEN, J. S. LINDSEY, D. F. BOCIAN // *J. Porphyrins Phthalocyanines* – 1999. – Т. 3 – № 2– 117–147с.;
33. Moore K.T. Syntheses, NMR and EPR Spectroscopy, Electrochemical Properties, and Structural Studies of [5,10,15,20-Tetrakis(perfluoroalkyl)porphinato]iron(II) and -iron(III) Complexes / K. T. Moore, J. T. Fletcher, M. J. Therien // *J. Am. Chem. Soc.* – 1999. – Т. 121 – № 22– 5196–5209с.;
34. Woller E.K. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octafluoro-5,10,15,20-tetraarylporphyrins and Their Zinc Complexes: First Spectroscopic, Electrochemical, and Structural Characterization of a Perfluorinated Tetraarylmetalloporphyrin / E. K. Woller, S. G. DiMugno // *J. Org. Chem.* – 1997. – Т. 62 – № 6– 1588–1593с.;
35. Goll J.G. Synthesis, Structure, Electronic Spectroscopy, Photophysics, Electrochemistry, and X-ray Photoelectron Spectroscopy of Highly-Electron-Deficient [5,10,15,20-Tetrakis(perfluoroalkyl)porphinato]zinc(II) Complexes and Their Free Base Derivatives / J. G. Goll, K. T. Moore, A. Ghosh, M. J. Therien // *J. Am. Chem. Soc.* – 1996. – Т. 118 – № 35– 8344–8354с.
36. DiMugno S.G. Fluorous Biphasic Singlet Oxygenation with a Perfluoroalkylated Photosensitizer. / S. G. DiMugno, P. H. Dussault, J. A. Schultz // *J. Am. Chem. Soc.* – 1996. – Т. 118 – № 22– 5312–5313с.
37. Nakazono T. Improving Singlet Oxygen Resistance during Photochemical Water Oxidation by Cobalt Porphyrin Catalysts / T. Nakazono, A. R. Parent, K. Sakai // *Chem. - A Eur. J.* – 2015. – Т. 21 – № 18– 6723–6726с.
38. Smirnov V. V Structure and Photophysics of β -Octafluoro- *meso* -tetraarylporphyrins § / V. V Smirnov, E. K. Woller, D. Tatman, S. G. DiMugno // *Inorg. Chem.* – 2001. – Т. 40 – № 11– 2614–2619с.
39. Соединения фтора : синтез и применение / [Н. Исикава, Т. Абэ, С. Нагасэ и др.] ; ред. Н. Исикава ; пер. с яп. М. В. Поспелова ; под ред. А. В. Фокина. - Москва : Мир, 1990. - 405 с. : ил. ; 22 см. ; ISBN 5-03-002386-0.
40. Stoll G. Visualization of inflammation using ^{19}F -magnetic resonance imaging and perfluorocarbons / G. Stoll, T. Basse-Lüsebrink, G. Weise, P. Jakob // *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology* – 2012. – Т. 4 – № 4– 438–447с.;
41. Ruiz-Cabello J. Fluorine (^{19}F) MRS and MRI in biomedicine / J. Ruiz-Cabello, B. P. Barnett, P. A. Bottomley, J. W. M. Bulte // *NMR Biomed.* – 2011. – Т. 24 – № 2– 114–129с.
42. Calvete M. Tetrapyrrolic Macrocycles: Potentialities in Medical Imaging Technologies / M. Calvete, A. Simoes, C. Henriques, S. Pinto, M. Pereira // *Curr. Org. Synth.* – 2014. – Т. 11 – № 1– 127–140с.

-
43. Subbaraya Ramaprasad B.S.P. In vivo ^{19}F MR Studies of Fluorine Labeled Photosensitizers in a Murine Tumor Model / B. S. P. Subbaraya Ramaprasad, B. S. P. Elzbieta Ripp, B. S. P. Joseph Missert, B. S. P. Ravindra K. Pandey // *Curr. Drug Discov. Technol.* – 2007. – T. 4 – № 2– 126–132c.
44. Kavali R. Efficient methods for the synthesis of 5-(4-[^{18}F]fluorophenyl)-10,15,20-tris(3-methoxyphenyl)porphyrin as a potential imaging agent for tumor / R. Kavali, B. C. Lee, B. S. Moon, S. D. Yang, K. S. Chun, C. W. Choi, C. H. Lee, D. Y. Chi // *J. Label. Compd. Radiopharm.* – 2005. – T. 48 – № 10– 749–758c.
45. Ranyuk E. A new approach for the synthesis of ^{18}F -radiolabelled phthalocyanines and porphyrins as potential bimodal/theranostic agents / E. Ranyuk, H. Ali, B. Guérin, J. E. van Lier // *J. Porphyr. Phthalocyanines* – 2013. – T. 17– № 08n09– 850–856c.;
46. Entract G.M. Development of PDT/PET Theranostics: Synthesis and Biological Evaluation of an ^{18}F -Radiolabeled Water-Soluble Porphyrin / G. M. Entract, F. Bryden, J. Domarkas, H. Savoie, L. Allott, S. J. Archibald, C. Cawthorne, R. W. Boyle // *Mol. Pharm.* – 2015. – T. 12 – № 12– 4414–4423c.
47. Simões A.V.C. Synthesis of a new ^{18}F labeled porphyrin for potential application in positron emission tomography. In vivo imaging and cellular uptake / A. V. C. Simões, S. M. A. Pinto, M. J. F. Calvete, C. M. F. Gomes, N. C. Ferreira, M. Castelo-Branco, J. Llop, M. M. Pereira, A. J. Abrunhosa // *RSC Adv.* – 2015. – T. 5 – № 120– 99540–99546c.
48. Tsuchiya S. Novel Synthetic Method of Phenol from Benzene Catalyzed by Perfluorinated Hemin // *Chem. Lett.* – 1989. – T. 18. – № 2. – 263–266c.
49. Jin L.M. Fluoroalkylation of porphyrins: Synthesis and reactions of beta-fluoroalkyltetraarylporphyrins / L. M. Jin, Z. Zeng, C. C. Guo, Q. Y. Chen // *J. Org. Chem.* – 2003. – T. 68 – № 10– 3912–3917c.
50. Jin L.M. Fluoroalkylation of porphyrins: Preparation and characterization of meso- and beta-fluoroalkyl-5,15-diarylporphyrins / L. M. Jin, L. Chen, J. J. Yin, C. C. Guo, Q. Y. Chen // *J. Fluor. Chem.* – 2005. – T. 126 – № 9–10– 1321–1326c.
51. Jin L. Unusual Fluoroalkenylation of Porphyrins: A Highly Stereoselective Synthesis of 10,20-Diaryl-5-[(E)-fluoroalkenyl]-15-(fluoroalkyl)porphyrins / L. Jin, J. Yin, L. Chen, J. Xiao, C. Guo, Q.-Y. Chen // *European J. Org. Chem.* – 2006. – T. 2006 – № 15– 3405–3411c.
52. Chen L. Fluoroalkylation of Porphyrins: Generation of 2- and 20-Perfluoroalkyl-5,10,15-triarylporphyrin Radicals and their Intramolecular Cyclizations / L. Chen, L.-M. Jin, C.-C. Guo, Q.-Y. Chen // *Synlett* – 2005. – № 6– 0963–0970c.

-
53. Jin L.-M. Copper-induced fluoroalkylation of porphyrins: Solvent-dependent synthesis of fluoroalkyl chlorins and porphyrins from fluoroalkyl iodides. / L.-M. Jin, L. Chen, C.-C. Guo, Q.-Y. Chen // *J. Porphyr. Phthalocyanines* – 2005. – T. 9 – № 2– 109–120c.
54. Liu C. General and Efficient Synthesis of meso - and β -Perfluoroalkylated Porphyrins via Pd-Catalyzed Cross-Coupling Reaction / C. Liu, Q.-Y. Chen // *Synlett* – 2005. – № 8– 1306–1310c.
55. Li G. Application of Ruppert's reagent in preparing novel perfluorinated porphyrins, chlorins and bacteriochlorins / G. Li, Y. Chen, J. R. Missert, A. Rungta, T. J. Dougherty, Z. D. Grossman, R. K. Pandey // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* – 1999. – T. 13 – № 13– 1785–1788c.
56. Aicher D. Preparation of β -functionalized dihydroxy-chlorins for photodynamic therapy. / D. Aicher, A. Wiehe, C. B. W. Stark, V. Albrecht, S. Grafe // *PCT Int. Appl.* – 2012. – № WO2012012809A2 – 53pp.c.
57. Terazono Y. Synthesis and Characterization of -Trifluoromethyl- meso -tetraphenylporphyrins / Y. Terazono, D. Dolphin // *J. Org. Chem.* – 2003. – T. 68 – № 20– 1892–1900c.
58. Liu C. Practical and Efficient Synthesis of Various meso -Functionalized Porphyrins via Simple Ligand-Free Nickel-Catalyzed C–O, C–N, and C–C Cross-Coupling Reactions / C. Liu, D. Shen, Q. Chen // *J. Org. Chem.* – 2007. – T. 72 – № 8– 2732–2736c.
59. Liu C. Fluoroalkylation of Porphyrins: A Facile Synthesis of Trifluoromethylated Porphyrins by a Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reaction / C. Liu, Q.-Y. Chen // *European J. Org. Chem.* – 2005. – T. 2005 – № 17– 3680–3686c.
60. Tamiaki H. Synthesis of Trifluoromethyl-Porphyrins and -Chlorins / H. Tamiaki, Y. Nagata, S. Tsudzuki // *European J. Org. Chem.* – 1999. – T. 1999 – № 10– 2471–2473c.
61. Kumadaki I. Synthesis of fluorinated analogs of natural porphyrins potentially useful for the diagnosis and therapy of cancer / I. Kumadaki, A. Ando, M. Omote // *J. Fluor. Chem.* – 2001. – T. 109 – № 1– 67–81c.
62. Gryshuk A.L. In Vivo Stability and Photodynamic Efficacy of Fluorinated Bacteriopurpurinimides Derived from Bacteriochlorophyll-a / A. L. Gryshuk, Y. Chen, W. Potter, T. Ohulchansky, A. Oseroff, R. K. Pandey // *J. Med. Chem.* – 2006. – T. 49 – № 6– 1874–1881c.;
63. Gryshuk A. Structure–Activity Relationship Among Purpurinimides and Bacteriopurpurinimides: Trifluoromethyl Substituent Enhanced the Photosensitizing Efficacy / A. Gryshuk, Y. Chen, L. N. Goswami, S. Pandey, J. R. Missert, T. Ohulchansky, W. Potter, P. N. Prasad, A. Oseroff, R. K. Pandey // *J. Med. Chem.* – 2007. – T. 50 – № 8– 1754–1767c.
64. Shibata R. Self-aggregation of synthetic zinc chlorophyll derivative possessing a perfluoroalkyl group in a fluorinated solvent / R. Shibata, H. Tamiaki // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – T. 14 – № 7– 2235–2241c.

-
65. Bhupathiraju N.V.S.D.K. Fluorinated porphyrinoids as efficient platforms for new photonic materials, sensors, and therapeutics / N. V. S. D. K. Bhupathiraju, W. Rizvi, J. D. Batteas, C. M. Drain // *Org. Biomol. Chem.* – 2016. – T. 14 – № 2– 389–408c.
66. Bříza T. Synthesis of Highly Functionalized Fluorinated Porphyrins / T. Bříza, R. Kaplánek, M. Havlík, B. Dolenský, Z. Kejík, P. Martásek, V. Král // *Supramol. Chem.* – 2008. – T. 20 – № 3– 237–242c.
67. Golf H.R. a. Regioselective Nucleophilic Aromatic Substitution Reaction of meso - Pentafluorophenyl-Substituted Porphyrinoids with Alcohols / H. R. a. Golf, H.-U. Reissig, A. Wiehe // *European J. Org. Chem.* – 2015. – T. 2015 – № 7– 1548–1568c.
68. Hyland M.A. meso -Tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin-Derived Chromene-Annulated Chlorins / M. A. Hyland, M. D. Morton, C. Brückner, C. Bruckner // *J. Org. Chem.* – 2012. – T. 77 – № 7– 3038–3048c.
69. Hyland M.A. Chromene-Annulated Bacteriochlorins / M. A. Hyland, N. Hewage, K. Panther, A. Nimthong-Roldán, M. Zeller, M. Samaraweera, J. A. Gascon, C. Brückner // *J. Org. Chem.* – 2016. – T. 81 – № 9– 3603–3618c.
70. Tüxen J. Highly Fluorous Porphyrins as Model Compounds for Molecule Interferometry / J. Tüxen, S. Eibenberger, S. Gerlich, M. Arndt, M. Mayor // *European J. Org. Chem.* – 2011. – 4823–4833c.
71. Samaroo D. Efficient Microwave-Assisted Synthesis of Amine-Substituted Tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin / D. Samaroo, C. E. Soll, L. J. Todaro, C. M. Drain // *Org. Lett.* – 2006. – T. 8 – № 22– 4985–4988c.
72. Varotto A. Self-organization of a new fluorous porphyrin and C60 films on indium-tin-oxide electrode / A. Varotto, L. Todaro, M. Vinodu, J. Koehne, G. Liu, C. M. Drain // *Chem. Commun.* – 2008. – T. 1 – № 40– 4921c.;
73. Aggarwal A. Adaptive organic nanoparticles of a teflon-coated iron (III) porphyrin catalytically activate dioxygen for cyclohexene oxidation. / A. Aggarwal, S. Singh, J. Samson, C. M. Drain // *Macromol. Rapid Commun.* – 2012. – T. 33 – № 14– 1220–6c.
74. Pozzi G. Straightforward Synthesis of a Fluorous Tetraarylporphyrin: an Efficient and Recyclable Sensitizer for Photooxygenation Reactions / G. Pozzi, L. Mercks, O. Holczknecht, F. Martimbianco, F. Fabris // *Adv. Synth. Catal.* – 2006. – T. 348 – № 12–13– 1611–1620c.
75. Pozzi G. Towards epoxidation catalysts for fluorous biphasic systems: Synthesis and properties of two Mn(III)-tetraarylporphyrins bearing perfluoroalkylamido tails / G. Pozzi, S. Banfi, A. Manfredi, F. Montanari, S. Quici // *Tetrahedron* – 1996. – T. 52 – № 36– 11879–11888c.

-
76. Pandey S.K. Fluorinated photosensitizers: Synthesis, photophysical, electrochemical, intracellular localization, in vitro photosensitizing efficacy and determination of tumor-uptake by ¹⁹F in vivo NMR spectroscopy / S. K. Pandey, A. L. Gryshuk, A. Graham, K. Ohkubo, S. Fukuzumi, M. P. Dobhal, G. Zheng, Z. Ou, R. Zhan, K. M. Kadish, A. Oseroff, S. Ramaprasad, R. K. Pandey // *Tetrahedron* – 2003. – T. 59 – № 50– 10059–10073c.
77. Ormond A.B. Effects of substituents on the photophysical properties of symmetrical porphyrins / A. B. Ormond, H. S. Freeman // *Dye. Pigment.* – 2013. – T. 96 – № 2– 440–448c.
78. Mettath S. Effect of substituents in directing the formation of benzochlorins and isobacteriochlorins in porphyrin and chlorin systems. / S. Mettath, G. Li, T. Srikrishnan, R. Mehta, Z. D. Grossman, T. J. Dougherty, R. K. Pandey // *Org. Lett.* – 1999. – T. 1 – № 12– 1961–4c.;
79. Li G. A simple and efficient approach for the synthesis of fluorinated and nonfluorinated octaethylporphyrin-based benzochlorins with variable lipophilicity, their in vivo tumor uptake, and the preliminary in vitro photosensitizing efficacy / G. Li, A. Graham, W. Potter, Z. D. Grossman, A. Oseroff, T. J. Dougherty, R. K. Pandey // *J. Org. Chem.* – 2001. – T. 66 – № 4– 1316–1325c.
80. DiMagno S.G. Facile Synthesis of meso-Tetrakis(perfluoroalkyl)porphyrins: Spectroscopic Properties and X-ray Crystal Structure of Highly Electron-Deficient 5,10,15,20-Tetrakis(heptafluoropropyl)porphyrin / S. G. DiMagno, R. A. Williams, M. J. Therien // *J. Org. Chem.* – 1994. – T. 59 – № 23– 6943–6948c.
81. Wertsching A.K. On the negligible impact of ruffling on the electronic spectra of porphine, tetramethylporphyrin, and perfluoroalkylporphyrins / A. K. Wertsching, A. S. Koch, S. G. DiMagno // *J. Am. Chem. Soc.* – 2001. – T. 123 – № 17– 3932–3939c.;
82. Wijesekera T.P. Perfluoroalkylporphyrin complexes as active catalysts for the reaction of isobutane with oxygen and the decomposition of tert-butyl hydroperoxide / T. P. Wijesekera, J. E. Lyons, P. E. Ellis // *Catal. Letters* – 1996. – T. 36 – № 1–2– 69–73c.
83. Campestrini S. Synthesis of a novel porphyrin bearing chloroper-fluoropolyether moieties with very high solubility in supercritical CO₂ / S. Campestrini, G. Lora, U. Tonellato // *Tetrahedron Lett.* – 2001. – T. 42 – № 40– 7045–7048c.
84. Wijesekera T.P. 5-Perfluoroalkyldipyrromethanes and porphyrins derived therefrom / T. P. Wijesekera // *Can. J. Chem.* – 1996. – T. 74 – № 10– 1868–1871c.
85. Trova M.P. Superoxide dismutase mimetics. Part 2: synthesis and structure-activity relationship of glyoxylate- and glyoxamide-derived metalloporphyrins. / M. P. Trova, P. J. F. Gauuan, A. D. Pechulis, S. M. Bubb, S. B. Bocckino, J. D. Crapo, B. J. Day // *Bioorg. Med. Chem.* – 2003. – T. 11 – № 13– 2695–2707c.;

-
86. Lahaye D. Design and synthesis of manganese porphyrins with tailored lipophilicity: Investigation of redox properties and superoxide dismutase activity. / D. Lahaye, K. Muthukumaran, C.-H. Hung, D. Gryko, J. S. Reboucas, I. Spasojevic, I. Batinic-Haberle, J. S. Lindsey // *Bioorg. Med. Chem.* – 2007. – T. 15 – № 22– 7066–7086c.
87. Galezowski M. Synthesis of Locked meso- β -Substituted Chlorins via 1,3-Dipolar Cycloaddition. / M. Galezowski, D. T. Gryko // *J. Org. Chem.* – 2006. – T. 71 – № 16– 5942–5950c.
88. Kaesler R.W. Synthesis of (polyfluoroalkyl)pyrroles and -porphyrins / R. W. Kaesler, E. LeGoff // *J. Org. Chem.* – 1982. – T. 47 – № 27– 5243–5246c.
89. Homma M. Electron deficient porphyrins. 1. Tetrakis(trifluoromethyl)porphyrin and its metal complexes / M. Homma, K. Aoyagi, Y. Aoyama, H. Ogoshi // *Tetrahedron Lett.* – 1983. – T. 24 – № 40– 4343–4346c.
90. Ko Y.-J. Synthesis and in vitro photodynamic activities of water-soluble fluorinated tetrapyrridylporphyrins as tumor photosensitizers / Y.-J. Ko, K.-J. Yun, M.-S. Kang, J. Park, K.-T. Lee, S. B. Park, J.-H. Shin // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2007. – T. 17 – № 10– 2789–2794c.
91. Wei-Yuan H. The synthesis of fluorine-containing porphyrins / H. Wei-Yuan, M. Wu-Ping // *Chinese J. Chem.* – 1990. – T. 8 – № 5– 474–480c.
92. Lindsey J.S. Rothmund and Adler-Longo reactions revisited: synthesis of tetraphenylporphyrins under equilibrium conditions / J. S. Lindsey, I. C. Schreiman, H. C. Hsu, P. C. Kearney, A. M. Marguerettaz // *J. Org. Chem.* – 1987. – T. 52 – № 5– 827–836c.
93. Pozzi G. Cobalt tetraarylporphyrin-catalysed epoxidation of alkenes by dioxygen and 2-methylpropanal under fluorous biphasic conditions / G. Pozzi, F. Montanari, S. Quici // *Chem. Commun.* – 1997. – № 1– 69–70c.
94. Pozzi G. Epoxidation of Alkenes Under Liquid-Liquid Biphasic Conditions: Synthesis and Catalytic Activity of Mn(III)-Tetraarylporphyrins Bearing Perfluoroalkyl Tails. / G. Pozzi, I. Colombani, M. Miglioli, F. Montanari, S. Quici // *Tetrahedron* – 1997. – T. 53 – № 17– 6145–6162c.
95. Pozzi G. Fluorous Molecules for Dye-Sensitized Solar Cells: Synthesis and Photoelectrochemistry of Unsymmetrical Zinc Phthalocyanine Sensitizers with Bulky Fluorophilic Donor Groups / G. Pozzi, S. Quici, M. C. Raffo, C. A. Bignozzi, S. Caramori, M. Orlandi // *J. Phys. Chem. C* – 2011. – T. 115 – № 9– 3777–3788c.
96. Al-Raqa S.Y. The synthesis and photophysical properties of novel, symmetrical, hexadecasubstituted Zn phthalocyanines and related unsymmetrical derivatives / S. Y. Al-Raqa // *Dye. Pigment.* – 2008. – T. 77 – № 2– 259–265c.

-
97. Weitman H. Spectroscopic probing of the acid-base properties and photosensitization of a fluorinated phthalocyanine in organic solutions and liposomes. / H. Weitman, S. Schatz, H. E. Gottlieb, N. Kobayashi, B. Ehrenberg // *Photochem. Photobiol.* – 2001. – T. 73 – № 5– 473–481c.
98. Shibata N. Trifluoroethoxy-Coating Improves the Axial Ligand Substitution of Subphthalocyanine / N. Shibata, B. Das, E. Tokunaga, M. Shiro, N. Kobayashi // *Chem. - A Eur. J.* – 2010. – T. 16 – № 25– 7554–7562c.
99. Shibata N. Synthesis, photophysical and electrochemical properties of perfluoroisopropyl substituted binuclear phthalocyanine conjugated with a butadiyne linker / N. Shibata, B. Das, M. Hayashi, S. Nakamura, T. Toru // *J. Fluor. Chem.* – 2009. – T. 130 – № 12– 1164–1170c.
100. Gorun S.M. Synthesis and structural characterization of non-planar perfluoro phthalonitriles / S. M. Gorun, B. A. Bench, G. Carpenter, M. W. Beggs, J. T. Mague, H. E. Ensley // *J. Fluor. Chem.* – 1998. – T. 91 – № 1– 37–40c.
101. Bench B.A. Introduction of Bulky Perfluoroalkyl Groups at the Periphery of Zinc Perfluorophthalocyanine: Chemical, Structural, Electronic, and Preliminary Photophysical and Biological Effects / B. A. Bench, A. Beveridge, W. M. Sharman, G. J. Diebold, J. E. van Lier, S. M. Gorun // *Angew. Chemie Int. Ed.* – 2002. – T. 41 – № 5– 747c.
102. Qiu T. Novel perfluoroalkyl phthalocyanine metal derivatives: Synthesis and photodynamic activities / T. Qiu, X. Xu, J. Liu, X. Qian // *Dye. Pigment.* – 2009. – T. 83 – № 1– 127–133c.
103. Gao L. Tetra-trifluoroethoxyl zinc phthalocyanine: Potential photosensitizer for use in the photodynamic therapy of cancer / L. Gao, X. Qian, L. Zhang, Y. Zhang // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* – 2002. – T. 65 – № 1– 35–38c.
104. Sigan A.L. Hydroxyalkylation of 4,5,6,7-tetrahydroindole with polyfluorocarbonyl compounds as a route to 2-substituted indoles / A. L. Sigan, D. V Gusev, N. D. Chkanikov, E. Y. Shmidt, A. V Ivanov, A. I. Mihaleva // *Tetrahedron Lett.* – 2011. – T. 52 – № 39– 5025–5028c.
105. Gusev D. V. Synthesis of 3-Indolyl Perfluoroalkyl Carbinols by the Reaction of Indoles with Perfluorinated Aldehydes / D. V. Gusev, E. V. Belyaeva, A. L. Sigan, N. D. Chkanikov // *Fluor. Notes* – 2017. – T. 4 – № 113– 1–2c.
106. Yi W. Bin Synthesis and uses of fluorous and highly fluorinated macrocyclic and spherical molecules / W. Bin Yi, J. J. Ma, L. Q. Jiang, C. Cai, W. Zhang // *J. Fluor. Chem.* – 2014. – T. 157– 84–105c.
107. Figueira A.C.B. New porphyrins tailored as biodiesel fluorescent markers / A. C. B. Figueira, K. T. de Oliveira, O. A. Serra // *Dye. Pigment.* – 2011. – T. 91 – № 3– 383–388c.

-
108. Boswell G.E. A Convenient Large-Scale Synthesis of 4-Fluoro-1-naphthaldehyde and Its Aromatic Nucleophilic Substitution Reactions / G. E. Boswell, J. F. Licause // *J. Org. Chem.* – 1995. – T. 60 – № 20– 6592–6594c.
109. Pat. Appl. Publ. 20070155726A1 United States, Int Cl. A61K 31/551, A61K 31/495, A61K 31/46, A61K 31/445, A61K 31/407, U.S. Cl. 514/218, 514/252.12, 514/304, 514/317, 514/412, 540/575, 544/359, 546/124, 546/226, 548/453. Diamine derivatives as inhibitors of leukotriene A4 hydrolase and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of inflammatory disorders / Arnaiz D., Brown G., Claret E., Cleve A., Davey D., Guilford W., Khim S-K., Kirkland T., Kochanny M. J., Liang A., Light D., Parkinson J., Vogel D., Wei G. P., Ye B. ; assignee Schering Aktiengesellschaft – № 11/644244 ; field 22.12.2006 ; опубл. 05.07.2007.
110. Mayor M. Electron transfer through molecular bridges between reducible pentakis(thiophenyl)benzene subunits. / M. Mayor, M. Buschel, K. M. Fromm, J.-M. Lehn, J. Daub // *Chem. - A Eur. J.* – 2001. – T. 7 – № 6– 1266–1272c.
111. Roux S. Halogenated styrene compounds, radiation curable composition, low-absorption-loss polymers and their synthesis. / S. Roux, O. Arnoud, M. Moroni // *Eur. Pat. Appl.* – 2004. – № EP1405849A1 – 22 pp.c.
112. Gryko D. Straightforward Transformation of Pentafluorobenzaldehyde into 4-Aryloxy-2,3,5,6-tetrafluorobenzaldehydes / D. Gryko, D. Wyrostek, A. Nowak-Król, K. Abramczyk, M. Rogacki // *Synthesis (Stuttg).* – 2008. – T. 2008 – № 24– 4028–4032c.
113. Adler A.D. A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphine / A. D. Adler, F. R. Longo, J. D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff // *J. Org. Chem.* – 1967. – T. 32 – № 2– 476–476c.
114. Lindsey J.S. Investigation of the synthesis of ortho-substituted tetraphenylporphyrins / J. S. Lindsey, R. W. Wagner // *J. Org. Chem.* – 1989. – T. 54 – № 4– 828–836c.
115. Dudkin S. V Synthesis of chlorins, bacteriochlorins and their tetraaza analogues / S. V Dudkin, E. A. Makarova, E. A. Lukyanets // *Russ. Chem. Rev.* – 2016. – T. 85 – № 7– 700–730c.
116. Stolzenberg A.M. Activation Barriers to meso -Aryl Group Rotation in Titanyl Tetraaryltetrapyrroles. An Investigation of the Out-of-Plane Flexibility of Hydroporphyrins / A. M. Stolzenberg, G. S. Haymond // *Inorg. Chem.* – 2002. – T. 41 – № 2– 300–308c.
117. Silva A.M.G. Porphyrins in Diels–Alder reactions. Improvements on the synthesis of barrelene-fused chlorins using microwave irradiation / A. M. G. Silva, A. C. Tomé, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, C. O. Kappe // *Tetrahedron Lett.* – 2005. – T. 46 – № 28– 4723–4726c.
118. Silva A.M.G.A.M.S. 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions of Porphyrins with Azomethine Ylides † / A. M. G. A. M. S. Silva, A. C. Tome, M. G. P. M. S. Neves, A. M. G. A. M. S. Silva, J. A.

-
- S. J. A. S. Cavaleiro, A. C. Tomé, M. G. P. M. S. Neves, A. M. G. A. M. S. Silva, J. A. S. J. A. S. Cavaleiro // *J. Org. Chem.* – 2005. – Т. 70 – № 6– 2306–2314с.
119. Блэтт А. Синтезы органических препаратов сборн. 2 / Блэтт А. перевод с англ. Платэ А. Ф. под ред. Казанского Б. А. - М. : Изд-во Иностр. лит., 1949. - С. 174-176. - Перевод изд.: *Organic synthesis collective vol. 2 / Blatt A.. New York.*
120. Леонард Н. Д. А. Синтезы органических препаратов сборн. 8 / Леонард Н. Д. перевод с англ. Платэ А. Ф. - М. : Изд-во Иностр. лит., 1958. - С. 9-11. - Перевод изд.: *Organic synthesis vol. 36 / Leonard N. J.. New York - London.*
121. Bendeddouche K.C. Reactivity of ethyldiazoacetate towards alkenes under microwave irradiation / K. C. Bendeddouche, B. Rechsteiner, F. Texier-Boullet, J. Hamelin, H. Benhaoua // *J. Chem. Res.* – 2002. – Т. 2002 – № 3– 114–117с.
122. Sutton J.M. Functionalized diphenylchlorins and bacteriochlorins: Their synthesis and bioconjugation for targeted photodynamic therapy and tumour cell imaging / J. M. Sutton, N. Fernandez, R. W. Boyle // *J. Porphyr. Phthalocyanines* – 2000. – Т. 4 – № 7– 655–658с.
123. Grancho J.C.P. Synthesis, Spectra and Photophysics of some Free Base Tetrafluoroalkyl and Tetrafluoroaryl Porphyrins with Potential Applications in Imaging / J. C. P. Grancho, M. M. Pereira, M. D. G. Miguel, A. M. R. Gonsalves, H. D. Burrows // *Photochem. Photobiol.* – 2002. – Т. 75 – № 3– 249с.
124. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays / T. Mosmann // *J. Immunol. Methods* – 1983. – Т. 65 – № 1–2– 55–63с.
125. *In vitro* и *in vivo* исследования экспериментальных образцов модифицированных ФУЭС : отчет о НИР (промежуточ.) : 42-44 / ФГБОУ высш. образования МГУ им. М. В. Ломоносова ; рук. Хохлов А. Р. ; исполн.: Пирогов Ю. А. [и др.]. – М., 2016. – 161 с. – № ГР 115012770056. – грант Минобрнауки РФ № 14.604.21.0060 (RFMEFI60414X0060).
126. Temme S. ¹⁹F magnetic resonance imaging of endogenous macrophages in inflammation / S. Temme, F. B??nner, J. Schrader, U. Fl??gel // *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology* – 2012. – Т. 4 – № 3– 329–343с.;
127. Srinivas M. Customizable, multi-functional fluorocarbon nanoparticles for quantitative *in vivo* imaging using ¹⁹F MRI and optical imaging / M. Srinivas, L. J. Cruz, F. Bonetto, A. Heerschap, C. G. Figdor, I. J. M. de Vries // *Biomaterials* – 2010. – Т. 31 – № 27– 7070–7077с.
128. Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) : утв. Главным Государственным санитарным врачом СССР П.Н.Бургасовым 06.04.1973 : №1045-73

-
129. приказ Минздравсоцразвития РФ № 708н от 23 января 2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики»
130. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals / – Washington, D.C.: National Academies Press, 2011.– 1-246с.