

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева»

На правах рукописи



**Юрьев Данил Юрьевич**

**ДИЗАЙН И СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,8-НАФТАЛИМИДА  
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В НАНОТЕХНОЛОГИИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ  
БИОВИЗУАЛИЗАЦИИ**

Специальность 1.4.3. Органическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2026

Работа выполнена на кафедре химии и технологии биомедицинских препаратов в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева».

Научный руководитель – **Ткаченко Сергей Витальевич**, кандидат химических наук, доцент кафедры химии и технологии биомедицинских препаратов ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева».

Официальные оппоненты: **Аралов Андрей Владимирович**, доктор химических наук, доцент, старший научный сотрудник (группа молекулярных инструментов для исследования живых систем) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

**Баранин Сергей Викторович**, доктор химических наук, заведующий лабораторией карбоциклических соединений (№10) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук

Защита диссертации состоится 23 июня 2026 г. в 11-00 часов на заседании диссертационного совета РХТУ.1.4.01, созданного на базе ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева» по адресу: 125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9, конференц-зал, к. 443.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре и на официальном сайте ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева»

[https://www.muctr.ru/university/departments/ods/inhouse/inhouse\\_announcements/](https://www.muctr.ru/university/departments/ods/inhouse/inhouse_announcements/)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2026 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
РХТУ.1.4.01  
д. х. н., профессор



Бухаркина Татьяна Владимировна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Разработка новых эффективных флуорофоров, пригодных для создания систем адресной доставки, является одной из актуальных задач современной органической химии и нанотехнологии. Флуоресцентная визуализация позволяет изучать биораспределение и кинетику высвобождения лекарственных препаратов *in vitro* и *in vivo* в режиме реального времени, а также открывает возможности для интраоперационного мониторинга, обеспечивая визуальное сопровождение хирургических вмешательств.

Среди многообразия органических флуорофоров производные 1,8-нафталимида выделяются уникальным сочетанием свойств: химической активностью (относительная легкость функционализации), высокими спектрально-люминесцентными характеристиками (значительные квантовые выходы флуоресценции в водных и биологических средах, высокая фотостабильность) и благоприятным биологическим профилем (низкая токсичность, наличие биологической активности). Эти особенности обуславливают интенсивное развитие химии данного класса соединений, в частности, в направлении создания тераностических систем, объединяющих диагностическую и терапевтическую функции. Варьирование заместителей в 4-ом положении ароматического бицикла (введение *O*-, *S*- или *N*-содержащих групп) позволяет получать флуорофоры, люминесцирующие в широком диапазоне оптического спектра. Введение в структуру 1,8-нафталимида реакционноспособных функциональных групп открывает возможность их ковалентного связывания с полимерными носителями, что создает основу для разработки систем адресной доставки, снабженных флуоресцентной меткой для биовизуализации.

В качестве носителей лекарственных веществ широко используются полимеры как природного, так и синтетического происхождения. Наиболее востребованным природным полимером является человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), характеризующийся высокой биосовместимостью и низкой иммуногенностью. Среди синтетических полимеров особого внимания заслуживает биосовместимый и биоразлагаемый сополимер молочной и гликолевой кислот (*PLGA*). На основе этих полимеров разработано и внедрено в клиническую практику более 30 лекарственных препаратов.

Для обеспечения избирательного нацеливания на клеточные структуры полимеры функционализируют векторными группами. Так, например, для создания остеотропных систем используют  $\alpha$ -гидроксисфосфонатный фрагмент, обладающий высоким сродством к гидроксиапатиту и костной ткани. Наличие в структуре флуорофора векторной группы и функционального заместителя для ковалентного связывания с полимером позволяет создавать системы адресной доставки с возможностью флуоресцентной визуализации, при этом введение метки не оказывает существенного влияния на физико-химические свойства носителя и профиль высвобождения фармацевтической субстанции.

В настоящей работе осуществлен синтез новых производных 1,8-нафталимида, отвечающих перечисленным требованиям. Полученные соединения могут рассматриваться как доступная альтернатива зарубежным аналогам при проведении медико-биологических исследований.

**Степень разработанности темы.** Известной научной группой, занимающейся разработкой и изучением 1,8-нафталимидов, является коллектив под управлением профессора Божинова В. (Болгария). Среди российских ученых, необходимо отметить научную группу д.х.н., проф. Федоровой О. А. (Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова (ИНЭОС РАН)).

Несмотря на то, что производные 1,8-нафталимида широко применяются для решения задач биовизуализации, в мировой практике представлено ограниченное число примеров их использования для ковалентной модификации *PLGA* и ЧСА при создании систем адресной доставки. В рамках выполнения работы реализован первый пример разработки остеотропной системы с возможностью флуоресцентного детектирования наночастиц на основе *PLGA*, меченных 1,8-нафталимидом с бисфосфонатной группой.

**Цель работы:** разработка методов синтеза новых производных 1,8-нафталимида, обладающих флуоресценцией в широком диапазоне оптического спектра, и создание на их основе полимерных систем адресной доставки фармацевтических субстанций с возможностью флуоресцентной биовизуализации.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Синтез *O*-, *S*-, *N*-замещённых производных 1,8-нафталимида, содержащих amino-, карбокси-, гидроксид- и малеимидную функциональные группы для последующей ковалентной модификации природных и синтетических полимеров.

2. Синтез *O*-, *S*-, *N*-замещённых 1,8-нафталимидов с  $\alpha$ -гидроксифосфонатным фрагментом, для визуализации гидроксиапатита и изучения остеотропных систем адресной доставки на их основе.

3. Ковалентная модификация сополимера молочной и гликолевой кислот (*PLGA*) и человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) синтезированными производными 1,8-нафталимида с целью получения флуоресцентных систем для адресной доставки биологически активных соединений.

4. Исследование спектрально-люминесцентных свойств полученных флуорофоров, их конъюгатов с полимерами и наночастиц, включая определение квантовых выходов флуоресценции, яркости и фотостабильности.

5. Оценка способности синтезированных флуорофоров и полимерных систем к внутриклеточной локализации и визуализации *in vitro* на клеточных культурах методами флуоресцентной микроскопии.

**Научная новизна результатов.** В представленной работе получено: 23 новых соединения, среди них 6 новых производных 4-(2-гидроксиэтилтио)-1,8-нафталимида, содержащих 4-(2-аминоэтил)морфолиновый, *N*-тозилэтилендиаминовый, *N,N*-диметилендиаминовый, этилендиаминовый, гексаметилендиаминовый и пропилкарбоксильный заместители при имидном атоме азота для создания флуорофоров для ковалентной модификации *PLGA*. Введение в структуру флуорофоров векторных групп потенциально позволяет использовать их для селективного мечения клеточных органелл – лизосом, эндоплазматического ретикулума, митохондрий.

Синтезировано 6 новых производных 1,8-нафталимида, содержащих первичную аминогруппу, и 2 ранее неописанных флуорофора, содержащих карбоксильную группу. На основе соединений, излучающих в диапазоне 460-625 нм, осуществлена ковалентная модификация *PLGA* с получением 12 новых конъюгатов, которые были использованы для получения флуоресцентных наночастиц.

Впервые получено 5 новых малеимидных производных 1,8-нафталимида для ковалентной модификации человеческого сывороточного альбумина (ЧСА).

Синтезировано 4 новых *O*-, *S*- и *N*-замещённых производных 1,8-нафталимида, содержащих бисфосфонатный фрагмент. Впервые в мировой практике проведена флуоресцентная визуализация остеотропной системы адресной доставки на основе *PLGA*

на клеточной линии остеосаркомы *Saos-2*, что открывает возможность для разработки эффективных тераностических агентов для лечения заболеваний костной ткани.

**Теоретическая и практическая значимость.** Синтез и исследование новых производных 1,8-нафталимида расширяют фундаментальные представления о взаимосвязи структуры и фотофизических свойств в ряду гетероциклических флуорофоров. Полученные данные о влиянии природы заместителей (*O*-, *S*-, *N*-содержащих, а также малеимидных и бисфосфонатных фрагментов) на спектрально-люминесцентные характеристики соединений вносят вклад в понимание механизмов фотофизических процессов, включая формирование *TICT*-состояния, и создают основу для направленного дизайна флуорофоров с заданными свойствами.

В работе получены новые производные 1,8-нафталимида, содержащие векторные группы, обеспечивающие селективное нацеливание на лизосомы, эндоплазматический ретикулум и митохондрии. Синтезированные флуорофоры с  $\alpha$ -гидроксифосфонатным фрагментом могут быть использованы для визуализации гидроксиапатита в мягких тканях, а также при исследовании микрокальцинозов и метастатических поражений костной ткани.

Разработанные малеимидные производные 1,8-нафталимида позволяют осуществлять ковалентную модификацию человеческого сывороточного альбумина (ЧСА), расширяя арсенал флуоресцентных систем доставки на основе природных полимеров.

Ковалентная модификация сополимера молочной и гликолевой кислот (*PLGA*) синтезированными флуорофорами представляет собой один из первых примеров создания систем адресной доставки с возможностью флуоресцентной визуализации на основе данного класса соединений. В экспериментах *in vitro* продемонстрировано, что полученные наночастицы *PLGA*-1,8-нафталimid характеризуются высокой фотостабильностью, сопоставимой со стабильностью частиц на основе коммерчески доступных маркеров, что позволяет проводить долговременные исследования распределения нанообъектов и их взаимодействия с клетками в сложных биологических средах.

Полученные в работе соединения могут рассматриваться в качестве доступной отечественной альтернативы зарубежным флуоресцентным маркерам, применяемым в

нанотехнологии для визуализации систем адресной доставки, а также в микроскопии для исследования биологических объектов.

**Методология и методы исследования.** Представленные в работе результаты получены с использованием современных физико-химических методов анализа, включающих ЯМР-спектроскопию, масс-спектрометрию, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), элементный анализ, оптическую и флуоресцентную спектроскопию, спектрофотометрию, спектрофлуориметрию, флуоресцентную микроскопию, *FLIM*-микроскопию.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Разработаны методы синтеза *O*-, *S*- и *N*-замещённых производных 1,8-нафталимида, содержащих amino-, карбокси-, гидроксид- и малеимидные функциональные группы. Полученные соединения позволяют осуществлять ковалентную модификацию полимеров природного (ЧСА) и синтетического (PLGA) происхождения с целью создания флуоресцентных систем адресной доставки.

2. Предложенные подходы к синтезу *O*-, *S*- и *N*-замещённых 1,8-нафталимидов, содержащих  $\alpha$ -гидроксидибисфосфонатный фрагмент, обеспечивают возможность визуализации гидроксиапатита и создают основу для разработки остеотропных систем адресной доставки.

3. Ковалентное связывание синтезированных производных 1,8-нафталимида с сополимером молочной и гликолевой кислот (*PLGA*) и человеческим сывороточным альбумином (ЧСА) приводит к образованию флуоресцентных конъюгатов, перспективных для создания систем адресной доставки биологически активных соединений.

4. Спектрально-люминесцентные свойства синтезированных флуорофоров (положение максимумов поглощения и эмиссии, квантовые выходы флуоресценции, фотостабильность) сохраняются после их ковалентного связывания с полимерами и при формировании наночастиц на основе полученных конъюгатов.

5. Наночастицы на основе *PLGA*, меченные производными 1,8-нафталимида, эффективно интернализируются клетками мышечной карциномы молочной железы линии 4T1 и могут быть визуализированы методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, что подтверждает их пригодность для изучения внутриклеточного распределения *in vitro*.

6. Впервые экспериментально продемонстрирована способность *S*-замещённого 1,8-нафталимида с бисфосфонатным фрагментом и полученных на его основе *PLGA*-наночастиц, загруженных доксорубицином, к избирательному связыванию с гидроксиапатитом и визуализации клеток остеосаркомы линии *Saos-2*, что свидетельствует о перспективности данных соединений в качестве флуоресцентных зондов для исследования костной ткани и создания тераностических систем.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность количественных оценок и объективность выводов обеспечены статистической обработкой полученных результатов, исключающей влияние субъективных факторов при интерпретации данных.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 3 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе данных *Scopus*, и 9 тезисов международных и всероссийских конференций.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертационного исследования представлены на следующих конференциях: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (г. Москва, 2023, 2024, 2025); Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии (г. Москва, 2023, 2024, 2025); IV и V Международные Школы молодых ученых «Химия и технология биологически активных веществ для медицины и фармации» (г. Москва, 2024, 2025); IV Конференция молодых ученых с международным участием «Новые материалы и химические технологии» (г. Москва, 2023); III международная научно-практическая конференция «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (г. Томск, 2024); Академический форум молодых ученых стран Большой Евразии «Континент науки» (г. Москва, 2023).

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа изложена на 143 страницах машинописного текста и включает в себя введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальную часть, заключение, список сокращений, список литературы из 169 источников. Работа содержит 23 таблицы и 63 рисунка.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность работы, сформулированы цели исследования, изложена научная новизна и практическая значимость. **В первой главе** приведены примеры получения флуоресцентных систем адресной доставки на основе

полимеров природного и синтетического происхождения, модифицированных производными 1,8-нафталимида. Представлены последние достижения в области разработки флуоресцентных зондов, содержащих векторные функциональные группы для селективного связывания с клеточными структурами. **Во второй главе** изложены основные результаты исследования: синтез новых производных 1,8-нафталимида, ковалентная модификация *PLGA* и ЧСА полученными соединениями, создание флуоресцентных систем адресной доставки, изучение спектрально-люминесцентных свойств флуорофоров и наносистем, а также исследования по биовизуализации. **В третьей главе** представлены основные экспериментальные методики получения и исследования рассматриваемых соединений и систем адресной доставки на их основе.

**Синтез новых производных 1,8-нафталимида, содержащих малеимидный заместитель.** В представленной работе синтезированы производные 1,8-нафталимида, обладающие люминесценцией в различных областях оптического спектра, что определяется природой заместителей в ароматическом кольце. Например, введение в 4-положение нафталимидного ядра *O*-содержащих заместителей приводит к флуоресценции в области 450-490 нм, *S*-содержащих – в области 470-510 нм, *N*-содержащих – в области 510-560 нм, а расширение  $\pi$ -сопряженной системы красителей – в области 620-690 нм. Таким образом, достоинством производных данного класса флуорофоров является возможность биовизуализации в различных спектральных каналах. Для модификации полимеров в структуру флуорофоров были введены реакционноспособные функциональные группы.

Первый раздел исследования посвящен получению малеимидных производных 1,8-нафталимида для ковалентной модификации сульфгидрильных групп человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) по реакции Михаэля типа тиол–малеимид. Поскольку одним из главных достоинств 1,8-нафталимида является возможность его относительно простой модификации как по нафталиновому фрагменту, так и по имидному кольцу, был предложен синтез двух типов производных: флуорофоров **8-10**, содержащих малеимидную группу в 4-положении ароматического кольца (рисунок 1), и флуорофоров **13, 16**, содержащих её при имидном атоме азота (рисунок 2). Получение таких соединений, отличающихся расположением функционального заместителя, осуществлено с целью изучения её влияния на спектральные свойства.

Для получения первого типа 4-(N-алкилмалеимид)амино-N-(2-аминоэтил)-4-метилбензолсульфонамид-1,8-нафталимидов **8-10**, излучающих в области 510-560 нм, был осуществлен трехстадийный синтез, схема которого изображена на рисунке 1.

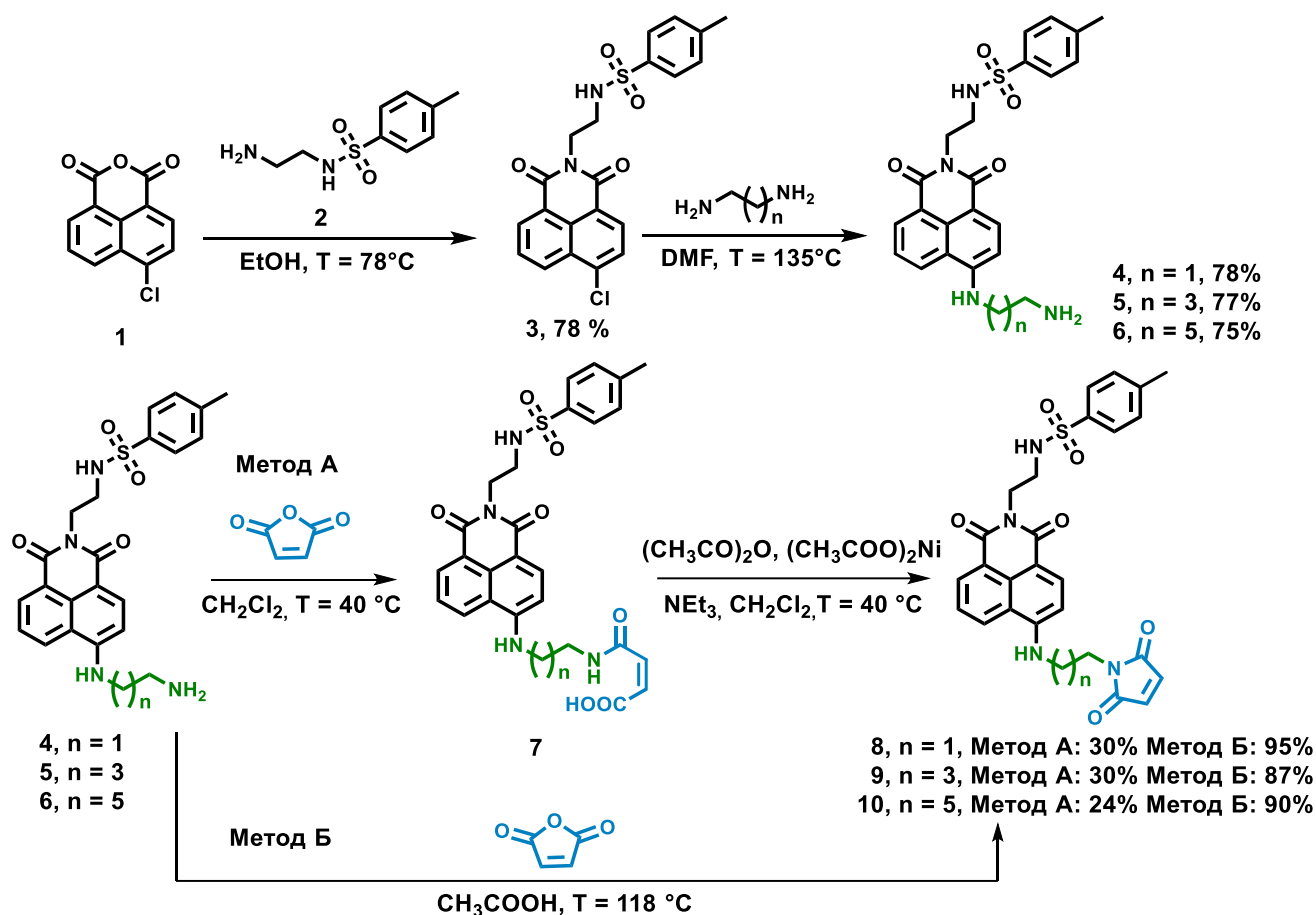


Рисунок 1 – Схема синтеза малеимидных производных 1,8-нафталимида **8-10**

Для этого N-тозилэтилендиамин **2** ацилировали исходным 4-хлор-1,8-нафталевым ангидридом **1** с получением продукта **3**, который впоследствии вводили в реакцию нуклеофильного ароматического замещения атома хлора на этилендиамин, 1,4-тетраметилендиамин и 1,6-гексаметилендиамин. Применение двукратного избытка диаминов сопровождалось образованием смеси, состоящей из моно- и бис-замещенных производных, что потребовало использования 10-кратного избытка диаминов. Следствием этого стало увеличение выхода промежуточных флуорофоров **4-6** до 75-78%. Следует отметить, что для получения продукта **4** предпочтителен метод, в котором реакцию проводят в избытке самого этилендиамина без ДМФА, что облегчает процесс выделения целевого соединения **4**, выход которого составляет для данного метода 95%.

Для введения малеимидной группы в структуру флуорофоров применяли два метода: **А** и **Б** (рисунок 1). Метод **А** заключался в двухстадийном подходе, включающем

взаимодействие аминогруппы с малеиновым ангидридом в хлористом метиле с дальнейшим добавлением уксусного ангидрида, ацетата никеля (II) и триэтиламина для дегидратации с последующим закрытием цикла. Ввиду ограниченной растворимости исходных соединений **4-6** в хлористом метиле, выход продуктов не превышал 30%. В методе **Б** при замене хлористого метилена на уксусную кислоту, которая одновременно выступала в роли водоотнимающего агента, были получены целевые флуорофоры **8-10** с выходами 87-95%. В связи с этим, метод **Б** является предпочтительным для введения данной функциональной группы, что было использовано на последующих этапах для получения всех малеимидных производных 1,8-нафталимида.

Второй тип производных, содержащих малеимидную группу при имидном атоме азота, позволяет получать флуорофоры, излучающие в двух разных областях спектра в зависимости от заместителя в 4-ом положении (рисунок 2).

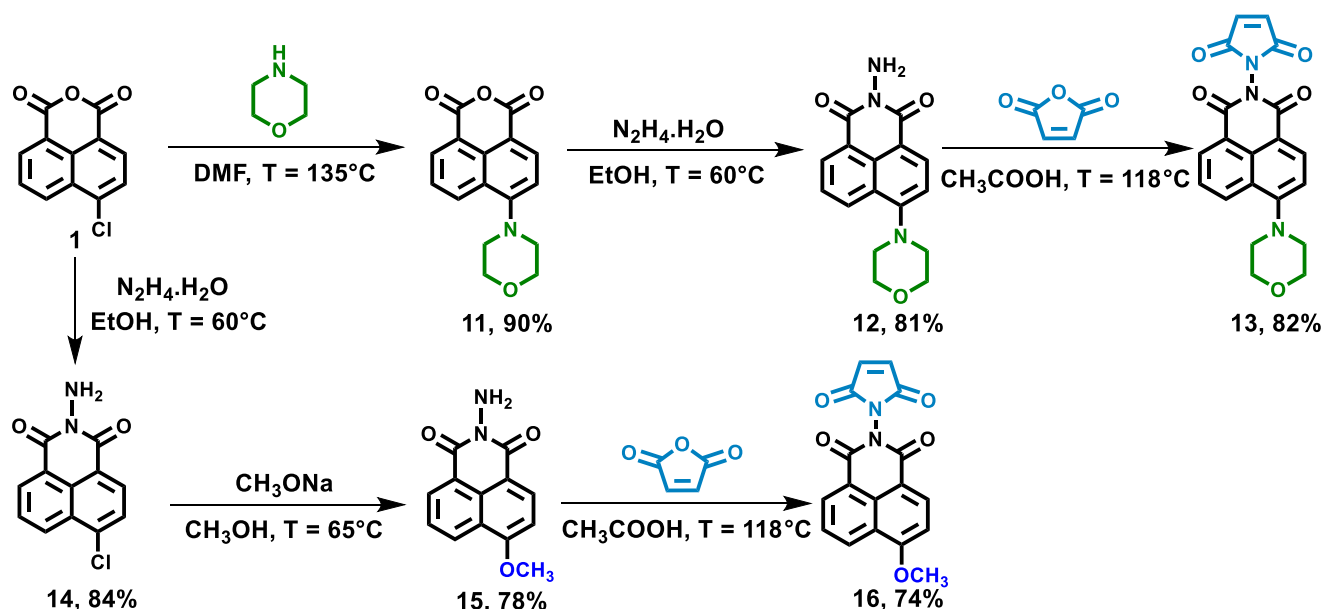


Рисунок 2 – Схема синтеза малеимидных производных 1,8-нафталимида **13** и **16**

Для синтеза производных, обладающих максимумом флуоресценции при 550 нм, исходный ангидрид **1** вводили в реакцию с морфолином при нагревании в среде ДМФА. Далее продукт **11** взаимодействовал с 80%-ным раствором гидразин-гидрата в среде этилового спирта. Использование четырехкратного избытка амина и нагревание до 60 °С в течение 8 часов приводили к получению монозамещенного 1,8-нафталимида **12** с выходом 81%. Для синтеза производных с максимумом флуоресценции в области 460 нм сначала получали 4-хлор-N-амино-1,8-нафталиимид **14**, который затем вводили в реакцию с метилатом натрия в метаноле с получением 4-метокси-N-амино-1,8-нафталимида **15** с

выходом 78%. На заключительной стадии в структуру флуорофоров **12** и **15** в среде уксусной кислоты вводили малеимидную группу. Целевые продукты **13** и **16** получены с общими выходами по трем стадиям  $\eta_{\Sigma}$  равными 53 и 48% соответственно.

Для соединений **4-6**, **12**, **15**, содержащих первичную аминогруппу, и для соединений **8-10**, **13**, **16**, полученных ацилированием малеиновым ангидридом, были изучены спектрально-люминесцентные свойства в хлористом метиле, диметилсульфоксиде (ДМСО) и воде (результаты исследований представлены в разделе 2.2. Экспериментальной части).

**Получение флуоресцентных систем адресной доставки на основе альбумина.** Поскольку в структуре ЧСА присутствует только одна свободная SH-группа в цистеине-34, одним из распространённых подходов к дериватизации белка является реакция с реактивом Траута (2-иминотиололаном), приводящая к увеличению числа реакционноспособных SH-групп. В качестве модельного соединения был выбран флуорофор **8**, обладающий высокой растворимостью в водно-органических средах (рисунок 3).

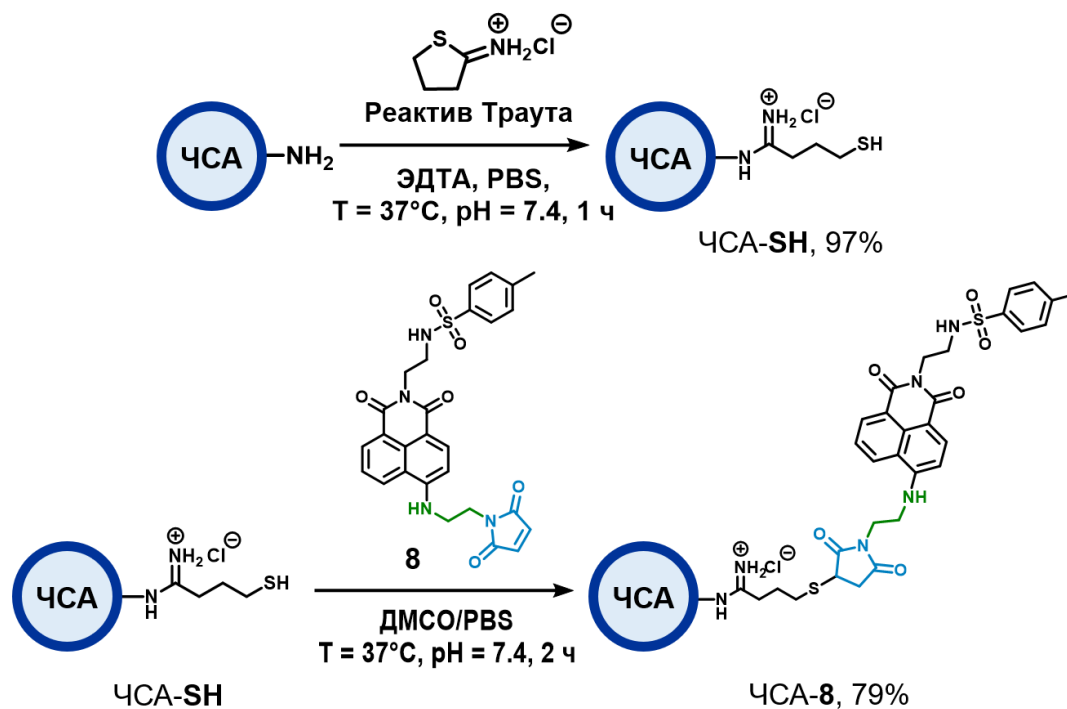


Рисунок 3 – Ковалентная модификация ЧСА малеимидным производным 1,8-нафталимида **8**

Реакцию альбумина с реактивом Траута проводили в фосфатном буферном растворе (0,02 М, pH = 7,4) с добавлением ЭДТА для хелатирования катионов двухвалентных металлов и предотвращения окисления ими SH-групп. Далее осуществляли реакцию тиол-Михаэля с соединением **8** при его инкубации с ЧСА при 37 °С в течение 2 часов.

Конъюгат выделяли методом диализа против воды и лиофилизировали. На основе ЧСА-8 с помощью ультразвукового метода были получены флуоресцентные наночастицы (НЧ) ( $d_{cp} = 278 \pm 3$  нм, индекс полидисперсности  $PDI = 0,19 \pm 0,02$ ). Флуорофор сохранял свои спектральные свойства в составе наночастиц. Таким образом, продемонстрирована возможность создания флуоресцентных систем доставки на основе альбумина.

**Синтез новых производных 1,8-нафталимида, содержащих amino-, карбокси- и гидроксигруппы для последующей модификации PLGA.** Введение в структуру флуорофоров amino-, карбокси- и гидроксигрупп позволяет осуществлять ковалентную модификацию карбоксильной группы PLGA тремя способами: 1) карбодимидным методом; 2) в условиях реакции Штеглиха; 3) с применением стратегии введения линкерной группы. Все три подхода были реализованы в работе.

Первый этап работы заключался в получении 4-этоксиэтил- и 4-морфолинил-замещенных производных 1,8-нафталимида, содержащих первичную аминогруппу при имидном атоме азота для образования стабильной амидной связи с карбоксильной группой полимера (рисунок 4, соединения **21-24**, **25-28**). В обеих группах молекулы отличались длиной углеродного спейсера между флуорофорным ядром и аминогруппой. Варьирование длины заместителя использовано для изучения его влияния на оптический отклик 1,8-нафталимидов и модифицированного полимера, а также поиска наиболее перспективных соединений для проведения медико-биологических испытаний и биовизуализации.

Для получения этоксиэтильных производных **21-24**, обладающих максимумом флуоресценции в области 460 нм, на первой стадии осуществляли реакцию ацилирования симметричных аминов (этилендиамин, 1,3-триметилендиамин, 1,4-тетраметилендиамин и 1,6-гексаметилендиамин) 4-хлор-1,8-нафталевым ангидридом **1**. Во избежание образования продукта бис-замещения использован 4-кратный избыток амина. Последующее нуклеофильное ароматическое замещение атома галогена на этоксиэтильный заместитель проводили в среде диметилформаида (ДМФА) с добавлением этилцеллозольва и 5-кратного избытка безводного  $K_2CO_3$ . Выходы целевых продуктов **21-24** на второй стадии варьировались от 57 до 65%. Получение этих соединений можно осуществить в избытке этилцеллозольва без добавления ДМФА, что облегчает очистку и выделение продуктов, выходы которых для данного случая составляли 55-60%.

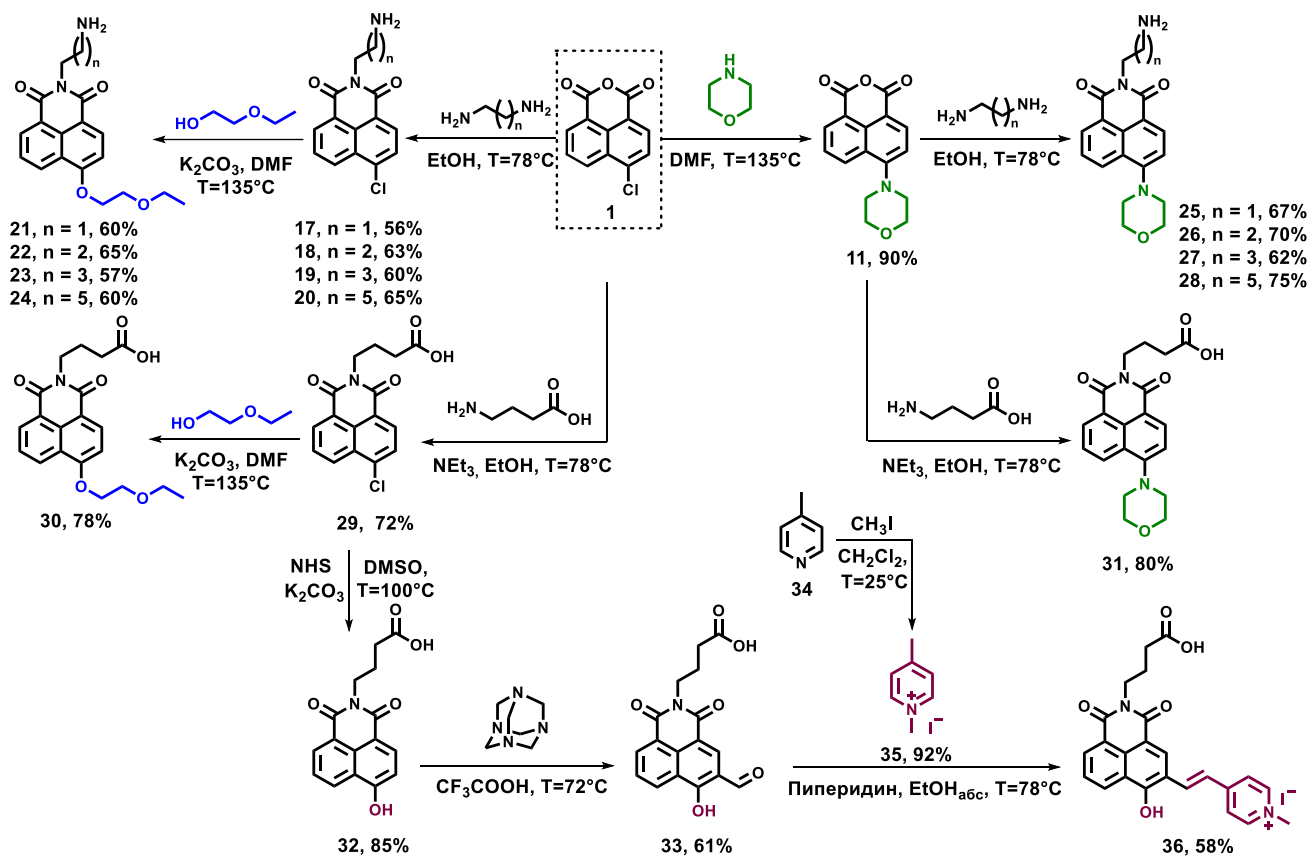


Рисунок 4 – Схема получения производных 1,8-нафталимида, содержащих amino- и карбоксигруппы для последующей модификации PLGA

Для получения производных, обладающих максимумом флуоресценции в области 550 нм, 4-морфолинил-1,8-нафталеый ангидрид **11** вводили в реакцию с 4-кратным избытком соответствующих аминов при кипячении в этиловом спирте в течение 8-10 часов. Целевые соединения выделяли с использованием колоночной хроматографии с градиентным элюированием смесью дихлорметан : этанол (10:1). В результате были получены флуорофоры **25-28**, выходы которых достигали 62-75%.

Альтернативный подход к ковалентной модификации PLGA предполагает использование бифункционального линкера, например, этаноламина, который благодаря наличию гидрокси- и аминогрупп часто применяется в качестве «строительного блока» при синтезе биологически активных соединений. Образование сложноэфирной связи между карбоксильной группой флуорофора и гидроксильной группой линкера осуществляли по реакции Штеглица. Данным способом получены флуорофоры **30**, **31** и **36**, содержащие остаток масляной кислоты при имидном атоме азота (рисунок 4). Ацилирование ангидридами **1** и **11** проводили в присутствии триэтиламина, необходимого для перевода аминокислоты из цвиттер-ионной формы в нуклеофильную.

Для расширения спектрального диапазона исследуемых красителей и получения производного, излучающего в более длинноволновой области спектра, ароматическая система нафталимидного ядра была увеличена. Для этого сначала осуществляли реакцию нуклеофильного замещения атома галогена на ОН-группу в присутствии *N*-гидроксисукцинимид (*NHS*) в системе  $K_2CO_3$ /ДМСО с получением 4-гидрокси-(*N*-пропилкарбоксо)-1,8-нафталимид **32**. На следующем этапе по реакции Даффа в 3-е положение нафталимидного ядра при кипячении соединения **32** с уротропином в трифторуксусной кислоте (ТФУ) вводили формильную группу. Использование ТФУ в качестве растворителя и катализатора позволяет получить преимущественно 3-формил-4-гидрокси-1,8-нафталимид **33**. Наличие в спектре  $^1H$ -ЯМР сигнала при  $\delta = 10,3$  м.д. соответствует появлению формильной группы. Заключительной стадией является реакция Кнёвенагеля между соединением **33** и йодидом 1,4-диметилпиридиния **35**, получаемым по реакции алкилирования  $\gamma$ -пиколина **34** метилйодидом. Реакцию конденсации осуществляли с добавлением пиперидина в качестве катализатора в среде этилового спирта, при этом его замена на *n*-бутанол не приводила к увеличению выхода целевого продукта. Образование *E*-изомера подтверждается константой спин-спинового взаимодействия протонов при двойной связи, значение которой составляет  $J_{вин} = 15,9$  Гц.

Следующей группой соединений являются *S*-содержащие производные **39-44**, схема синтеза которых представлена на рисунке 5. В качестве заместителя в 4-положении кольца был предложен остаток  $\beta$ -меркаптоэтанола, представляющего интерес в связи с возможностью получения соединений, обладающих флуоресценцией в области 470-510 нм и содержащих гидроксильную группу для последующей конъюгации с *PLGA*. 4-(2-Гидроксиэтилтио)-1,8-нафталеновый ангидрид **38** получали взаимодействием 4-хлор-1,8-нафталевого ангидрида **1** с  $\beta$ -меркаптоэтанолом **37** в ДМФА в присутствии гидрокарбоната натрия  $NaHCO_3$ . Ввиду повышенной нуклеофильности тиолят-анионов в сравнении с алкоголят-анионами, основным продуктом реакции являлся целевой ангидрид **38**, выход которого составил 83%. На следующем этапе проводили ацилирование 4-(2-аминоэтил)морфолина, *N*-тозилэтилендиамина, *N,N*-диметилэтилендиамина, этилендиамина, 1,6-гексаметилендиамина и  $\gamma$ -аминомасляной кислоты ангидридом **38** при нагревании в среде этилового спирта.

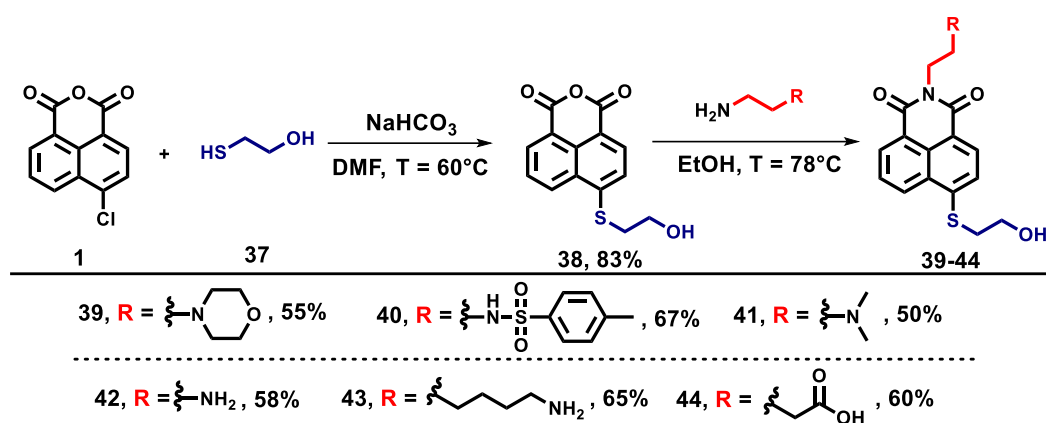


Рисунок 5 – Схема получения 4-(2-гидроксиэтилтио)-замещенных производных 1,8-нафталимида

Наличие векторных групп при имидном атоме азота, обеспечивающих селективное связывание с клеточными органеллами, позволяет рассматривать соединения **39-44** не только как перспективные флуорофоры для создания систем адресной доставки на основе *PLGA*, но и в качестве самостоятельных зондов для визуализации внутриклеточных структур.

Получение флуоресцентных систем адресной доставки на основе *PLGA*, ковалентно модифицированного новыми производными 1,8-нафталимида. В качестве основного полимера был выбран *Resomer*<sup>®</sup> *RG 502H* с соотношением лактид:гликолид 50:50 (17 кДа), содержащий свободные терминальные карбоксильные группы, доступные для функционализации. На рисунке 6 представлена обобщённая схема ковалентной модификации *PLGA* производными 1,8-нафталимида **21-24** и **25-28** карбодимидным методом.

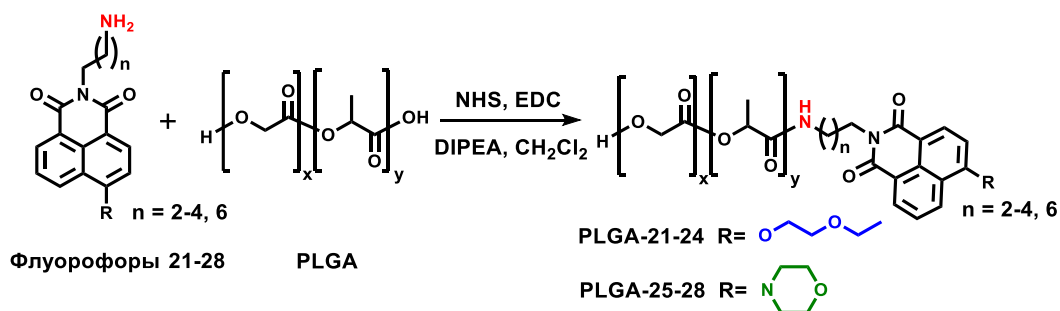


Рисунок 6 – Схема ковалентной модификации *PLGA* производными 1,8-нафталимида **21-28**

Ковалентная модификация *PLGA* производными **39-44** осуществлена в условиях реакции Штеглица. В качестве агента, активирующего карбоксильную группу полимера, выступал *EDC*, катализатором реакции *O*-ацилирования служил 4-диметиламинопиридин (ДМАП). Для введения в структуру полимера соединения **36** *PLGA* предварительно

модифицировали этаноламином, а затем полученный конъюгат вводили в реакцию с флуорофором. Выходы полимеров составляли 75-85%.

На следующем этапе работы получали наночастицы на основе конъюгатов *PLGA*-1,8-нафталимид. Для синтеза НЧ использован ультразвуковой метод, который позволил получать их с размерами  $d_{\text{ср}} \sim 120$  нм и узким распределением по размерам (индекс полидисперсности  $PDI < 0,2$ ). Для всех флуорофоров, соответствующих полимеров и наночастиц были изучены спектрально-люминесцентные свойства. В спектрах поглощения и флуоресценции НЧ присутствовали полосы, соответствующие исходным флуорофорам, что подтверждает сохранение их спектрально-люминесцентных свойств при включении в полимерную матрицу. Рассчитанные значения яркости НЧ на основе производных 1,8-нафталимида оказались сопоставимы с яркостью наночастиц на основе коммерчески доступных флуорофоров, использующихся для визуализации систем адресной доставки.

Исследование распределения наночастиц *PLGA-21* и *PLGA-28 in vitro* проведено на живых клетках мышинной карциномы молочной железы линии 4Т1 (рисунок 7). Показано, что наночастицы активно проникают в клетки и частично колокализуются с лизосомами, окрашенными маркером *LysoTracker Red DND-99* (коэффициенты колокализации Пирсона и Мандерса составили 0,68 и 0,72 соответственно). В ходе эксперимента не обнаружено негативного влияния наночастиц на жизнеспособность клеток.

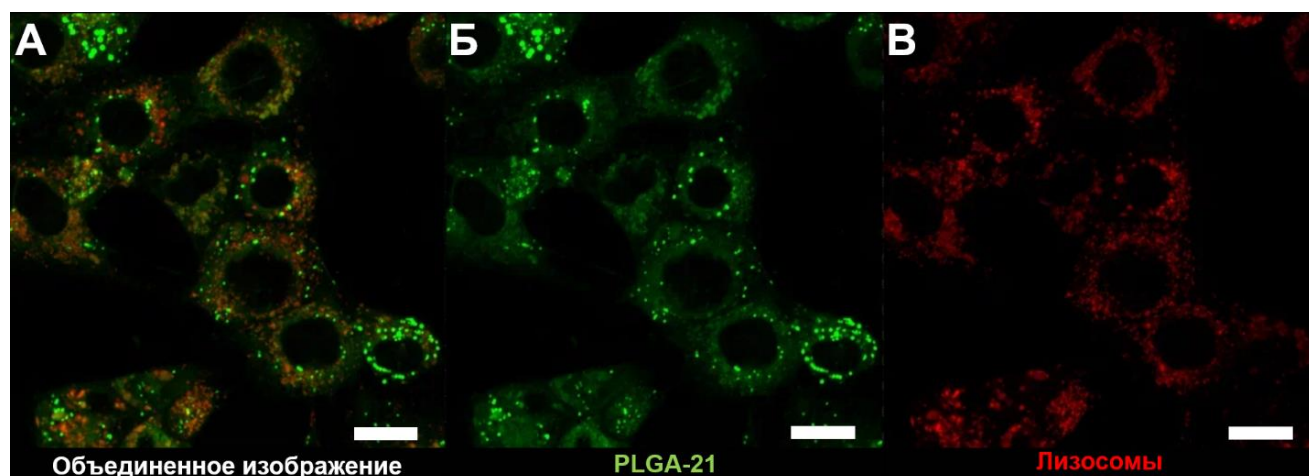


Рисунок 7 – Конфокальные изображения клеток 4Т1 после инкубации с наночастицами *PLGA-21*: А – совмещённое изображение; Б – наночастицы *PLGA-21* (200 мкг/мл); В – лизосомы клеток, окрашенные *LysoTrackerRedDND-99* (50 нМ). Шкала – 20 мкм

Высокая интенсивность флуоресценции и фотостабильность флуорофоров, инкапсулированных в полимерную матрицу наночастиц, обеспечивают возможность их надежного детектирования методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования новых производных 1,8-нафталимида в качестве флуоресцентных меток для отслеживания систем доставки лекарственных средств в биологических средах.

**Синтез новых производных 1,8-нафталимида, содержащих  $\alpha$ -гидроксисфосфонатную группу.** Заключительный раздел исследования посвящён разработке производных 1,8-нафталимида, содержащих  $\alpha$ -гидроксисфосфонатный заместитель, выступающий в качестве векторной группы, обладающей высокой аффинностью к кальцийсодержащим тканям и костному матриксу, что может быть использовано в качестве инструмента для флуоресцентной визуализации кальцификации тканей, отложений гидроксиапатита или метастазов в кости.

В работе получены новые 4-метокси-, 4-этоксиэтил-, 4-(2-гидроксиэтилтио)-, 4-морфолинил-, 4-пиперазинил-(N-пропил-1,1-бисфосфоно- $\alpha$ -гидрокси)-1,8-нафталимиды, получаемые по реакции ацилирования алендроновой кислоты замещенными 1,8-нафталевыми ангидридами, общая схема синтеза которых представлена на рисунке 8.

В ходе экспериментов обнаружено, что реакция ацилирования 4-амино-1-гидроксипутан-1,1-бисфосфоновой (алендроновой) кислоты соответствующими ангидридами **1**, **11**, **38** и **45** проходит только в присутствии основания триэтиламина и ДМАП в среде этилового спирта при нагревании. В результате получены целевые бисфосфонаты **46-48**, излучающие в области 500-550 нм, выходы продуктов варьировались в диапазоне 65-70%, что в 2-3 раза выше, чем в методиках, описанных в литературе ранее.

Для получения *O*-содержащих производных, излучающих в области 460 нм, проводили реакцию нуклеофильного ароматического замещения между 1,8-нафталимидом **49** и метилатом натрия в метаноле при нагревании с получением 4-метокси-(N-пропил-1,1-бисфосфоно- $\alpha$ -гидрокси)-1,8-нафталимида **50**. Также для получения более гидрофильного бисфосфоната **51** вводили этоксиэтильный заместитель в 4-положение ароматического кольца по реакции соединения **49** с этилцеллозольвом в присутствии безводного карбоната калия как основания для генерации алкоголят-анионов.

Наличие свободной гидроксильной группы в структуре *S*-замещенного бисфосфоната **48** открывает возможность создания остеотропных систем адресной доставки.

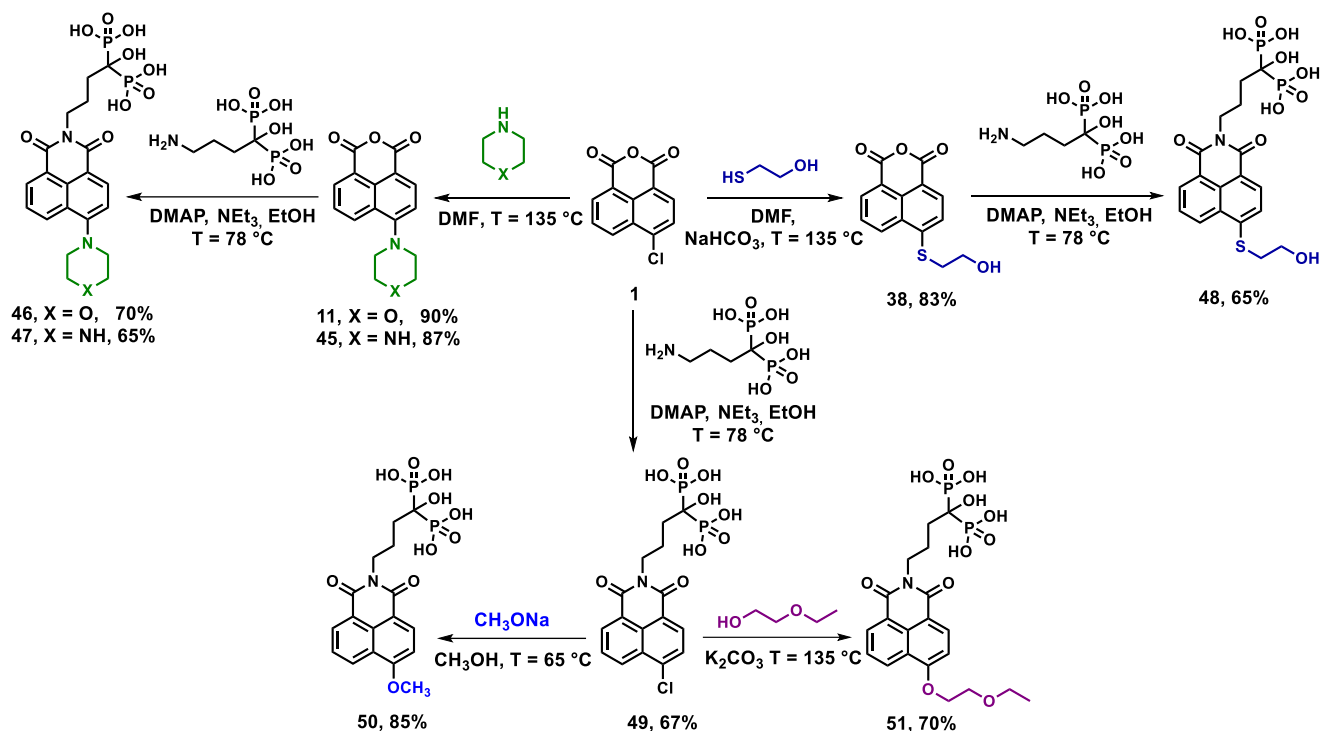


Рисунок 8 – Схема получения производных 1,8-нафталимида, содержащих  $\alpha$ -гидроксифосфонатную группу

Ковалентная модификация *PLGA* бисфосфонатом **48** осуществлялась в условиях реакции Штеглица. Продукт очищали методом экстракции водно-метанольной смесью и осаждали из гексана, что позволило выделить полимер *PLGA-48* с выходом 86%.

В целях разработки наносомальной лекарственной формы на основе *PLGA-48* получены наночастицы, в которые загружался противоопухолевый препарат доксорубин (*Dox*). Наночастицы *PLGA-48-Dox*, полученные ультразвуковым методом, характеризовались размерами  $d_{cp} = 209,0 \pm 0,8$  нм,  $PDI = 0,19 \pm 0,02$  и  $\zeta$ -потенциалом равным  $5,63 \pm 0,41$  мВ. Степень включения препарата составила 81%. С применением лазерной сканирующей конфокальной микроскопии проведено исследование распределения бисфосфоната **48** и соответствующих наночастиц *PLGA-48-Dox in vitro* на клеточной линии остеосаркомы *Saos-2* как остеобластоподобной модели (рисунок 9).

Флуорофор **48** эффективно проникает в клетки остеогенной линии и локализуется в матричных везикулах – структурах, участвующих в инициации минерализации на ранних стадиях пролиферации (рисунок 9А-В). Наночастицы *PLGA-48-Dox* также интернализуются в клетки; при этом высвободившийся доксорубин накапливается преимущественно в ядрах, тогда как полимерная матрица, содержащая бисфосфонатный фрагмент, связывается с отложениями гидроксиапатита во внеклеточном матриксе (рисунок 9Г-Е).

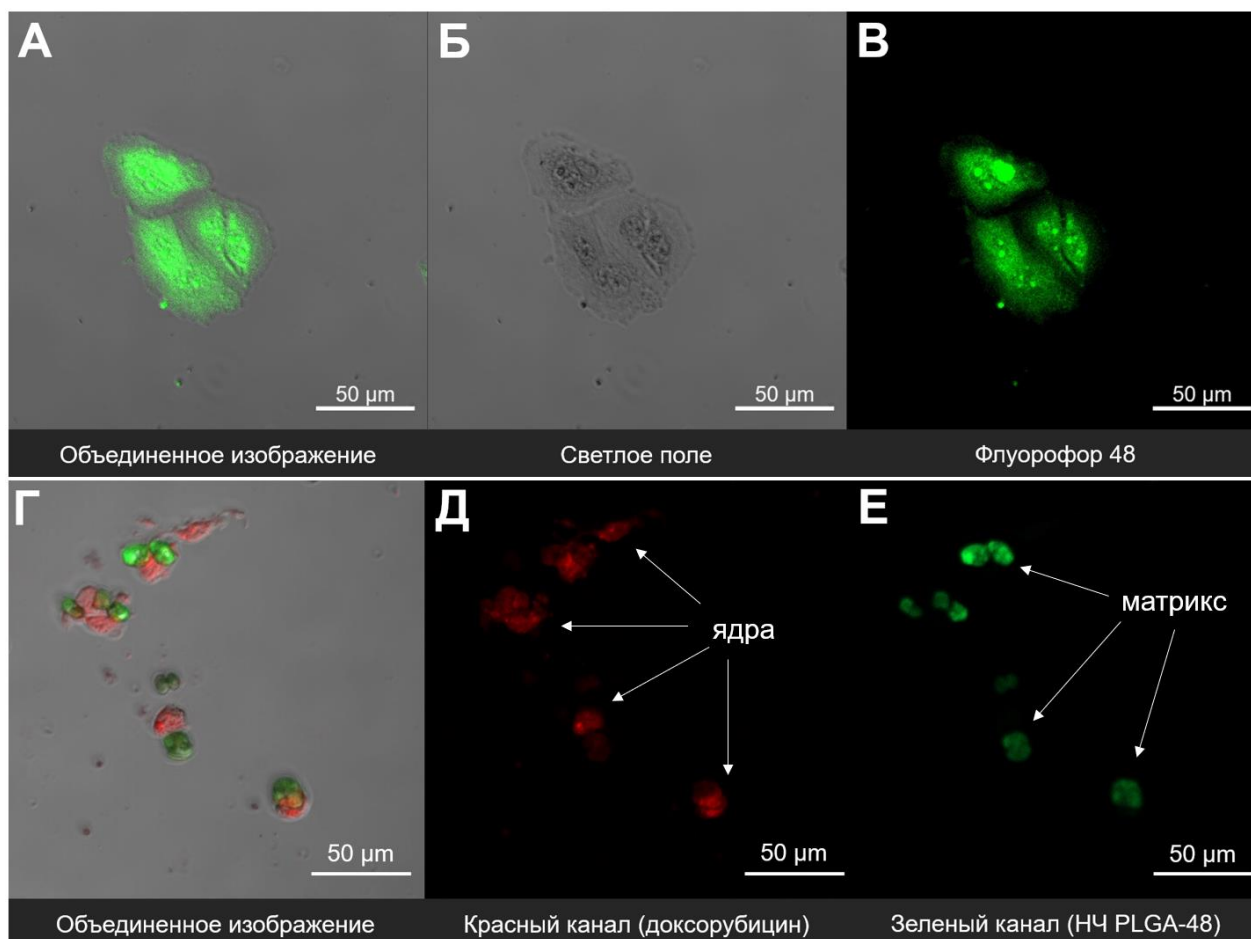


Рисунок 9 – Флуоресцентные изображения распределения флуорофора **48** и наночастиц *PLGA-48-Dox* на клеточной линии *Saos-2*. А – Объединенное изображение; Б – Светлое поле; В – Флуорофор **48** ([**48**] – 20 мМ); Г – Объединенное изображение; Д – Красный канал (доксорубицин); Е – Зеленый канал (наночастицы *PLGA-48*). [*PLGA-48-Dox*] – 200 мкг/мл. Шкала – 50 мкм

Таким образом, в работе впервые экспериментально показано, что свободный бисфосфонат на основе 1,8-нафталимида **48** и соответствующие *PLGA*-наночастицы сохраняют аффинность к гидроксиапатиту. Полученные результаты позволяют рассматривать полученные соединения и наносистемы в качестве перспективной платформы для разработки остеотропных тераностических средств, сочетающих адресную доставку и флуоресцентную визуализацию.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненной работы были сформулированы следующие выводы:

1. Разработаны методы синтеза новых производных 1,8-нафталимида, сочетающих векторный фрагмент для селективного связывания с биологическими мишенями и реакционноспособную группу для ковалентной модификации природных

(человеческий сывороточный альбумин, ЧСА) и синтетических (сополимер молочной и гликолевой кислот, *PLGA*) полимеров.

2. Установлено, что ацилирование малеиновым ангидридом аминогруппы при имидном атоме азота или в заместителе в 4-ом положении 1,8-нафталимида при использовании уксусной кислоты в качестве растворителя вместо хлористого метилена позволяет проводить реакцию в одну стадию и повышает выход целевых продуктов до 95 %.

3. Показано, что получение *N*- и *S*-замещённых по 4-положению 1,8-нафталевых ангидридов на первой стадии упрощает введение бисфосфонатного заместителя, тогда как *O*-замещённые производные целесообразно получать нуклеофильным замещением на заключительном этапе синтеза.

4. Доказано сохранение спектрально-люминесцентных свойств синтезированных флуорофоров после их ковалентного связывания с ЧСА и *PLGA*; полученные конъюгаты флуоресцируют в диапазоне 460-625 нм и могут быть использованы в качестве маркеров для систем адресной доставки.

5. Установлено, что введение фрагмента алендроновой кислоты в структуру 1,8-нафталимида придает полученным на его основе *PLGA*-наночастицам аффинность к гидроксиапатиту, что открывает перспективы создания остеотропных систем доставки.

6. Впервые с использованием флуоресцентного *S*-замещённого производного 1,8-нафталимида **48**, содержащего  $\alpha$ -гидроксифосфонатную группу, визуализированы отложения гидроксиапатита, продуцируемого дифференцированными клетками остеосаркомы линии *Saos-2*.

7. Показано, что наночастицы ***PLGA-48-Dox*** интернализуются клетками *Saos-2*: высвободившийся доксорубин накапливается преимущественно в ядрах, а полимерная матрица, содержащая бисфосфонатный фрагмент, связывается с отложениями гидроксиапатита во внеклеточном матриксе, что позволяет рассматривать полученные наночастицы как прототип тераностической системы для диагностики и лечения онкологических заболеваний костной ткани.

Дальнейшее развитие тематики исследования может включать: (1) расширение ряда производных 1,8-нафталимида с эмиссией в более длинноволновой области спектра и повышенной селективностью к целевым мишеням; (2) ковалентную модификацию

других полимеров медико-биологического назначения для создания на их основе систем адресной доставки, обладающих возможностью флуоресцентной биовизуализации.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ

1. **Yuriev D.Y.**, Barabanshchikov I.V., Strukova V.A., Tkachenko S.V., Pakhomov A.A., Deev S.M., Akimov M.G., Ternovaya N.D., Sherstyanykh G.D., Sazonova V.A., Kalinkina V.A., Ulasevich S.A., Oshchepkov M.S. 1,8-Naphthalimide-based fluorescent bisphosphonates: molecular design, spectral-luminescent properties, and osteotropic targeted delivery systems // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2026. – Vol. 52. – №2. – P. 1-20. – DOI 10.1134/S1068162025605105 (**Scopus**).

2. **Yuriev D.Y.**, Tkachenko S.V., Polivanova A.G., Kryshchenko Y.K., Oshchepkov M.S. Application of Organic Fluorophores in the Development of Drug Delivery Systems Based on Synthetic and Natural Polymers // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2025. – Vol. 51. – №2. – P. 553-555. – DOI 10.1134/S106816202560028X (**Scopus**).

3. Oshchepkov M.S., Tkachenko S.V., Popov K.I., Semyonkin A.S., **Yuriev D.Y.**, Solovieva I.N., Melnikov P.A., Malinovskaya J.A., Oshchepkov A.S. Continuous-flow synthesis of the naphthalimide derivatives for medical and engineering applications // Dyes and Pigments. – 2024. – Vol. 231. – P. 112386. – DOI 10.1016/j.dyepig.2024.112386 (**Scopus**).

4. Барабанщиков. И.В. Синтез новых флуоресцентных бисфосфонатов для создания остеотропных систем адресной доставки / И.В. Барабанщиков, В.А. Струкова, **Д.Ю. Юрьев**, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2025», секция «Химия» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова [Электронный ресурс]. – М.: МАКС Пресс, 2025. ISBN 978-5-317-07418-0.

5. **Юрьев Д.Ю.** Синтез производных 1,8-нафталимида для создания систем адресной доставки на основе альбумина с возможностью флуоресцентной визуализации / **Д.Ю. Юрьев**, П.В. Шаяхметова, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2025», секция «Химия» / Отв. Ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова [Электронный ресурс]. – М.: МАКС Пресс, 2025. ISBN 978-5-317-07418-0.

6. **Юрьев Д.Ю.** Синтез производных 1,8-нафталимида, содержащих малеимидный заместитель / **Д.Ю. Юрьев**, Н. Хамдун, А.М. Феоктистов, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков

// Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2024», секция «Химия» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова [Электронный ресурс]. – М.: МОО СИПНН Н.Д. Кондратьева, 2024. ISBN 978-5-901-64042-5.

7. **Юрьев Д.Ю.** Изучение спектрально-люминесцентного отклика производных 1,8-нафталимида в свободном виде и в составе конъюгатов с PLGA / **Д.Ю. Юрьев**, П.С. Белякина, Н. Хамдун, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2023», секция «Химия» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова [Электронный ресурс]. – М.: МАКС Пресс, 2023. ISBN 978-5-317-06952-0.

8. **Юрьев Д.Ю.** Создание новых систем адресной доставки на основе PLGA для их визуализации с помощью микроскопии сверхвысокого разрешения / **Д.Ю. Юрьев**, Д.В. Ермолин, С.А. Уласевич, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков // Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы. III Международная научно-практическая конференция: сборник материалов. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2024. – С. 186-187.

9. **Юрьев Д.Ю.**, Синтез и изучение спектрально-люминесцентных свойств производных 1,8-нафталимида, содержащих первичную аминогруппу / **Д.Ю. Юрьев**, П.С. Белякина, Н. Хамдун, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков // Сборник тезисов докладов Академического форума молодых ученых стран Большой Евразии «Континент науки». – М.: Изд-во АНО «Центр научно-технических решений», 2023. – С. 284-285.

10. Барабанщиков И.В. Синтез флуоресцентных бисфосфонатов на основе 1,8-нафталимида для создания систем адресной доставки / И.В. Барабанщиков, В.А. Струкова, **Д.Ю. Юрьев**, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков // Успехи в химии и химической технологии. – 2025. – Т. 39. – № 8. – С. 6-8.

11. **Юрьев Д.Ю.** Новые производные 1,8-нафталимида как инструмент для визуализации микрокальцинозов / **Д.Ю. Юрьев**, Д.В. Ермолин, С.А. Уласевич, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков // Успехи в химии и химической технологии. – 2024. – Т. 38. – №7. – С. 78-80.

12. **Юрьев Д.Ю.** Синтез новых производных 1,8-нафталимида, содержащих терминальную группу, для создания адресных систем доставки лекарственных веществ / **Д.Ю. Юрьев**, П.С. Белякина, Н. Хамдун, С.В. Ткаченко, М.С. Ощепков // Успехи в химии и химической технологии. – 2023. – Т. 37. – №8. – С. 139-141.