



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C09K 11/06 (2024.01); C07F 5/022 (2024.01); C07C 49/235 (2024.01); A61K 49/0017 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023128708, 07.11.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.11.2023

Дата регистрации:
25.06.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 07.11.2023

(45) Опубликовано: 25.06.2024 Бюл. № 18

Адрес для переписки:

423462, Респ. Татарстан, г. Альметьевск, ул.
Тельмана, 88, Баров Юрий Николаевич

(72) Автор(ы):

Фархутдинов Ильдар Зуфарович (RU),
Камышников Антон Геннадьевич (RU),
Береговой Антон Николаевич (RU),
Заиров Рустэм Равилович (RU),
Довженко Алексей Павлович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Публичное акционерное общество
"Татнефть" имени В.Д. Шашина (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: CN 114031635 A, 11.02.2022. EP
3173416 A1, 31.05.2017. CN 116854699 A,
10.10.2023. US 10934241 B2, 20.12.2018. US
11117907 B2, 25.03.2021. US 20180272013 A1,
27.09.2018. Ponnuel K. et al. Highly efficient and
selective detection of picric acid among
other nitroaromatics by NIR fluorescent organic
fluorophores, Sensors and Actuators, B 234, 2016,
(см. прод.)

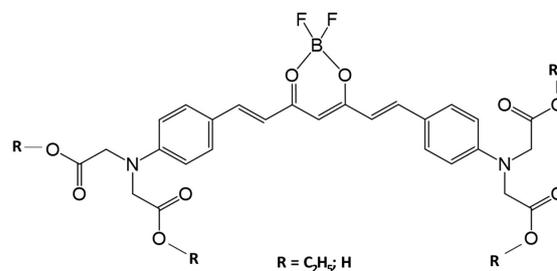
(54) Способ получения водорастворимого флуоресцентного маркера на основе комплекса куркумина с дифторидом бора

(57) Реферат:

Изобретение относится к области органической химии, конкретно к способу получения водорастворимого флуоресцентного маркера на основе производных куркумина в комплексной форме с дифторидом бора и используемых в качестве флуоресцентных контрастных агентов в области клеточной визуализации, маркирования полярных и неполярных растворов. Способ получения флуоресцентного маркера включает смешение в растворителе, состоящем из толуола, трибутилбората и бутиламина в мольном соотношении 100:2:0,2 соответственно, борфторированного ацетилацетона и 4-[бис[2-(ацетилокси)этил]амино]бензальдегида в мольном соотношении 1:2, выдерживание реакционной смеси при 65°C и интенсивное перемешивание в

течение 12 ч. Выделение соединения (I), где R = C₂H₅ в виде осадка осуществляют путём добавления к реакционной смеси дихлорметана в количестве 1,5 эквивалентов по отношению к объёму исходной смеси. Далее проводят фильтрацию с промывкой осадка дихлорметаном и смешение полученного соединения (I) с водным раствором гидроксида лития в присутствии ТГФ и метанола в мольном соотношении соединение (I):LiOH, соответственно 1:(4,0-4,5), с выделением литиевой соли соединения (II), где R=H путём отгонки растворителя при температуре 50°C и давлении до 0,1 атм. Техническим результатом изобретения является обеспечение способом получения флуоресцентных контрастных агентов на основе нового ряда производных комплекса куркумина с бифторидом бора и расширение

существующего ряда флуоресцентных индикаторов. 10 ил., 2 пр.



(56) (продолжение):

pp. 34-45. Li L. et al. Synthesis and evaluation of curcumin-based near-infrared fluorescent probes for detection of amyloid β peptide in Alzheimer mouse models, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2023, (92), 117410. Пузырьков З.Н. и др. Синтез и люминесцентные свойства куркуминовых комплексов дифторида бора, XXVIII Международная конференция по координационной химии, с. 432.

RU 2821510 C1

RU 2821510 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C09K 11/06 (2006.01)
C07F 5/02 (2006.01)
C07C 49/235 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C09K 11/06 (2024.01); C07F 5/022 (2024.01); C07C 49/235 (2024.01); A61K 49/0017 (2024.01)

(21)(22) Application: **2023128708, 07.11.2023**(24) Effective date for property rights:
07.11.2023Registration date:
25.06.2024

Priority:

(22) Date of filing: **07.11.2023**(45) Date of publication: **25.06.2024** Bull. № 18

Mail address:

**423462, Resp. Tatarstan, g. Almetevsk, ul. Telmana,
88, Barov Yuriy Nikolaevich**

(72) Inventor(s):

**Farkhutdinov Ildar Zufarovich (RU),
Kamyshnikov Anton Gennadevich (RU),
Beregovoi Anton Nikolaevich (RU),
Zairov Rustem Ravilevich (RU),
Dovzhenko Aleksei Pavlovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Publichnoe aktsionernoe obshchestvo «Tatneft»
imeni V.D. Shashina (RU)**

(54) **METHOD OF PRODUCING WATER-SOLUBLE FLUORESCENT MARKER BASED ON COMPLEX OF CURCUMIN WITH BORON DIFLUORIDE**

(57) Abstract:

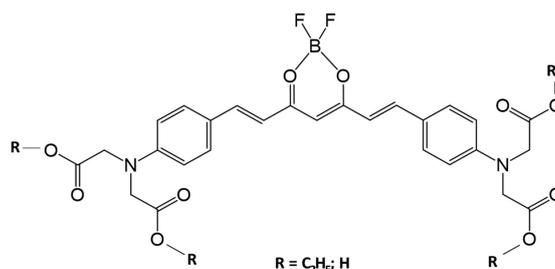
FIELD: organic chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to organic chemistry, specifically to a method of producing a water-soluble fluorescent marker based on curcumin derivatives in a complex form with boron difluoride and used as fluorescent contrast agents in the field of cell imaging, marking of polar and non-polar solutions. Method of producing a fluorescent marker involves mixing in a solvent consisting of toluene, tributyl borate and butylamine in molar ratio of 100:2:0.2, respectively, boron fluorinated acetylacetone and 4-[bis[2-(acetyloxy) ethyl]amino]benzaldehyde in molar ratio of 1:2, holding the reaction mixture at 65 °C and intensive stirring for 12 hours. Extraction of compound (I), where R=C₂H₅ in the form of a precipitate, is carried out by adding dichloromethane to the reaction mixture in amount of 1.5 equivalents relative to the volume of the initial mixture. Further, filtration is carried out, the precipitate is washed with dichloromethane and the obtained

compound (I) is mixed with an aqueous solution of lithium hydroxide in the presence of THF and methanol in molar ratio of compound (I):LiOH, respectively 1: (4.0–4.5), with extraction of lithium salt of compound (II), where R=H by distillation of solvent at temperature of 50 °C and pressure up to 0.1 atm.

EFFECT: obtaining fluorescent contrast agents based on a new range of derivatives of a complex of curcumin with boron bifluoride and widening the existing range of fluorescent indicators.

1 cl, 10 dwg, 2 ex



Изобретение относится к области органической химии, а именно к способу получения водорастворимого флуоресцентного маркера на основе производных куркумина в комплексной форме с дифторидом бора.

5 Известны меченые молекулярные визуализирующие агенты (патент RU № 2523411, МПК А61К 49/00, А61К 51/04, А61К 101/00, С07В 59/00, С07С 323/58, опубликовано 20.07.2014, Бюл. № 20), включающие в себя гидрофильный контрастный агент на основе димера цистеина. Также в патенте описан способ создания димера цистеина и его модификацию флуоресцентными заместителями по типу BODIPY или изотопами галогенидов для придания контрастных свойств.

10 Однако флуоресценция такого контрастного агента ограничена синей областью спектра, которая часто перекрывается поглощением биологических тканей, что уменьшает возможности его использования.

Известен способ получения производных куркумина в составе комплексов с фторидом бора (патент EP3173416, МПК А61В 5/00, А61К 49/00, С07F 5/02, опубл. 31.05.2017). В 15 нем описаны способы создания производных борфторированного комплекса куркумина с различными пиреновыми, нафталиновыми, анилиновыми и другими ароматическими заместителями, а также способ их использования в качестве флуоресцентных контрастных агентов в области биовизуализации, тераностики, фототгальваники и других. Однако, перечисленные в данной работе производные куркумина не содержат каких-либо 20 полярных функциональных групп, что накладывает ограничение на сферу применения данных соединений по степени их растворимости в среде.

Известен способ синтеза монозамещённого бифторированного комплекса куркумина с 4-[Бис[2-(ацетилокси)этил]амино]бензолом в качестве заместителя (A polarity-sensitive fluorescent probe based on a difluoroboron derivative for monitoring the variation of lipid droplets, 25 Hui Wang, Lei Hu, Shuting Shen, Kun Yu and Yaxuan Wang, опубл. 06.09.2021). В статье описывается способ получения монозамещённого производного комплекса куркумина, его люминесцентные свойства, их зависимость от полярности среды, а также применение данного соединения в качестве внутриклеточного контрастного агента.

30 Однако цепь сопряжения у рассматриваемого соединения недостаточно велика, ввиду чего его люминесцентные свойства ограничиваются зелёной и желтой областями спектра, что также в некоторых случаях уменьшает эффективность использования соединения в виду перекрывания области люминесценции поглощением тканей.

Технической задачей изобретения является разработка способа получения флуоресцентных контрастных агентов на основе нового ряда производных комплекса 35 куркумина с бифторидом бора, что существенно расширяет существующий ряд флуоресцентных индикаторов.

Способ получения водорастворимого флуоресцентного маркера на основе комплекса куркумина с дифторидом бора, включающий смешение в растворителе, состоящем из 40 толуола, трибутилбората и бутиламина в мольном соотношении 100:2:0,2 соответственно, борфторированного ацетилацетона и 4-[Бис[2-(ацетилокси)этил]амино] бензальдегида в мольном соотношении 1:2, выдерживание реакционной смеси при 65°C и интенсивное перемешивание в течение 12 ч, выделение соединения $R = C_2H_5$ в виде осадка путём добавления к реакционной смеси дихлорметана в количестве 1,5 45 эквивалентов по отношению к объёму исходной смеси, затем фильтрацию с промывкой осадка дихлорметаном, смешение полученного соединения $R = C_2H_5$ с гидроксидом лития в среде тетрагидрофурана - ТГФ и метанола в мольном соотношении 1 : (1,0 - 4,5) : 5 : 5 соответственно, выделение соединения $R=H$ в виде литиевой соли путём

отгонки растворителя при температуре 50°C и давлении до 0,1 атм.

На фиг. 1 показана структурная формула соединения $R = C_2H_5$ (тетраэтил 2,2',2'',2'''-(((1E,1'E)-(2,2-дифтор-2H-113,3,214-диоксаборинин-4,6-диил)бис(этен-2,1-диил))бис(4,1-фенилен))бис(азантриил))тетраацетата).

На фиг. 2 - ЯМР 1H спектр соединения $R = C_2H_5$.

На фиг. 3 - ЯМР ^{13}C спектр соединения $R = C_2H_5$.

На фиг. 4 - масс-спектр соединения $R = C_2H_5$.

На фиг. 5 - структурная формула соединения $R = H$ (2,2',2'',2'''-(((1E,1'E)-(2,2-дифтор-2H-113,3,214-диоксаборинин-4,6-диил)бис(этен-2,1-диил))бис(4,1-фенилен))бис(азантриил)) тетраацетата).

На фиг. 6 - ЯМР 1H спектр соединения $R = H$.

На фиг. 7, 8, 9, 10 - спектры возбуждения (фиг. 7, 9) и эмиссии (фиг. 8, 10) для соединения $R = C_2H_5$ в ДМФА (фиг. 7, 8) и соединения $R = H$ в H_2O (фиг. 9, 10).

Для осуществления способа получения водорастворимого флуоресцентного маркера на основе комплекса куркумина с дифторидом бора используют:

- Толуол, выпускаемый по ГОСТ 5789-78;

- Трибутилборат с чистотой не менее 99 %, CAS номер: 688-74-4;

- Монобутиламин с чистотой не менее 99 %, CAS номер: 109-73-9;

- Борфторированный ацетилацетон, участвующий в реакции в качестве исходного соединения, синтезируется с большими выходами по реакции хелатирования фторида бора ацетилацетонатом (см. Lozada I.B. et al. Donor-Acceptor Boron-Ketoiminate Complexes with Pendent N -Heterocyclic Arms: Switched-on Luminescence through N -Heterocycle Methylation // J. Org. Chem. 2022. Vol. 87, № 1. P. 184-196.);

- 4-[Бис[2-(ацетилокси)этил]амино]бензальдегид, как второй исходный реагент, получают по реакции Вильсмайера Хаака при взаимодействии диэтил 2,2`-(фенилимино) диацетата с диметилформамидом в присутствии $POCl_3$ (см. Guang S. et al. Synthesis and properties of long conjugated organic optical limiting materials with different π -electron conjugation bridge structure // Dyes and Pigments. 2007. Vol. 73, № 3. P. 285-291.);

- Дихлорметан (метилен хлористый), выпускаемый по ГОСТ 9968-86;

- Тетрагидрофуран (ТГФ), выпускаемый по ТУ 2631-125-44493179-08;

- Метанол (Карбинол), выпускаемый по ГОСТ 6995-77;

- Гидроокись лития, выпускаемую по ГОСТ 12.1.007-76;

- дистиллированная вода.

Способ осуществляют в следующей последовательности.

Способ получения водорастворимого флуоресцентного маркера на основе комплекса куркумина с дифторидом бора включает в себя введение в реакцию эквивалента борфторированного ацетилацетона и 4-[Бис[2-(ацетилокси)этил]амино]бензальдегида в мольном соотношении 1 : 2 в среде толуола трибутилбората и бутиламина в мольном соотношении 100 : 2 : 0,2 соответственно, выдерживание реакционной смеси при 65°C и интенсивном перемешивании в течении 12 часов, выделение соединения $R = C_2H_5$ в виде осадка путём добавления дихлорметана в количестве 1,5 эквивалентов по отношению к объёму исходной смеси, его фильтрацию с промывкой дихлорметаном и введение в реакцию гидроксидом лития в среде ТГФ в соотношении 1 : (1,0 - 4,5) и выделения образующихся соединений в виде солей.

Способ получения водорастворимого флуоресцентного маркера на основе комплекса куркумина с дифторидом бора включает в себя.

Пример 1 - получение соединения $R = C_2H_5$.

В толуоле (10 мл) в присутствии трибутил бората и бутиламина (2 ммоль и 0,2 ммоль соответственно) 0,1478 г (1ммоль) Борфторированного ацетилацетона и 0,586г 4-[Бис [2-(ацетилокси)этил]амино]бензальдегида растворили в приготовленной смеси
 5 растворителей в атмосфере аргона и выдержали при 65°C в течении 12 часов. После остывания смеси до комнатной температуры к ней добавили 15 мл дихлорметана, полученный багровый осадок отфильтровали и промыли дихлорметаном 2 раза.

Структура соединения $R = C_2H_5$ была подтверждена методом ЯМР 1H , ЯМР ^{13}C и масс-
 10 спектроскопии (фиг. 2, 3, 4 соответственно).

Пример 2 - получение соединения $R = H$ (фиг. 5).

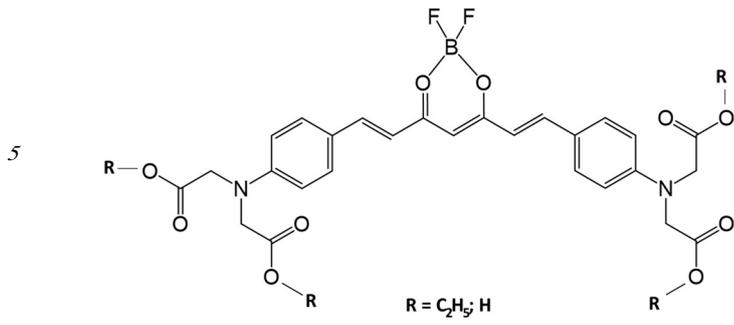
Первая стадия включает в себя получение соединения $R = C_2H_5$ аналогично примеру
 1.

Далее 35 мг соединения $R = C_2H_5$ добавили к 30 мл смешанного растворителя из
 15 ТГФ и метанола в пропорции 1:1 по объёму. В соседней колбе смешано 5 мл H_2O и 8,4 мг моногидрата гидроксида лития ($LiOH \cdot H_2O$), а полученный раствор по каплям добавили к приготовленному раствору соединения $R = C_2H_5$ при комнатной температуре, при этом раствор поменял свою окраску с тёмно-бурой до голубой. Далее произвели
 20 отгонку растворителя при 50°C и давлении до 0,1 атм с получением соединения $R = H$ в виде литиевой соли. Структура соединения $R = H$ была подтверждена методом ЯМР 1H спектроскопии (фиг. 6)

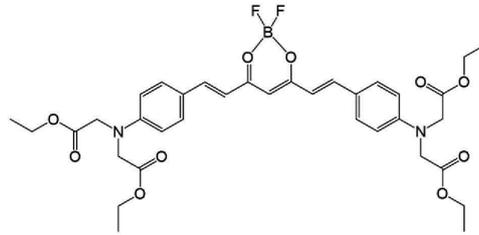
Каждое из синтезированных соединений обладает свойственными для класса
 25 куркуминоидов люминесцентными свойствами в красной области спектра, что позволяет их использовать в качестве флуоресцентных контрастных агентов как в области клеточной визуализации, так и в области маркирования как полярных, так и не полярных растворов, что подтверждают спектры люминесценции данных соединений, снятые в среде диметилформамида (ДМФА) и дистиллированной воды (фиг. 7, 8, 9, 10).

(57) Формула изобретения

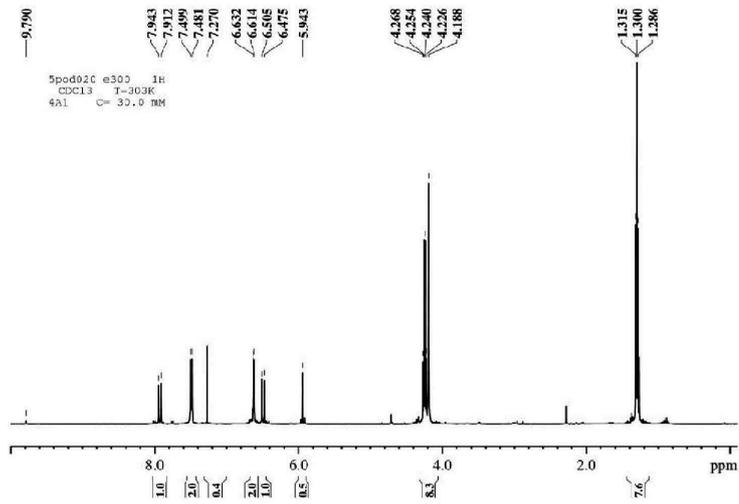
30 Способ получения водорастворимого флуоресцентного маркера на основе комплекса куркумина с дифторидом бора указанной структурной формулы, включающий смешение в растворителе, состоящем из толуола, трибутилбората и бутиламина в мольном соотношении 100:2:0,2 соответственно, борфторированного ацетилацетона и 4-[бис[2-
 35 (ацетилокси)этил]амино]бензальдегида в мольном соотношении 1:2, выдерживание реакционной смеси при 65°C и интенсивное перемешивание в течение 12 ч, выделение соединения (I), где $R = C_2H_5$ в виде осадка путём добавления к реакционной смеси дихлорметана в количестве 1,5 эквивалентов по отношению к объёму исходной смеси, затем фильтрацию с промывкой осадка дихлорметаном, смешение полученного
 40 соединения (I) с водным раствором гидроксида лития в присутствии тетрагидрофурана -ТГФ и метанола в мольном соотношении соединение (I):LiOH, соответственно 1:(4,0-4,5), с выделением соединения (II), где $R=H$ в виде литиевой соли путём отгонки растворителя при температуре 50°C и давлении до 0,1 атм.



1

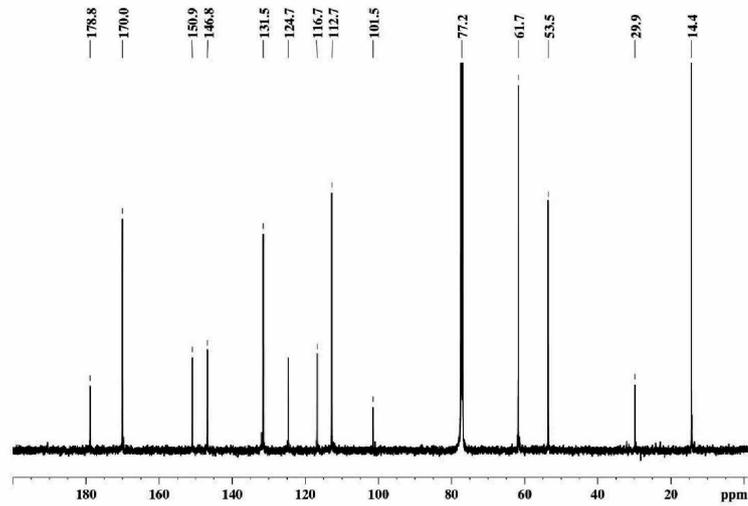


Фиг. 1

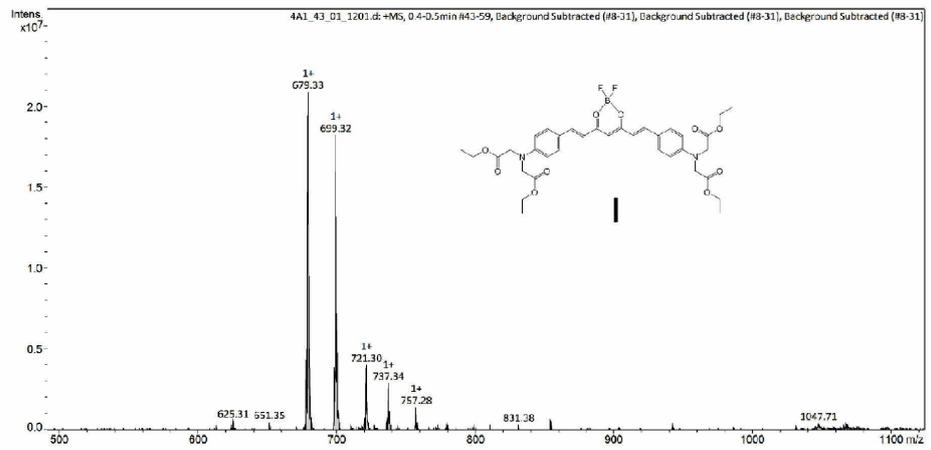


Фиг. 2

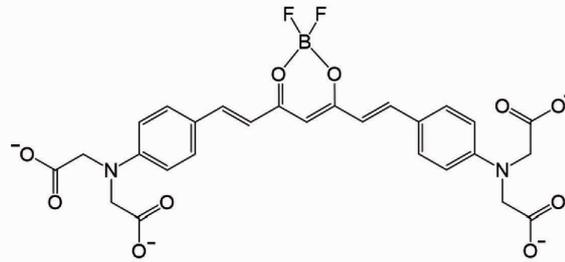
2



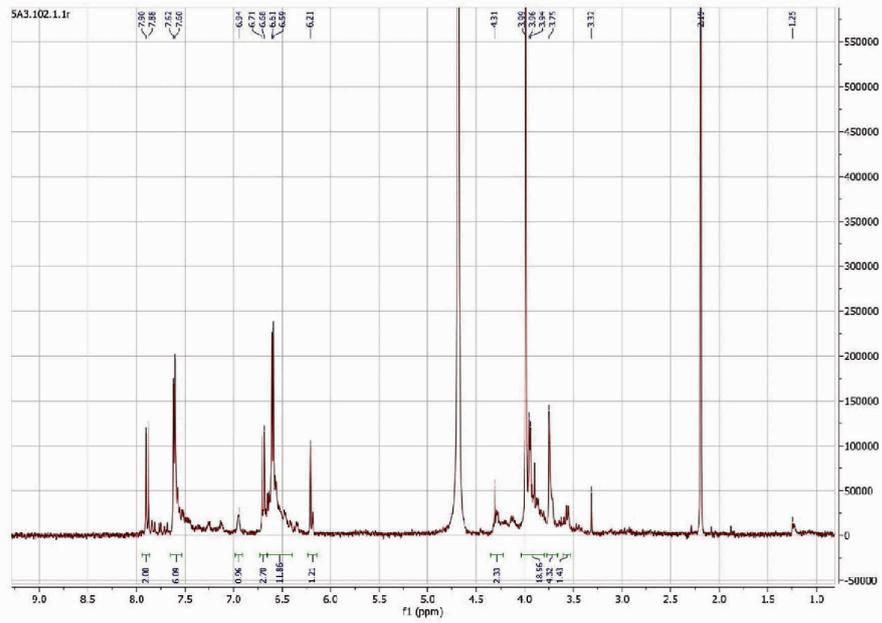
Фиг. 3



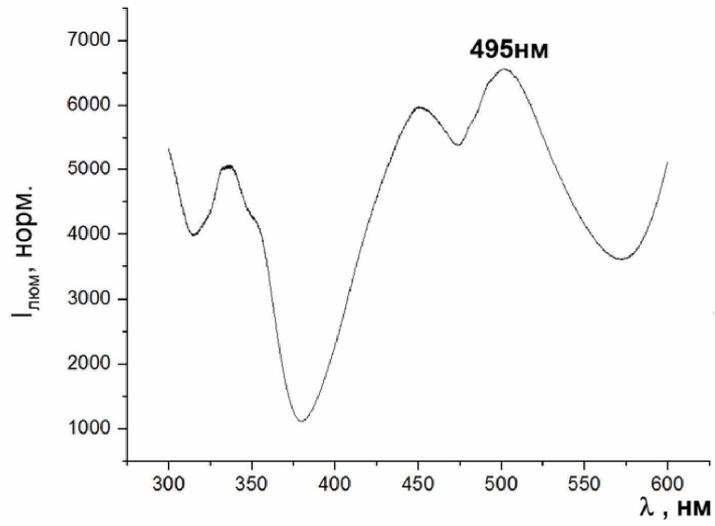
Фиг. 4



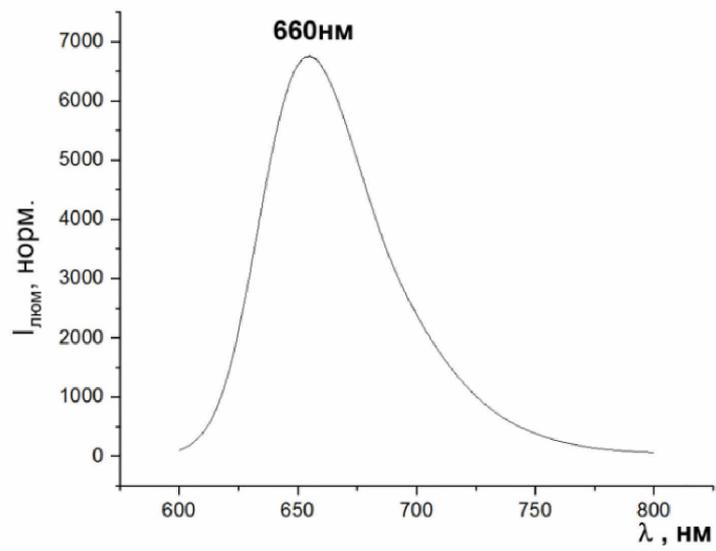
Фиг. 5



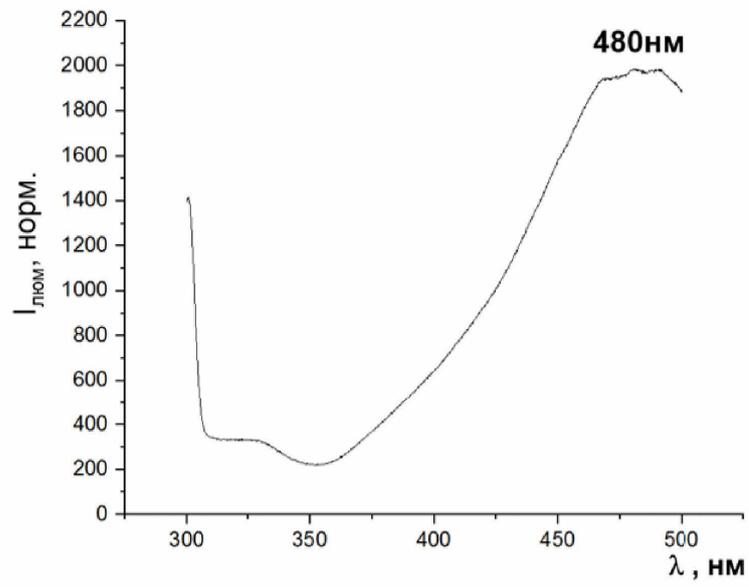
Фиг. 6



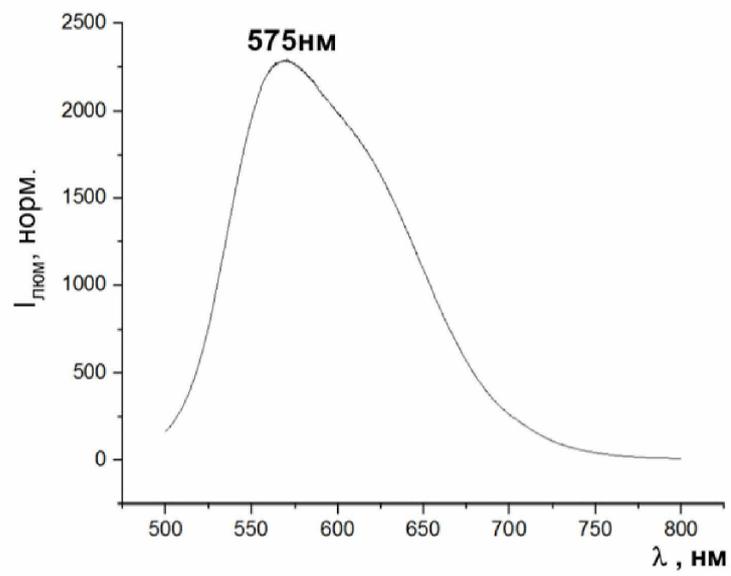
Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10