

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 547.92

DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-178-184

Поступило в редакцию 14.02.2018

Received 14.02.2018

А. Л. Гурский¹, А. В. Барановский¹, П. Драшар², член-корреспондент В. Н. Жабинский¹, академик В. А. Хрипач¹

¹Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Университет химии и технологии, Прага, Чехия

СИНТЕЗ КОНЬЮГАТА 24-ЭПИКАСТАСТЕРОНА С ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ КРАСИТЕЛЕМ BODIPY

Аннотация. Для проведения исследований молекулярных событий с участием brassinosterоидов в живой клетке осуществлен синтез меченного флуоресцентным красителем BODIPY фитогормона 24-эпикастастерона. Отличительной особенностью полученного конъюгата является сохранение в его молекуле нативных функциональных группировок brassinosterоидов, ответственных за физиологические эффекты данного класса соединений, что призвано обеспечить его эффективное связывание с соответствующим рецептором. В качестве ключевой стадии химического синтеза использована реакция азид-алкинового [3 + 2]-циклоприсоединения стероидного азидо с содержащим ацетиленовый фрагмент BODIPY красителем.

Ключевые слова: brassinosterоиды, эпикастастерон, BODIPY, флуоресцентные конъюгаты, азид-алкиновое [3 + 2]-циклоприсоединение

Для цитирования: Синтез конъюгата 24-эпикастастерона с флуоресцентным красителем BODIPY / А. Л. Гурский [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 2. – С. 178–184. DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-178-184

Alaksiej L. Hurski¹, Alexander V. Baranovsky¹, Pavel Drasar², Corresponding Member Vladimir N. Zhabinskii¹, Academician Vladimir A. Khrpach¹

¹Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²University of Chemistry and Technology, Praha, Czech Republic

SYNTHESIS OF 24-EPICASTASTERONE CONJUGATE WITH FLUORESCENT DYE BODIPY

Abstract. To carry out studies of molecular events involving brassinosterоids in a living cell, the synthesis of the phytohormone 24-epicastasterone labeled with a fluorescent dye BODIPY was performed. A distinctive feature of the conjugate obtained is the preservation in its molecule of native functional groups of brassinosterоids responsible for the physiological effects of this class of compounds, which is intended to ensure its effective binding to the corresponding receptor. The reaction of azide-alkyne [3 + 2]-cycloaddition of steroid azide with an acetylene BODIPY-containing dye fragment was used as a key stage in chemical synthesis.

Keywords: brassinosterоids, epicastasterone, BODIPY, fluorescent conjugates, azide-alkyne [3 + 2]cycloaddition

For citation: Hurski A. L., Baranovsky A. V., Drasar P., Zhabinskii V. N., Khrpach V. A. Synthesis of 24-epicastasterone conjugate with fluorescent dye BODIPY. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 2, pp. 178–184 (in Russian). DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-178-184

Введение. Флуоресцентная визуализация относится к числу наиболее динамично развивающихся методов современной молекулярной биологии [1]. Данный метод позволяет отслеживать динамику молекулярных событий *in vivo* как на уровне целого организма, так и на клеточном и субклеточном уровнях. Необходимым условием проведения таких исследований является наличие должным образом флуоресцентно-меченых биомолекул (флуоресцентных репортеров). Важное место среди практически значимых биологически активных веществ занимают соединения стероидной природы, включая стероидные гормоны растений – brassinosterоиды (БС) [2]. В литературе описан синтез ряда конъюгатов БС с флуоресцентными красителями [3–6], структуры некоторых из них приведены на рис. 1. Общим недостатком почти всех этих конъюгатов является то, что они получены путем ковалентного связывания флуорофора с одной или более функциональными группами стероидной молекулы.

Очевидно, что биологические свойства таких конъюгатов будут отличаться от свойств исходных БС, так как функциональные группы принимают непосредственное участие во взаимодей-

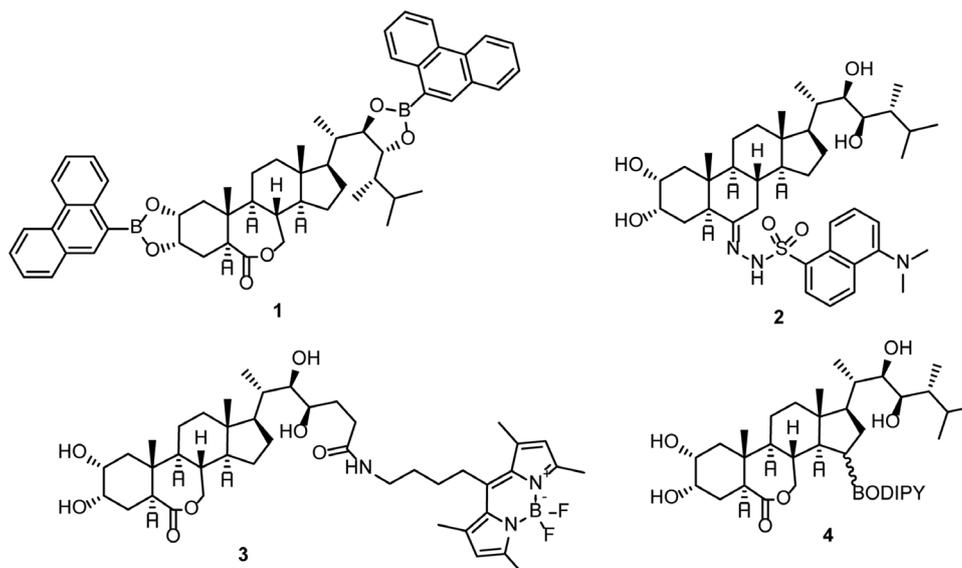


Рис. 1. Структуры конъюгатов brassinosterоидов с флуоресцентными метками 1–4

Fig. 1. Structures of conjugates of brassinosteroids with fluorescent labels 1–4

ствии с рецептором, обеспечивая формирование и передачу гормонального сигнала. В связи с этим основной целью настоящего исследования было создание конъюгатов БС с флуоресцентной меткой, у которых были бы сохранены все функциональные группировки, характерные для данного класса фитогормонов.

Второй проблемой, которая решалась в ходе выполнения настоящего исследования, был выбор флуоресцентной метки. Помимо подходящих флуоресцентных свойств, метка не должна оказывать существенного влияния на полярность, распределение заряда, размер и стереохимию конъюгата. Анализ литературы показал, что красители BODIPY (4,4-дифтор-4-бора-3а, 4а-диаза-5-индацен), интенсивно изучаемые в последние два десятилетия [7; 8], по сравнению с другими флуорофорами имеют ряд преимуществ, таких как высокий коэффициент экстинкции и квантовый выход флуоресценции, относительно длительные времена существования возбужденного состояния и малая зависимость флуоресцентных свойств от pH и полярности. Ранее нами осуществлен синтез конъюгата **3**, в котором BODIPY флуоресцентная метка присоединена к боковой цепи [6]. Хотя все функциональные группы БС в данном случае остались незатронутыми, блокирование важного для проявления биологической активности терминального фрагмента боковой цепи может препятствовать эффективному связыванию стероидной молекулы **3** с рецептором. В настоящей работе приводится синтез конъюгата **4**, в котором для связывания с флуоресцентным красителем используется С-15 атом углерода, удаленный как от функциональных группировок, так и от боковой цепи молекулы.

Экспериментальная часть. Спектры ЯМР ^1H регистрировали на приборе фирмы Bruker BioSpin AVANCE 500 (500 МГц) в дейтерохлороформе. Значения химических сдвигов даны относительно сигнала остаточного CHCl_3 (δ_{H} 7,26). Масс-спектр регистрировали с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа Accela с масс-селективным детектором LCQ Fleet путем детектирования положительных ионов в режиме прямого ввода. Использованные в работе реактивы (*трет*-бутилдифенилсилилхлорид, 4-(диметиламино)пиридин, *N*-гидроксисукцинимид, 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид, трис(3-гидроксипропилтриазолилметил)амин) приобретены у фирмы Sigma-Aldrich. Протекание реакций контролировали методом ТСХ на пластинах Merck 60 F254. Очистку синтезируемых соединений проводили методом колоночной хроматографии на силикагеле Merck 60 (0,063–0,2 мм).

(22*R*,23*R*)-2 α ,3 α ,22,23-Тетраацетокси-15 β -(4-гидроксибутил)-5 α -эргостан-6-он (**11**). К раствору (22*R*,23*R*)-2 α ,3 α ,22,23-тетрагидрокси-15 β -(4-гидроксибутил)-5 α -эргостан-6-она **9** (6 мг, 0,011 ммоль, получали из андростенолона **8** по методике [9]) в диметилформамиде (0,06 мл) прибавляли

трет-бутилдифенилсиллхлорид (3,6 мкл, 0,014 ммоль). Полученный раствор выдерживали в течение 12 ч при комнатной температуре, затем разбавляли водой (0,6 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 × 1 мл). Объединенные органические экстракты сушили безводным сульфатом натрия, упаривали и тетраол **10** (8 мг, 96 %) использовали в следующей стадии без дополнительной очистки.

К раствору тетраола **10** (8 мг, 0,01 ммоль) в пиридине (100 мкл) прибавляли 4-(диметиламино)пиридин (10 мг, 0,081 ммоль) и уксусный ангидрид (50 мкл, 0,53 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, затем упарили при пониженном давлении. Остаток растворяли в этилацетате (3 мл) и последовательно промывали водой, 5 %-ной соляной кислотой и насыщенным раствором бикарбоната натрия. Органический слой сушили безводным сульфатом натрия и упаривали. Остаток растворяли в 0,5 М растворе тетрабутиламоний фторида в тетрагидрофуране (250 мкл, 0,125 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, затем разбавляли этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным раствором хлорида аммония и водой, сушили безводным сульфатом натрия и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Получали 4 мг (50 % в расчете на **9**) спирта **11** в виде масла. Спектр ЯМР ^1H (δ , м. д.): 5,40–5,36 (м, 1H), 5,25 (д, $J = 7,0$ Гц, 1H), 5,06 (дд, $J = 6,5, 5,5$ Гц, 1H), 4,96 (ддд, $J = 12,2, 4,3, 3,2$ Гц, 1H), 3,63 (т, $J = 6,5$ Гц, 2H), 2,57 (дд, $J = 12,5, 3,3$ Гц, 1H), 2,50–2,41 (м, 2H), 2,08 (с, 3H), 2,05 (с, 3H), 2,04 (с, 3H), 1,99 (с, 3H), 1,00 (д, $J = 6,7$ Гц, 3H), 0,94 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H), 0,86 (д, $J = 8,2$ Гц, 3H), 0,85 (с, 3H), 0,83 (д, $J = 7,1$ Гц, 3H), 0,80 (с, 3H).

(22R,23R)-2 α ,3 α ,22,23-Тетраацетокси-15 β -(4-((метилсульфонил)окси)бутил)-5 α -эргостан-6-он (**12**). К охлажденному до -20 °С раствору спирта **11** (4 мг, 0,0055 ммоль) и триэтиламина (3,2 мкл, 0,023 ммоль) в дихлорметане (100 мкл) прибавляли метансульфонилхлорид (1,6 мкл, 0,021 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 ч при комнатной температуре, затем прибавляли насыщенный раствор бикарбоната натрия (0,5 мл) и полученную двухфазную систему перемешивали в течение 30 мин. Водный слой экстрагировали метиленхлоридом (2 × 1 мл). Объединенные органические слои сушили безводным сульфатом натрия и упаривали. Получали 4 мг (90 %) мезилата **12** в виде масла. Спектр ЯМР ^1H (δ , м. д.): 5,46–5,42 (м, 1H), 5,29 (д, $J = 6,4$ Гц, 1H), 5,11 (дд, $J = 6,4, 5,6$ Гц, 1H), 5,01 (ддд, $J = 11,9, 4,4, 3,5$ Гц, 1H), 4,26 (т, $J = 6,4$ Гц, 2H), 3,07 (с, 3H), 2,62 (дд, $J = 12,2, 3,1$ Гц, 1H), 2,53–2,46 (м, 1H), 2,13 (с, 3H), 2,10 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 2,04 (с, 3H), 1,06 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 0,99 (д, $J = 6,7$ Гц, 3H), 0,91 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H), 0,90 (с, 3H), 0,88 (д, $J = 7,1$ Гц, 3H), 0,85 (с, 3H).

(22R,23R)-2 α ,3 α ,22,23-Тетрагидрокси-15 β -(4-азидобутил)-5 α -эргостан-6-он (**13**). К раствору мезилата (**12**) (3 мг, 0,0038 ммоль) в диметилформамиде (60 мкл) прибавили азид натрия (1 мг, 0,015 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60 °С в течение 4 ч, затем разбавили водой (1 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 × 2 мл). Органические слои высушили безводным сульфатом натрия и упарили. Остаток разбавили 5 %-ным раствором едкого калия в метаноле и смесь выдержали при 40 °С в течение 6 ч. Смесь разбавили водой и экстрагировали хлороформом. Экстракты сушили безводным сульфатом натрия и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью хлороформа с метанолом. Получали 1 мг (46 % из **12**) азида **13** в виде масла. Спектр ЯМР ^1H (δ , м. д.): 4,11 (м, 1H), 3,82 (м, 1H), 3,76 (м, 1H), 3,70–3,67 (м, 1H), 3,46 (м, 1H), 3,31 (с, 2H), 1,04 (д, $J = 6,5$ Гц, 3H), 0,98 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H), 0,93 (д, $J = 6,7$ Гц, 3H), 0,93 (с, 3H), 0,91 (д, $J = 6,7$ Гц, 3H), 0,85 (с, 3H).

2,5-Диоксопирролидин-1-ил дец-9-иноат (**16**). К раствору дец-9-иноевой кислоты **14** (119 мг, 0,71 ммоль), *N*-гидроксисукцинимид **15** (164 мг, 1,43 ммоль), 4-(диметиламино)пиридина (10 мг, 0,082 ммоль) и пиридина (60 мкл, 0,74 ммоль) в метиленхлориде прибавляли 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид (143 мг, 0,75 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, затем разбавляли метиленхлоридом (5 мл) и промывали водой (2 × 1 мл) и насыщенным раствором бикарбоната натрия (1 × 1 мл). Органический слой сушили безводным сульфатом натрия и упаривали. Получали 129 мг (68 %) сукцинимидного эфира **16** в виде масла. Спектр ЯМР ^1H (δ , м. д.): 2,96–2,81 (м, 4H), 2,65 (т, $J = 7,5$ Гц, 2H), 2,27–2,20 (м, 2H), 2,01–1,96 (м, 1H), 1,80 (дт, $J = 15,1, 7,5$ Гц, 2H), 1,62–1,53 (м, 2H), 1,51–1,33 (м, 6H).

***N*-(4-(4,4-Дифтор-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен-8-ил)бутил)дец-9-иннамид (18).** К раствору (4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацен-8-ил)бутиламина **17** (5 мг, 0,015 ммоль, получен по методике [6]) и триэтиламина (2,1 мкл, 0,015 ммоль) в тетрагидрофуране (200 мкл) прибавляли раствор сукцинимидного эфира **16** (5 мг, 0,019 ммоль) в тетрагидрофуране (100 мкл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, затем растворитель упаривали и остаток наносили на колонку с силикагелем (элюент: этилацетат – петролейный эфир). Выделяли 5 мг (68 %) алкинового красителя **18** в виде масла. Спектр ЯМР ^1H (δ , м. д.): 6,05 (с, 2H), 5,47 (уш. с, 1H), 3,29 (м, 2H), 3,04–2,91 (м, 2H), 2,51 (с, 6H), 2,40 (с, 6H), 2,21–2,11 (м, 4H), 1,93 (т, $J = 2,6$ Гц, 1H), 1,74–1,23 (м, 16H).

Конъюгат 19. К раствору азида **13** (0,7 мг, 1,3 мкмоль) и алкинового красителя **18** (1,2 мг, 2,6 мкмоль) в *трет*-бутиловом спирте (200 мкл) в атмосфере аргона прибавляли последовательно по 10 мкл растворов трис(3-гидроксипропилтриазолилметил)амин (1 мг в 0,5 мл воды), аскорбата натрия (8 мг в 1 мл воды) и сульфата меди (1 мг в 1 мл воды). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч, затем упаривали в вакууме и остаток наносили на колонку с силикагелем (элюент: хлороформ – метанол). Получали 0,8 мг (62 %) конъюгата **19** в виде масла. Масс-спектр (m/z): 1031,8 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Результаты и их обсуждение. Синтез целевого конъюгата предполагал на одной из стадий объединение стероидного фрагмента с флуоресцентным красителем. Для достижения данной цели нами предложена катализируемая производными одновалентной меди реакция азид-алкинового [3 + 2]-циклоприсоединения (рис. 2). Особенностью этой так называемой клик-реакции является возможность ее проведения в очень мягких условиях (комнатная температура) в водных растворителях с образованием с высоким выходом только 1,4-дизамещенных 1,2,3-триазолов **7** [10].

В качестве исходного соединения для синтеза азид-содержащего стероидного фрагмента **13** (рис. 3) нами использован пентаол **9**, полученный из андростенолона **8** [9]. Перед проведением реакций по первичной гидроксильной группе соединения **9** оставшиеся 4 вторичных гидроксила должны были должным образом быть защищены. Задача была выполнена путем первоначальной реакции пентаола **9** с объемным силильным реагентом – *трет*-бутилдифенилсилилхлоридом. Силилирование протекало исключительно по стерически менее затрудненной первичной гидроксильной группе с образованием силилового эфира **10**. Ацетилирование соединения **10** с последующим снятием силильной защитной группировки дало спирт **11**. Его мезилирование, обработка мезилата **12** азидом натрия и снятие ацетатных защитных группировок привели к стероидному азиду **13**.

Синтез флуоресцентного красителя с ацетиленовым фрагментом был начат с получения активированного сукцинимидного эфира **16** (рис. 4). В качестве реагента для активации карбоксильной группы дециновой кислоты **14** использован водорастворимый 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид (EDC), одним из достоинств которого в сравнении с обычно используемым для этих целей дицилогексилкарбодиимидом является возможность отделения избытка реагента и продуктов его трансформации путем обычной промывки водой органических экстрактов. Реакция связывания эфира **16** с первичным амином протекала с формированием амидной связи и образованием соединения **18**. Первоначальные попытки проведения его циклоприсоединения со стероидным азидом **13** не привели к успеху: из реакционной смеси были выделены только исходные соединения. Известно, что азид-алкиновое [3 + 2]-циклоприсоединение ускоряется в присутствии политриазолов, выступающих в роли лигандов, стабилизирующих медь в степени окисления +1 [11]. Проведение реакции азида **13** с ацетиленом **18**

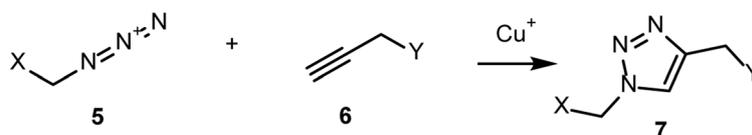


Рис. 2. Клик-реакция азид-алкинового [3 + 2]-циклоприсоединения

Fig. 2. The azide-alkyne [3 + 2]-cycloaddition click reaction

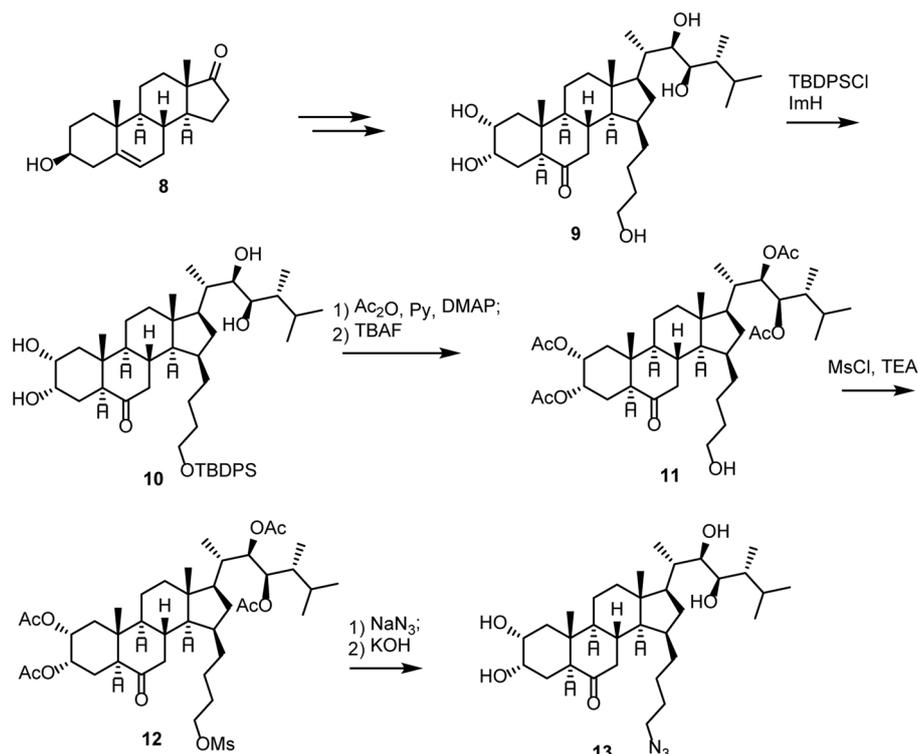


Рис. 3. Синтез стероидного азиды 13

Fig. 3. Synthesis of steroidal azide 13

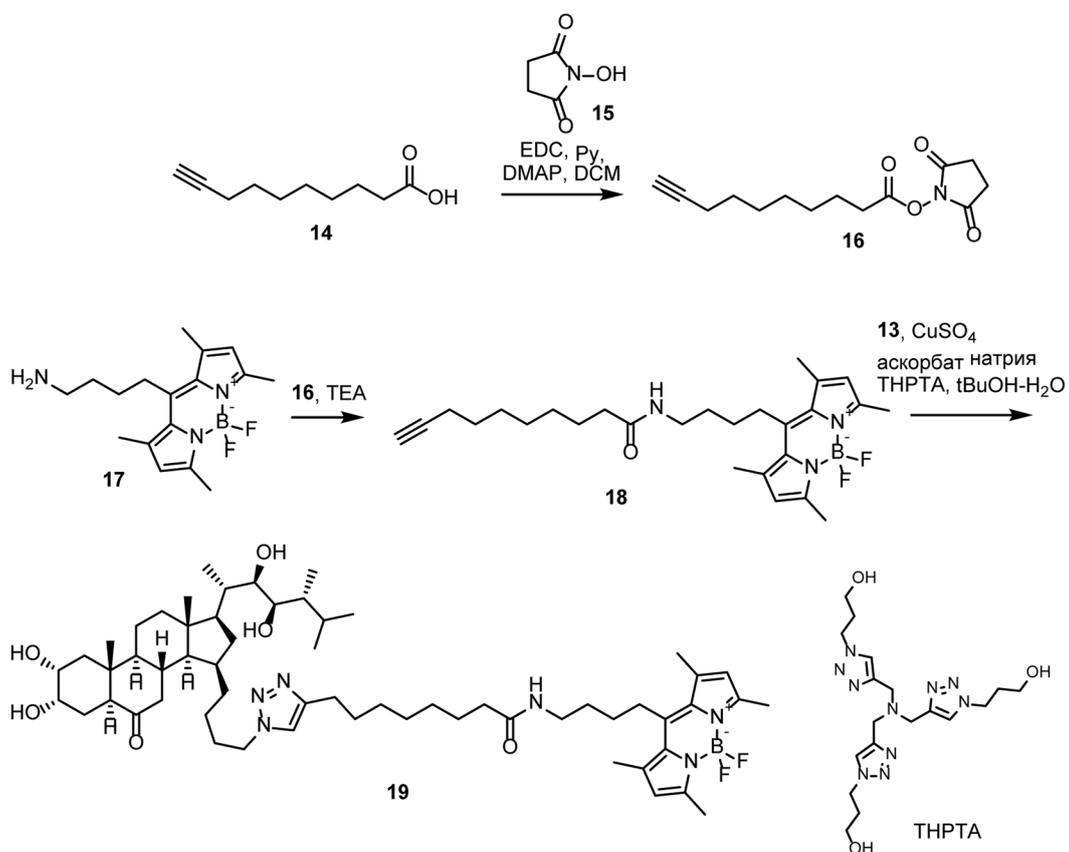


Рис. 4. Синтез конъюгата 19

Fig. 4. Synthesis of conjugate 19

в присутствии одного из таких реагентов – трис(3-гидроксипропилтриазолилметил)амин (ТНРТА) [12] привело к образованию целевого продукта **19**.

Полученное производное **19** является конъюгатом флуоресцентного красителя BODIPY и природного брассиностероида эпикастастерона и предназначено для визуализации событий с участием данных фитогормонов в живых клетках. При этом структурные особенности соединения **19**, включая достаточно длинный линкер для связывания стероидного фрагмента с красителем, а также сохранение интактными всех характерных для брассиностероидов функциональных группировок и терминального фрагмента боковой цепи стероидной молекулы позволяют рассчитывать на его эффективное связывание с брассиностероидным рецептором.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект X16MC-005).

Acknowledgement. The work was sponsored by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Agreement no. X16MC-005).

Список использованных источников

1. Kuchmiy, A. A. Methods for *in vivo* molecular imaging / A. A. Kuchmiy, G. A. Efimov, S. A. Nedospasov // *Biochemistry (Moscow)*. – 2012. – Vol. 77, N 12. – P. 1339–1353. DOI: 10.1134/s0006297912120012
2. Khripach, V. A. Brassinosteroids. A New Class of Plant Hormones / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. de Groot. – San Diego: Academic Press, 1999. – 456 p.
3. High-performance liquid chromatography of brassinosteroids in plants with derivatization using 9-phenanthreneboronic acid / K. Gamoh [et al.] // *J. Chromatogr.* – 1989. – Vol. 469. – P. 424–428. DOI: 10.1016/s0021-9673(01)96481-7
4. Solution electronic spectra of brassinosteroid and a synthesized conjugate of a steroid and a fluorescent label / N. A. Borisevich [et al.] // *J. Appl. Spectroscopy*. – 2008. – Vol. 75, N 1. – P. 75–79. DOI: 10.1007/s10812-008-9009-6
5. Synthesis and spectral and luminescence properties of new conjugates of brassinosteroids for immunofluorescence analysis / T. F. Raichenok [et al.] // *Chem. Nat. Compd.* – 2012. – Vol. 48, N 2. – P. 267–271. DOI: 10.1007/s10600-012-0218-0
6. Brassinosteroid-BODIPY conjugates: design, synthesis, and properties / M. Malachowska-Ugarte [et al.] // *Steroids*. – 2015. – Vol. 102. – P. 53–59. DOI: 10.1016/j.steroids.2015.07.002
7. Ulrich, G. The chemistry of fluorescent bodipy dyes: versatility unsurpassed / G. Ulrich, R. Ziessel, A. Harriman // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2008. – Vol. 47, N 7. – P. 1184–1201. DOI: 10.1002/anie.200702070
8. Osati, S. BODIPY-steroid conjugates: Syntheses and biological applications / S. Osati, H. Ali, J. E. Van Lier // *J. Porphyrins Phthalocyanines*. – 2016. – Vol. 20, N 1–4. – P. 61–75. DOI: 10.1142/s1088424616300019
9. Baranovskii, A. V. Synthesis and growth-stimulating activity of 15 β -substituted brassinosteroids / A. V. Baranovskii, M. P. Popova, V. A. Khripach // *Chem. Nat. Compd.* – 2015. – Vol. 51, N 2. – P. 289–295. DOI: 10.1007/s10600-015-1263-2
10. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective «ligation» of azides and terminal alkynes / V. V. Rostovtsev [et al.] // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2002. – Vol. 41, N 14. – P. 2596–2599. DOI: 10.1002/1521-3773(20020715)41:14%3C2596::aid-anie2596%3E3.0.co;2-4
11. Polytriazoles as copper(I)-stabilizing ligands in catalysis / T. R. Chan [et al.] // *Org. Lett.* – 2004. – Vol. 6, N 17. – P. 2853–2855. DOI: 10.1021/ol0493094
12. Michaels, H. A. Ligand-assisted, copper(II) acetate-accelerated azide-alkyne cycloaddition / H. A. Michaels, L. Zhu // *Chem. Asian J.* – 2011. – Vol. 6, N 10. – P. 2825–2834. DOI: 10.1002/asia.201100426

References

1. Kuchmiy A. A., Efimov G. A., Nedospasov S. A. Methods for *in vivo* molecular imaging. *Biochemistry (Moscow)*, 2012, vol. 77, no. 12, pp. 1339–1353. DOI: 10.1134/s0006297912120012
2. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., de Groot A. *Brassinosteroids. A New Class of Plant Hormones*. San Diego, Academic Press, 1999. 456 p.
3. Gamoh K., Omote K., Okamoto N., Takatsuto S. High-performance liquid chromatography of brassinosteroids in plants with derivatization using 9-phenanthreneboronic acid. *Journal of Chromatography*, 1989, vol. 469, pp. 424–428. DOI: 10.1016/s0021-9673(01)96481-7
4. Borisevich N. A., Raichenok T. F., Khripach V. A., Zhabinskii V. N., Ivanova G. V. Solution electronic spectra of brassinosteroid and a synthesized conjugate of a steroid and a fluorescent label. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2008, vol. 75, no. 1, pp. 75–79. DOI: 10.1007/s10812-008-9009-6
5. Raichenok T. F., Litvinovskaya R. P., Zhabinskii V. N., Raiman M. E., Kurtikova A. L., Minin P. S. Synthesis and spectral and luminescence properties of new conjugates of brassinosteroids for immunofluorescence analysis. *Chemistry of Natural Compounds*, 2012, vol. 48, no. 2, pp. 267–271. DOI: 10.1007/s10600-012-0218-0
6. Malachowska-Ugarte M., Sperduto C., Ermolovich Y. V., Sauchuk A. L., Jurásek M., Litvinovskaya R. P., Straltsova D., Smolich I., Zhabinskii V. N., Drašar P., Demidchik V., Khripach V. A. Brassinosteroid-BODIPY conjugates: design, synthesis, and properties. *Steroids*, 2015, vol. 102, pp. 53–59. DOI: 10.1016/j.steroids.2015.07.002
7. Ulrich G., Ziessel R., Harriman A. The chemistry of fluorescent bodipy dyes: versatility unsurpassed. *Angewandte Chemie International Edition*, 2008, vol. 47, no. 7, pp. 1184–1201. DOI: 10.1002/anie.200702070

8. Osati S., Ali H., Van Lier J. E. BODIPY-steroid conjugates: Syntheses and biological applications. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2016, vol. 20, no. 1–4, pp. 61–75. DOI: 10.1142/s1088424616300019
9. Baranovskii A. V., Popova M. P., Khripach V. A. Synthesis and growth-stimulating activity of 15 β -substituted brassinosteroids. *Chemistry of Natural Compounds*, 2015, vol. 51, no. 2, pp. 289–295. DOI: 10.1007/s10600-015-1263-2
10. Rostovtsev V. V., Green L. G., Fokin V. V., Sharpless K. B. A stepwise huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective «ligation» of azides and terminal alkynes. *Angewandte Chemie International Edition*, 2002, vol. 41, no. 14, pp. 2596–2599. DOI: 10.1002/1521-3773(20020715)41:14%3C2596::aid-anie2596%3E3.0.co;2-4
11. Chan T. R., Hilgraf R., Sharpless K. B., Fokin V. V. Polytriazoles as copper(I)-stabilizing ligands in catalysis. *Organic Letters*, 2004, vol. 6, no. 17, pp. 2853–2855. DOI: 10.1021/ol0493094
12. Michaels H. A., Zhu L. Ligand-assisted, copper(II) acetate-accelerated azide-alkyne cycloaddition. *Chemistry – an Asian Journal*, 2011, vol. 6, no. 10, pp. 2825–2834. DOI: 10.1002/asia.201100426

Информация об авторах

Гурский Алексей Леонидович – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ahurski@iboch.by.

Барановский Александр Вячеславович – д-р хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: baranovsky@iboch.by.

Драшар Павел – профессор. Университет химии и технологии (Technicka 5, CZ-166 28 Praha 6, Czech Republic). E-mail: Pavel.Drasar@vscht.cz.

Жабинский Владимир Николаевич – член-корреспондент, д-р хим. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vz@iboch.by.

Хрипач Владимир Александрович – академик, д-р хим. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: khripach@iboch.by.

Information about the authors

Hurski Alaksiej Leanidavich – Ph. D. (Chemistry), Leading researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ahurski@iboch.by.

Baranovsky Alexander Vyacheslavovich – D. Sc. (Chemistry), Head of Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: baranovsky@iboch.by.

Drasar Pavel – full professor of organic chemistry. University of Chemistry and Technology (Technicka 5, CZ-166 28 Praha 6, Czech Republic). E-mail: Pavel.Drasar@vscht.cz.

Zhabinskii Vladimir Nikolayevich – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Assistant Professor, Chief researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vz@iboch.by.

Khripach Vladimir Aleksandrovich – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Head of Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: khripach@iboch.by.