

УДК 547.979.733

**З. І. Жиліна, Ю. В. Ішков, Г. М. Кириченко, С. В. Водзінський,
О. В. Мазепа**

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
Проблемна науково-дослідна лабораторія
синтезу лікарських препаратів,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна. E-mail: zhilina@paco.net

КОН'ЮГАЦІЯ *мезо*-ЗАМІЩЕНИХ ПОРФІРИНІВ З АМІНОКИСЛОТАМИ

Конденсацією амінопохідних мезо-заміщених порфіринів з α -аланіном та α -проліном отримані кон'югати порфіринів з зазначеними амінокислотами. Їх склад та будова доведені за допомогою фізико-хімічних методів аналізу.

Ключові слова: порфірин, металокомплекс, аланін, пролін, реакція.

Кон'югація мезо-заміщених порфіринів з ендogenous молекулами, такими як амінокислоти, пептиди, цукри, а також з іншими біологічно активними сполуками може полегшити зв'язування порфіринів з рецепторами клітин. Тим самим кон'югати можуть конкурувати з ендogenous сполуками за рецептори, блокування яких похідними порфіринів буде приводити до порушення нормального метаболізму клітин патогенних мікроорганізмів та пухлин. Крім того кон'югати будуть легше проникати крізь біологічні мембрани та зв'язуватись з біологічно важливими елементами цих клітин, що призведе до загибелі останніх.

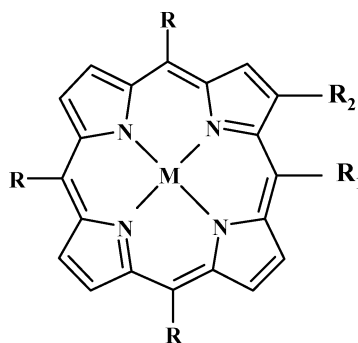
Одним з шляхів розв'язання цієї задачі є використання порфіринових кон'югатів з амінами, амінокислотами, поліпептидами та цукрами. Способи зв'язування тетрапірольних макроциклів з біомолекулами можуть бути різними: або асоціати з нуклеїновими кислотами катіонних гетерилпорфіринів, або ковалентний зв'язок за рахунок активних функціональних груп найбільш доступних арил(гетерил)порфіринів. Останній спосіб кон'югації більш привабливий, оскільки ковалентно зв'язані сполуки більш стабільні [1].

В цій роботі ми повідомляємо про синтез та фізико-хімічні властивості порфіринів на підставі 5-(4-амінофеніл)-10,15,20-трифенілпорфірина (I), 2-аміно-5,10,15,20-тетра(6-хінолініл)порфірина, та, відповідно, їх мідних комплексів (III) і (IV), які містять залишки α -аланіна та α -проліна з метою створення на їх основі імунотропних сполук.

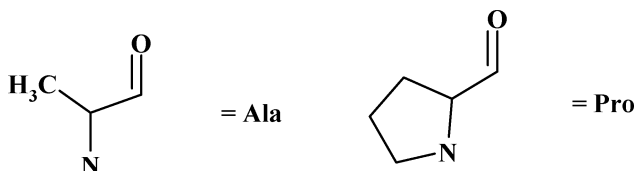
Дициклогексилкарбодіїмід був використаний нами як агент, що сприяє конденсації, а у якості захисту амінної функції вибрана карбобензоксигрупа.

Спочатку ми здійснили реакцію взаємодії 5-(4-амінофеніл)-10,15,20-трифенілпорфірина з N-карбобензоксифеніл- α -аланіном в прису-

тності дициклогексил-карбодііміда та отримали продукт ковалентного зв'язування (V) з досить високим виходом 87.5%.



I - XI



- I. M = 2H, R = Ph, R₁ = 4-NH₂-Ph, R₂ = H;
- II. M = 2H, R = R₁ = 6-хинолинил, R₂ = NH₂;
- III. M = Cu, R = Ph, R₁ = 4-NH₂-Ph, R₂ = H;
- IV. M = Cu, R = R₁ = 6-хинолинил, R₂ = NH₂;
- V. M = 2H, R = Ph, R₁ = 4-Ph-NH-Ala-COO-CH₂-Ph, R₂ = H;
- VI. M = 2H, R = Ph, R₁ = 4-Ph-NH-Pro-COO-CH₂-Ph, R₂ = H;
- VII. M = Cu, R = Ph, R₁ = 4-Ph-NH-Ala-COO-CH₂-Ph, R₂ = H;
- VIII. M = Cu, R = Ph, R₁ = 4-Ph-NH-Pro-COO-CH₂-Ph, R₂ = H;
- IX. M = 2H, R = R₁ = 6-хинолинил, R₂ = NH-Pro-COO-CH₂-Ph;
- X. M = Cu, R = R₁ = 6-хинолинил, R₂ = NH-Pro-COO-CH₂-Ph;
- XI. M = Cu, R = R₁ = 6-хинолинил, 4-Ph-NH-Ala-COO-CH₂-Ph.

Реакцію проводили в хлористому метилені при кімнатній температурі протягом 2-3 годин, контролюючи її перебіг за допомогою ТШХ. Обробку реакційної суміші проводили у такий спосіб: спочатку відфільтровували дициклогексилсечовину, яка утворюється в цій реакції, фільтрат послідовно промивали розчином соди та водою, розчинник упарювали, а залишок хроматографували на колонці з силікагелем. Елюювали спочатку хлороформом для видалення вихідних порфіринів (I-IV), а потім сумішню хлороформ-ацетон, 10:1 вимивали продукти (V-XI).

Слід зауважити, що реакція взаємодії комплексів (III) та (IV) з N-захищеним проліном перебігає з утворенням кон'югатів з кращими виходами, крім того реакція амінопохідних (III) та (IV) з проліном потребує значно більше часу та додавання декількох краплин тріетиламіну.

Склад отриманих продуктів кон'югації доводили за допомогою елементного аналізу, належність до класу порфіринових сполук — електронними спектрами поглинання, особливості молекулярної будови — спектрами ПМР, а розраховану молекулярну масу — за допомогою FАВ мас-спектрометрії.

Експериментальна частина

Спектри ПМР були виміряні на спектрометрі DPX-300 фірми "Bruker" з робочою частотою 300,13 МГц, внутрішній стандарт — ТМС, розчинник CDCl_3 . Мас-спектри FАВ записані на приборі VC 7070 EQ. Десорбція іонів здійснювалась пучком атомів ксенона з енергією 8 kV з матриці, яка є розчином досліджуємої сполуки у 3-нітробензиловому спирті. Електронні спектри поглинання записані на спектрофото-метрі Specord M-40 в CHCl_3 (с 10^{-5} моль/л). ТШХ здійснювали на пластинках Silufol UV-254. Для колонкової хроматографії використовували силікагель L 40/100. Сполуки 5-(4-амінофеніл)-10,15,20-трифенілпорфірин (I) та 2-аміно-5,10,15,20-тетра(6-хінолі-ніл)порфірин (II) отримували як описано у роботах [2–4], а їх мідні комплекси (III, IV) — у роботі [5], елементний аналіз здійснювали в умовах, описаних в роботі [6].

5[4-N(N'-бензилоксикарбоніл- α -аланін)амінофеніл]-10,15,20-трифенілпорфірин (V). Розчин 0.2 г ($9.0 \cdot 10^{-4}$ моль) бензилоксикарбоніл- α -аланіна, 0.2 г ($3.2 \cdot 10^{-4}$ моль) 5-(4-амінофеніл)-10,15,20-трифенілпорфірина (I) та 0.18 г ($8.7 \cdot 10^{-4}$ моль) дициклогексилкарбодіміда в 60 мл хлороформа перемішували при кімнатній температурі протягом 2 годин. Дициклогексилсечовину, яка випадала з розчину, відфільтровували, реакційну суміш послідовно промивали 5% розчином соди (2×60 мл) та водою. Хлороформиний шар відділяли, сушили Na_2SO_4 та розчинник упарювали. Залишок хроматографували на силікагелі, використовуючи хлороформ для елюювання вихідного порфірина (I), а потім суміш хлороформ-ацетон, 10:1 для кон'югата (V). Вихід 0.21 г (87.5%). R_f 0.31 (ацетон-гексан, 1:2). ПМР спектр (δ , м. д.): 8.78 м (8H, β -пірол.), 8.16 м (8H, о-феніл.), 8.25 м, 7.72 м (11H, м-, п-феніл.), 7.63 с (5H, бензил.), 3.96 уш. с., 3.79 уш. с. (2H, NH), 3.69 с (2H, CH_2), 2.64 м (1H, CH), 1.59 д (3H, CH_3), -2.68 уш. с (2H, NH-внутр.). Електронний спектр поглинання (CHCl_3), $\lambda_{\text{макс}}$ (lg ϵ), нм: 420 (5.14), 518 (4.18), 547 (3.75), 588 (3.62), 648 (3.27). Мас-спектр, m/z: (M^+) 835, $\text{M}_{\text{розрах}}$ 836.35. Елементний аналіз. Знайдено, %: C 79.00, H 5.20, N 10.00. Формула $\text{C}_{55}\text{H}_{43}\text{N}_6\text{O}_3$. Розраховано, %: C 79.04, H 5.15, N 10.06.

5[4-N(N'-бензилоксикарбоніл- α -пролін)амінофеніл]-10,15,20-трифенілпорфірин (VI). Отримували аналогічно сполуці (V) з 0.14 г ($2.2 \cdot 10^{-4}$ моль) сполуки (I), 0.14 г ($5.8 \cdot 10^{-4}$ моль) N-бензилоксика-

рбоніл- α -проліна та 0.126 г ($6.1 \cdot 10^{-4}$ моль) дициклогексилкарбоді-іміда у 60 мл хлороформа. Вихід 0.13 г (68.42%). R_f 0.30 (ацетон-гексан, 1:2). ПМР спектр (δ , м. д.): 8.80 м (8Н, β -пірол.), 8.14 м (8Н, о-феніл.), 7.71 м (11Н, м-, п-феніл.), 7.62 м (5Н, бензил), 3.84 уш. с (1Н, NH), 3.65 с (2Н, CH_2), 2.62 м , 2.17 м (7Н, пролін), -2.64 уш. с . (NH, центр.). Електронний спектр поглинання (CHCl_3), $\lambda_{\text{макс}}$ ($\lg \epsilon$), нм: 420 (5.22), 516 (4.37), 551 (3.81), 590 (3.57), 646 (3.33). Мас-спектр, m/z : (M^+) 860 , $M_{\text{розрах}}$ 861.38 . Елементний аналіз. Знайдено, %: С 79.28 , Н 5.60 , N 9.40 . Формула $\text{C}_{57}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_3$. Розраховано, %: С 79.59 , Н 5.12 , N 9.76 .

5[4-N(N'-бензилоксикарбоніл- α -аланін)амінофеніл]-10,15,20-трифенілпорфі-натомідь (VII). Отримували аналогічно кон'югату (V) з 0.2 г ($2.9 \cdot 10^{-4}$ моль) мідного комплексу (III), 0.2 г ($9.0 \cdot 10^{-4}$ моль) N-бензилоксикарбоніл- α -аланіна та 0.18 г ($8.7 \cdot 10^{-4}$ моль) дициклогексилкарбодііміда у 60 мл хлороформа. Вихід 0.2 г (77.2%). R_f 0.32 (ацетон-гексан, 1:2). Електронний спектр поглинання (CHCl_3), $\lambda_{\text{макс}}$ ($\lg \epsilon$), нм: 416 (5.60), 548 (4.28), 577 пл (3.21). Мас-спектр, m/z : (M^+) 896 , $M_{\text{розрах}}$ 897.87 . Елементний аналіз. Знайдено, %: С 79.00 , Н 5.00 , N 9.00 . Формула $\text{C}_{55}\text{H}_{41}\text{CuN}_6\text{O}_3$. Розраховано, %: С 79.59 , Н 4.57 , N 9.36 .

5[4-N(N'-бензилоксикарбоніл- α -пролін)амінофеніл]-10,15,20-трифенілпорфі-натомідь (VIII). Отримували аналогічно сполуці (V) з 0.14 г ($2.0 \cdot 10^{-4}$ моль) мідного комплексу (III), 0.14 г ($6.1 \cdot 10^{-4}$ моль) N-бензилоксикарбоніл- α -проліна та 0.126 г ($6.1 \cdot 10^{-4}$ моль) дициклогексилкарбодііміда у 60 мл хлороформа. Вихід 0.18 г (96.3%). R_f 0.56 (ацетон-гексан, 1:2). Електронний спектр поглинання (CHCl_3), $\lambda_{\text{макс}}$ ($\lg \epsilon$), нм: 416 (5.60), 540 (4.10), 570 пл (3.00). Мас-спектр, m/z : (M^+) 922 , $M_{\text{розрах}}$ 922.90 . Елементний аналіз. Знайдено, %: С 74.40 , Н 4.50 , N 9.21 . Формула $\text{C}_{57}\text{H}_{42}\text{CuN}_6\text{O}_3$. Розраховано, %: С 74.19 , Н 4.56 , N 9.11 .

2-N(N'-бензилоксикарбоніл- α -пролін)-аміно-5,10,15,20-тетра-(6-хінолініл)-порфірин (IX). Отримували аналогічно сполуці (V) з 0.05 г ($6.1 \cdot 10^{-5}$ моль) 2-аміно-5,10,15,20-тетра-(6-хінолініл)порфірина (II), 0.05 г ($2.2 \cdot 10^{-4}$ моль) N-бензилоксикарбоніл- α -проліна та 0.041 г ($2.0 \cdot 10^{-4}$ моль) дициклогексилкарбодііміда у 30 мл хлороформа. Вихід 0.03 г (50%). R_f 0.30 (хлороформ-ацетон-метанол, 5:1:0.3). ПМР спектр (δ , м. д.): 9.18 м (4Н, 2-хінолін.), 8.81 м , 8.64 м , 8.47 м (22Н, 7,8,12,13,17,18-пірол, 4,5,7,8-хінолін.), 7.65 м (10Н, 3-пірол, 3-хінолін, феніл), 3.71 с (2Н, CH_2 -бензильн.), 3.82 уш. с (1Н, NH), 2.62 м , 2.17 м (7Н, пролін), -2.45 уш. с . (NH, центр.). Електронний спектр поглинання (CHCl_3), $\lambda_{\text{макс}}$ ($\lg \epsilon$), нм: 421 (5.0), 520 (4.14), 550 (3.88), 600 (3.61), 648 (3.35). Мас-спектр, m/z : (M^+) 1065 , $M_{\text{розрах}}$ 1065.21 . Елементний аналіз. Знайдено, %: С 77.50 , Н 5.00 , N 13.00 . Формула $\text{C}_{69}\text{H}_{48}\text{N}_{10}\text{O}_3$. Розраховано, %: С 77.82 , Н 4.51 , N 13.16 .

2-N(N'-бензилоксикарбоніл- α -пролін)-аміно-5,10,15,20-тетра-(6-хінолініл)-порфінатомідь (X). Отримували аналогічно сполуці (V) з 0.1 г ($1.1 \cdot 10^{-4}$ моль) 2-аміно-5,10,15,20-тетра-(6-хінолініл)порфінатоміді (IV), 0.1 г ($4.2 \cdot 10^{-4}$ моль) N-бензилоксикарбоніл- α -проліна

та 0.082 г ($4.0 \cdot 10^{-4}$ моль) дициклогексилкарбодііміда у 40 мл хлороформа. Нагрівали 7 годин. Вихід 0.065 г (52%). R_f 0.36 (хлороформ-ацетон-метанол, 5:1:0.3). Електронний спектр поглинання (CHCl_3), $\lambda_{\text{макс}}$ ($\lg \epsilon$), нм: 425 (4.97), 540 (4.02), 580 (3.22). Мас-спектр, m/z : (M^+) 1126, $M_{\text{розрах}}$ 1126.73. Елементний аналіз. Знайдено, %: С 73.50, Н 4.30, N 12.20. Формула $\text{C}_{69}\text{H}_{46}\text{CuN}_{10}\text{O}_3$. Розраховано, %: С 73.53, Н 4.08, N 12.43.

2-N(N'-бензилоксикарбоніл- α -аланін)-аміно-5,10,15,20-тетра-(6-хінолініл)-порфінатомідь (XI). Отримували аналогічно сполуці (V) з 0.1 г ($1.1 \cdot 10^{-4}$ моль) 2-аміно-5,10,15,20-тетра-(6-хінолініл)порфінатоміди (II), 0.1 г ($4.5 \cdot 10^{-4}$ моль) N-бензилоксикарбоніл- α -аланіна та 0.09 г ($4.4 \cdot 10^{-4}$ моль) дициклогексилкарбодііміда у 70 мл хлороформа. Нагрівали 2–3 години. Вихід 0.060 г (48.7%). R_f 0.46 (хлороформ-ацетон-метанол, 5:1:0.3). Електронний спектр поглинання (CHCl_3), $\lambda_{\text{макс}}$ ($\lg \epsilon$), нм: 422 (5.06), 543 (4.11), 582(3.34). Мас-спектр, m/z : (M^+) 1100, $M_{\text{розрах}}$ 1100.69. Елементний аналіз. Знайдено, %: С 73.00, Н 4.50, N 12.52. Формула $\text{C}_{67}\text{H}_{44}\text{CuN}_{10}\text{O}_3$. Розраховано, %: С 73.00, Н 4.00, N 12.72.

Література

1. Комплексы порфиринов с нуклеиновыми кислотами типа гость-хозяин: каналы дезактивации энергии электронного возбуждения порфиринов и взаимодействие с молекулярным кислородом / Б. М. Джагаров, Н. Н. Крук, В. С. Чирвоный, В. А. Галиевский, П. И. Турпен // В кн.: Успехи химии порфиринов Т. 2. — СПб.: НИИ Химии СПбГУ. — 1999. — С. 50–69.
2. Порфирины и их производные. XX. Синтез и свойства 2-нитро-5,10,15,20-тетрагетерилпорфиринов / С. В. Водзинский, В. Л. Малиновский, Ю. В. Ишков, З. И. Жилина, А. М. Кириченко // Журн. Органич. Химии. — 1998. — Т. 34, № 6. — С. 933–936.
3. Synthesis and reaction of meso-(p-nitrophenyl)porphyrins / R. Luguay, L. Jaquinod, F. R. Froncsek, M. G. N. Vicente, K. M. Smith // Tetrahedron. — 2004. — Vol. 60. — P. 2757–2763.
4. Hombrecht H. K., Cherdau V. M., Ohm S. Synthesis and electrochemical investigation of b-alkyloxy substituted meso-tetraphenylporphyrins. — 1993. — Vol. 49, N 38. — P. 8569–8578.
5. Rothmund P., Menotti A. R. Porphyrin Studies. IV. The synthesis of a,b,g, d-tetraphenylporphyrine // J. Amer. Chem. Soc. — 1941. — Vol. 41, N 1. — P. 267–270.
6. Климова В. А. Основные микрометоды анализа органических соединений. — М.: Химия, — 1967. — 208 с.

**З. І. Жилина, Ю. В. Ишков, А. М. Кириченко, С. В. Водзинский,
А. В. Мазепа**

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
Проблемная научно-исследовательская лаборатория
синтеза лекарственных препаратов,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

КОНЪЮГАЦИЯ МЕЗО-ЗАМЕЩЕННЫХ ПОРФИРИНОВ С АМИНОКИСЛОТАМИ

Резюме

Конденсацией аминопроизводных мезо-замещенных порфиринов с α -аланином и α -пролином получены конъюгаты порфиринов с этими аминокислотами. Их состав и строение доказаны при помощи физико-химических методов анализа.

Ключевые слова: порфирин, металлокомплекс, аланин, пролин, реакция.

**Z. I. Zhilina, Yu. V. Ishkov, A. M. Kirichenko, S. V. Vodzinskii,
A. V. Mazepa**

Odessa National University, Research Laboratory of drug design,
Dvoryanskaja Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine,

CONJUGATION OF MESO-SUBSTITUTED PORPHYRINS WITH AMINOACIDS

Summary

The conjugates of meso-substituted porphyrins with α -alanine, and α -proline were obtained by condensation of aminoderivatives of meso-substituted porphyrins with these aminoacids. The structures of conjugates were proved by various physico-chemical analyses.

Keywords: porphyrin, metallocomplex, alanine, proline, reaction.