

УДК 547.979.733

Ю.В. Ішков¹, Б.М. Галкін¹, Г.М. Кириченко¹, С.В. Водзінський¹, О.В. Мазепа², Є.С. Кісель¹

¹Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Проблемна науково-дослідна лабораторія синтезу лікарських препаратів (ПНДЛ-5), вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна. E-mail: jvi@eurocom.od.ua

²Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна

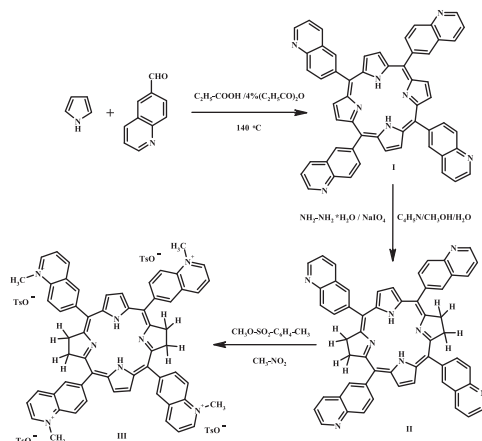
СИНТЕЗ ВОДОРОЗЧИННОГО БАКТЕРІОХЛОРИНУ

Відновленням мезо-тетра(6-хінолініл)порфірину за допомогою діїмиду, отриманого при окисленні гідразин-гідрату періодатом натрію у середовищі піридин-метанол-вода був синтезований відповідний бактеріохлорин, який був переведений у водорозчинну форму кватернізацією периферійних мезо-замісників метиловим естером *пара*-толуолсульфоїкислоти у нітрометані в інертній атмосфері.

Порфіринові сполуки активно досліджуються у якості сенсibilізаторів для фотодинамічної терапії (ФДТ) онкологічних захворювань [1], фотодинамічної інактивації (ФДІ) шкідливих мікроорганізмів [2], а також при лікуванні вікової дистрофії сітківки ока [3]. Вже отримані клінічно випробувані ліки, такі, як Фототрін, Фотолон, Фотодитазін, тощо [4]. Природа фотодинамічного ефекту полягає у знищенні клітин пухлини або бактерій оброблених сенсibilізаторами під дією світла з певною довжиною хвилі, яка залежить від максимуму поглинання сенсibilізатора. На відміну від власне порфіринів, максимум поглинання відновлених порфіринів – хлоринів, або дигідропорфіринів, лежить біля 670 нм, а бактеріохлоринів, або тетрагідропорфіринів – біля 760 нм, поблизу інфрачервоного регіону, де поглинання випромінювання оточуючими біологічними тканинами є мінімальним. Зрозуміло, що водорозчинні форми таких сполук значно полегшують працю з біологічними рідинами. Ще в 1999 році німецькими дослідниками був запатентований спосіб отримання цілком синтетичного 5,10,15,20-тетракіс(N-метил-3-піридил)-2,3,12,13-тетрагідро порфірина тетратозилата (THPTS), який актив досліджується у ФДТ та ФДІ [5]. Проте в прикладі синтезу з цього паянту приводиться лише метод отримання водорозчинної форми THPTS, заснований, до речі, на нашому авторському свідоцтві [6], присвяченому отриманню водорозчинних форм порфіринів, і зовсім нічого не повідомляється про власне відновлення вихідної порфіринової структури.

У цій роботі ми повідомляємо про синтез нового синтетичного водорозчинного бактеріохлорину – 5,10,15,20-тетракіс(N-метил-6-хінолініл)-2,3,12,13-тетрагідро порфірину тетратозилату, який також передбачається досліджувати у якості сенсibilізатора для ФДТ та ФДІ.

Вихідну сполуку – 5,10,15,20-тетра(6-хінолініл)порфірин (I) синтезували конденсацією піролу з хінолін-6-карбальдегідом в умовах, описаних в роботі [7]. З літератури відомо, що серед великої кількості відновлюючих реагентів найбільш популярним та зручним для часткового відновлення порфіринів до хлоринів та бактеріохлоринів є діїмід [8]. Оскільки діїмід є нестійкою сполукою, для отримання позитивних результатів відновлення дуже велике значення має спосіб його генерування *in situ*.



Для відновлення порфірину (I) ми випробували декілька способів генерації діміду – суміш тозилгідразину з поташем у піридині [9], гідразин-гідрат – кисень повітря – піридин [10], гідразин-гідрат – перекис водню – піридин [11], гідразин-гідрат – окис ртуті – піридин [12], гідразин-гідрат – іодат натрію – піридин [13]. Було знайдено, що серед випробуваних способів найкращі виходи бактеріохлорину (II) дає останній, але головною проблемою при його використанні було те, що додавання водного розчину іодату натрію призводило до висадження усіх макроциклічних продуктів з реакційної суміші. Щоб протидіяти цьому процесу ми додавали до реакційної суміші метанол та проводили реакцію при температурі кипіння останнього. Однак, зовсім запобігти висадженню продуктів з реакційної суміші нам все-таки не вдалося. Отже, для повної конверсії порфірину (I) у бактеріохлорин (II) треба було повторювати процес відновлення двічі.

Будову бактеріохлорину (II) доводили за допомогою УФ- та ПМР-спектроскопії та мас-спектрометрії. Так, електронний спектр бактеріохлорину (II) значно відрізнявся від спектру вихідного порфірину (I) наявністю характерної інтенсивної смуги поглинання біля 760 нм, кількістю та інтенсивністю смуг у інтервалі 350-700 нм. У його ПМР спектрі були характерні сигнали протонів відновлених подвійних зв'язків порфірину при 4.18 м.д., сигнали центральних NH-протонів були зміщені на 1.2 м.д. у слабке поле, β -пірольних протонів на 0.7 м.д. у сильне поле через часткове порушення планарності ароматичного макроциклу та зменшення ароматичного кільцевого струму. Нарешті, мас-спектр сполуки (II) містив молекулярний іон зі значенням $m/z = 822$, що свідчило про приєднання чотирьох атомів водню до молекули вихідного порфірину (I).

Для запобігання окиснення чутливого бактеріохлорину (II) його водорозчинну форму (III) отримували кватернізацією атомів азоту периферійних *мезо*-хіно лінійних нізамісників метиловим естером *пара*-толуолсульфоїкислоти у нітрометані у інертній атмосфері.

Отже, нами практично доведена можливість отримання цілком синтетичного відносно стабільного водорозчинного бактеріохлорину (III), біологічні дослідження якого планується розпочати у найближчий час.

Експериментальна частина

Сpektри ПМР вимірювали на спектрометрі DPX-300 фірми «Brucker» з робочою частотою 300.13 МГц, внутрішній стандарт - ТМС, розчинник CDCl_3 . Мас-спектри FАВ записані на приборі VС 7070 EQ. Десорбцію іонів здійснювали пучком атомів ксенону з енергією 8 kV з

матриці, яка є розчином сполуки, що досліджується, у 3-нітробензиловому спирті. Точні маси молекулярних іонів визначалися при роздільній здатності мас-спектрометра 10000. Електронні спектри поглинання записані на спектрофотометрі Specord M-40 у CHCl_3 (с 10^{-5} моль/л). ТШХ здійснювали на платівках Silufol UV-254, для колонкової хроматографії використовували окис алюмінію III ступеню активності.

5,10,15,20-тетра(6-хінолініл)порфірин (I). До киплячого розчину 23 г (0.146 моль) хінолін-6-карбальдегіду у 620 мл пропіонової кислоти додавали 24 мл пропіонового ангідриду, 9.8 г (10.1 м, 0.146 моль) піролу та суміш кип'ятили протягом 1 год. Потім розчинник упарювали досуха на роторному випаровувачі, залишок кип'ятили з 200 мл води, фільтрували гарячим, сушили та розчиняли у мінімальній кількості хлороформу. Хлороформний розчин поміщали у хроматографічну колонку з окисом алюмінію (3 x 45 см) та елюювали сумішшю хлороформ-метанол, 25:1. Елюат, який містив порфірин (I), об'єднували, упарювали та кристалізували з суміші хлороформ-метанол, 1:1. Вихід 5.78 г (19.3%). R_f 0.55 (хлороформ-метанол, 10:1). ПМР спектр (δ , м. д.): 9.12 д. д. (4H, 2-хінолін), 8.78 с (8H, 2,3,7,8,12,13,17,18-порфірин), 8.62 м (4H, 7-хінолін), 8.52 м (4H, 5-хінолін), 8.40 м (4H, 8-хінолін), 8.24 м (4H, 4-хінолін), 7.55 м (4H, 4-хінолін), -2.60 уш. с (2H, NH). Електронний спектр, $\lambda_{\text{макс}}$ (lg ϵ): 648 (3.54), 591 (3.78), 553 (4.06), 519 (4.35), 424 (5.76). Мас-спектр, m/z: (M^+) 818.

5,10,15,20-тетра(6-хінолініл)-2,3,12,13-тетрагідропорфірин (II). Розчин 1.3 г ($1.59 \cdot 10^{-3}$ моль) порфірину (I) у суміші 60 мл піридину та 40 мл метанолу в ат.мосфері аргону доводили до кипіння, додавали 30 мл гідразин-гідрату та протягом 100 хв додавали нагрітий до 95 °С розчин 25 г (0.117 моль) періодату натрію та 1 мл концентрованої соляної кислоти у 200 мл води, підтримуючи безперервне кипіння реакційної суміші, потім кип'ятили ще 10 хв, охолоджували до 60 °С та виливали у 1.7 л крижаної води, яка містила 20 г Na_2SO_3 . Осад, який випадав, відфільтровували, промивали водою, сушили. Отримували 1.040 г сухого продукту, який містив приблизно 60% бактеріохлорину (згідно даних електронної спектроскопії). Процедуру відновлення повторювали з тією ж кількістю реагентів, відстежуючи момент закінчення відновлення по зникненню смуги поглинання хлорину при 675 нм. Вихід — 0.815 г (62.4%). R_f 0.17 (хлороформ-метанол, 10:1). ПМР спектр (δ , м. д.): 9.14 д. д. (4H, 2-хінолін), 8.65 м (4H, 7-хінолін), 8.48 м (4H, 5-хінолін), 8.38 м (4H, 8-хінолін), 8.26 м (4H, 4-хінолін), 8.08 с (4H, 7,8,17,18-порфірин), 7.52 м (4H, 4-хінолін), 4.18 д (8H, 2,3,12,13-порфірин), -1.46 уш. с (2H, NH). Електронний спектр, $\lambda_{\text{макс}}$ (lg ϵ): 763 (4.41), 511 (3.51), 386 (4.26), 366 (4.28). Мас-спектр, m/z: (M^+) 822.

5,10,15,20-тетракис(N-метил-6-хінолініл)-2,3,12,13-тетрагідропорфірин тетратозилат (III). До розчину 0.5 г ($6.08 \cdot 10^{-4}$ моль) бактеріохлорину (II) у 25 мл нітрометану додавали 1 г ($5.38 \cdot 10^{-3}$ моль) метилтозилату та кип'ятили у атмосфері аргону протягом 1 год, потім додавали 0.5 г ($2.69 \cdot 10^{-3}$ моль) метилтозилату, кип'ятили ще 1 год, охолоджували, розчинник упарювали, осад добре промивали сумішшю нітрометан-бензол, 1:2 та сушили на повітрі. Вихід — 0.795 г (83.5%). Електронний спектр у воді, $\lambda_{\text{макс}}$ (lg ϵ): 761 (4.22), 513 (3.39), 390 (4.06), 372 (4.02).

Література

1. Ethirajan M., Chen Y., Joshi P., Pandey R. K. The role of porphyrin chemistry in tumor imaging and photodynamic therapy // Chem. Soc. Rev. – 2011. – Vol. 40, № 1. – P. 340-362.
2. Gomes M.C., Woranovicz-Barreira S.M., Faustino M.A.F., Fernandes R., Neves M.G.P.M.S., Tomé A.C., Gomes N.C.M., Almeida A., Cavaleiro J.A.S., Ângela Cunha A., Tomé J.P.C. Photodynamic inactivation of *Penicillium chrysogenum* conidia by cationic porphyrins // Photochem. Photobiol. Sci. – 2011. – Vol.10, № 11. – P.1735-1743.
3. Arnold J., Bressler N.M. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular

- degeneration with verteporfin // Arch Ophthalmol. – 2001. – Vol. 119, № 2. – P.198-207.
4. Macdonald J.I., Dougherty T.J. Basic principles of photodynamic therapy // J. Porphyrins Phtalocyanines. – 2001. – Vol. 5, № 2. – P. 105-129.
 5. Schastak S., Shulga A., Berr F., Wiedemann P. New porphyrins and their use // Patent PCT/EP99/02228 (WO99/50269). – Int. Cl.⁶ C07D 487/22 — 31.03.1999.
 6. Водзинский С.В., Жилина З.И., Андронати С.А. // Способ получения тетраэзоильной соли мезо-тетракис(Н-метил-4-пиридил)порфирина / А. с. № 1521211 (СССР). МКИ⁴ C07D 487/22. Б.И. 1990. № 5.
 7. Водзинский С.В., Жилина З.И., Петренко Н.Ф., Андронати С.А., Грушевая Ж.В. Порфирины и их производные. IX. Синтез и свойства водорастворимых изомерных хинолинилпорфиринов // Журн. Органич. химии. – 1989. – Т. 25, № 7. – с. 1529-1533.
 8. Whitlock H.W., Hanauer M.Y.O., Bower B.K. Diimide reduction of porphyrins // J. Amer. Chem. Soc. - 1969. - Vol. 91, № 26. - P. 7485-7489.
 9. Cusack N.J., Reese C.B., Risius A.C., Rooseipekar B. 2,4,6-Tri-isopropylbenzenesulphonyl hydrazide. A convenient source of di-imide // Tetrahedron. – 1976. - Vol. 32, № 17. – P. 2157-2162.
 10. Wilt J.W., Gutman G., Ranus W.J., Zigman A.R. Studies of benzonorbornene and derivatives. I. Chloro- and bromobenzonorbornenes and related compounds // J. Org. Chem. – 1967. – Vol.32, № 4. – P.893-901.
 11. Hünig S., Müller H.-R., Thier W. Reductionen mit Diimid // Tetrahedron Lett. – 1961. – Vol.2, № 11. – P.353-357.
 12. vanTamelon E.E., Dewey R.S., Timmons R.J. The reduction of olefins by means of azodicarboxylic acid *in situ* // J. Amer.Chem. Soc. – 1961. – Vol.83, № 17. – P.3725-3726.
 13. Hoffman J.M., Schlessinger R.H. Sodium metaperiodate: a mild oxidizing agent for the generation of di-imide from hydrazine // J. Chemical. Soc. D, Chem. Commun. – 1971. - № 20. – P. 1245-1246.

Ю.В. Ишков¹, Б.Н. Галкин¹, А.М. Кириченко¹, С.В Водзинский¹, А.В. Мазепа², Е.С. Кисель¹

¹Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Проблемная научно-исследовательская лаборатория синтеза лекарственных препаратов (ПНИЛ-5), ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина. E-mail: jvi@eurocom.od.ua

²Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины, Люстдорфская дорога, 86, г. Одесса, 65080, Украина

СИНТЕЗ ВОДОРАСТВОРИМОГО БАКТЕРИОХЛОРИНА

Восстановлением мезо-тетра(6-хинолинил)порфирина при помощи диимида, полученного при окислении гидразин-гидрата периодатом натрия в среде пиридин-метанол-вода был синтезирован соответствующий бактеріохлорин, который был переведен в водорастворимую форму кватернизацией периферийных мезо-заместителей метиловым эфиром пара-толуолсульфокислоты в нитрометане в инертной атмосфере.

Ключевые слова: бактеріохлорин, порфирин, диимид, кватернизация

Yu.V. Ishkov¹, B.N.Galkin¹, G.M. Kirichenko¹, S. V. Vodzinski¹, A.V. Mazepa², E.S. Kisel¹

I.I. Mechnikov Odessa National University, Research Laboratory for Drug Design (PNIL-5), Ukraine, Odessa, 65082, Dvorjanskaja Str., 2

E-mail: jvi@eurocom.od.ua

A.V. Bogatsky Physico-Chemical institute NAS Ukraine, Ukraine, 65080, Odessa, Lustdorsfskaya doroga, 86

SYNTHESIS OF WATER SOLUBLE BACTERIOCHLORINE

Reduction of meso-tetra(6-quinoliny)porphyrine by diimide, which was obtained by oxidation of hydrazine-hydrate by sodium periodate in mixture pyridine-methanol-water, lead to corresponding bacteriochlorine, which was transformed in water soluble form by quaternization of peripheric substituents by methyl ester of *para*-toluenesulphonic acid in inert atmosphere.

Key words: bacteriochlorine, porphyrin, diimide, quaternization