



## СИНТЕЗ ДИПОРФИРИНОВЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНА, СОЕДИНЕННЫХ ПЕПТИДНЫМИ СПЕЙСЕРАМИ

© 2000 г. Н. В. Коновалова, Н. А. Караваева, А. А. Грибков, В. Н. Лузгина, Р. П. Евстигнеева<sup>#</sup>

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, 117571, Москва, просп. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 14.05.99 г. Принята к печати 03.08.99 г.

На основе производных тетрафенилпорфирина синтезированы дипорфириновые системы, соединенные между собой дипептидным и трипептидным спейсерами, включающими остатки глицина и фенилаланина. Исследованы физико-химические свойства полученных соединений.

*Ключевые слова:* фотосинтез; тетрафенилпорфирин; аминокислоты; пептиды; дипорфириновые структуры.

Пигмент-белковые комплексы составляют основу реакционных центров природных фотосинтетических систем [1]. Взаимодействия пигментов с белковым окружением влияют на фотохимические характеристики процесса фотосинтеза [2]. Известно также, что пространственная структура молекул белка обеспечивает определенное взаимное расположение хромофоров в пространстве, необходимое для осуществления электронного и энергетического переноса [3]. Кроме того, вторичная структура полипептидных цепей оказывает влияние на скорость и эффективность этих процессов [4].

Моделирование пигмент-белковых взаимодействий предоставляет возможность для установления путей и механизмов переноса энергии и электрона в ходе природного фотосинтетического процесса. С этой целью создаются синтетические дипорфириновые системы, в которых тетрапиррольные кольца ковалентно связаны пептидными спейсерами [5–7].

В продолжение проводимых нами исследований [8] синтезирован ряд моно- и дипорфириновых структур, ковалентно связанных с аминокислотами и пептидами. Для создания дипорфиринов на основе 2-(2-карбоксивинил)-5,10,15,20-тетрафенилпорфирина (I) были получены диады, содержащие остатки глицина (II), а также дипептида Gly-Phe (VI).

Для создания амидной связи в соединениях (II) и (V) использовали DCC-метод. Выходы на стадии конденсации составили 61 и 73% соответственно.

<sup>#</sup> Автор для переписки (тел.: (095) 434-86-78, e-mail: evstigneeva@httos.mitht.msk.ru).

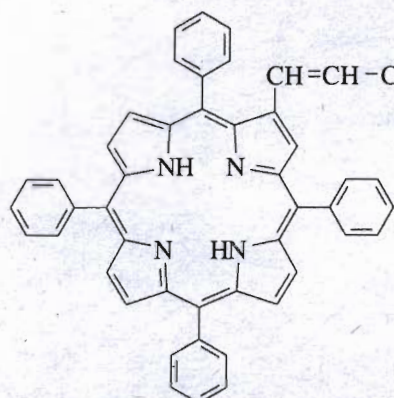
При получении диады (II) в качестве побочных продуктов были выделены порфириновые производные *N*-ацилизодициклогексилмочевины (VII) и (VIII), образующиеся в результате взаимодействия порфиринов (I) и (III) с DCC, что было подтверждено данными масс-спектрометрии. Гидролиз сложноэфирных групп в диадах (II) и (V) проводили раствором гидроксида калия в метаноле с выходом кислот (III) и (VI) 68 и 65% соответственно.

Полученное соединение (VI), а также описанные ранее диады (IV) и (IX) [8] использовали для создания дипорфириновых структур (X) и (XI), в которых макроциклы соединены между собой дипептидным и трипептидным спейсерами соответственно (схема). Соединения (X) и (XI) были получены с применением DCC-метода с выходом 33 и 16% соответственно.

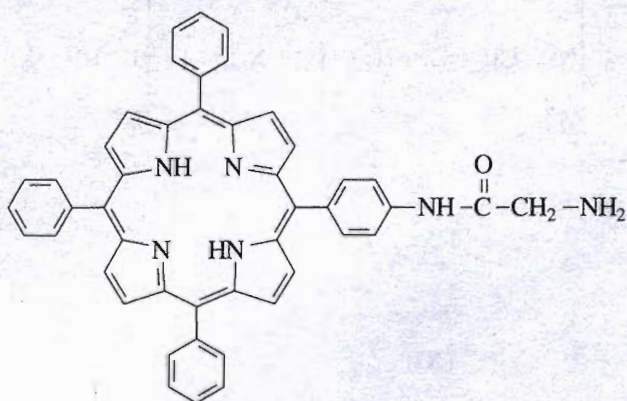
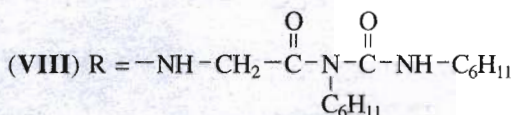
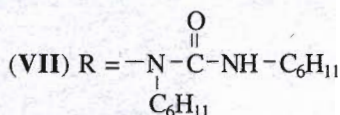
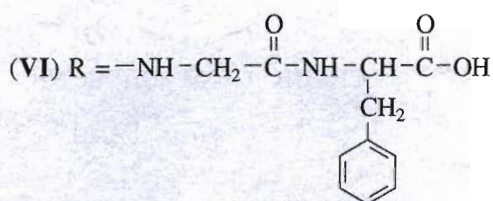
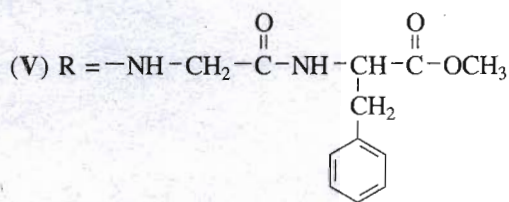
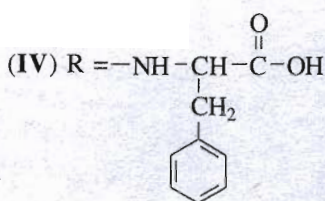
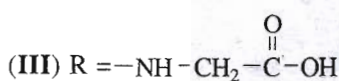
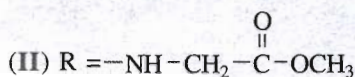
Строение всех полученных соединений подтверждено данными электронной, ИК-, <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. В электронных спектрах производных (II), (III), (V) и (VI) наблюдался сдвиг максимумов поглощения в коротковолновую область по сравнению со спектром исходного порфирина (I). В ИК-спектрах соединений (II) и (V) присутствовали полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям карбонильных групп сложноэфирных и амидных связей. В ИК-спектрах диад (III) и (VI) отмечено исчезновение полос поглощения, относящихся к валентным колебаниям карбонила сложноэфирных связей, и появление полос, соответствующих валентным колебаниям кислотного карбонила.

В масс-спектре соединения (X) присутствовал пик молекулярного иона (*m/z* 1501) низкой ин-





(I) R = OH



(IX)

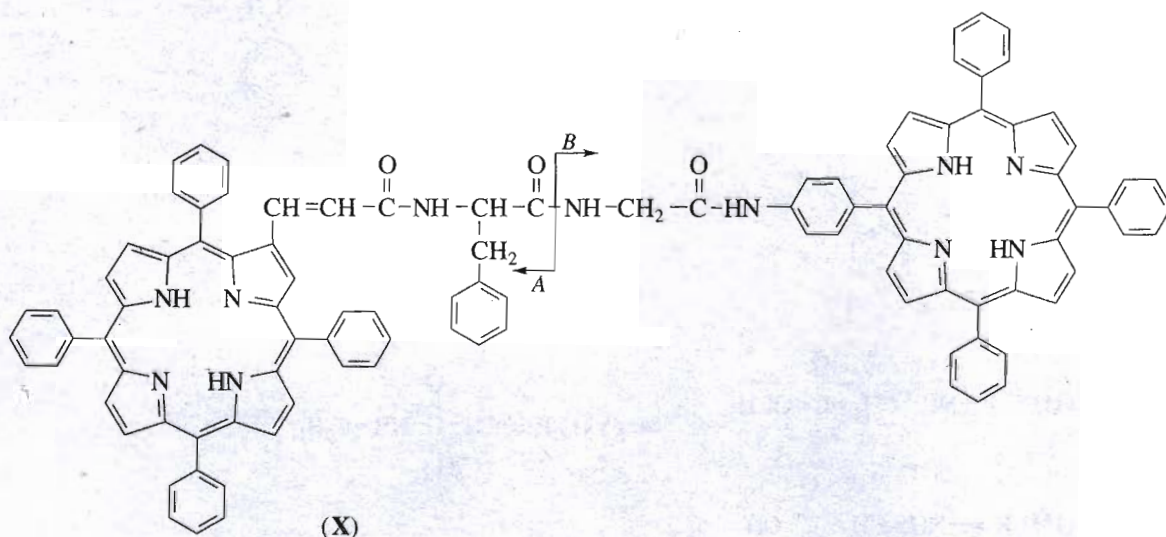
тенсивности. В случае дипорфириновой системы (XI) сигнал, соответствующий молекулярному иону, зафиксировать не удалось. Подтверждение структуры полученных дипорфиринов (X) и (XI) осуществляли по фрагментным ионам (см. схему и таблицу).

В масс-спектре соединения (X) наблюдались два фрагментных иона, соответствующих расщеплению молекулы по пептидной связи Phe-Gly. В случае соединения (XI) при увеличении длины пептидного мостика расщепление происходило по

двум участкам с образованием серии фрагментных ионов A-D (схема). Наблюдаемые закономерности фрагментации аналогичны результатам, полученным нами ранее при исследовании физико-химических характеристик дипорфириновых структур с аминокислотными и пептидными мостиками в условиях полевой десорбции [8].

С помощью компьютерного моделирования (программа "Autodesk HyperChem" версий 2.0 и 3.0) методом силового поля MM<sup>+</sup> определена предпочтительная конформация дипорфириновой сис-

(IV) + (IX)



(VI) + (IX)

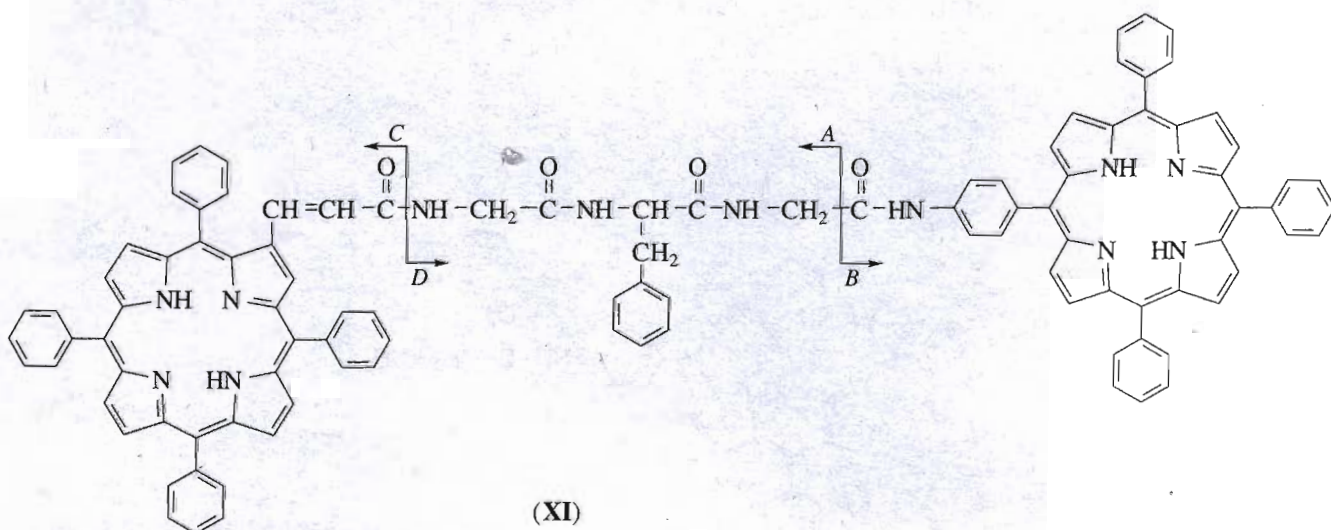


Схема. Схема синтеза соединений (X) и (XI) и их фрагментация в масс-спектрах.

темы, содержащей в качестве спейсера трипептид Gly-Phe-Gly (XI). Вследствие сложности молекулы и гибкости ковалентного мостика, при определении геометрии молекулы учитывалось свободное вращение вокруг ковалентных связей спейсера. Расчет конформации с наименьшей энергией осуществляли последовательным изменением (от 0 до 350° с шагом 10°) пары торсионных углов  $\alpha_1$  и  $\alpha_2$  ковалентного мостика для нахождения областей с наименьшей энергией. После оптимизации полученной конформации при

помощи метода Ньютона-Рафсона [9] (градиент 0.01 ккал/(Å моль)) те же расчеты проводились для следующей пары торсионных углов. Окончательная оптимизация молекулярной структуры осуществлялась при помощи метода Флитчера-Ривса [9] (с тем же градиентом). Общая энергия молекулы составила 151.52 ккал/моль, тогда как начальная (определенная без оптимизации торсионных углов) – 162.05 ккал/моль. Проведенные расчеты показали, что в предпочтительной конформации димера фенольная группа остатка фе-



Масс-спектры соединений (X) и (XI)

Соединение	Молекулярный ион, $m/z$ ( $I_{отн}$ , %)	Фрагментные ионы, $m/z$ ( $I_{отн}$ , %)			
		A <sup>+</sup>	B <sup>+</sup>	(C-H) <sup>+</sup>	(D + H) <sup>+</sup>
(X)	1501 (1.1)	815 (15.6)	686 (3.2)	—	—
(XI)	—	901 (100)	657 (32)	667 (13.3)	891 (100)

нилаланина отстоит от плоскости одного из порфиринов на 6.02 Å. Два порфириновых макроцикла практически перпендикулярны друг другу и расстояние между ними составляет 11.3–11.5 Å (рисунок).

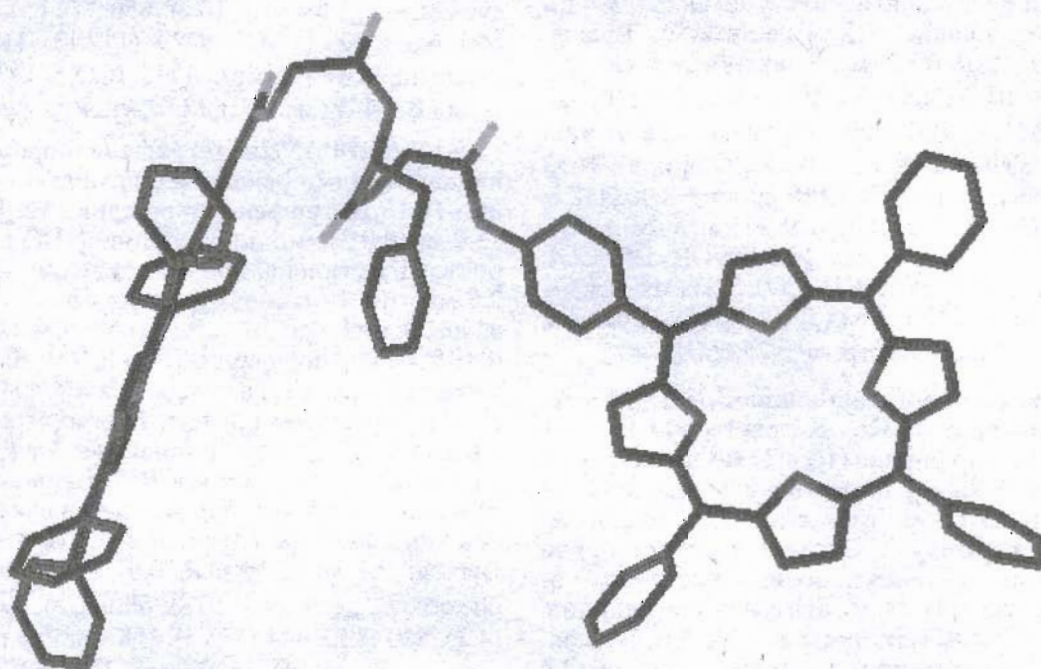
Предыдущие исследования фотоактивных дипорфириновых соединений показали, что при подобной конформации молекулы в системе может протекать фотоиндуцируемый перенос энергии. Так, в димерном ансамбле с углом между порфириновыми плоскостями около 90° и расстоянием "центр–центр", равным приблизительно 22.5 Å, внутримолекулярный синглетный энергетический перенос происходил со скоростью  $9 \times 10^8 \text{ c}^{-1}$  и эффективностью 60% [10]. Критическое расстояние для осуществления переноса энергии через пространство, согласно теории Форстера, составляет около 24 Å [11]. Полученные результаты расчетного определения предпочтительного взаимного расположения и расстояния между хромофорами в соединении (XI) позволяют предположить, что в данной дипорфириновой системе также может происходить процесс энергетического

переноса от одного порфиринового макроцикла к другому. В дальнейшем предполагается исследовать фотохимические свойства полученных соединений, о чем будет сообщено в последующих публикациях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2-(2-Карбокси)винил-5,10,15,20-тетрафенилпорфирин (I) получен по ранее описанной методике [12, 13]. 2-[2-(Фенилаланино)карбонил]винил-5,10,15,20-тетрафенилпорфирин (IV) и 5-[*n*-(*N*-глицил)аминофенил]-10,15,20-трифенилпорфирин (IX) синтезированы методами, описанными в работе [8].

В работе использовали аминокислоты *L*-ряда фирмы "Reanal". Синтезы осуществляли в безводных растворителях. Хлористый метилен и хлороформ дополнительно перегоняли над поташом. Ход реакций и индивидуальность полученных соединений контролировали методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 (Kavalier) в системах растворителей: эфир–гексан, 4 : 1 (A), эфир–гек-



Предпочтительная конформация соединения (XI).



сан, 1 : 1 (Б), хлороформ–метанол, 9 : 1 (В), хлороформ–метанол, 9 : 0.5 (Г). Очистку полученных веществ проводили колоночной хроматографией и препаративной ТСХ на пластинках (10 × 15 см) с силикагелем L 40/100 (Chemapol), используя те же системы растворителей.

Электронные спектры снимали на приборе Hitachi-557 в хлороформе, ИК-спектры – на спектрофотометре Shimadzu IR-435. <sup>1</sup>H-ЯМР-спектры получены на приборах Bruker MSL-200 (соединения (II) и (X)), Bruker AC-200 (соединение (V)) и Bruker AM-300 (соединение (XI)) для растворов веществ в CDCl<sub>3</sub> (приведены химические сдвиги (δ, м. д.) относительно Me<sub>4</sub>Si). Масс-спектры снимали на спектрометре Varian-Mat-731 методом полевой десорбции (соединения (II) и (X)), на время-пролетном масс-спектрометре МСБХ методом плазменной десорбции (соединения (III), (V), (VI), (VII), (VIII)) и на спектрометре Vision 2000 Thermo Bioanalysis (Finnigan Mat) методом MALDI (соединение (XI)).

**2-[2-(O<sup>α</sup>-Метилглицино)карбонил]винил-5,10,15,20-тетрафенилпорфирин (II).** К раствору 215 мг (1.712 ммоль) хлоргидрата метилового эфира глицина в 22 мл хлороформа прибавляли 0.25 мл (1.799 ммоль) триэтиламина и перемешивали 1 ч. Растворитель удаляли в вакууме. Остаток перерастворяли в 160 мл хлористого метилена, прибавляли при охлаждении 195 мг (0.285 ммоль) порфирина (I) и 67.1 мг (0.325 ммоль) ДСС и перемешивали 2.5 ч. Растворитель удаляли в вакууме. Остаток растворяли в 15 мл толуола и оставляли на 12 ч при 0°C. Выпавший осадок дициклогексилмочевины отделяли, толуол удаляли в вакууме. Остаток очищали препаративной ТСХ в системе А. Выход: 131.1 мг (61%), R<sub>f</sub> 0.78 (В). Электронный спектр, λ<sub>макс</sub>, нм (ε × 10<sup>-3</sup>): 665 (1.5), 600 (1.8), 560 (2.0), 520 (3.6), 425 (311.3). ИК-спектр в вазелиновом масле, ν, см<sup>-1</sup>: 3310 (NH), 1721 (СО сл. эфира), 1653 (амид I), 1596 (амид II). <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр: 8.96 (1H, с, βH), 8.82 (6H, д, J 6 Гц, βH), 8.19 (8H, м, аром.), 7.76 (12H, м, аром.), 7.14 (1H, д, J 15.5 Гц, CH=CH-CO), 6.62 (1H, д, J 15.5 Гц, CH=CH-CO), 5.93 (1H, м, CO-NH), 4.17 (2H, с, CH<sub>2</sub>), 3.83 (3H, с, CH<sub>3</sub>), -2.62 (2H, с, NH порф.). Масс-спектр, m/z: 756 [M]<sup>+</sup>.

**2-[2-(Глицино)карбонил]винил-5,10,15,20-тетрафенилпорфирин (III).** К раствору 131 мг (0.173 ммоль) порфирина (II) в 20 мл хлороформа прибавляли 30 мл 0.2 н. раствора гидроксида калия в метаноле и кипятили смесь 1 ч. Растворитель удаляли в вакууме. Остаток перерастворяли в хлороформе, промывали водным раствором соляной кислоты (рН 3) до нейтральной реакции, затем водой (2 × 50 мл). Экстракт сушили сульфатом натрия, растворитель удаляли в вакууме. Остаток очищали препаративной ТСХ в системе В. Выход: 87.4 мг (68%), R<sub>f</sub> 0.47 (В). Электронный

спектр, λ<sub>макс</sub>, нм (ε × 10<sup>-3</sup>): 660 (1.35), 597 (1.53), 560 (2.3), 521 (3.75), 427 (305.2). ИК-спектр в вазелиновом масле, ν, см<sup>-1</sup>: 3310 (NH), 1707 (СО в СООН), 1624 (амид I), 1552 (амид II). Масс-спектр, m/z: 742 [M]<sup>+</sup>.

**2-[2-(O<sup>α</sup>-Метил-L-фенилаланилглицино)карбонил]винил-5,10,15,20-тетрафенилпорфирин (V).** Получен из 87.4 мг (0.118 ммоль) порфирина (III) и 90 мг (0.417 ммоль) гидрохлорида метилового эфира фенилаланина по описанной для соединения (II) методике. Очистку проводили колоночной хроматографией, элюируя смесью растворителей Г. Фракцию с R<sub>f</sub> 0.78 (система В) подвергали повторной очистке препаративной ТСХ в системе А. Выход: 77.7 мг (73%), R<sub>f</sub> 0.78 (В). Электронный спектр, λ<sub>макс</sub>, нм (ε × 10<sup>-3</sup>): 660.8 (3.69), 599.6 (3.93), 560.6 (4.81), 522.8 (10.99), 428.0 (167.38). ИК-спектр в таблетке KBr, ν, см<sup>-1</sup>: 3028 (NH), 1735 (СО сл. эфира), 1654 (амид I), 1495 (амид II). <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр: 8.81 (7H, м, βH), 8.2 (8H, м, аром. порф.), 7.78 (12H, м, аром. порф.), 7.15 (5H, м, аром. Phe), 7.05 (1H, д, J 15.5 Гц, CH=CH-CO), 6.64 (1H, д, J 15.5 Гц, CH=CH-CO), 5.97 (1H, м, CO-NH-CH<sub>2</sub>), 4.94 (1H, м, CO-NH-CH), 4.02 (1H, м, NH-CH-CH<sub>2</sub>), 3.78 (2H, м, NH-CH<sub>2</sub>-CO), 3.73 (3H, с, CH<sub>3</sub>), 3.16 (2H, м, CH-CH<sub>2</sub>), -2.63 (2H, с, NH порф.). Масс-спектр, m/z: 903 [M]<sup>+</sup>.

**2-[2-(L-Фенилаланилглицино)карбонил]винил-5,10,15,20-тетрафенилпорфирин (VI).** Получен из 70 мг (0.078 ммоль) порфирина (V) по методике, описанной для соединения (III). Условия очистки те же. Выход: 45 мг (65%), R<sub>f</sub> 0.3 (В). Электронный спектр, λ<sub>макс</sub>, нм (ε × 10<sup>-3</sup>): 656.2 (2.65), 599 (4.86), 560 (6.63), 523 (13.51), 428.8 (147.13). ИК-спектр в таблетке KBr, ν, см<sup>-1</sup>: 1717 (СО в СООН), 1645 (амид I), 1441 (амид II). Масс-спектр, m/z: 889 [M]<sup>+</sup>.

**5-[2'-(5',10',15',20'-тетрафенилпорфиринил)винилкарбонил-L-фенилаланилглицил]-D-аминофенил-10,15,20-трифенилпорфирин (X).** К раствору 13.2 мг (0.019 ммоль) порфирина (IX) в 10 мл хлористого метилена при охлаждении прибавляли 2.6 мкл (0.019 ммоль) триэтиламина. Перемешивали 20 мин при 0°C. Затем прибавляли 15.8 мг (0.019 ммоль) порфирина (IV), 10.4 мг (0.077 ммоль) 1-гидроксibenзотриазола и 3.9 мг (0.019 ммоль) ДСС и перемешивали 10 ч. Растворитель удаляли в вакууме. К остатку прибавляли 3 мл этилацетата и оставляли на 12 ч при 0°C. Выпавший осадок отделяли, растворитель удаляли в вакууме. Остаток очищали препаративной ТСХ в системе Б. Выход: 9.4 мг (33%), R<sub>f</sub> 0.67 (Г). Электронный спектр, λ<sub>макс</sub>, нм (ε × 10<sup>-3</sup>): 650 (1.2), 595 (2.6), 555 (4.1), 520 (8.2), 424 (153.5). ИК-спектр в пленке, ν, см<sup>-1</sup>: 1655 (амид I), 1580 (амид II). <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр: 8.8 (15H, м, βH), 8.0–8.2 (16H, м, аром. порф.), 7.72 (28H, м, аром. порф. и Phe), 7.01 (1H, д, J 15.5 Гц,



CH=CH-CO), 6.8 (1H, д, J 15 Гц, CH=CH-CO), 6.0 (1H, м, CO-NH-CH<sub>2</sub>), 5.28 (1H, м, CO-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4.82 (1H, м, CO-NH-CH), 4.26 (1H, м, NH-CH-CH<sub>2</sub>), 3.4 (2H, м, NH-CH<sub>2</sub>), 3.12 (2H, м, CH-CH<sub>2</sub>), -2.65 (4H, с, NH порф.). Масс-спектр, m/z: 1501 [M]<sup>+</sup>, 815, 686.

**5-[2'-(5',10',15',20'-тетрафенилпорфиринил)винилкарбонил-глицил-L-фенилаланилглицил]-L-аминофенил-10,15,20-трифенилпорфирин (XI).** Получен из 17.7 мг (0.02 ммоль) порфирина (VI) и 14.2 мг (0.021 ммоль) порфирина (IX) по методике, описанной для соединения (X). Очистку проводили препаративной ТСХ в системе А. Выход: 5 мг (16%), R<sub>f</sub> 0.24 (А). Электронный спектр, λ<sub>макс</sub>, нм (ε × 10<sup>-3</sup>): 656 (1.2), 598 (4.2), 553 (5.3), 552 (8.5), 427 (116.8). <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр: 8.81 (15H, м, βH), 8.21 (16H, м, аром. порф.), 7.78 (23H, м, аром. порф.), 7.15 (5H, м, аром. Phe), 7.1 (1H, д, J 15.5 Гц, CH=CH-CO), 6.6 (1H, д, J 15.5 Гц, CH=CH-CO), 6.04 (1H, м, CO-NH-CH<sub>2</sub>), 5.2 (1H, с, CO-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4.94 (1H, м, CO-NH-CH), 4.02 (1H, м, NH-CH-CH<sub>2</sub>), 3.78 (2H, м, NH-CH<sub>2</sub>-CO), 3.17 (2H, м, CH-CH<sub>2</sub>), -2.6 (4H, с, NH порф.). Масс-спектр, m/z: 901, 657, 667, 891.

Авторы благодарят Российский фонд фундаментальных исследований за поддержку данной работы (проекты № 97-03-33158 и № 96-15-97709).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клейтон Р. // Фотосинтез. Физические механизмы и химические модели: Пер. с англ. М.: Мир, 1984. 350 с.
2. Клеваник А.В. // Биол. мембраны. 1998. Т. 15. С. 259-272.
3. Rabanal F., Gibney B.K., Degrado W.F. // Inorg. Chim. Acta. 1996. V. 243. P. 213-218.
4. Aoudia M., Rodgers M.A. J. // J. Am. Chem. Soc. 1997. V. 119. P. 12859-12868.
5. Tamiaki H., Suzuki S., Maruyama K. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1993. V. 66. P. 2633-2637.
6. Tamiaki H., Nomura K., Maruyama K. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1993. V. 66. P. 3062-3068.
7. Tamiaki H., Nomura K., Maruyama K. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1994. V. 67. P. 1863-1871.
8. Евстигнеева Р.П., Лузгина В.Н., Киселева Н.Ю., Коновалова Н.В., Ракитина И.В. // Биоорганич. химия. 1998. Т. 24. С. 229-235.
9. Brooks B.R., Bruccoleri R.E., Olafson B.D., States D.J., Swaminathan S., Karplus M. // J. of Computational Chemistry. 1983. V. 4. P. 187-217.
10. Sessler J.L., Wang B., Harriman A. // J. Am. Chem. Soc. 1995. V. 117. P. 707-714.
11. Forster T. // Ann. Phys. 1948. V. 2. P. 55-75.
12. Макаров В.В., Филиппович Е.И., Евстигнеева Р.П. // Химия гетероцикл. соединений. 1987. № 9. С. 194-199.
13. Пономарев Г.В., Маравин Г.Б. // Химия гетероцикл. соединений. 1982. № 1. С. 59-64.

**The Synthesis of Diporphyrin Systems on the Basis of Tetraphenylporphyrin Derivatives Bridged with Peptide Spacers**

**N. V. Konovalova, N. A. Karavaeva, A. A. Gribkov, V. N. Luzgina, and R. P. Evstigneeva<sup>#</sup>**

*Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia*

Diporphyrin systems based on tetraphenylporphyrin derivatives bridged with dipeptide or tripeptide spacers containing Gly and Phe residues were synthesized, and their physicochemical properties were studied.

*Key words: amino acids, diporphyrin structures, peptides, photosynthesis, tetraphenylporphyrin*

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 434-8678; e-mail: evstigneeva@htts.mitht.msk.ru.

For the full text of English translation of this article, see *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2000, vol. 26, no. 2. It is also available (free) in PDF format through the Web Site <http://www.maik.rssi.ru/>.