



УДК 547.979.731:542.953.2

НАПРАВЛЕННАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПРИРОДНЫХ ХЛОРИНОВ ПО ПИРРОЛЬНОМУ КОЛЬЦУ *D*

© 2001 г. А. Ф. Миронов[#], А. В. Нечаев

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

Поступила в редакцию 17.07.2000 г. Принята к печати 31.08.2000 г.

Реакция природных хлоринов, имеющих остаток неэтерифицированной пропионовой кислоты, с дихлордицианбензохиноном (DDQ) приводит к внутримолекулярной конденсации с образованием экзоциклического δ -лактонного цикла при пиррольном кольце *D*. Полученные лактоны раскрываются в щелочной среде с образованием соответствующих 18-гидроксихлоринов.

Ключевые слова: хлорофилл; природные хлорины; дихлордицианбензохинон; лактоны.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, природные хлорофиллы широко используются при синтезе фотосенсибилизаторов второго поколения для фотодинамической терапии рака [1]. Это связано с доступностью зеленых пигментов, их практически полной безвредностью, хорошими спектральными и фотофизическими свойствами, а также со способностью к разнообразным модификациям, придающим молекуле необходимую амфифильность, что способствует ее накоплению в злокачественных новообразованиях [2]. Высокая гидрофобность основного порфиринового макроцикла обуславливает необходимость введения в его молекулу полярных заместителей, таких, как гидроксил, карбоксильная группа и другие.

В случае наиболее распространенного пигмента – хлорофилла *a* подобные превращения, в основном, связаны с винильной группой пиррола *A* [3, 4], окислением пиррола *B* [5–7], с образованием дополнительных экзоциклов при пирроле *C* [8, 9], с формилированием по реакционноспособному δ -мезо-мостику [10]. Что касается четвертого пиррольного кольца *D*, то наличие в нем двух sp^3 -углеродных атомов серьезно затрудняет введение дополнительных полярных заместителей. Более того, в присутствии различных окислителей это пиррольное кольцо легко теряет два атома водорода, причем хлориновый макроцикл переходит в более устойчивый ароматический порфириновый цикл [11]. Одним из применявшихся окислителей был 2,3-дихлор-5,6-дициан-1,4-бензохинон (DDQ). Известны многочисленные примеры окисления хлоринов в порфирины под действием DDQ [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Недавно нами было обнаружено, что при наличии в кольце *D* остатка неэтерифицированной пропионовой кислоты, наряду с дегидрированием, основной реакцией в присутствии DDQ становится внутримолекулярная окислительная конденсация, приводящая к образованию δ -лактонного цикла с сохранением хлориновой структуры [13]. В то же время, если предварительно проэтерифицировать остаток пропионовой кислоты хлорина, то при окислении образуется лишь порфирин. Этим обстоятельством, по-видимому, объясняется тот факт, что, несмотря на многочисленные работы по окислению производных хлорофилла *a* в порфирины, образования хлоринов с δ -лактонным циклом до сих пор не наблюдалось [11, 12].

Настоящая работа посвящена дальнейшему изучению обнаруженной реакции и возможности ее использования за счет раскрытия лактонного кольца для направленного введения гидроксильной группы в положение 18 хлоринового макроцикла. В качестве объектов исследования были выбраны следующие производные хлорофилла *a*: феофорбид *a* (**Ia**), пирофеофорбид *a* (**Ib**) и 13',15'-диметилловый эфир хлорина *p*₆ (**IV**).

Феофорбид *a* (**Ia**) был получен из лиофилизированной биомассы микроводоросли *Spirulina platensis* по стандартной методике [14]. Феофорбид *a* (**Ia**) растворяли в хлороформе и в атмосфере азота при комнатной температуре обрабатывали DDQ в течение 30 мин. После выделения и очистки лактон феофорбида *a* (**IIa**) был получен с выходом 28%. Он охарактеризован электронными, ИК-спектрами и данными масс-спектра. В спектре ¹H-ЯМР отсутствуют кватерн при 4.46 м.д. и дублет при 1.82 м.д., характерные для 18-H и 18-CH₃

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 434-86-78; факс: 434-87-11; e-mail: mironov@httos.msk.ru).

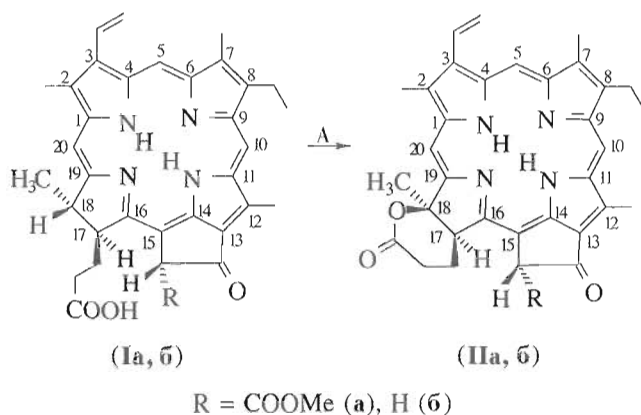


Схема 1. Превращение феофорбида *a* (Ia) и пиреофорбида *a* (Iб) в лактоны (IIa) и (IIб). А – DDQ, CHCl₃, 20°C, 30 мин.

исходного феофорбида *a* (Ia) и появляется трехпротонный синглет при 2.16 м.д., соответствующий ангулярной метильной группе в положении 18. Методом ROESY показано, что эта метильная группа и протон в положении 17 расположены с одной стороны хлороинового макроцикла и, следовательно, образовавшийся лактоновый цикл лежит над плоскостью макроцикла, как показано на схеме 1. Эти результаты совпадают с данными, полученными нами ранее для пурпурина 18 [15].

Аналогичным образом с выходом 25% был получен лактон пиреофорбида (IIб).

Сравнительно низкие выходы лактонов (IIa) и (IIб), очевидно, обусловлены лабильностью циклопентанового кольца в пиреофорбида *a* (Iб) и особенно в феофорбида *a* (Ia). Поэтому в дальнейшем образование лактона и его последующее раскрытие были изучены на диметилловом эфире хлорина *p*₆ (IV) (схема 2). Исходный триметилловый эфир хлорина *p*₆ (III) подвергали селективному омылению щелочью в THF при комнатной температуре. При этом практически с количест-

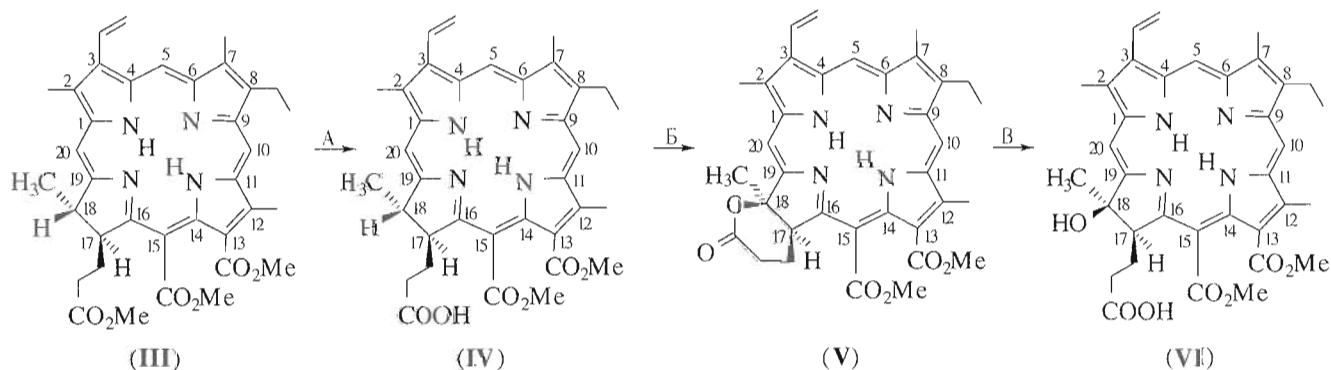


Схема 2. Превращение триметиллового эфира хлорина *p*₆ (III) в лактонохлорин *p*₆ (V) и 18-гидроксихлорин *p*₆ (VI). А – 2 н. NaOH, THF, 20°C, 12 ч. Б – DDQ, CHCl₃, 20°C, 10 мин. В – 2 н. NaOH, THF, 20°C, 3 ч.

венным выходом проходит гидролиз метилового эфира остатка пропионовой кислоты, а сложноэфирные группы, находящиеся при ароматическом макроцикле, не омыляются. Соответственно в спектре ¹H-ЯМР диметиллового эфира (IV) исчезает трехпротонный синглет при 3.57 м.д. [14] и сохраняются два сигнала метильных групп при 4.25 и 4.10 м.д.

Окисление хлорина (IV) проводили в условиях, описанных для феофорбида *a* (Ia), но время реакции было уменьшено до 10 мин. Выход лактона (V) после хроматографической очистки составил 53%.

В ИК-спектре полученного соединения (V), наряду с сильной полосой при 1723 см⁻¹, соответствующей сложноэфирным группам, появляется частота средней интенсивности при 1752 см⁻¹, которую мы отнесли к частоте колебаний карбонильной группы δ-лактонного цикла [16]. Анализ спектра ¹H-ЯМР показал, что, как и в вышеперечисленных случаях, 17-Н и 18-СН₃-протоны находятся по одну сторону от плоскости макроцикла и, следовательно, природная конфигурация пропионовой кислоты в ходе конденсации сохраняется. Отсюда можно сделать вывод, что образовавшийся δ-лактон находится над плоскостью основного цикла.

Раскрытие лактонного цикла в соединении (V) проводили при различных значениях рН среды. В присутствии трифторуксусной кислоты основная реакция сопровождается частичной дегидратацией с образованием порфирина. Лучшие результаты были получены при непродолжительном щелочном гидролизе соединения (V) в THF при комнатной температуре. Выход 18-гидроксихлорина (VI) составил 96%. Строение полученного соединения доказано данными масс- и ¹H-ЯМР-спектров и уменьшением подвижности на силикагеле. Образовавшаяся гидроксильная группа, как и остаток пропионовой кислоты, располагаются над плоскостью макроцикла.

Таким образом, обнаруженные превращения производных хлорофилла *a* позволяют вводить не только регио-, но и стереонаправленно гидроксильную группу в пиррольное кольцо *D*. При этом следует заметить, что остаток пропионовой кислоты в ходе описываемых реакций сохраняет свою исходную конфигурацию. Новый способ введения гидроксильной группы открывает дополнительные возможности усиления гидрофильных свойств в ряду перспективных фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии рака.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электронные спектры записаны с помощью спектрофотометра "JASCO-7800" в хлороформе. Спектры ¹H-ЯМР получены на спектрометре "Bruker MSL-200" с рабочей частотой 200 МГц в дейтерохлороформе (А) и на спектрометре Bruker AM 300 SF=300 с рабочей частотой 300 МГц в DMSO-*d*₆ (Б). Масс-спектры измерены на время-пролетном, плазменно-десорбционном спектрометре на ядрах ²⁵²Cf "Selmi" (г. Сумы, Украина). ИК-спектры получены на ФТ-спектрометре Nicolet Magna-750 в KBr с разрешением 2 см⁻¹.

Для тонкослойной хроматографии использовали пластины HPLC-Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merk). Колоночную хроматографию проводили на силикагеле Silicagel 60 (40-60) (Fisher, США). Для препаративной ТСХ использовали силикагель L 5/40 (Chemapol, Чехия).

Феофорбид *a* (Ia) и триметиловый эфир хлорина *p*₆ (III) были получены как описано в работе [14], пиррофеофорбид *a* (Ib) – по методике [17].

(17S,18R)-17⁴,18-Лактонофеофорбид *a* (IIa). 60 мг феофорбида *a* (Ia) растворяли в 40 мл хлороформа и прибавляли 30 мг дихлордицианбензохинона. Перемешивали 30 мин в атмосфере азота. Реакционную массу разбавляли 40 мл хлороформа и промывали водой (3 × 300 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Продукт очищали с помощью препаративной ТСХ на силикагеле в системе хлороформ–ацетон, 15 : 1. Выход 17 мг (28.3%); электронный спектр, λ_{макс}, нм (ε × 10⁻³): 411 (203.0), 506 (22.2), 537 (21.5), 607 (13.7), 664 (79.5); ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1576, 1600, 1726, 1753; масс-спектр, *m/z*: 590 [M]⁺; спектр ¹H-ЯМР (А) (δ, м.д.): 9.61 (1H, с, Н10), 9.50 (1H, с, Н5), 8.81 (1H, с, Н20), 8.0 (1H, дд, *J* 18 и 12 Гц, 3-СН=СН₂), 6.28 (1H, дд, *J* 18 и 0.2 Гц, 3-СН=СН₂), 6.21 (1H, дд, *J* 12 и 0.2 Гц, 3-СН=СН₂), 6.25 (1H, с, Н13²), 4.61 (1H, м, Н17), 3.90 (3H, с, 13²-СООСН₃), 3.60, 3.50, 3.45 (по 3H, с, 2,7,12-СН₃), 3.56 (2H, к, *J* 7.5 Гц, 8-СН₂СН₃), 2.50 (2H, м, Н17¹), 2.27 (2H, м, Н17²), 2.16 (3H, с, 18-СН₃), 1.68 (3H, т, *J* 7.5 Гц, 8-СН₂СН₃).

(17S,18R)-17⁴,18-Лактонопиррофеофорбид *a* (IIb). К раствору 30 мг пиррофеофорбида *a* (Ib) в 30 мл хлороформа прибавляли 22 мг дихлордицианбензохинона и перемешивали 30 мин в атмосфере азота. Реакционную массу промывали водой (3 × 200 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Продукт очищали с помощью препаративной ТСХ на силикагеле в системе хлороформ–ацетон, 15 : 1. Выход 7.5 мг (25%); электронный спектр, λ_{макс}, нм (ε × 10⁻³): 408 (167.2), 507 (18.3), 538 (17.4), 606 (11.1), 667 (66.8); масс-спектр, *m/z*: 532 [M]⁺; спектр ¹H-ЯМР (А) (δ, м.д.): 9.63 (1H, с, Н10), 9.52 (1H, с, Н5), 8.59 (1H, с, Н20), 8.08 (1H, дд, *J* 17 и 12 Гц, 3-СН=СН₂), 6.31 (1H, дд, *J* 17 и 0.2 Гц, 3-СН=СН₂), 6.20 (1H, дд, *J* 12 и 0.2 Гц, 3-СН=СН₂), 5.20 (2H, с, Н13²), 4.70 (1H, м, Н17), 3.70, 3.45, 3.28 (по 3H, с, 2,7,12-СН₃), 3.56 (2H, к, *J* 8 Гц, 8-СН₂СН₃), 2.71 (2H, м, Н17¹), 2.60 (2H, м, Н17²), 2.18 (3H, с, 18-СН₃), 1.72 (3H, т, *J* 8 Гц, 8-СН₂СН₃).

13,15-Диметиловый эфир хлорина *p*₆ (IV). К раствору 100 мг триметилового эфира хлорина *p*₆ (III) в 50 мл THF прибавляли 50 мл 2 н. раствора едкого натра и перемешивали 12 ч. Органический слой разбавляли 50 мл воды и подкисляли 10% соляной кислотой до pH 6. Полученную смесь экстрагировали хлороформом, сушили над безводным сульфатом натрия и целевой продукт выделяли хроматографированием на колонке с силикагелем в системе хлороформ–петролейный эфир–изопропанол, 20 : 10 : 1. Выход 92 мг (91%); электронный спектр, λ_{макс}, нм (ε × 10⁻³): 396 (252.3), 496 (25.2), 527 (14.4), 612 (11.0), 667 (85.6); ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1576, 1599, 1723; масс-спектр, *m/z*: 610 [M]⁺; спектр ¹H-ЯМР (А) (δ, м.д.): 9.64 (1H, с, Н10), 9.41 (1H, с, Н5), 8.61 (1H, с, Н20), 7.90 (1H, дд, *J* 18 и 12 Гц, 3-СН=СН₂), 6.25 (1H, дд, *J* 18 и 0.2 Гц, 3-СН=СН₂), 6.10 (1H, дд, *J* 12 и 0.2 Гц, 3-СН=СН₂), 5.15 (1H, м, Н18), 4.30 (1H, м, Н17), 4.25, 4.10 (по 3H, с, 13- и 15-СООСН₃), 3.60 (2H, к, *J* 7 Гц, 8-СН₂СН₃), 3.52, 3.32, 3.23 (по 3H, с, 2,7,12-СН₃), 2.32 (2H, м, Н17¹), 2.12 (2H, м, Н17²), 1.80 (3H, д, 18-СН₃), 1.62 (3H, т, *J* 6 Гц, 8-СН₂СН₃).

13,15-Диметиловый эфир (17S,18R)-17⁴,18-лактонохлорина *p*₆ (V). 50 мг диметилового эфира хлорина *p*₆ (IV) растворяли в 30 мл хлороформа, прибавляли 35 мг дихлордицианбензохинона и перемешивали 15 мин в атмосфере азота. Реакционную массу разбавляли 30 мл хлороформа, промывали водой (3 × 200 мл), сушили над сульфатом натрия и упаривали. Продукт очищали с помощью препаративной ТСХ на силикагеле в системе хлороформ–ацетон, 15 : 1. Выход 26.5 мг (53%); электронный спектр, λ_{макс}, нм (ε × 10⁻³): 396 (258.8), 497 (24.6), 528 (17.3), 610 (9.6), 664 (84.7); ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1577, 1600, 1723, 1752; масс-спектр, *m/z*: 608 [M]⁺; спектр ¹H-ЯМР (Б) (δ, м.д.): 9.70

(1H, с, H10), 9.61 (1H, с, H5), 8.89 (1H, с, H20), 8.15 (1H, дд, J 17 и 12 Гц, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 6.31 (1H, дд, J 17 и 0.2 Гц, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 6.17 (1H, дд, J 12 и 0.2 Гц, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.55 (1H, м, H17), 4.26, 4.12 (по 3H, с, 13- и 15- COOCH_3), 3.80 (2H, к, J 8 Гц, 8- CH_2CH_3), 3.65, 3.50, 3.40 (по 3H, с, 2,7,12- CH_3), 2.60 (2H, м, H17¹), 2.30 (2H, м, H17²), 2.28 (3H, с, 18- CH_3), 1.68 (3H, т, J 8 Гц, 8- CH_2CH_3).

13,15-Диметилловый эфир 18-гидроксиохлорина p_6 (VI). К раствору 30 мг 13,15-диметилового эфира лактонохлорина p_6 (V) в 20 мл THF прибавляли 20 мл 2 н. раствора едкого натра. Реакционную смесь перемешивали 3 ч при комнатной температуре. Органическую фракцию разбавляли 50 мл воды и подкисляли 10% соляной кислотой до pH 6. Полученную смесь экстрагировали хлороформом, сушили над безводным сульфатом натрия и целевой продукт выделяли хроматографированием на колонке с силикагелем в системе хлороформ-ацетон, 2 : 1. Выход 28 мг (95.7%); электронный спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм ($\epsilon \times 10^{-3}$): 400 (230.8), 499 (21.6), 528 (15.7), 611 (8.9), 666 (81.1); ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1577, 1601, 1719, 3481; масс-спектр, m/z : 626 [M]⁺; спектр ¹H-ЯМР (А) (δ , м.д.): 9.70 (1H, с, H10), 9.51 (1H, с, H5), 8.95 (1H, с, H20), 7.95 (1H, дд, J 18 и 11 Гц, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 6.30 (1H, дд, J 18 и 0.2 Гц, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 6.19 (1H, дд, J 11 и 0.2 Гц, 3- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.40 (1H, м, H17), 4.50 (1H, с, OH18), 4.25, 4.10 (по 3H, с, 13- и 15- COOCH_3), 3.80 (2H, к, J 7.5 Гц, 8- CH_2CH_3), 3.65, 3.50, 3.40 (по 3H, с, 2,7,12- CH_3), 2.60 (2H, м, H17¹), 2.30 (2H, м, H17²), 2.00 (3H, с, 18- CH_3), 1.68 (3H, т, J 7.5 Гц, 8- CH_2CH_3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мironov A.Ф. // Рос. хим. журн. 1998. Т. 42. С. 23–36.
2. Boyle R.W., Dolphin D. // Photochem. Photobiol. 1996. V. 64. P. 469–485.
3. Pandey R.K., Constantine S., Goff D.A., Kozyrev A.N., Dougherty T.J., Smith K.M. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1996. V. 6. P. 105–110.
4. Mironov A.F. // Proc. SPIE. 1996. V. 2625. P. 23–32.
5. Pandey R.K., Shian F.Y., Sumlin A.B. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1996. V. 4. P. 1263–1267.
6. Kozyrev A.N., Efimov A.V., Efremova O.A., Mironov A.F. // Proc. SPIE. 1994. V. 4. P. 297–301.
7. Gerlach B., Brantley S.E., Smith K.M. // J. Org. Chem. 1998. V. 63. P. 2314–2320.
8. Lee S.J.H., Jagerovic N., Smith K.M. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1993. P. 2369–2377.
9. Mironov A.F., Lebedeva V.S. // Tetrahedron Lett. 1998. V. 39. P. 905–908.
10. Mettall S., Shibata M., Alderfer J.L. // J. Org. Chem. 1998. V. 63. P. 1646–1656.
11. Scheer H., Inhoffen H.H. // The Porphyrins / Ed. D. Dolphin. N.Y.-London: Academic Press, 1978. V. 2. P. 45–90.
12. Kenner G.W., McCombie S.W., Smith K.M. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1973. P. 2517–2527.
13. Mironov A.F., Efremov A.V., Efremova O.A., Bonnett R. // Tetrahedron Lett. 1997. V. 38. P. 6775–6778.
14. Brandis A.S., Kozyrev A.N., Mironov A.F. // Tetrahedron. 1992. V. 48. P. 6491–6499.
15. Mironov A.F., Efremov A.V., Efremova O.A., Bonnett R., Martinez G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1998. P. 3601–3608.
16. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. М.: Мир, 1965. С. 55.
17. Брандис А.С. Разработка методов получения производных хлорофилла а. Дис. ... канд. хим. наук. М.: МИТХТ, 1990.

The Directed Modification of the Pyrrole Ring D in Natural Chlorins

A. F. Mironov[#] and A. V. Nechaev

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

Natural chlorins containing a residue of the nonesterified propionic acid in the pyrrole ring D were oxidized with 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone at C18 to yield exocyclic δ -lactones. The opening of the lactones in alkaline medium resulted in the corresponding 18-hydroxychlorins.

Key words: chlorophyll, natural chlorins, 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ), lactones

[#] To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 434-8678; fax: +7 (095) 434-8711; e-mail: mironov@httos.mitht.msk.ru.

The full English version of the paper is published in *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2001, vol. 27, no. 2, and is also available (free) at <http://www.maik.ru/>.