



УДК 547.979.733

НОВЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ БАКТЕРИОХЛОРИНОВОГО РЯДА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА

© 2003 г. А. Ф. Миронов^{##}, М. А. Грин^{*}, А. Г. Ципровский^{*}, А. В. Сегеневич^{*}, Д. В. Дзарданов^{*}, К. В. Головин^{*}, А. А. Цыганков^{**}, Я. К. Шим^{***}

^{*} Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, просп. Вернадского, 86;

^{**} Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино Московской обл.;

^{***} Научно-исследовательский институт химической технологии, Тайджон, Корея

Поступила в редакцию 19.02.2002 г. Принята к печати 14.06.2002 г.

Осуществлен синтез и изучена реакционная способность новых производных бактериохлорофилла *a* с дополнительным шестичленным имидным экзоциклом. Проведена химическая модификация ацетильной группы в 3-ацетил-2,7,12,18-тетраметил-8-этил-13,15-дикарбокси-17-карбоксиэтил-7,8,17,18-тетрагидропорфирине (бактериохлорин *p*) в α -гидроксиэтильную и винильную. Предложен простой способ получения эфиров винилбактериопурпурина с использованием в качестве катализатора *n*-толуолсульфокислоты. Полученные соединения имеют интенсивное поглощение в видимой и ближней ИК-области электронного спектра, обладают достаточной стабильностью и амфифильными свойствами, что позволяет рассматривать их в качестве перспективных фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии рака.

Ключевые слова: бактериохлорофилл *a*; бактериопурпурин; бактериохлорин, циклоимиды; 3-винилбактериопурпурин; фотосенсибилизаторы; фотодинамическая терапия.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы поиск новых фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии рака интенсивно ведется среди производных хлорофилла *a*, тогда как исследования в области бактериохлорофилла *a* развиваются существенно медленнее. Однако спектральные свойства именно этого пигмента позволяют рассматривать его как основу для создания фотосенсибилизаторов нового поколения [1].

Ранее мы показали, что введение дополнительного ангидридного экзоцикла в молекулу бактериохлорофилла *a* приводит к батохромному смещению полосы Q с 773 до 818 нм. Полученное соединение, по аналогии с известным пурпурином 18, было названо бактериопурпурином (БП) [2]. БП имеет прекрасные спектральные характеристики, но возможность раскрытия его ангидридного цикла в присутствии оснований с одновременным гипсохромным смещением основного максимума до 766 нм [2] препятствует использованию БП в качестве фотосенсибилизатора.

Структура БП представляет широкие возможности для его химической модификации [3, 4] (схе-

ма 1), что и было использовано нами в настоящей работе для решения двух основных задач.

Первая заключалась в получении соединений, обладающих достаточной стабильностью при щелочных значениях pH. Вторая состояла во введении в такие производные дополнительных полярных групп для повышения общей амфифильности молекулы и улучшения накопления фотосенсибилизатора в опухолях.

Один из возможных вариантов модификации ангидридного цикла в БП – замена атома кислорода на азот, приводящая к более стабильным циклическим имидам [5]. Позднее мы улучшили описанный способ получения циклических имидов, заменив предложенные для этих целей алкиламины на более нуклеофильный гидроксилламин, что позволяло получать *N*-гидроксициклоимиды хлорина *p*₆ в одну стадию [6].

В настоящей работе этот подход был использован для синтеза первого *N*-гидроксициклоимида в ряду производных природного бактериохлорофилла *a*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ацетильная группа в пиррольном кольце А молекулы БП – это дополнительный реакционный центр, который изменяет ход и состав продуктов реакции БП (I) с гидроксилламином (схема 2). Мы

Сокращения: БП – бактериопурпурин; ВБП – винилбактериопурпурин.

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 434-86-78; факс: 434-87-11; эл. почта: htos.mihit@g.23.relcom.ru).

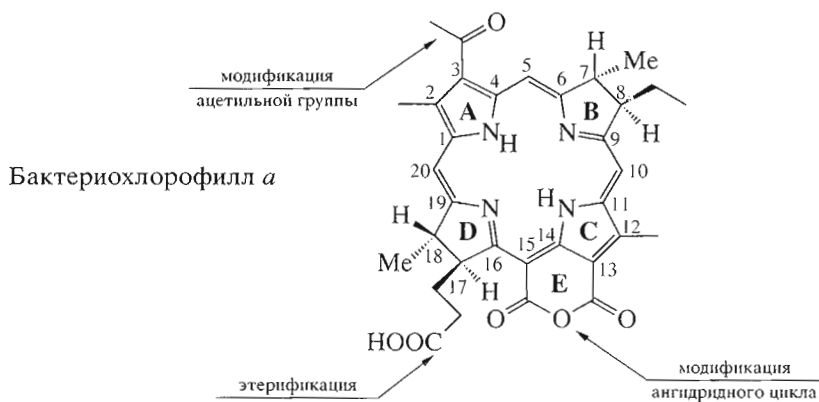


Схема 1. Возможные химические модификации бактериопурпурина.

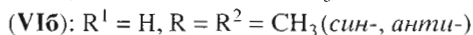
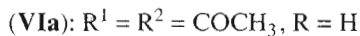
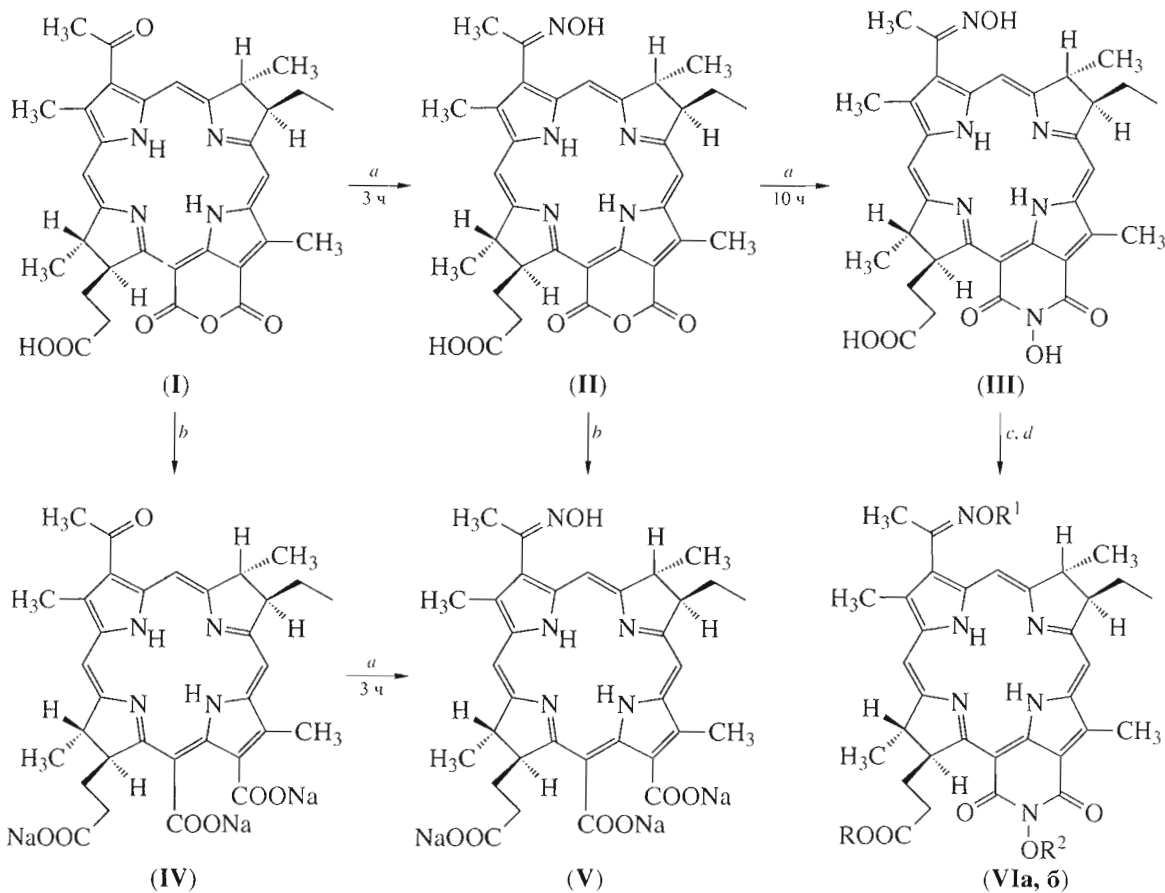


Схема 2. Взаимодействие бактериопурпурина с гидросиламином.

Реагенты: *a* – $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, 20°C ; *b* – NaOH , CH_3OH , 20°C , 1 ч; *c* – Ac_2O , $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, 20°C , 1 ч; *d* – CH_2N_2 , Et_2O , 20°C , 20 мин.

обнаружили, что первоначально образуется продукт, молекулярная масса которого (M^+ 596) соответствует БП с присоединенной группой NH. При этом в электронном спектре происходит гипсо-

хромный сдвиг максимума основной полосы Q с 818 нм, характерной для БП, до 792 нм (рис. 1). Отсюда следовало, что ангидридный цикл сохранялся на первом этапе реакции, а гидросиламин

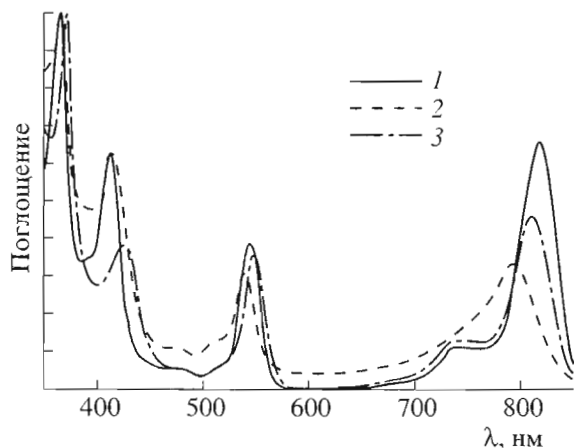


Рис. 1. Электронные спектры бактериопурпурина (I) (1) и его производных: оксима (II) (2) и *N*-гидроксидоимиды (III) (3).

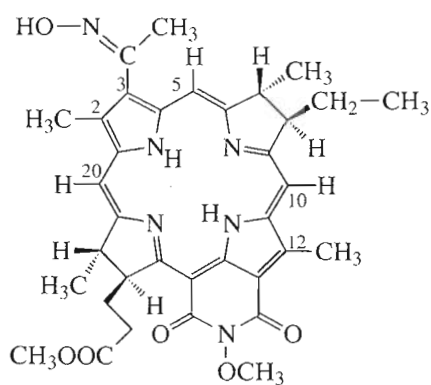


Рис. 2. NOE-взаимодействие в молекуле *N*-метоксидоимиды (VIb).

взаимодействовал с ацетильной группой с образованием оксима (II). Для подтверждения этого вывода полученное соединение было обработано водно-спиртовым раствором щелочи. Гипсохромный сдвиг основной полосы максимума поглощения до 745 нм и сильное уменьшение хроматографической подвижности указывали на раскрытие ангидридного цикла с образованием оксима бактериохлорина (V).

Замещение карбонила ацетильной группы молекулой гидроксиламина было также подтверждено аналогичной реакцией тринатриевой соли бактериохлорина (IV), предварительно полученной щелочной обработкой бактериопурпурина, с гидроксиламином. Полученный оксим имел те же спектральные характеристики и хроматографическую подвижность, что и ранее полученное соединение (V).

Последующий тщательный анализ оксима БП (II) показал, что он состоит из двух соединений с одинаковой молекулярной массой и близкими

значениями R_f . Этот факт мы объяснили образованием двух стереоизомерных *син*- и *анти*-оксимов, что обычно происходит при взаимодействии кетонов с гидроксиламином [7].

Спектрофотометрический контроль за ходом реакции показал, что гипсохромное смещение полосы Q до 792 нм, соответствующее образованию оксима (II), происходит в течение первых 3 ч, после чего основная полоса поглощения постепенно возвращается в длинноволновую область. Этот этап реакции связан со взаимодействием производного (II) со второй молекулой гидроксиламина, которое приводит к образованию *N*-гидроксидоимиды (III). Реакция полностью протекает за 10 ч, о чем свидетельствует смещение максимума поглощения с 792 до 812 нм (рис. 1).

Доимид (III) был охарактеризован электронным и масс-спектрами. Его спектр ^1H -ЯМР оказался мало информативным из-за сильного уширения сигналов всех протонов. Такое уширение характерно и для *N*-гидроксидоимиды хлоролина p_6 [6].

Являясь производным гидроксамовой кислоты и имея в своем составе "кислый" атом водорода, *N*-гидроксидоимид бактериохлорина (III) легко вступал в реакции ацилирования и алкилирования. Его обработка уксусным ангидридом привела к образованию диацетата (VIa), в масс-спектре которого имеется молекулярный ион с m/z 696.2 и интенсивные фрагментные перегруппировочные пики с m/z 638.1 и 580, свидетельствующие об отщеплении одной и двух ацетатных групп от молекулярного иона.

При обработке соединения (III) диазометаном образовалось его *O*-метильное производное (VIb), которое удалось охарактеризовать спектрами ^1H -ЯМР. Было установлено, что продукт метилирования (VIb) состоит из двух веществ с одинаковой молекулярной массой, незначительно отличающихся по хроматографической подвижности. Нам удалось с помощью препаративной ТСХ выделить эти вещества в индивидуальном состоянии и охарактеризовать их. В спектрах ^1H -ЯМР обоих соединений имеется трехпротонный синглет при 4.35 м.д., который был отнесен к метоксильной группе, расположенной при атоме азота имидного экзоцикла. Методом 1D-NOE были отнесены сигналы *мезо*-протонов бактериохлоринового макроцикла (рис. 2).

При облучении CH_3 -групп, находящихся во 2-м и 12-м положениях макроцикла наблюдались отклики *мезо*-протонов в положениях 20 и 10 при 8.4 и 8.65 м.д. соответственно. При облучении CH_3 -группы оксима был получен отклик 5-*мезо*-протона при 8.52 м.д., что свидетельствует об их пространственной сближенности. И напротив, облучение CH_3 -группы в метоксильном радикале доимиды (δ_H 4.35 м.д.) не дало отклика от каких-либо

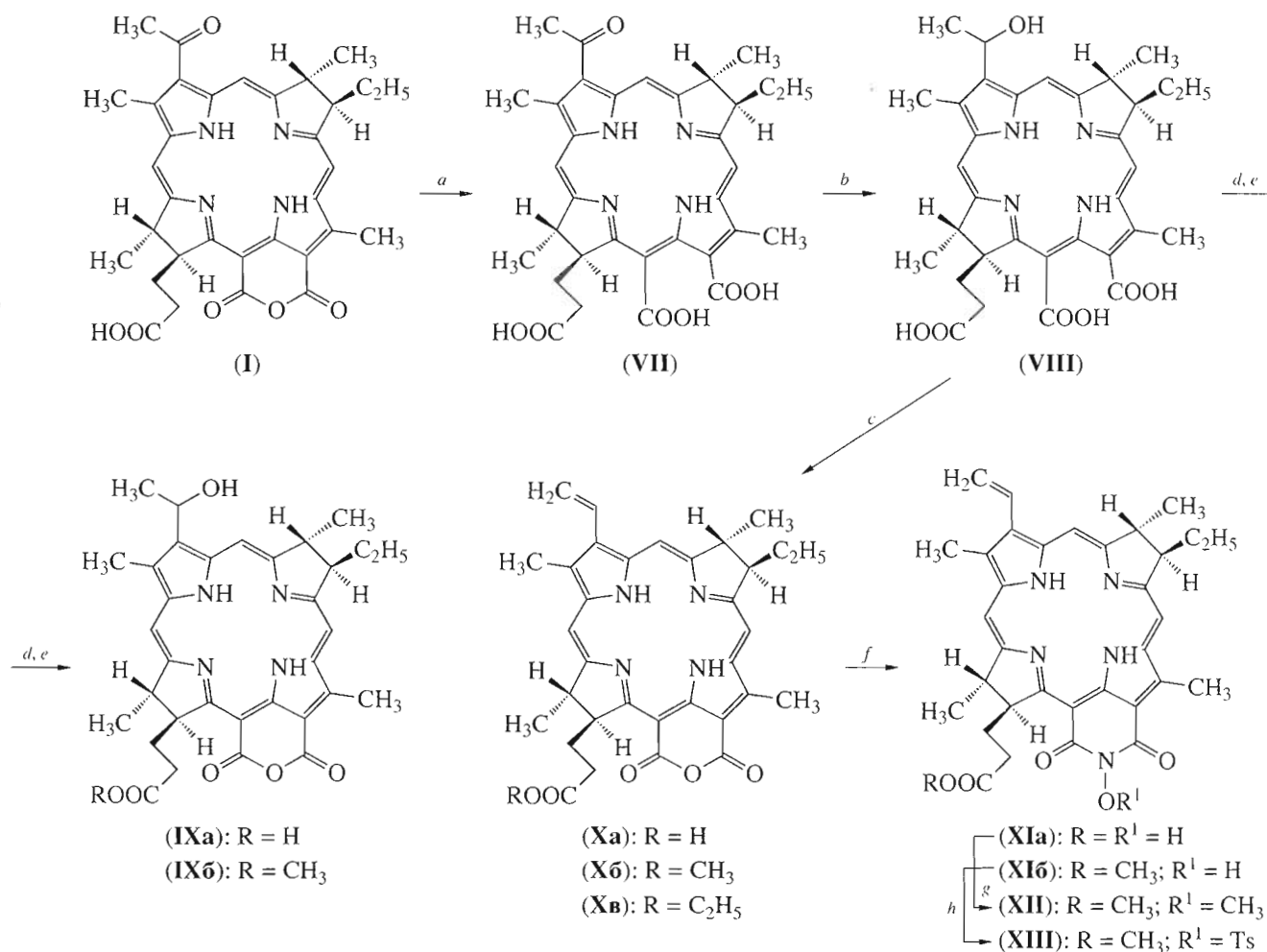


Схема 3. Синтез и модификации 3-винил-3-деацетилбактериопурпурина (X).

Реагенты: *a* – NaOH, CH₃OH, 20°C, 1 ч; *b* – NaBH₄, 40°C, 3 ч; *c* – TsOH, CHCl₃, 60°C, 1 ч; *d* – HCl, диоксан, 20°C, 24 ч; *e* – TsCl, C₅H₅N, 20°C, 1.5 ч; *f* – NH₂OH · HCl, C₅H₅N, 20°C, 10 ч; *g* – CH₂N₂, Et₂O, 20°C, 20 мин; *h* – TsCl, C₅H₅N, 20°C, 1.5 ч.

протонов. Спектры обоих соединений оказались практически идентичными, за исключением химических сдвигов протонов, ближайших к оксимной группе (2-CH₃, 3²-CH₃, 5-H). На этом основании сделан вывод о том, что обсуждаемые соединения являются *син*- и *анти*-изомерами соединения (VIб).

В связи с неоднозначным протеканием реакции БП с гидросиламином представлялось логичным превратить ацетильную группу в винильную, что должно исключить возможность образования *син*- и *анти*-изомерных оксимов и повысить селективность образования циклоимидов. Кроме того, для полученного структурного аналога пурпурина 18 – 3-винилбактериопурпурина, можно было бы использовать синтетические подходы, разработанные нами ранее для хлорофилла *a* [8, 9].

В случае порфиринов превращение ацетильной группы в винильную обычно осуществляют восстановлением кетона боргидридом натрия и последующей дегидратацией образовавшегося

спирта [10]. В нашем случае, однако, подобное восстановление ацетильной группы в бактериопурпурине (I) не представлялось возможным, поскольку в этих условиях, как было показано ранее, ангидридный цикл превращается в δ-лактон [11]. В этой связи бактериопурпурин (I) первоначально превращали в бактериохлорин (VII) действием щелочи, а последний восстанавливали в спирт (VIII) (схема 3). Для дегидратации были испытаны разные средства: HCl в диоксане, тозилхлорид и *n*-толуолсульфокислота. Однако первые два реагента не действовали на α-гидроксиэтильную группу и приводили только к замыканию ангидридного цикла и образованию спирта (IXa), превращенного в метиловый эфир (IXб). В ¹H-ЯМР-спектре эфира (IXб) наблюдались два синглета при 8.84 и 8.86 м.д., соответствующие 5-*мезо*-протону. Появление нового хирального центра в результате восстановления ацетильной группы приводит к смеси *R*- и *S*-изомеров, имеющих несколько

ко разные химические сдвиги для ближайшего к α -гидроксиэтильной группе 5-*мезо*-протона.

При использовании *n*-толуолсульфокислоты происходило одновременное образование винильной группы и замыкание ангидридного цикла, и выход целевого бактериопурпурина (**Xa**) составлял 70%.

Было замечено, что если реакция проводилась в хлороформе, то продукт получался в виде свободной кислоты (**Xa**), тогда как прибавление метилового или этилового спиртов непосредственно в реакционную смесь приводило к быстрой этерификации остатка пропионовой кислоты и образованию соответствующих метилового (**Xб**) или этилового (**Xв**) эфиров. Такая активность карбоксильной группы связана, очевидно, с образованием смешанного ангидрида с *n*-толуолсульфокислотой.

Превращения, описанные на схеме 3, сопровождаются характерными изменениями в электронных спектрах получаемых соединений, что существенно облегчает возможность контроля за протеканием реакций. Полоса Q имеет следующие значения максимумов для: (**I**) – 818, (**VII**) – 770, (**VIII**) – 740, (**IX**) – 775 и (**Xa**) – 783 нм.

Соединения (**Xб**) и (**Xв**) были охарактеризованы масс-спектрами высокого разрешения (HRMS) и спектрами $^1\text{H-NMR}$. С помощью метода 1D-NOE были отнесены сигналы *мезо*-протонов бактериохлоринового макроцикла (H10 при 8.55 м.д., H5 при 8.47 м.д. и H20 при 8.32 м.д.). Облучение α -протона винильной группы магнитным полем заданной частоты влияет на 5-*мезо*-протон, что подтверждает их пространственную сближенность.

3-Винил-3-деацетилбактериопурпурин (**Xa**) является первым винилсодержащим производным в ряду бактериохлорофилла *a*, и в то же время его можно рассматривать как структурный аналог пурпурина 18 с той лишь разницей, что он имеет гидрированное кольцо В. Поэтому представлялось интересным провести реакцию с гидроксиламином с тем, чтобы оценить эффект, связанный с превращением ацетильной группы в винильную, а также сравнить протекание данной реакции в рядах хлоринов и бактериохлоринов.

С этой целью соединения (**Xa**) и (**Xб**) были обработаны гидроксиламином в пиридине, что привело к образованию с высокими выходами соответствующих *N*-гидроксициклоимидов (**XIa**) и (**XIб**). Реакция полностью протекала за 10 ч, что следовало из смещения полосы Q до 809 нм.

Наличие свободной карбоксильной и гидроксильной групп в циклоимиде (**XIa**) отрицательно влияет на разрешение спектров $^1\text{H-NMR}$. Этерификация остатка пропионовой кислоты в (**XIб**) или одновременное введение метильных групп в карбоксильную группу и гидроксил имидного экзоцикла в соединении (**XII**), по-видимому, снима-

ют внутримолекулярные взаимодействия последних, что делает спектры $^1\text{H-NMR}$ этих циклоимидов достаточно информативными для подтверждения их структуры.

Сравнение взаимодействия БП (**I**) и его 3-винильного аналога (**Xa**) с гидроксиламином демонстрирует заметное влияние природы 3-заместителя на изменение спектральных характеристик в ходе реакции. Хотя абсолютные значения максимумов полосы Q в спектрах *N*-гидроксициклоимидов (**III**) и (**XIa**) близки (812 и 809 нм), относительные смещения максимумов поглощения у продуктов реакции по сравнению с исходными веществами сильно отличаются. В случае БП первоначальное образование оксима частично компенсирует батохромное смещение полосы Q, связанное с возникновением имидного экзоцикла. В результате максимум циклоимида (**III**) отличается от максимума исходного пигмента только на 6 нм. Для винильного производного бактериопурпурина образование циклоимида (**Xa**) приводит к батохромному смещению максимума полосы Q на 27 нм.

Как уже отмечалось выше, из *N*-гидроксициклоимида бактериохлорина могут быть легко получены *O*-алкильные и *O*-ацильные производные. Для винилового аналога (**XIб**) нами был получен *O*-тозилат (**XIII**), который может оказаться перспективным для введения в молекулу сенсibilизатора остатков полиолов и сахаров с целью повышения ее общей гидрофильности и степени накопления в опухолях.

Таким образом, в настоящей работе мы синтезировали ряд новых производных бактериохлорофилла *a* с интенсивным поглощением света с длиной волны от 740 до 812 нм. Среди них особое место в качестве потенциальных фотосенсibilизаторов для фотодинамической терапии рака занимают циклоимиды, обладающие, помимо улучшенных спектральных характеристик, повышенной стабильностью и новыми возможностями для химической модификации.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электронные спектры получены на спектрофотометре Jasco-UV 7800 в хлороформе. $^1\text{H-NMR}$ -спектры сняты в CDCl_3 на спектрометрах Bruker WM 250 и Bruker WM 300 с использованием программы DISNMR94. Приведены химические сдвиги (δ , м.д.) и константы спин-спиновой взаимодействия (J , Гц) для растворов веществ в дейтерохлороформе. Эксперименты NOE выполнены в варианте NOEFAST со временем облучения 1.5 с. Масс-спектры получены на времяпролетном масс-спектрометре VISION 2000 методом MALDI с использованием в качестве матрицы дигидроксибензола. Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на масс-спектрометре Micromass

Autospec (электронный удар, энергия ионизации 70 эВ, 200°C). ИК-спектры получены на FT-спектрометре Nicolet Magna-750 в KBr с разрешением 2 см⁻¹.

Для колоночной хроматографии применяли силикагель L 40/100 (Chemapol). Для препаративной ТСХ использовали силикагель 60 (Merck) на пластинках 20 × 20 см с толщиной слоя 1 мм. Аналитическую ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F₂₄₅ (Merck).

Для получения биомассы, содержащей бактериохлорофилл, пурпурную несерную бактерию *Rhodobacter capsulatus* B10 выращивали в фотобиореакторе, состоящем из коаксиальных цилиндров с перемешивающим устройством [12], в режиме хемостата с лимитированием светом ($D = 0.13 \text{ ч}^{-1}$) на среде Ормерода [13] с добавлением лактата (0.4%).

Бактериопурпурин получали по стандартной методике [2], включающей окисление бактериохлорофилла *a* кислородом воздуха в щелочных условиях. Спектральные характеристики полученного пигмента соответствуют литературным данным [2].

Оксим бактериопурпурина *a* (II), смесь син- и анти-изомеров. К раствору бактериопурпурина (30 мг, 0.05 ммоль) в 10 мл пиридина по каплям прибавляли раствор гидроксиламина гидрохлорида (17.2 мг, 0.25 ммоль) в 5 мл пиридина. За ходом реакции следили спектрофотометрически, отбирая каждые 30 мин по 0.2 мл реакционной смеси, которую экстрагировали хлороформом, промывали водой и высушивали сульфатом натрия. При гипсохромном смещении полосы Q до 792 нм реакцию останавливали, полученное производное выделяли вышеуказанным способом и очищали с помощью препаративной ТСХ в системе хлороформ–метанол (8 : 1); выход 18 мг (62%); электронный спектр, λ_{max} , нм (относительные интенсивности): 365, 412, 538 и 792 (1 : 0.7 : 0.33 : 0.36); MS (MALDI), m/z : 596.7 (M^+).

Оксим *N*-гидроксициклоимида бактериопурпурина (III) получали аналогично оксиму (II), проверяя полноту протекания реакции по смещению основной полосы поглощения в электронном спектре продукта до 812 нм. Время реакции 10 ч. Выход оксима (III) 12 мг (40%); электронный спектр, λ_{max} , нм (относительные интенсивности): 369, 420, 547 и 810 (1 : 0.4 : 0.33 : 0.43); MS (MALDI), m/z : 612.6 (M^+).

***N,N*-Диацетоксипроизводное оксима гидроксамовой кислоты бактериохлорина (VIa).** Соединение (III) (10 мг, 0.016 ммоль) растворяли в 10 мл свежеперегнанного уксусного ангидрида и выдерживали при перемешивании 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой, нейтрализовали раствором NaHCO₃ и экстрагировали хлороформом.

Экстракт сушили сульфатом натрия и упаривали. Продукт выделяли с помощью препаративной ТСХ на силикагеле в системе хлороформ–метанол (10 : 1); выход продукта (VIa) 6.3 мг (56.7%); электронный спектр, λ_{max} , нм (относительные интенсивности): 368.5, 419, 544.5, 810.5 (1 : 0.6 : 0.36 : 0.44); MS (MALDI), m/z (%): 696.2 (M^+ , 66), 638.1 ($M - \text{OCOCH}_3$, 100), 580 ($M - 2\text{OCOCH}_3$, 71).

Метилвый эфир *N*-метоксициклоимида оксима бактериохлорина (VIb), смесь син- и анти-изомеров. К охлаждаемой льдом смеси 5 мл 40% раствора KOH и 15 мл эфира прибавляли при перемешивании 30 мг (0.3 ммоль) *N*-нитрозометилмочевины таким образом, чтобы температура реакционной смеси не превышала 5°C. Эфирный раствор декантировали и в течение 3 ч сушили над твердым KOH. Раствор диазометана постепенно при охлаждении прибавляли к раствору 15 мг (0.025 ммоль) соединения (III) в 10 мл хлороформа, и смесь перемешивали 20 мин. Избыток диазометана разрушали уксусной кислотой, и растворитель отгоняли в вакууме. Продукт, представляющий смесь син- и анти-изомеров (VIb), выделяли с помощью препаративной ТСХ на силикагеле в системе хлороформ–метанол (12 : 1); выход 9.9 мг (62%). Стереоизомеры разделяли с помощью многократной ТСХ на силикагеле, повышая полярность системы хлороформ–метанол за счет увеличения содержания метанола от 0 до 20%.

Изомер с меньшей подвижностью: электронный спектр, λ_{max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$): 367.5 (25.7), 419.5 (11.6), 540 (10.0), 800 (13.1); ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1735, 1701, 1670, 1523; ¹H-ЯМР: 8.65 (с, H10), 8.52 (с, H5), 8.4 (с, H20), 5.19 (дд, *J* 10 и 2, H17), 4.35 (с, OCH₃), 4.25 (к, *J* 8, H18), 4.2 (м, H7), 4.02 (м, H8), 3.65 (с, 12-CH₃), 3.59 (с, COOCH₃), 3.29 (с, 2-CH₃), 2.78 [с, 3-C(=NOH)CH₃], 2.5 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 2.35 (м, 8-CH₂CH₃), 2.0 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 1.8 (д, *J* 7, 7-CH₃), 1.7 (д, *J* 8, 18-CH₃), 1.12 (т, *J* 7, 8-CH₂CH₃), 0.0 (с, NH), -0.26 (с, NH); MS (MALDI), m/z (%): 640.7 (M^+ , 85), 625.3 ($M^+ - \text{CH}_3$, 81), 610.3 ($M^+ - \text{OCH}_3$, 100); HRMS: найдено: 640.3029, рассчитано для C₃₅H₄₀N₆O₆: 640.3009.

Изомер с большей подвижностью: электронный спектр, λ_{max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$): 367.5 (25.7), 419.5 (11.6), 539.5 (10.0), 800 (13.1); ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1735, 1701, 1670, 1523; ¹H-ЯМР: 8.65 (с, H10), 8.4 (с, H5), 8.2 (с, H20), 5.18 (дд, *J* 10 и 2, H17), 4.34 (с, OCH₃), 4.23 (к, *J* 8, H18), 4.16 (м, H7), 4.02 (м, H8), 3.63 (с, 12-CH₃), 3.58 (с, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 3.18 (с, 2-CH₃), 2.68 [с, 3-C(=NOH)CH₃], 2.4 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 2.31 (м, 8-CH₂CH₃), 2.0 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 1.78 (д, *J* 7, 7-CH₃), 1.67 (д, *J* 8, 18-CH₃), 1.12 (т, *J* 7, 8-CH₂CH₃), 0.0 (с, NH), -0.26

(с, NH); MS (MALDI), m/z (%): 640.2 (M^{++} , 84), 624.9 (M^+-CH_3 , 77), 610.1 ($M^+ - OCH_3$, 100).

3-(α -Гидроксиэтил)-3-деацетилбактериохлорин (VIII). К раствору 30 мг (0.05 ммоль) бактериохлорина (VII) в 15 мл метанола прибавляли порциями 9.5 мг (0.25 ммоль) $NaBH_4$. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при 40°C, разбавляли 50 мл хлороформа, промывали подкисленной водой (3 \times 100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Выход продукта (VIII) 26 мг (90%); электронный спектр, λ_{max} , нм (относительные интенсивности): 379, 400, 510, 740 (1 : 0.9 : 0.5 : 0.85).

Метилловый эфир 3-(α -гидроксиэтил)-3-деацетилбактериопурпурина (IXб). К раствору 20 мг (0.033 ммоль) спирта (VIII) в 15 мл диоксана при перемешивании по каплям прибавляли 5 мл конц. соляной кислоты. Реакционную смесь перемешивали 1 ч и оставляли на 24 ч в темноте, разбавляли водой и экстрагировали хлороформом (3 \times 50 мл). Экстракт сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Продукт очищали с помощью препаративной ТСХ в системе хлороформ-метанол, 6 : 1. Выход соединения (IXа) – 9.7 мг (50%). Метилловый эфир (IXб) был получен обработкой продукта диазометаном по методике, описанной выше для соединения (VIб); электронный спектр, λ_{max} , нм (относительные интенсивности): 364.5, 412.5, 536.5, 775 (1 : 0.6 : 0.38 : 0.34); ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1740, 1629 (слаб), 1605, 1526; 1H -ЯМР: 8.86 и 8.84 (2 с, H5), 8.58 (с, H10), 8.3 (с, H20), 6.2 (к, J 7, 3-CH), 5.18 (дд, J 10 и 2, H17), 4.25 (к, J 8, H18), 4.23 (м, H18 и H7), 4.0 (м, H8), 3.62 (с, 12-CH₃), 3.6 (с, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 3.28 (с, 2-CH₃), 2.7 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 2.6 (м, 8-CH₂ и 17-CH₂CH₂COOCH₃), 2.08 (д, J 7, 3-CH₂CH₃), 1.8 (д, J 7, 7-CH₃), 1.7 (д, J 8, 18-CH₃), 1.12 (т, J 7, 8-CH₂CH₃), 0.45 (с, NH), –0.05 (с, NH); MS (MALDI), m/z : 598.2 (M^+).

3-Винил-3-деацетилбактериопурпурин (Ха). К раствору 20 мг (0.035 ммоль) бактериохлорина (VIII) в 30 мл сухого хлороформа прибавляли 66 мг (0.35 ммоль) моногидрата *n*-толуолсульфокислоты и перемешивали 1 ч при 60°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь разбавляли водой, экстрагировали хлороформом, промывали водой (3 \times 100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Продукт очищали с помощью препаративной ТСХ в системе хлороформ-метанол, 12 : 1; выход 14 мг (70.6%); электронный спектр, λ_{max} , нм (относительные интенсивности): 364, 411, 539.5, 782 (1 : 0.77 : 0.35 : 0.39); MS (MALDI), m/z : 566.7 (M^+).

Метилловый эфир 3-винил-3-деацетилбактериопурпурина (Хб). Получали аналогично соединению (Ха) с добавлением в реакционную смесь 1%

метанола. Выход 66.5%; электронный спектр, λ_{max} , нм (относительные интенсивности): 364, 413.5, 541, 782.5 (1 : 0.75 : 0.44 : 0.47); ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1746, 1631, 1603, 1582, 1524; 1H -ЯМР: 8.58 (с, H10), 8.5 (с, H5), 8.35 (с, H20), 7.75 (дд, J 18 и 12, 3-CH), 6.2 (дд, J 18 и 1, 3-CH=CHH-цис), 6.12 (дд, J 12 и 1, 3-CH=CHH-транс), 5.05 (д, J 7, H17), 4.22 (м, H18), 4.2 (м, H7), 4.0 (к, J 8, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 3.95 (м, H8), 3.62 (с, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 3.6 (с, 12-CH₃), 3.3 (с, 2-CH₃), 2.45 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 2.35 (м, 8-CH₂), 2.0 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 1.8 (д, J 7, 7-CH₃), 1.7 (д, J 7, 18-CH₃), 1.15 (т, J 6, 8-CH₂CH₃), 0.5 (с, NH), 0.0 (с, NH); MS (MALDI), m/z : 581.9 ($M + H^+$); HRMS: найдено: 580.2687, рассчитано для C₃₄H₃₆N₄O₅: 580.2685.

Этиловый эфир 3-винил-3-деацетилбактериопурпурина (Хв) получали аналогично соединению (Ха) с добавлением в реакционную смесь 1% этанола. Выход соединения (Хв) 68%; электронный спектр, λ_{max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$): 365 (39.0), 414.5 (20.4), 541.5 (15.3), 783 (16.0); 1H -ЯМР (CDCl₃, δ , м.д.): 8.55 (с, H10), 8.47 (с, H5), 8.32 (с, H20), 7.73 (дд, J 18 и 12, 3-CH), 6.19 (дд, J 18 и 1, 3-CH=CHH-цис), 6.11 (дд, J 12 и 1, 3-CH=CHH-транс), 5.06 (д, J 7, H17), 4.25 (м, H18), 4.2 (м, H7), 4.05 (к, J 8, 17-CH₂CH₂COOCH₂CH₃), 3.95 (м, H8), 3.56 (с, 12-CH₃), 3.25 (с, 2-CH₃), 2.4 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₂CH₃), 2.37 (м, 8-CH₂), 2.0 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₂CH₃), 1.8 (д, J 7, 7-CH₃), 1.7 (д, J 7, 18-CH₃), 1.16 (т, J 8, 17-CH₂CH₂COOCH₂CH₃), 1.1 (т, J 6, 8-CH₂CH₃), 0.5 (с, NH), 0.0 (с, NH); HRMS: найдено: 594.2842, рассчитано для C₃₅H₃₈N₄O₅: 594.2657.

Метилловый эфир *N*-гидроксициклоимида 3-винил-3-деацетилбактериохлорина (XIб). К раствору 20 мг (0.034 ммоль) соединения (Хб) в 10 мл пиридина прибавляли 50 мг гидросиламина гидрохлорида. Реакционную смесь перемешивали 10 ч при 20°C, разбавляли 50 мл хлороформа, промывали 1 н. HCl (3 \times 100 мл) и водой (3 \times 100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Продукт очищали с помощью препаративной ТСХ в системе хлороформ-метанол, 1 : 1. Выход 12 мг (59.3%); электронный спектр, λ_{max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$): 370 (25.4), 427 (9.6), 553 (10.4), 809 (11.3); 1H -ЯМР (CDCl₃, δ , м.д.): 8.5 (с, H10), 8.4 (с, H5), 8.25 (с, H20), 7.7 (дд, J 18 и 12, 3-CH), 6.2 (дд, J 18 и 1, 3-CH=CHH-цис), 6.1 (дд, J 12 и 1, 3-CH=CHH-транс), 5.1 (д, J 7, H17), 4.3 (м, H18), 4.18 (м, H7), 3.95 (м, H8), 3.61 (с, 12-CH₃), 3.57 (с, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 3.23 (с, 2-CH₃), 2.45 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 2.35 (м, 8-CH₂), 2.05 (м, 17-CH₂CH₂COOCH₃), 1.8 (д, J 7, 7-CH₃), 1.7 (д, J 7, 18-CH₃), 1.1 (т, J 6, 8-CH₂CH₃), 0.4 (с, NH), 0.0 (с, NH).

Метилловый эфир *N*-метоксициклоимида 3-винил-3-деацетилбактериохлорина (XII). К раствору 15 мг (0.026 ммоль) *N*-гидроксициклоимида (XIа) в 10 мл хлороформа прибавляли 15 мл эфирного раствора диазометана, и смесь перемешивали 20 мин при 20°C. Избыток диазометана

разрушали уксусной кислотой, и растворитель отгоняли в вакууме. Продукт очищали с помощью препаративной ТСХ в системе хлороформ-метанол, 1 : 6; выход 14 мг (92%); электронный спектр, λ_{\max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$): 369 (29.3), 420 (16.7), 546.5 (11.9), 799.5 (12.2); ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1737, 1701, 1667, 1625 (слаб.), 1525; ^1H -ЯМР: 8.58 (с, Н10), 8.48 (с, Н5), 8.32 (с, Н20), 7.75 (дд, J 18 и 12, 3-СН), 6.2 (дд, J 18 и 1, 3-СН=СНН-цис), 6.1 (дд, J 12 и 1, 3-СН=СНН-транс), 5.18 (д, J 7, Н17), 4.35 (с, ОСН₃), 4.25 (м, Н18), 4.2 (м, Н7), 4.0 (м, Н8), 3.62 (с, 12-СН₃), 3.59 (с, 17-СН₂СН₂СООСН₃), 3.27 (с, 2-СН₃), 2.45 (м, 17-СН₂СН₂СООСН₃), 2.35 (м, 8-СН₂), 2.05 (м, 17-СН₂СН₂СООСН₃), 1.8 (д, J 7, 7-СН₃), 1.7 (д, J 7, 18-СН₃), 1.15 (т, J 6, 8-СН₂СН₃), 0.35 (с, NH), 0.05 (с, NH); HRMS: найдено: 609.2963, рассчитано для C₃₅H₃₉N₅O₅: 609.2951.

Метилловый эфир *N*-тозилоксициклоимида 3-винил-3-деацетилбактериохлорина (XIII). К раствору 20 мг (0.034 ммоль) соединения (XIb) в 10 мл пиридина прибавляли 65 мг (0.34 ммоль) *p*-толуолсульфохлорида и перемешивали 1.5 ч при 20°C. Реакционную смесь разбавляли 50 мл хлороформа и промывали 1 н. HCl (3 × 100 мл), насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (3 × 100 мл), водой (5 × 100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Продукт очищали с помощью препаративной ТСХ в хлороформе; выход 18 мг (72%); электронный спектр, λ_{\max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$): 368 (28.7), 422 (17.9), 546 (11.6), 796 (11.8); ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1737, 1714, 1684, 1634 (слаб.); ^1H -ЯМР: 8.55 (с, Н10), 8.45 (с, Н5), 8.3 (с, Н20), 8.21 (д, J 8.5, аром. Н-орто), 7.74 (дд, J 18 и 12, 3-СН), 7.49 (д, J 8.5, аром. Н-мета), 6.2 (дд, J 18 и 1, 3-СН=СНН-цис), 6.12 (дд, J 12 и 1, 3-СН=СНН-транс), 5.05 (д, J 7, Н17), 4.2 (м, Н18), 4.18 (м, Н7), 4.0 (м, Н8), 3.62 (с, 12-СН₃), 3.59 (с, 17-СН₂СН₂СООСН₃), 3.28 (с, 2-СН₃), 2.58 (с, С₆Н₄СН₃), 2.4 (м, 17-СН₂СН₂СООСН₃), 2.35 (м, 8-СН₂), 2.0 (м, 17-СН₂СН₂СООСН₃), 1.8 (д, J 7, 7-СН₃), 1.68 (д, J

7, 18-СН₃), 1.12 (т, J 6, 8-СН₂СН₃), 0.5 (с, NH), 0.12 (с, NH).

Настоящая работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 01-03-32543 и 00-15-97866). Выражаем особую благодарность сотруднику Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН Ф.В. Тоукачу за проведение ЯМР-исследований полученных соединений и проф. R. Bonnett (Лондон) за обсуждение результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bonnett R. // Chemical Aspects of Photodynamic Therapy; Advanced Chemistry Texts. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 2000. V. 1.
2. Mironov A.F., Kozyrev A.N., Brandis A.S. // Proc. SPIE. 1992. V. 1922. P. 204–208.
3. Kozyrev A.N., Zheng G., Zhu C., Dougherty T.J., Smith K.M., Pandey R.K. // Tetrahedron Lett. 1996. V. 37. P. 6431–6434.
4. Kozyrev A.N., Pandey R.K., Medforth C.J., Zheng G., Dougherty T.J., Smith K.M. // Tetrahedron Lett. 1996. V. 37. P. 747–750.
5. Lee S.-J., Jagerovic N., Smith K.M. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1993. P. 2369–2377.
6. Mironov A.F., Lebedeva V.S. // Tetrahedron Lett. 1998. V. 39. P. 905–908.
7. Общая органическая химия / Ред. Н.К. Кочетков. М.: Химия, 1983. Т. 2. С. 521–523.
8. Mironov A.F., Efremov A.V., Efremova O.A., Bonnett R. // Mendeleev Commun. 1997. P. 244–246.
9. Mironov A.F., Efremov A.V., Efremova O.A., Bonnett R. // Tetrahedron Lett. 1997. V. 38. P. 6775–6778.
10. Clezy P.S., Liepa A.J. // Aust. J. Chem. 1970. V. 23. P. 2477–2488.
11. Mironov A.F., Efremov A.V., Efremova O.A., Bonnett R., Martinez G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1998. P. 3601–3608.
12. Цыганков А.А. // Прикл. биохим. и микробиол. 2001. Т. 37. С. 387–397.
13. Ormerod J.G., Ormerod S.K., Gest H. // Arch. Biochem. Biophys. 1961. V. 64. P. 449–463.

New Photosensitizers of Bacteriochlorin Series for Photodynamic Cancer Therapy

A. F. Mironov^{##}, M. A. Grin^{*}, A. G. Tsiprovskii^{*}, A. V. Segenevich^{*},
D. V. Dzardanov^{*}, K. V. Golovin^{*}, A. A. Tsygankov^{**}, and Ya. K. Shim^{***}

[#]Phone: +7 (095) 434-8678; fax: +7 (095) 434-8711; e-mail: htos.mitht@g.23.relcom.ru

^{*}Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

^{**}Institute of Fundamental Problems of Biology, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow oblast, 142292 Russia

^{***}Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-343, Republic of Korea

New derivatives of bacteriochlorophyll *a* bearing an extra glutarimide exocycle were synthesized, and their reactivity was studied. Acetyl group in 3-acetyl-2,7,12,18-tetramethyl-8-ethyl-13,15-dicarboxy-17-carboxyethyl-7,8,17,18-tetrahydroporphyrin (bacteriochlorin *p*) was chemically modified into α -hydroxyethyl and vinyl groups. A simple method of preparation of vinylbacteriopurpurin esters under the catalysis by *p*-toluenesulfonic acid was proposed. The resulting compounds exhibit a high adsorption in the visible and near IR areas of electronic spectra, a reasonable stability, and amphiphilic properties and, therefore, may be regarded as promising photosensitizers for the photodynamic cancer therapy. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2003, vol. 29, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: bacteriochlorin *p* glutarimides, bacteriochlorophyll *a*, bacteriopurpurin, photodynamic therapy, photosensitizers, 3-vinylbacteriopurpurin