



УДК 547.979.057

## КОНЪЮГАТЫ ПОРФИРИНОВ С УГЛЕВОДАМИ

© 2003 г. А. А. Аксенова, Ю. Л. Себякин, А. Ф. Миронов<sup>#</sup>

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,  
119571, Москва, просп. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 25.10.2001 г. Принята к печати 09.04.2002 г.

В обзоре рассмотрены методы синтеза и свойства порфиринов, ковалентно связанных с углеводами. Особое внимание уделено перспективам использования данного класса соединений в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии рака.

*Ключевые слова:* порфирины, углеводы, конъюгаты, синтез, свойства, применение.

### СОДЕРЖАНИЕ

#### Введение

#### 1. Методы синтеза гликопорфиринов

##### 1.1. Синтез из пирролов и дипирролилметанов

##### 1.2. Прямое гликозилирование порфиринов

#### 2. Углеводы в качестве строительных блоков для создания модельных систем на основе порфиринов

#### 3. Свойства гликопорфиринов. Некоторые закономерности влияния структуры на характеристики соединений как потенциальных агентов для фотодинамической терапии

#### Выводы

### ВВЕДЕНИЕ

Порфирины, ковалентно связанные с различными биологически активными соединениями, играют большую роль в развитии физико-химической биологии, а также некоторых современных разделов медицины и техники, в связи с чем их синтезу сегодня уделяется большое внимание. До недавнего времени большинство исследований в этой области было сосредоточено на использовании данных соединений для моделирования процессов переноса энергии, транспорта кислорода, фотосинтеза, региоселективного катализа. Аминокислотные производные порфиринов получают главным образом как модели гем-белков [1–4], а также для изучения процессов переноса электронов [5–7]. Синтез и свойства липопорфиринов достаточно подробно рассматриваются в обзоре [8].

Сокращения: ФС – фотосенсибилизатор; TPP – тетрафенилпорфирин; CD – циклодекстрин; LDL – липопротеины низкой плотности; DMPC – димиристоилфосфатидилхолин; HpD – производные гематопорфирина; F<sub>5</sub>Ph – пентафторфенил; 3,5-(GlcO)<sub>2</sub>-Ph – 3,5-ди(глюкопиранозилокси)фенил.

<sup>#</sup> Автор для переписки (тел.: (095) 434-86-78; эл. почта: mironov@httos.mitht.msk.ru).

Анализ опубликованных за последние годы научных фактов показывает, что весьма перспективными для развития вышеперечисленных направлений являются конъюгаты порфиринов с углеводами. В последние годы возрос интерес к использованию гликопорфиринов в качестве эффективных сенсбилизаторов для фотодинамической терапии рака, а также противовирусных препаратов направленного действия [9]. Благодаря своей амфифильной природе и многофункциональности эти соединения обладают рядом полезных свойств. В частности, высокая растворимость в воде и других жидкостях, пригодных для внутривенного введения, расширяет возможности их использования в медицине. Из-за наличия хиральных углеводных заместителей гликопорфирины являются подходящими объектами для изучения процессов молекулярного узнавания и катализа, позволяя при этом проводить исследования в водных растворах. Помимо придания водорастворимости, объемистые углеводные группы могут служить для защиты активного центра катализатора от побочных реакций, для целенаправленного влияния на физико-химические свойства порфиринов, в частности, на геометрию молекул, способность к агрегации [10] и др. Кроме того, введение в тетрапиррольный макроцикл, для которого характерно собственное сродство к опухолевым клеткам [9], углеводных фрагментов, способных взаимодействовать со специфическими рецепторами на поверхности клеточной мембраны [11], может облегчить интернализацию клеткой таких конъюгатов за счет рецептор-опосредованного эндоцитоза и повысить селективность их накопления в опухолевых тканях.

В настоящем обзоре сделана попытка обобщения литературного материала по методам синтеза и основным свойствам гликопорфиринов.

## 1. МЕТОДЫ СИНТЕЗА ГЛИКОПОРФИРИНОВ

Первые сведения о синтезе порфиринов, содержащих ковалентно связанные остатки сахаров, появились в 1978 г. [12], однако систематические исследования этого класса соединений начались лишь с конца 1980-х годов. Описаны два основных подхода к получению гликопорфиринов. Первый основан на монопиррольной конденсации с использованием гликозилированных альдегидов либо, реже, пирролов. Второй предполагает прямое гликозилирование предварительно функционализированных порфиринов.

### 1.1. Синтез из пирролов и дипирролилметанов

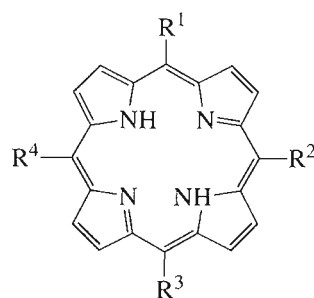
Это направление наиболее широко представлено в литературе. Таким путем были получены как нейтральные [10, 13], так и катионные порфирины [14]. Данную стратегию отличают широкие возможности, что позволяет тонко “настраивать” гидрофильно-липофильный баланс и исследовать влияние симметрии распределения полярных групп вокруг гидрофобного макроцикла на взаимодействие молекулы с клеточной мембраной.

Описанные в литературе конъюгаты в качестве порфириновой компоненты обычно содержат ТРР, который на сегодня является наиболее доступным синтетическим порфирином. Особое значение для синтеза пространственно затрудненных гликозилированных порфиринов имеет метод Линдсея [10, 13]. Он основан на конденсации пирролов и альдегидов в присутствии  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  с последующим окислением реакционной смеси *n*-хлоранилом или 2,3-дихлор-5,6-дицианбензохиноном (DDQ). Полученные этим способом соединения можно разделить по типу связи между порфирином и углеводным фрагментом на две группы: *O*-гликозиды и *C*-гликозиды.

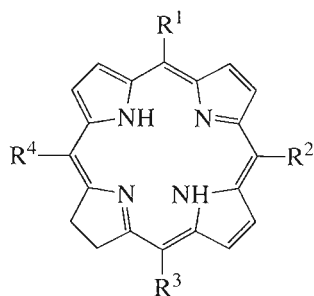
#### *O*-Гликозиды

Первое упоминание о гликозилированных тетрафенилпорфиринах относится к 1989 г., когда авторы работы [10] сообщили о синтезе 5,10,15,20-тетракис[2'-*O*-( $\beta$ -*D*-глюкопиранозил)фенил]порфирина (**1б**) (таблица) как модели активного центра гемопротейна. Позднее метод был распространен на соединения с другими углеводными компонентами. Этими же авторами по аналогичной методике были получены тетрамальтозилзамещенные ТРР (**2а,б**) [13]. Описанные выше соединения содержат углевод в *орто*-положении мезо-фенильного радикала. Порфирин (**1**) образуется в виде смеси трех атропоизомеров:  $\alpha\beta\alpha\beta$ ,  $\alpha\alpha\beta\beta$  и  $\alpha\alpha\alpha\beta$ , которые могут быть разделены хромато-

графически. Изомер  $\alpha\alpha\alpha\beta$  (**1а**) не мог быть синтезирован классическим методом [13] из-за стерических препятствий. Его удалось получить изомеризацией других изомеров при кипячении в смеси толуол-ацетонитрил в присутствии силикагеля [15]. После удаления защитных ацетильных групп были получены водорастворимые соединения (**1б**) и (**2б**) и показано, что растворимость сильно зависит от геометрии молекулы из-за различной сольватации и увеличивается в ряду  $\alpha\alpha\alpha\beta < \alpha\alpha\beta\beta < \alpha\beta\alpha\beta$  [13]. Кипячением в THF с  $\text{FeCl}_3$  и  $\text{MnCl}_2$  в присутствии *n*-нитрофенола получены соответствующие металлокомплексы [16].



(**1а,б**)–(**36а,б**), (**40а,б**)–(**61а,б**)



(**37а,б**)–(**39а,б**)

В специально подобранных условиях из пиррола, бензальдегида и гликозилированного бензальдегида были получены моно-, ди- и тризамещенные производные ТРР (**8а,б**)–(**15а,б**) (таблица). К сожалению, данный метод обычно дает смесь всех шести возможных изомеров, в связи с чем для получения индивидуальных порфиринов необходимо проводить тщательное хроматографическое деление. В отдельных случаях за счет подбора оптимального соотношения альдегидов удается свести к минимуму образование ТРР и тетрагликозилированного ТРР [13]. *пара*- и *мета*-

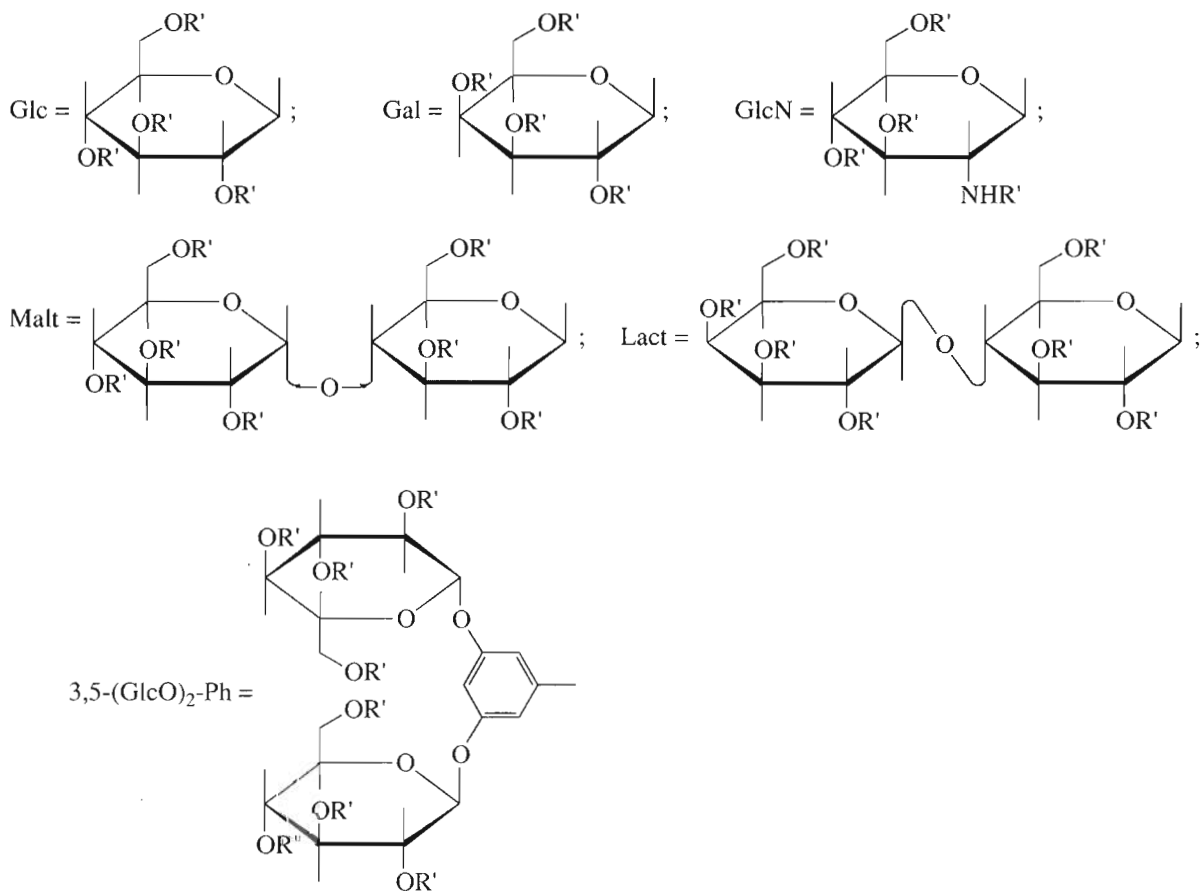
Гликозилированные производные порфиринов

Номер соедин.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Лит.
(1а, б)	2-GlcO-Ph-	2-GlcO-Ph-	2-GlcO-Ph-	2-GlcO-Ph-	[10, 15]
(2а, б)	2-MaltO-Ph-	2-MaltO-Ph-	2-MaltO-Ph-	2-MaltO-Ph-	[13]
(3а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	[17, 18]
(4а, б)	3-GlcO-Ph-	3-GlcO-Ph-	3-GlcO-Ph-	3-GlcO-Ph-	[17]
(5а, б)	4-GalO-Ph-	4-GalO-Ph-	4-GalO-Ph-	4-GalO-Ph-	[18]
(6а, б)	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	[18]
(7а, б)	4-GlcN-O-Ph-	4-GlcN-O-Ph-	4-GlcN-O-Ph-	4-GlcN-O-Ph-	[18]
(8а, б)	2-GlcO-Ph-	Ph-	Ph-	Ph-	[13]
(9а, б)	2-MaltO-Ph-	Ph-	Ph-	Ph-	[13]
(10а, б)	4-GlcO-Ph-	Ph-	4-GlcO-Ph-	Ph-	[13, 18]
(11а, б)	4-MaltO-Ph-	Ph-	4-MaltO-Ph-	Ph-	[13, 18]
(12а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	Ph-	Ph-	[13, 18]
(13а, б)	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	Ph-	Ph-	[13, 18]
(14а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	Ph-	[13, 18]
(15а, б)	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	Ph-	[13, 18]
(16а, б)	4-GlcO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[18]
(17а, б)	4-GlcO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	[18]
(18а, б)	4-MaltO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[18]
(19а, б)	4-MaltO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	[18]
(20а, б)	4-GlcO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	4-GlcO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[18]
(21а, б)	4-GlcO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	4-GlcO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	[18]
(22а, б)	4-MaltO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	4-MaltO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[18]
(23а, б)	4-MaltO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	4-MaltO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	[18]
(24а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[18]
(25а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	[18]
(26а, б)	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[18]
(27а, б)	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	[18]
(28а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[18]
(29а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	[18]
(30а, б)	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[18]
(31а, б)	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	4-MaltO-Ph-	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	[18]
(32а, б)	4-GlcO-Ph-	F <sub>5</sub> Ph-	F <sub>5</sub> Ph-	F <sub>5</sub> Ph-	[18]
(33а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	F <sub>5</sub> Ph-	[18]
(34а, б)	4-GlcO-Ph-	F <sub>5</sub> Ph-	4-GlcO-Ph-	F <sub>5</sub> Ph-	[18]
(35а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	F <sub>5</sub> Ph-	[18]
(36а, б)	3,5-(GlcO) <sub>2</sub> -Ph-	3,5-(GlcO) <sub>2</sub> -Ph-	3,5-(GlcO) <sub>2</sub> -Ph-	3,5-(GlcO) <sub>2</sub> -Ph-	[19]
(37а, б)	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	[20]
(38а, б)	4-GalO-Ph-	4-GalO-Ph-	4-GalO-Ph-	4-GalO-Ph-	[20]
(39а, б)	3,5-(GlcO) <sub>2</sub> -Ph-	3,5-(GlcO) <sub>2</sub> -Ph-	3,5-(GlcO) <sub>2</sub> -Ph-	3,5-(GlcO) <sub>2</sub> -Ph-	[20]
(40а, б)	2-GlcO-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	[14, 21]
(41а, б)	4-GlcO-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	[14, 21]
(42а, б)	2-MaltO-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	[14, 21]
(43а, б)	4-MaltO-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	[14, 21]
(44а, б)	2-Lact-O-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	[14, 21]
(45а, б)	2-Lact-O-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	4-PyN <sup>+</sup> (Me)-	[14, 21]

Таблица. Окончание

Номер соедин.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Лит.
(46а, б)	2-GlcO-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>i</i> -Pr)-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>i</i> -Pr)-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>i</i> -Pr)-	[14, 21]
(47а, б)	4-GlcO-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>i</i> -Pr)-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>i</i> -Pr)-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>i</i> -Pr)-	[14, 21]
(48а, б)	2-GlcO-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>н</i> -Oct)-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>н</i> -Oct)-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>н</i> -Oct)-	[14, 21]
(49а, б)	4-GlcO-Ph-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>н</i> -Oct)-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>н</i> -Oct)-	4-PyN <sup>+</sup> ( <i>н</i> -Oct)-	[14, 21]
(50а, б)	2-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	[22]
(51а, б)	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	[22]
(52а, б)	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-GlcO-Ph-	4-GlcO-Ph-	[22]
(53а, б)	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-GlcO-Ph-	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-GlcO-Ph-	[22]
(54а, б)	2-GlcO-Ph-	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	[22]
(55а, б)	4-GlcO-Ph-	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	4-NO <sub>2</sub> -Ph-	[22]
(56а, б)	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-CH <sub>3</sub> -Ph-	4-CH <sub>3</sub> -Ph-	4-CH <sub>3</sub> -Ph-	[23, 24]
(57а, б)	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-CH <sub>3</sub> -Ph-	4-CH <sub>3</sub> -Ph-	[23, 24]
(58а, б)	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-CH <sub>3</sub> -Ph-	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-CH <sub>3</sub> -Ph-	[23, 24]
(59а, б)	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-CH <sub>3</sub> -Ph-	[23, 24]
(60а, б)	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-GlcO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	[23, 24]
(61а, б)	4-MaltO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-MaltO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-MaltO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	4-MaltO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> O-Ph-	[23, 24]

а – остатки сахаров в R<sup>1</sup>-R<sup>4</sup> – ацетилированы (R' = Ac); б – остатки сахаров в R<sup>1</sup>-R<sup>4</sup> – дезацетилированы (R' = H).



Замещенные тетрагликозилированные производные (3) и (4), синтезированные по аналогичной методике с выходами 53 и 20%, не содержат атропоизомеров и могут быть использованы в качестве высокочувствительных спектрофотометрических агентов для определения ионов меди [17]. Деацетилированные продукты (36) и (46) растворимы в воде, а наличие объемистых заместителей предотвращает их агрегацию. Они достаточно стабильны в нейтральной среде, однако частично гидролизуются при pH 1.

Соединения (16) и (26) не проявляют токсичности и фототоксичности в отношении раковых клеток, что, по-видимому, связано с их глобулярной структурой, которая препятствует проникновению в клетку (см. раздел 3) [18, 19]. Поэтому авторы работы [18] ограничились получением плоских амфифильных гликозиларилпорфиринов, несущих моно- и дисахаридные остатки в *пара*-положении *мезо*-арильных групп (3), (5)–(7) (таблица). Они были синтезированы методом Линдсея с выходами 28, 20, 12 и 15% соответственно. Однако основные усилия этих исследователей были направлены на получение частично замещенных порфиринов, обладающих амфифильным характером. Были подобраны условия (порядок добавления реагентов, их соотношение, время реакции) с целью увеличения выхода ди- и тригликозилированных производных (10)–(15) (таблица).

Наличие как алкильных, так и арильных липофильных заместителей приводит к увеличению эффективности гликопорфиринов в качестве фотосенсибилизаторов вследствие их лучшего встраивания в клеточную мембрану. Авторами работы [18] были получены смешанные (гликозиларил)алкилпорфирины, имеющие гидрофобные *n*-бутильные, *n*-ундецильные и пентафторфенильные заместители в *мезо*-положениях (соединения (16)–(35)) (таблица).

С целью увеличения участка связывания с мембранными рецепторами конденсацией пиррола и 3,5-бис(тетраацетилглюкопиранозилокси)бензальдегида были получены также октагликозилированные ТРР (36а, б) [19].

В отличие от порфиринов, хлорины (2,3-дигидропорфирины) обладают заметно большим коэффициентом поглощения в длинноволновой области спектра, что способствует повышению эффективности использования их при терапии глубоко залегающих опухолей. В этой связи соединения (3а, б), (5а, б) и (36а, б) были восстановлены димидным методом до соответствующих хлоринов (37а, б)–(39а, б) [20].

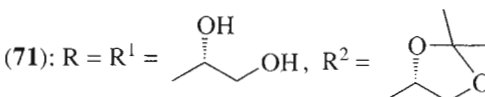
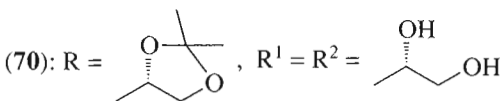
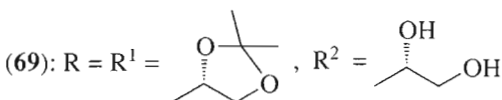
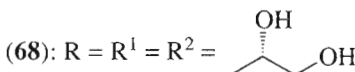
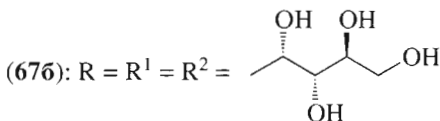
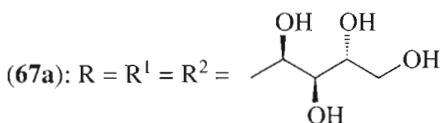
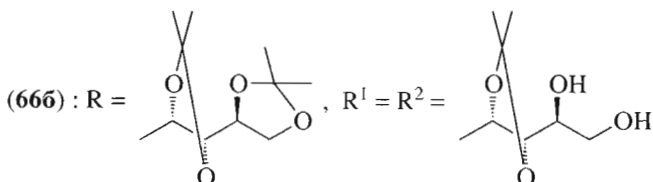
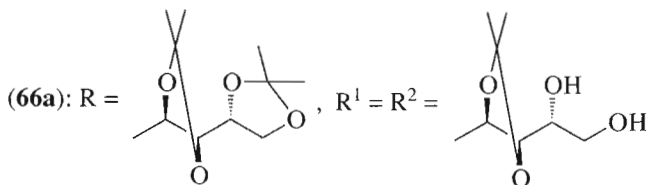
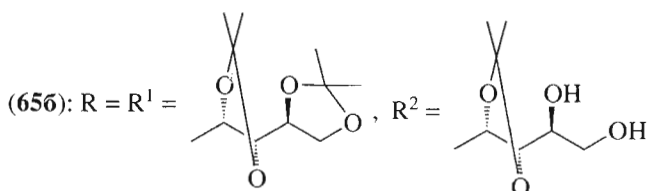
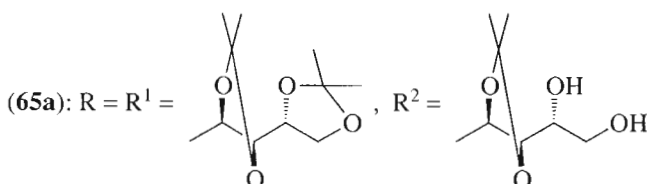
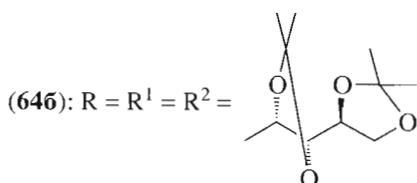
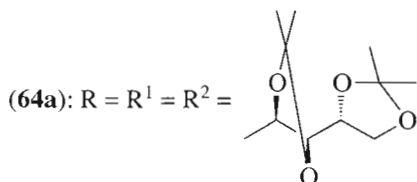
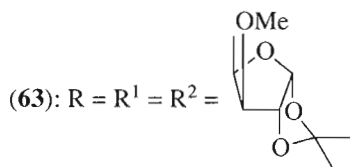
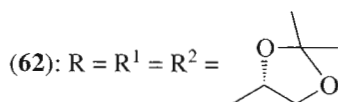
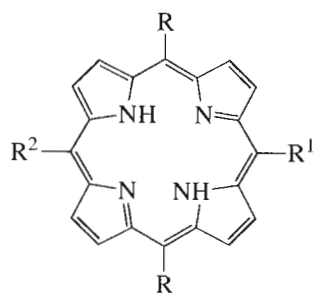
Как известно, катионные порфирины обладают повышенным сродством к ДНК и поэтому могут проявлять антивирусную активность. Описан синтез серии несимметричных катионных *O*-гликозилированных порфиринов (40)–(49), содержащих одну *мезо*-фенильную группу с моно- или дисахаридным остатком в *орто*- или *пара*-положениях, и три положительно заряженные *мезо*-алкилпиридиниевые группы [14, 21].

В работе [22] описан синтез гликозилированных порфиринов (50а, б)–(55а, б) (таблица), обладающих антибактериальной активностью. Эти несимметричные нейтральные порфирины, содержащие, кроме углеводных фрагментов, электроноакцепторные нитрогруппы, получены из пиррола, нитробензальдегида и гликозилированного бензальдегида.

Кипячением *O*-гликозилированных производных *n*-(3-гидроксипропилокси)бензальдегида с толуилальдегидом и пирролом в пропионовой кислоте получены конъюгаты (56а, б)–(61а, б) (таблица), в которых углеводный фрагмент связан с *мезо*-фенильной группой через спейсерный участок [23, 24]. Показано, что эти соединения обладают фунгицидной активностью.

### С-Гликозиды

Все вышеописанные соединения относятся к классу *O*-гликозидов. Однако *O*-гликозидная связь чувствительна к действию кислот [17]. Среди различных способов присоединения функциональных заместителей к порфириновому макроциклу простая С–С-связь имеет существенные преимущества вследствие более высокой химической и ферментативной устойчивости; такие конъюгаты описаны в работах [25, 26]. Конденсацией пиррола с 2,3-*O*-изопропилиден-*D*-глицеральдегидом был получен порфирин (62) в виде смеси атропоизомеров. Отмечается, что прямая конденсация эквимольных количеств реагентов приводит к смеси  $\alpha\beta\alpha\beta$ -,  $\alpha\alpha\alpha\beta$ -,  $\alpha\alpha\beta\beta$ - и  $\alpha\alpha\alpha\alpha$ -атропоизомеров в соотношении 20 : 15 : 5 : 6. Найдено, что при использовании в качестве катализатора конденсации 2,4,6-триметилфеноксимагнийбромид образует исключительно  $\alpha\beta\alpha\beta$ -изомер [25]. Аналогично конденсацией пиррола с 1,2-*O*-изопропилиден-3-*O*-метил- $\alpha$ -*D*-ксилопентадиальдофуранозой или энантиомерами 2,3:4,5-ди-*O*-изопропилиденарабинозы были получены соединения (63), (64а, б), (65а, б) и (66а, б) в виде  $\alpha\beta\alpha\beta$ -атропоизомеров, однако выходы в этом случае были существенно ниже и не превышали 4–6%.



Метод молекулярного моделирования показал непланарность порфирина (62) [25]. Согласно данным ПМР,  $\alpha\beta\alpha\beta$ -изомер (62) находится в растворе в виде смеси двух “гофрированных” (ruffle) конформеров, а  $\alpha\alpha\alpha\beta$  представлен одним устойчивым *ruf*-изомером. Такие молекулы с амфифильными свойствами представляют интерес для исследования влияния конформации макроцикла на поглощение света, окислительно-восстановительные свойства, селективность взаимодействия между порфиринами и другими биомолекулами.

Удаление изопропилиденовых защитных групп в соединениях  $\alpha\beta\alpha\beta$ -(62), (64a, б), (65a, б) и (66a, б) действием 50% TFA приводит к водорастворимым производным (68) и (67a, б). Из  $\alpha\alpha\alpha\beta$ -(62) в этих условиях образуется смесь амфифильных порфиринов (69) и (70); при высокой концентрации TFA возможно получение производного (71), однако полного удаления защитных групп в порфирине (62) достичь не удалось [25].

Взаимодействием  $\alpha\beta\alpha\beta$ - и  $\alpha\alpha\alpha\beta$ -изомеров (62) с ацетатами переходных металлов в смеси хлоро-

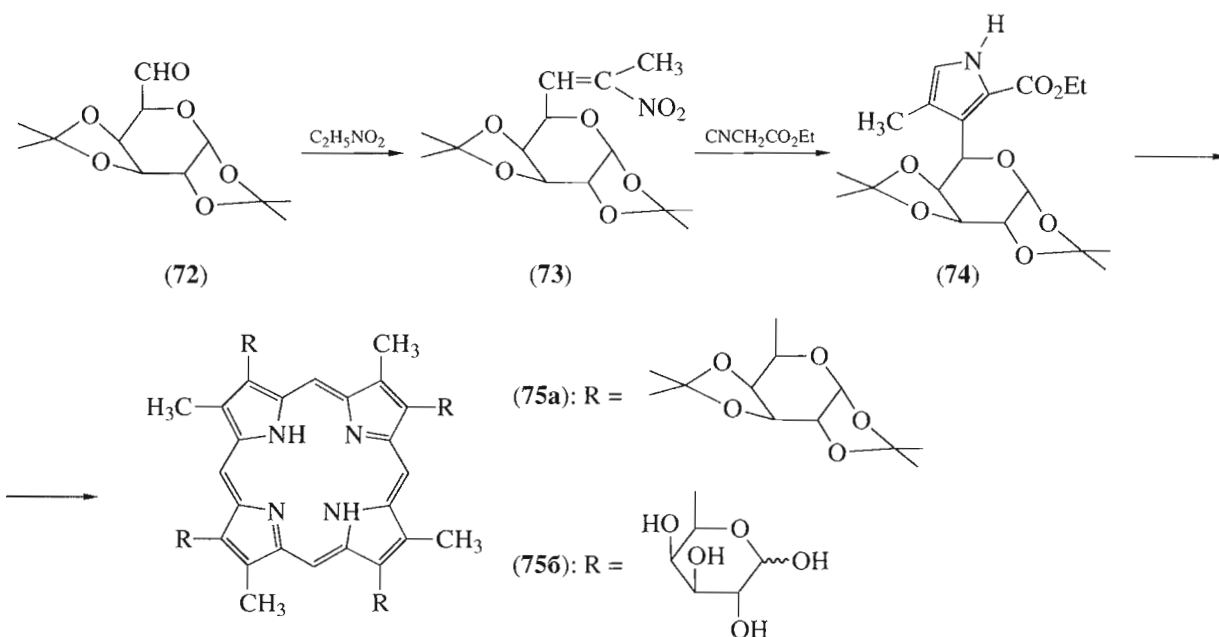


Схема 1.

форм-метанол (1 : 1) получены Cu-, Ni-, Zn-, Pd- и Rh-комплексы. Два других изомера в этих условиях не реагируют, однако в более жестких условиях (DMF, 160°C) были получены их палладиевые комплексы [25].

Принципиально иная стратегия синтеза гликопорфиринов предложена в работе [27] (см. схему 1). Основой пиррольного синтеза по методу Бартона служит нитровинильное производное (73), полученное конденсацией альдегида (72) с нитроэтаном. Нитроалкен (73) при обработке этилизоцианацетатом давал пиррол (74), сложноэфирную группу которого восстанавливали в гидроксиметильную, после чего получали алкилпорфирин (75a). В общем случае тетрамеризация несимметричных пирролов должна давать смесь всех четырех возможных изомеров. Однако в данном случае вследствие стерических эффектов образуется единственный продукт (75a). После удаления изопропилиденовых групп с помощью катионообменной смолы получали водорастворимое производное (75b). Показано, что фотосенсибилизирующая активность соединения (75b) сравнима с активностью используемых в настоящее время ФС на основе производных гематопорфирина (Фототрин и др.) [9].

Новые C-гликопорфирины могут быть получены конденсацией защищенных C-гликоди-пирролилметанов с альдегидами в присутствии кислотных катализаторов [28]. Реакция протекает регио-, диастерео- и энантиоселективно. Метод представляется также перспективным для получения конъюгатов с другими биологически ак-

тивными соединениями, например аминокислотами, нуклеозидами и терпенами.

Предложен также эффективный синтез стабильных C-гликопорфиринов конденсацией Линдсея с выходом более 50% [29]. Исходные C-гликозилированные альдегиды получали исходя из тиосахаров и  $\alpha, \alpha'$ -дибром-*n*-ксилола.

### 1.2. Прямое гликозилирование порфиринов

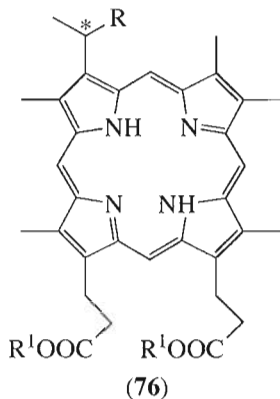
Вторым направлением в синтезе гликопорфиринов является непосредственное гликозилирование порфиринов, имеющих необходимые для этого функциональные группировки, в первую очередь, amino- или гидроксильные. Этот подход используется для получения несимметричных гликоконъюгатов на основе природных соединений и позволяет варьировать структуру и число углеводных фрагментов, регулируя таким образом амфифильность соединения.

#### O-Гликозиды

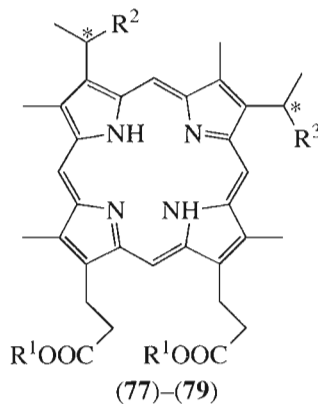
Принципиальная возможность гликозилирования порфиринкарбинолов с использованием классических методов химии углеводов была впервые показана в работе [12]. С целью получения оптически активных соединений ортоэфирным методом был синтезирован 3-[1-*O*-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- $\beta$ -*D*-глюкопиранозил)этил]-8-метилдейтеропорфирин IX (76).

С использованием метода Кенигса–Кнорра и его модификаций на основе производных гемато-

порфирина получены асимметричные *O*-гликозиды (77), (78), (81)–(84) [30, 31].



(76): R¹ = Me, R = Ac₄GlcO–



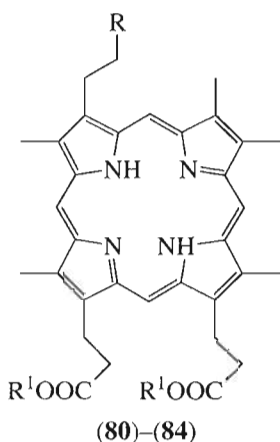
(77a): R¹ = Me, R² = OH, R³ = GlcO–

(77b): R¹ = Me, R² = OH, R³ = Ac₄GlcO–

(78a): R¹ = Me, R² = R³ = GlcO–

(78b): R¹ = Me, R² = R³ = Ac₄GlcO–

(79): R¹ = Me, R² = R³ = OH



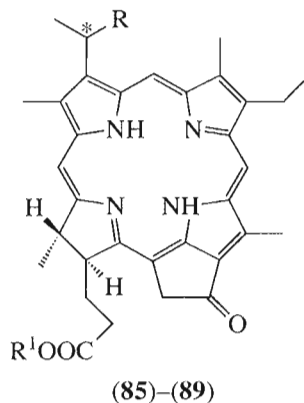
(80): R¹ = Me, R = OH

(81): R¹ = Me, R = Ac₄GlcO–

(82): R¹ = H, R = GlcO–

(83): R¹ = Me, R = Ac₄GalO–

(84): R¹ = H, R = GalO–



(85): R = OH, R¹ = Me

(86a): R = Ac₄GlcO–, R¹ = Me

(86b): R = GlcO–, R¹ = Me

(87): R = GlcO(CH₂)₃S(CH₂)₂O–, R¹ = Me

(88): R = GlcO(CH₂)₂S–, R¹ = Me

(89): R = GalO(CH₂)₂S–, R¹ = Me

\* Смесь изомеров.

Диметилловый эфир гематопорфирина (79) гликозилировали 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозилбромидом в присутствии HgBr₂ и Hg(CN)₂ [30]. Использование 2 экв. ацетобромглюкозы дает моногликозилированное производное (77b) с выходом 30%, если же брать 4-кратный избыток углевода, то образуется диглюкозид (78b) с выходом 52%. Продукты образуются с  $\beta$ -конфигурацией гликозидного центра, в виде смеси диастереомеров.

Деацетилирование в условиях, обеспечивающих сохранение сложноэфирных групп по остат-

кам пропионовой кислоты (0.6 экв. KCN/MeOH или 10 экв. MeONa/MeOH), приводило к соответствующим производным со свободными гидроксильными группами в остатках глюкозы (77a) и (78a) с выходом 70–80%.

Авторы работы [31] в качестве исходного соединения использовали изогематопорфирин (80), который благодаря наличию первичного гидроксила более стабилен, чем гематопорфирин. Гликозилирование  $\alpha$ -*D*-ацетобромглюкозой и  $\alpha$ -*D*-ацетобромгалактозой в присутствии карбоната серебра приводило к соответствующим гликози-



дам (81) и (83) с  $\beta$ -конфигурацией аномерного центра. Полученные соединения достаточно стабильны, что подтверждается жесткими условиями омыления защитных ацетильных групп (кипячение в водно-метанольном растворе щелочи в течение 24 ч). Гликозиды (82), (84) со свободными сахарными OH-группами растворимы в воде (до 4%) и эффективно генерируют синглетный кислород.

Также весьма перспективными фотосенсибилизаторами могут оказаться производные хлоро-

филла *a*, поскольку они обладают интенсивным поглощением в длинноволновой области спектра и низкой темновой токсичностью. Нами были получены новые амфифильные гликоконъюгаты на основе пиррофеофорбида *a* (86)–(89) [32–34]. Для синтеза *O*-гликозилированных пиррофеофорбидов (86а, б) был выбран метод, основанный на гликозилировании гидроксипиррофеофорбида (85) пентаацетатом глюкозы в присутствии кислот Льюиса [32].

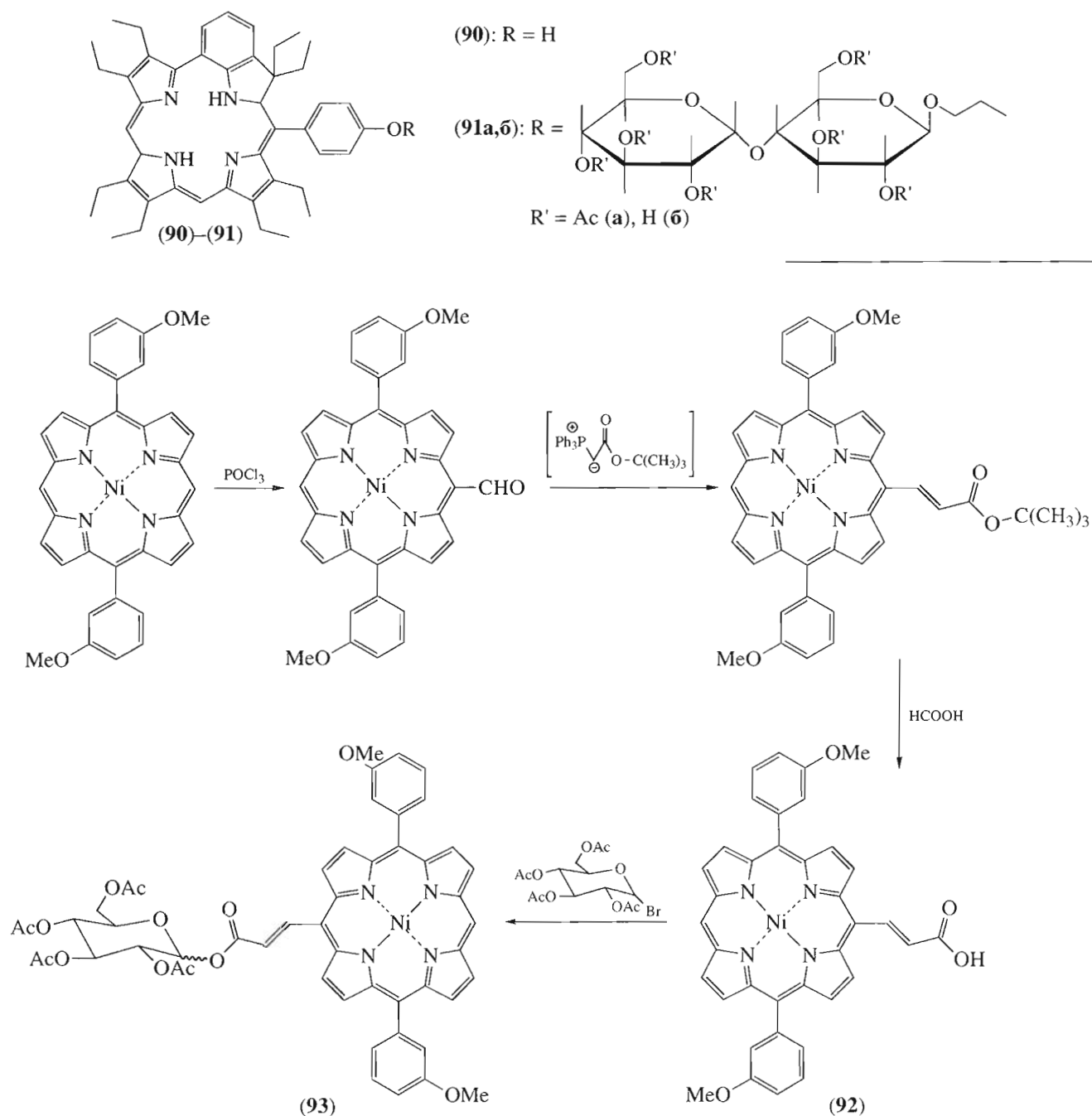


Схема 2.

Известно, что для эффективного взаимодействия углеводов с лектинами – белками, обладающими способностью узнавать и специфически связывать углеводные остатки, – необходимо определенное расстояние между терминальным остатком сахара и гидрофобной частью молекулы [35]. С целью изучения механизма связывания углеводов с лектинами опухолевых клеток синтезирован ряд гликозилированных пиррофенорбинов со спейсерными участками между порфириновой и углеводной частями молекулы (87)–(89) [33, 34]. Соединения (88) и (89) получены гликозилированием гидроксипропилового пиррофенорбида пентаацетатами глюкозы и галактозы в присутствии эфира трифтористого бора. Для синтеза гликозида (87) нами был использован иной подход, основанный на конденсации тетраацетата 3-(2-гидроксиэтилтио)пропил-β-D-глюкопиранозиды с бромпроизводным пиррофенорбида.

В работе [36] описан синтез амфифильного гликоконъюгата бензохлорина со спейсерным участком между углеводом и макроциклом. Исходный хлорин (90) получали обработкой никелевого комплекса мезо-(*n*-метоксифенил)октаэтилпорфирина 3-(диметиламино)акролеином в условиях реакции Вильсмейера с последующей циклизацией в кислых условиях и удалением металла. Гликозилирование бензохлорина (90) перацетатом 2-бромэтилмальтозида в DMF в присутствии K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> давало соединение (91a) (выход 95%), его последующее деацетилирование позволило получить (91b) с количественным выходом.

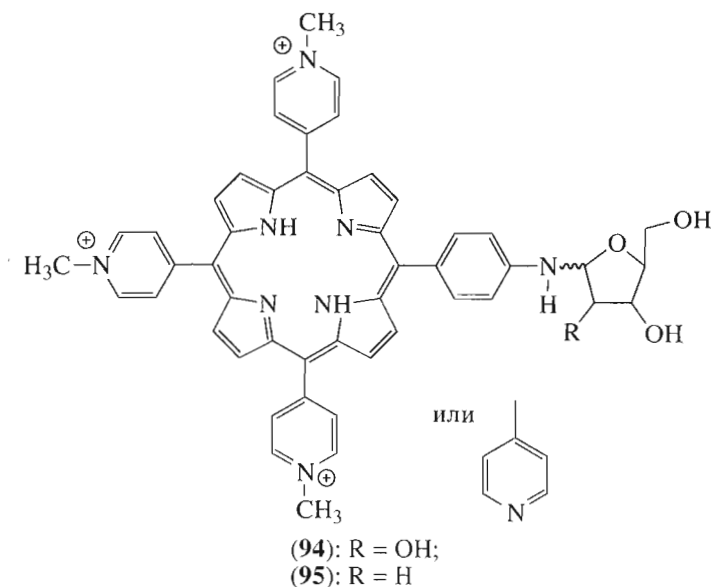
Оригинальный подход к синтезу моногликозилированных порфиринов типа (93) (схема 2) предложен португальскими авторами [37]. Метод основан на предварительном получении порфирина

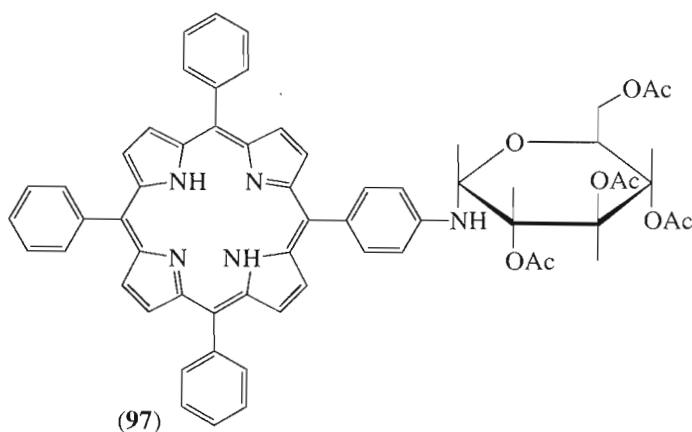
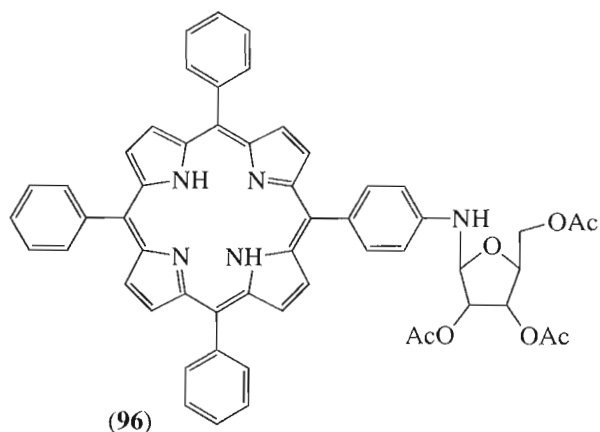
(92), содержащего остаток акриловой кислоты, и его гликозилировании ацетобромглюкозой.

### *N*-Гликозиды

Первые представители порфирил-*N*-гликозидов были получены Жучайовски с соавт. в 1994 г. [38]. В соединениях (94), (95) одно из мезо-положений порфиринового цикла замещено *n*-рибозиламино- или *n*-2-дезоксирибозиламинофенильной группами, а по трем другим мезо-положениям присоединены остатки 4-пиридина или *N*-метил-4-пиридина. Исходный мезо-4-ацетидаминофенилтрис(4-пиридил)порфирин получали по методу Ротмунда конденсацией пиррола, 4-формилпиридина и 4-ацетидаминобензальдегида. Гидролиз ацетидаминогрупп TFA–HCl приводил к соответствующему аминофенилпорфиру, который затем гликозилировали *D*-рибозой или 2-дезоксид-*D*-рибозой в присутствии хлористого аммония. При этом получали соединения (94) и (95) с выходами 64 и 54% соответственно в виде смесей аномеров. Обработка метилиодидом давала соответствующие катионные производные.

Благодаря наличию остатков рибозы или дезоксирибозы эти соединения формально можно рассматривать как аналоги нуклеозидов, в которых вместо гетероциклического основания содержится структурная единица 4-аминофенилпорфирина. Свободные 3'- и 4'-положения фуранозы позволяют использовать эти соединения для получения водорастворимых порфирил-олигонуклеотидов, некоторые из которых обладают противопухоловой активностью и способны при облучении направленно разрушать ДНК или РНК раковой клетки.



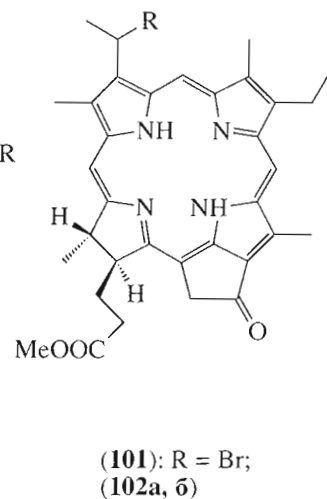
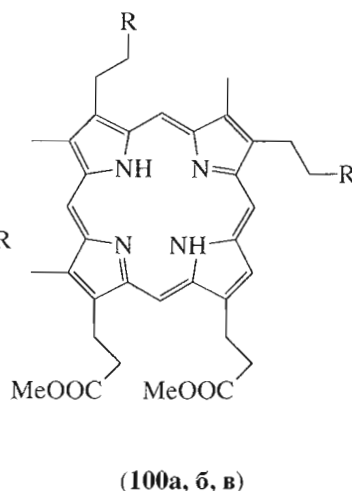
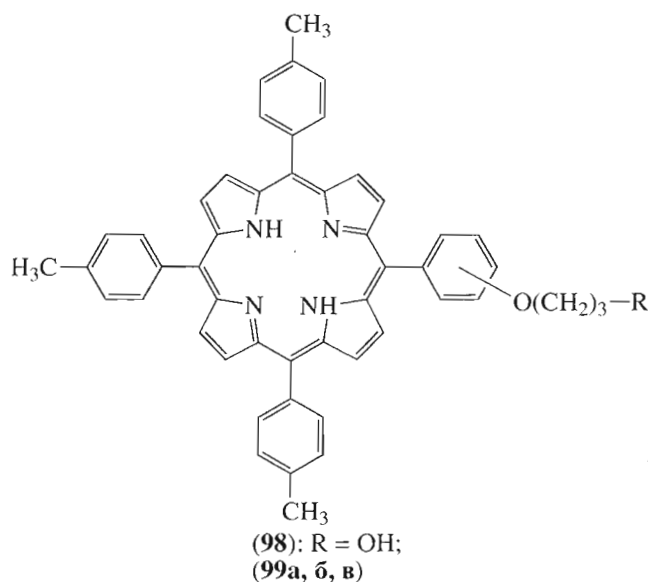


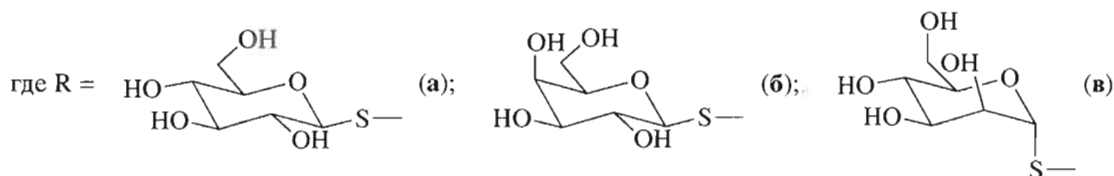
В качестве гликозилирующих агентов могут быть использованы 1-бромпроизводные защищенных сахаров. Так, реакцией 5-(*n*-аминофенил)-10,15,20-трифенилпорфирина с 2,3,5-*O*-триацетил-β-*D*-глюкофуранозилбромидом и 2,3,4,6-*O*-тетраацетил-α-*D*-глюкопиранозилбромидом были получены *N*-гликозилированные производные (96) и (97) [39].

*S*-Гликозиды

Известно, что серосодержащие фотосенсибилизаторы часто проявляют более высокую активность при фотодинамической терапии по сравнению с их кислородными аналогами [40]. Кроме того, *S*-гликозидная связь является более устойчивой к кислотному гидролизу, что существенно для биологических систем. Это позволяет предположить высокую эффективность ФС на основе тиогликозилированных порфиринов. Тем не менее сведения о порфиринил-

*S*-гликозидах в литературе весьма немногочисленны. В работе [41] описано получение тиогликозилированных *мезо*-арилпорфиринов со спейсерным участком между макроциклом и углеводной частью. В качестве исходного соединения для синтеза авторы использовали бромпроизводное (98), полученное реакцией 5-(*n*-гидроксифенил)-10,15,20-тритолилпорфирина с 1,3-дибромпропаном, которое затем гликозилировали известным методом, вводя остатки 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-1-тио-β-*D*-глюко-, -галакто-, -α-*D*-маннопиранозы. После удаления защитных ацетильных групп получали соответствующие *S*-гликозиды (99а-в). Аналогичным способом были получены тиогликозиды на основе природных порфиринов (100а-в) [42]. Установлено, что эти соединения способны генерировать синглетный кислород после облучения и проявляют фотоцитотоксичность.





*S*-Гликопирофеофорбиды (**102a, б**), являющиеся тиоаналогами соединения (**86б**), синтезированы нами с помощью реакции между бромпроизводным порфирина (**101**) и тиосахарами [32]. Показано, что реакция протекает значительно быстрее и с более высоким выходом, если вместо ацетилированных тиосахаров использовать гликозилмеркаптиды натрия.

Тетразамещенные *S*-гликозилированные порфирины с очень высокими выходами (до 90%) получены взаимодействием гликозилмеркаптидов натрия с 5,10,15,20-тетра-(пентафторфенил)порфирином [29].

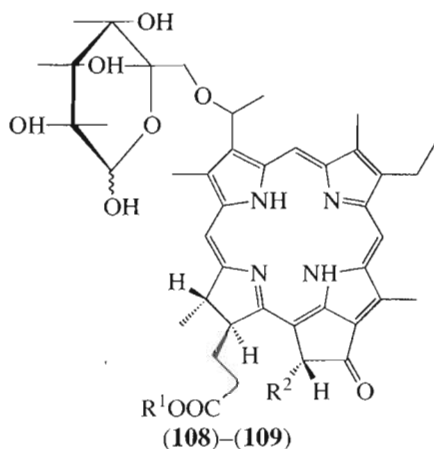
#### Гликопорфирины с другими типами связи

В литературе описаны конъюгаты, в которых порфирин связан с углеводными фрагментами простой эфирной [43, 44], сложноэфирной [45] и амидной [46] связями.

Поскольку гликозидная связь под действием определенных ферментов способна расщепляться, Бонне с сотр. осуществлен синтез серии производных октаэтилхлорина с устойчивой простой эфирной связью между углеводной и порфириновой частями молекулы [43]. Производные со-

ступенчато изменяющейся амфифильностью получены исходя из октаэтилпорфирина путем его гидроксирования тетроксидом осмия с последующей пинаколиновой перегруппировкой и восстановлением кетона (**103**) боргидридом натрия (схема 3). Полученное гидроксипроизводное хлорина превращали через промежуточный бромид (**104**) в простые эфиры, включая производные глицерина (**105**), *D*-маннитола (**106**) и *D*-глюкозы (**107**). Алкилирующим агентом в данном случае является стерически затрудненный псевдобензильный катион, образующийся из бромида (**104**), что позволяет использовать незащищенные моносахариды, и реакция идет в основном по первичным спиртовым группам.

Аналогично конденсацией бромэтильных производных феофорбида и пирофеофорбида с диизопропилиденгалактозой нами были получены галактоза-6-ил-замещенные феофорбиды с простой эфирной связью (**108**) и (**109**) [34, 44]. Было показано, что для успешного протекания реакции конденсации необходимо присутствие основания, например, 4-диметиламинопиридина. Вместо бромидов в качестве исходных соединений можно использовать трифторацетильные производные феофорбидов [34].



(**108a, б**): R<sup>1</sup> = H (a), Me (б); R<sup>2</sup> = COOMe

(**109a, б**): R<sup>1</sup> = H (a), Me (б); R<sup>2</sup> = H

Гликозамиды (**111a–г**) были получены по схеме, включающей активацию карбоксильной группы в протопорфирине IX этилхлорформиатом с образованием смешанного ангидрида (**110**), который затем конденсировали с 2-дезоксид-2-аминосахарами [46]. Выход целевых продуктов достигал 90%. Ав-

торы использовали незащищенные углеводы, однако полученные продукты не удалось очистить хроматографически из-за их высокой полярности. Поэтому реакционную массу сначала ацетилировали, выделяли и характеризовали продукты в виде ацетатов, а затем удаляли защитные группы.

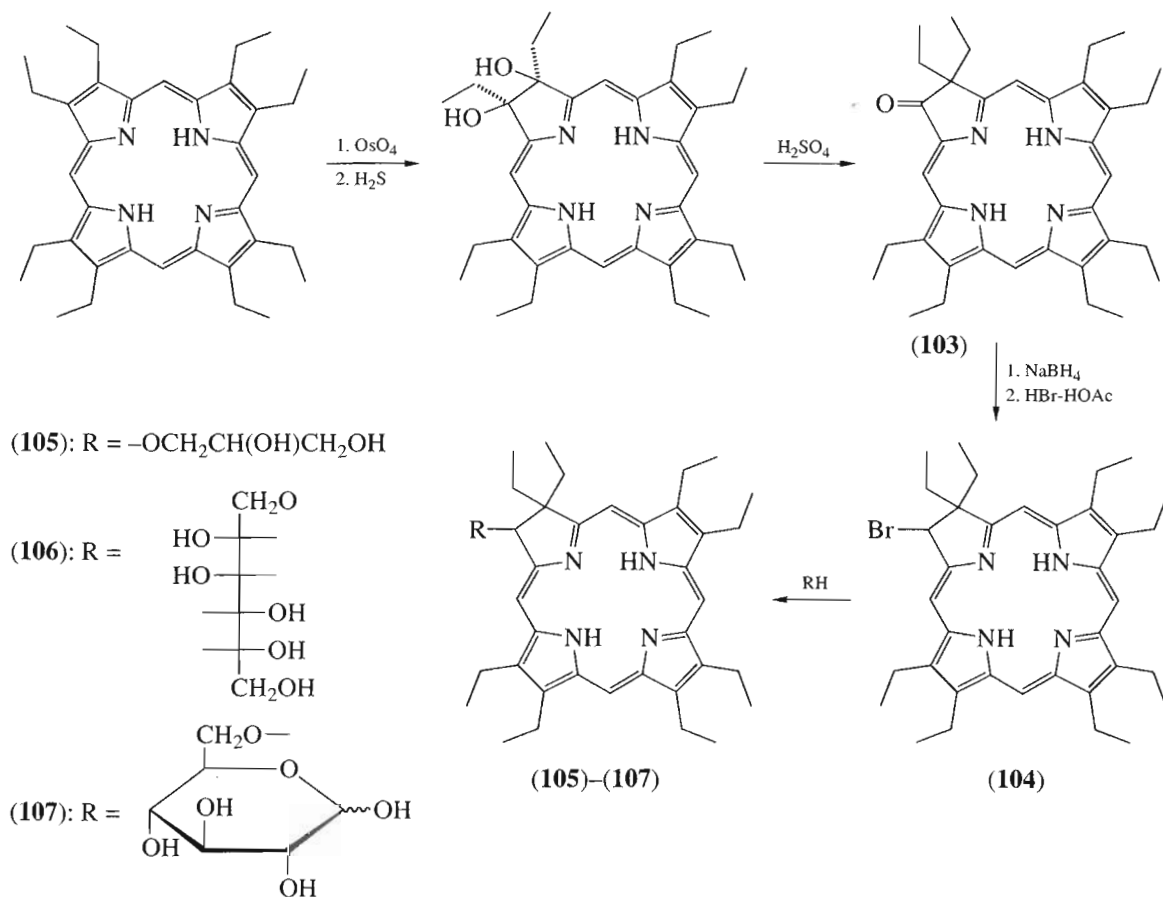
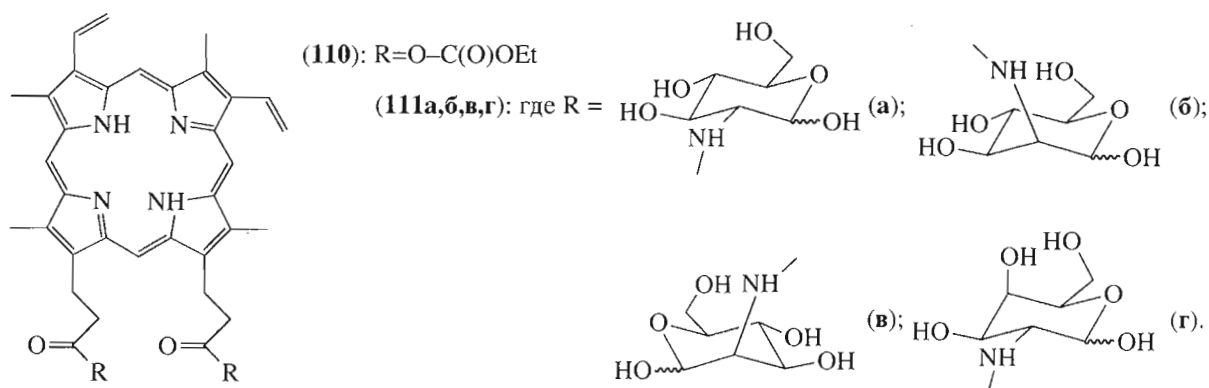


Схема 3.

С помощью электронных спектров поглощения, спектров флуоресценции и кругового дихроизма было показано, что амфифильные производные (111а–г) способны формировать агрегаты в виде мицеллярных волокон, которые обладают

уникальной стабильностью (до нескольких месяцев) [46]. Полученные структуры могут быть использованы для моделирования процессов фотоиндуцируемого разделения зарядов и переноса энергии.



Исходя из соединений (112а–д) (схема 4) методом переэтерификации в присутствии  $\text{CH}_3\text{Li}$  были получены диизопропилиден- $\alpha$ -D-галак-

тоза-6-ил-замещенные порфирины (113а–д) [45]. Обработкой TFA- $\text{H}_2\text{O}$  соединения (113а–д) переводили в соответствующие водо-

растворимые порфирины (**114а-д**). Выход порфиринов (**113а-в**) составил 28–50%, (**113г, д**) – около 7%. Низкий выход, очевидно, связан с омылением исходных эфиров (**112а-д**) и термическим разрушением продуктов при температуре реакции (80–90°C). Использование более низкой температуры (40°C) также не привело к повышению выхода продуктов (**113а-д**). Удовлетворительного выхода порфирина (**113д**) (20%) авторам удалось добиться с использованием метода Линдсея. Для остальных порфиринов этот метод оказался менее успешным (например, для производного (**113а**) выход составил всего 8%).

## 2. УГЛЕВОДЫ В КАЧЕСТВЕ СТРОИТЕЛЬНЫХ БЛОКОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ПОРФИРИНОВ

Углеводные фрагменты могут быть использованы в качестве строительных блоков для создания мостиковых связей между порфиринами. Такие структуры используются для моделирования различных биологических процессов, в частности, фотосинтеза, переноса энергии, разделения зарядов.

В фотосинтетических системах важным фактором, регулирующим эффективность внутримолекулярного переноса электрона, является вза-

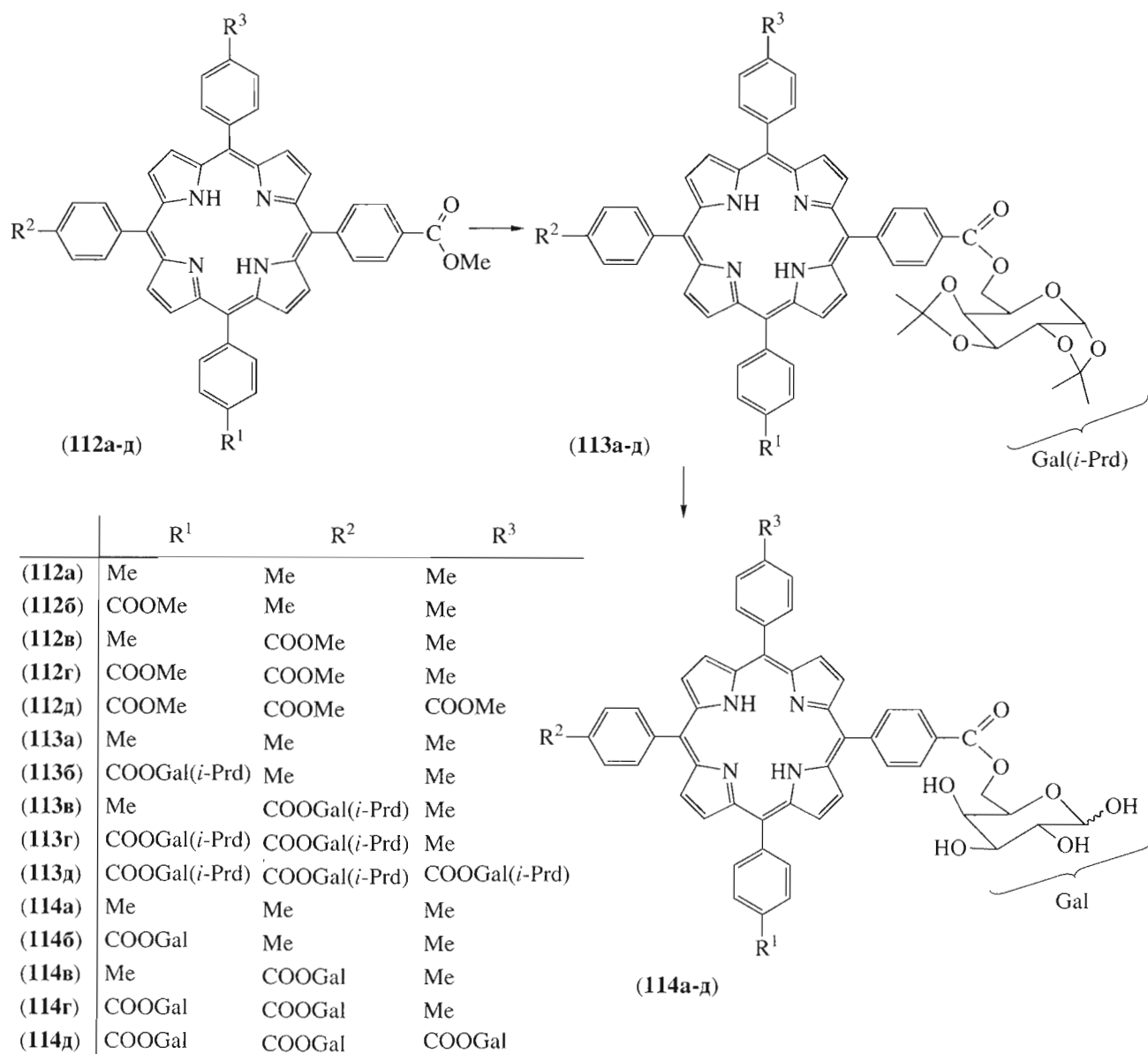
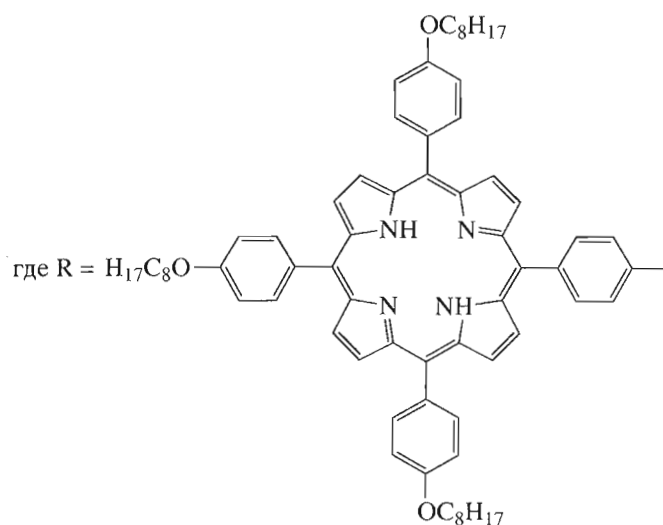
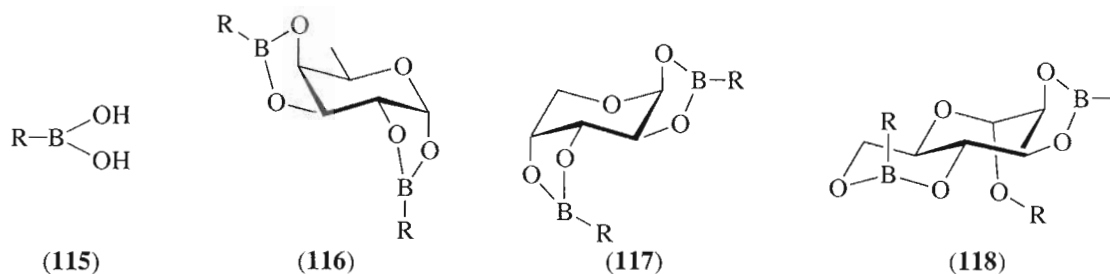


Схема 4.

имное расположение порфириновых макроциклов. Для моделирования таких систем удобно использовать димеры с определенным углом и расстоянием между порфириновыми макроциклами. Эта непростая задача может быть решена

посредством связывания порфиринов с моносахаридами, спектр конфигураций которых очень широк [47]. В качестве исходного соединения использовался порфирин (115), содержащий остаток борной кислоты, способный к этерификации.



Димерные порфирины с мостиками на основе *D*-фукозы (116) (120°), *D*-арабинозы (117) (53°) и метил-*D*-маннозида (118) (40°) были получены кипячением растворов соответствующих моносахаридов и порфирина (115) в соотношении 1.2 : 2 (в скобках указаны величины углов между порфириновыми остатками димеров).

Авторами работы [48] были получены порфириновые димеры, ковалентно связанные с помощью четырех циклодекстриновых (CD) линкеров. Синтез осуществляли по методу Линдсея конденсацией ацетилированного  $\alpha$ -CD-6<sup>A</sup>,6<sup>E</sup>-бисбензальдегида с 2 экв. пиррола. Необычная структура таких соединений – молекулярная клетка и четыре гидрофобные полости – предполагает эффективное связывание лигандов и возможность использования в процессах молекулярного узнавания и катализа.

Другие авторы [49–51] осуществили синтез ряда  $\beta$ -CD-сандвичевых порфиринов, которые позволяют моделировать природные гемопротенины.

В качестве исходного соединения был использован тетраakis(*o*-тиоацетоксифенил)порфирин, который получали из *o*-тиоацетоксифенальдегида и пиррола с выходом 20% в виде смеси четырех атропоизомеров [49]. Изомеры  $\alpha\beta\alpha\beta$  и  $\alpha\alpha\beta\beta$  реагируют с A,*D*-диiodo- $\beta$ -CD в основных условиях, давая CD-связанный порфирин в виде смеси пяти изомеров.

Новый класс гликозилированных порфиринов описан в работе [52]. Это так называемый “перепоясанный” порфирин, в котором два периферических положения макроцикла связаны мостиком из углеводов. Объемистые группы в связывающей цепочке обеспечивают экранирование макроцикла. Трехмерная организация таких структур придает им специфические свойства, позволяющие использовать их в качестве селективных катализаторов, а также для моделирования некоторых биологических процессов. Конденсация мезо-(*n*-толил)дипирролилметана (119) (схема 5) с 6,6'-ди-*O*-(3-формил)бензоил-2,3,4,2',3',4'-гекса-*O*-триметилсиллил- $\alpha,\alpha'$ -трегалозой (120) с последующим

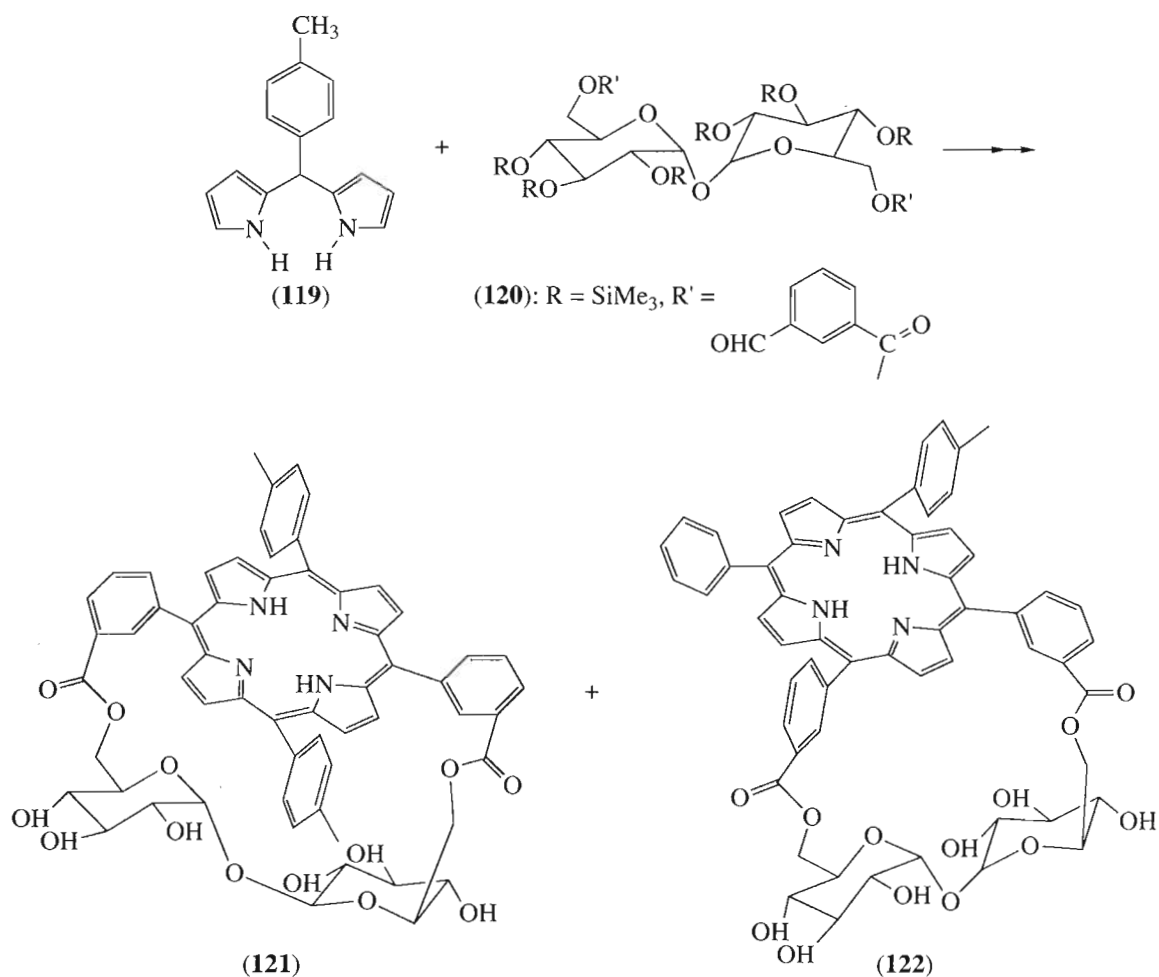


Схема 5.

удалением защитных групп давала *цис*-(121) и *транс*-(122)-“перепоясанные” порфирины с общим выходом 8 и 5% соответственно.

### 3. СВОЙСТВА ГЛИКОПОРФИРИНОВ. НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЛИЯНИЯ СТРУКТУРЫ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ СОЕДИНЕНИЙ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА

Металлокомплексы ацетилированных производных (1a), (2a) могут быть активными катализаторами окисления алкенов. Изучение каталитической активности Mn(II)- и Fe(III)-комплексов трех полученных атропоизомеров (1a) показало, что хиральное окружение активного центра и общая геометрия молекулы определяют характер асимметричного окисления алкенов [15, 16]. Четыре объемистых углеводных заместителя в *орто*-положении *мезо*-фенильного радикала в этих соединениях вызывают сильные

стерические затруднения по обеим сторонам плоскости макроцикла [16], противодействуя нежелательным побочным реакциям с металлокомплексами. Наиболее удачным для этих целей оказался  $\alpha\alpha\alpha$ -изомер (1a) [15]. В случае насыщенных углеводородов марганцевые и железные комплексы тетрагликозилированных порфиринов (1a) и (3a) региоспецифично катализируют гидроксирование первичных C–H-связей 2-метилбутана, в то время как их безуглеводные аналоги катализируют окисление вторичных и третичных C–H-связей [53]. На примере реакции окисления циклогексана показано, что введение в структуру катализатора ацетилированных углеводов приводит к повышению выхода и скорости реакции, а также к увеличению соотношения циклогексанол/циклогексанон [54].

Далее в этом разделе данные о свойствах и применении гликоконъюгатов порфиринов рассмотрены в связи с проблемами и перспективами фотодинамической терапии онкологических заболеваний. Метод фотодинамической терапии осно-



ван на способности определенных соединений – фотосенсибилизаторов – преимущественно накапливаться в опухолях [9] и при облучении светом определенной длины волны инициировать серию фотохимических реакций, приводящих к гибели раковых клеток. Введение углеводных фрагментов в молекулу ФС позволяет целенаправленно регулировать амфифильность соединений. Внутримолекулярные оси асимметрично замещенных амфифильных молекул позволяют им специфически ориентироваться в плазматической мембране клетки, способствуя проникновению в клетку [9, 55, 56]. Гликопорфирины обычно хорошо растворимы в воде, что облегчает их практическое использование и одновременно способствует быстрому выведению из организма после терапии. Взаимодействие углеводных остатков с лектинами клеточных мембран должно способствовать проникновению препарата в клетку и клеточные органеллы путем эндоцитоза. Более высокая селективность таких ФС может быть вызвана различиями в составе мембран опухолевых и здоровых клеток [35], в частности, повышением уровня лектинов. Описано специфическое связывание некоторых гликопорфиринов с клетками печени крысы, обусловленное наличием углеводных фрагментов [29].

Авторы настоящего обзора прежде всего хотели бы привлечь внимание к недостаточно изученной и в то же время наиболее интересной стороне вопроса – зависимости эффективности гликозилированных ФС от их структуры. При этом основное внимание уделяется таким характеристикам, как число и природа углеводных фрагментов, расположение их вокруг макроцикла (эффект симметрии), присутствие других заместителей. Кроме того, значение может иметь тип связи и наличие спейсерного участка между макроциклом и углеводом.

Проблемам использования симметричных гликопорфиринов посвящены работы [19, 20, 56]. Авторы работы [19] сосредоточили внимание на фототерапевтическом эффекте тетрагликозилированных ТРР. Ими была сделана попытка найти корреляцию между гидрофильностью этих соединений и их биологической активностью. С этой целью были выбраны три серии симметричных тетрагликозилированных ТРР с защищенными и свободными гидроксильными группами (**3а, б**), (**5а, б**) и (**7а, б**) (таблица) и октагликозилированный ТРР (**36а, б**). Показано, что эти соединения более эффективно генерируют синглетный кислород, чем  $\text{HrD}$ , причем заметных различий между выбранными соединениями (за исключением **(36)**) отмечено не было. В исследованиях *in vitro* было обнаружено, что наличие ацетилированных углеводных заместителей у (**3а**), (**5а**) и (**7а**) повышает способность фотосенсибилизаторов проникать через клеточные мембраны. Соединение

(**36а**) не проявило такого эффекта, что, очевидно, связано с его объемистой сферической структурой. Гидрофильные симметричные порфирины (**36**), (**56**), (**76**) оказались значительно менее эффективными ФС, чем их ацетилированные производные.

В ряду хлоринов (**37**)–(**39**) результаты несколько отличались [20]. Так, гидрофильные тетраглюкозил- и тетрагалактозилзамещенные хлорины (**376**) и (**386**) проявили довольно высокую активность *in vitro*. Для октагликозилированного хлорина (**396**), так же как и для его порфиринового аналога (**386**), наблюдалась низкая активность переноса через мембрану вследствие его избыточной гидрофильности.

Для более детального исследования [56, 57] были выбраны тетрагликозилированные ТРР (**16**), (**36**) и тригликозилированные порфирины (**146**) и (**356**). Первые два порфирина отличаются конфигурацией (заместители в *орто*- или *пара*-положениях мезо-фенильного радикала) и, как следствие, плоской или сферической геометрией. Два других – несимметричные производные с различными гидрофобными заместителями (фенил и пентафторфенил). Авторами этих работ представлены фотофизические параметры соединений и изучено влияние их структуры на агрегацию и связывание с липидной мембраной как одной из главных мишеней фотодинамической терапии. В качестве модельной мембраны были использованы липосомы, образованные димиристоилфосфатидилхолином.

Квантовые выходы синглетного кислорода для выбранных соединений оказались величинами одного порядка, однако исследования *in vitro* показали различную активность. По фотоцитотоксичности они располагаются в следующем порядке: (**16**)  $\ll$  (**36**) < (**356**) < (**146**) [57].

Эти результаты подтверждают гипотезу о том, что для встраивания порфиринов в липидную мембрану они должны быть амфифильными. Несимметричные производные (**146**) и (**356**) способны должным образом ориентироваться в клеточной мембране. При этом наблюдается корреляция между фотобиологической активностью и связыванием с липосомами [56]. Так, соединение (**16**), не проявляющее фототоксичности, не способно проникать в липосомы; соединения (**146**) и (**356**), проявившие большее сродство к DMPC-липосомам, обладают повышенной фотодинамической активностью [18, 57].

Приведенные данные позволяют сделать вывод, что для взаимодействия с мембраной и, следовательно, для эффективной терапии необходимо наличие, как минимум, одного гидрофобного – “якорного” – заместителя. Наибольшую противоопухолевую активность среди порфиринов (**16**)–(**35**) проявили мезо-бутил- и мезо-пента-

фторфенилзамещенные производные (246) и (356).

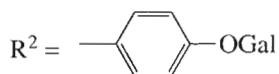
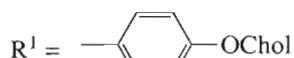
Характерной особенностью гликопорфиринов является их способность к димеризации в водных растворах, однако стабильность образующихся димеров сильно зависит от геометрии молекул, природы и расположения заместителей в макроцикле [58]. Симметричные тетрагликозилированные порфирины (16) образуют нестабильные агрегаты (константа димеризации  $K_d = 1.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ), для тригликозилированных производных (286)  $K_d$  увеличивается на три порядка. Замена одной углеводзамещенной фенильной группы у (286) на алкильную приводит к дальнейшему увеличению  $K_d$  еще на один порядок (соединение (246)). Эти данные позволяют сделать вывод, что агрегация гликопорфиринов в водных растворах определяется в основном гидрофобными взаимодействиями. Положение заместителей также оказывает влияние на процесс агрегации. Так, димеры соединения (246) с углеводными фрагментами в соседних положениях макроцикла значительно стабильнее изомера (206), у которого заместители расположены по диагонали.

Для симметрично и асимметрично замещенных гликозилированных ТРР (36) и (146) изучены сравнительная эффективность и механизм антивирусного действия [59]. Асимметричный порфирин (146) вызывает инактивацию бактериофага T7 в темноте, в то время как после облучения значительно больший эффект наблюдался для симметричного производного (36). Различия в кинетике инактивации могут быть объяснены тем,

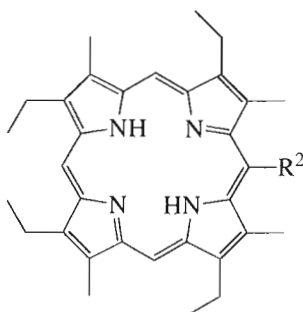
что в условиях эксперимента порфирин (146) в значительной степени (до 40%) агрегирован, что приводит к снижению квантового выхода синглетного кислорода.

Фотоактивность серии гликопорфиринов со спейсером между углеводной и порфириновой частями молекулы (56)–(61) изучалась с использованием в качестве модели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [23]. Производные (56)–(58) с одним или двумя углеводными фрагментами, имеющие амфифильный характер, проявляют наибольшую фотоактивность. При этом наличие у *цис*-диглюкозилпорфирина (57) хорошо разделенных в пространстве гидрофобного и гидрофильного полюсов облегчает проникновение через клеточную мембрану и способствует повышению фотобиологической активности по сравнению с *транс*-диглюкозилпорфирином (58).

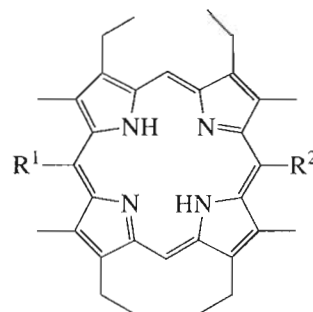
Аналогичные результаты были получены в работе [22] при сравнении антимикробной активности гликозилированных *мезо*-арилпорфиринов (50)–(55). Было показано, что ни негликозилированные нитрофенилпорфирины, ни ацетилированные гликопорфирины (50a)–(55a) не проявляют после облучения антибактериальных свойств. Наибольшую фотоцитотоксичность проявляют соединения, имеющие ярко выраженный амфифильный характер, т. е. два или три углеводных фрагмента со свободными гидроксильными группами в *пара*-положении фенильного кольца (50б) и (52б). Наряду с этим авторы отмечают, что гликопорфирины без нитрогрупп не являются фотингибиторами грамположительных бактерий.



где Chol – холестерил.



(123)



(124)

Известно, что раковые клетки имеют высокий уровень LDL-рецепторов. Поэтому весьма вероятно, что амфифильные и гидрофобные сенсibilизаторы встраиваются в раковую клетку через рецептор-опосредованный эндоцитоз липопротеинов низкой плотности [55, 60]. Следовательно, повышение селективности ФС связано с его высоким сродством к липопротеинам. Неожиданные результаты были получены при изучении

взаимодействия с липосомами и липопротеинами двух амфифильных порфиринов: галактоза-6-илзамещенного моноарилпорфирина (123) и диарилзамещенного порфирина, имеющего в своем составе галактоза-6-илокси- и холестерилокси-группы (124) [60]. Оказалось, что константы связывания с липосомами и липопротеинами для порфирина (123) значительно выше, чем для гематопорфирина. Более гидрофобный порфи-

рин (124), напротив, не встраивался в липосомы. Это можно объяснить тем, что в водных растворах порфирин (124) образует стабильные везикулоподобные структуры. Полученные данные демонстрируют необходимость определенного баланса между гидрофильными и гидрофобными частями сенсibilизатора для эффективного встраивания в клеточную мембрану.

Эффективность ФС, содержащих углеводные фрагменты, может быть повышена при введении аминокислот или коротких олигопептидов в качестве дополнительных заместителей [61, 62].

Приведенные данные свидетельствуют о наличии у гликопорфиринов фотодинамической активности, иногда заметно превышающей активность аналогичных производных, не имеющих углеводных заместителей [36, 43]. Так, введение дисахаридного фрагмента в неактивный бензохлорин позволило получить соединение (91) [36], проявившее значительную фотосенсибилизацию *in vitro*. Однако для клинического использования необходимо также избирательное воздействие на клетки опухоли. Эксперименты *in vivo* в ряду амфифильных производных (106), (107) [43] показали, что эти соединения дают глубину некроза опухоли в 2–3 раза выше, чем Фотопорфин II [9], но, к сожалению, вызывают высокую сенсibilизацию кожи и мышечной ткани. Сведения о биораспределении и внутриклеточной локализации ФС на основе гликопорфиринов в литературе отсутствуют.

### ВЫВОДЫ

Обобщая изложенный материал, нужно отметить, что область применения конъюгатов порфиринов с углеводами постоянно расширяется. Создание сложных моделей, включающих гликопорфирины, может оказаться ценным для изучения механизмов функционирования биологических систем и решения различных задач биохимии, химической технологии и медицины. Одной из важнейших областей использования конъюгатов порфиринов с углеводами является фотодинамическая терапия рака. Однако, несмотря на определенные успехи, достигнутые в этой области, остается невыясненным ряд вопросов, касающихся особенностей поведения гликопорфиринов в биологических системах, биораспределения и накопления в злокачественных тканях организма. В связи с постоянно растущим интересом к проблемам фотодинамической терапии возникает необходимость изучения молекулярных и мембранных механизмов фотодинамического эффекта таких конъюгатов, детального исследования взаимосвязи между структурой фотосенсибилизаторов и их специфической активностью.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Verchere-Beaur C., Perree-Fauvet M., Tarnaud E., Anneheim-Herbelin G., Bone N., Gaudemer A. // *Tetrahedron*. 1996. V. 52. P. 13589–13604.
2. Karpishin T., Vanelly T., Glover K. // *J. Am. Chem. Soc.* 1997. V. 119. P. 9063–9064.
3. Ushiyama M., Arisaka F., Yamamura F. // *Chem. Lett.* 1999. P. 127–128.
4. Geier G., Sasaki T. // *Tetrahedron Lett.* 1997. V. 38. P. 3821–3824.
5. Maruyama K., Nomura K., Tamiaki H. // *Peptide Chem.* 1990. P. 323–328.
6. Tamiaki H., Nomura K., Maruyama K. // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1993. V. 66. P. 3062–3068.
7. Евстигнеева П.П., Грибков А.А., Пащенко В.З., Корватовский Б.Н. // *Биоорган. химия*. 1998. Т. 24. С. 682–687.
8. Лукуз С., Себякин Ю.Л. // *Биоорган. химия*. 1996. Т. 22. С. 725–736.
9. Sternberg E., Dolphin D., Brucker C. // *Tetrahedron*. 1998. V. 54. P. 4151–4202.
10. Maillard P., Guerquin J.-L., Momenteau M. // *J. Am. Chem. Soc.* 1989. V. 111. P. 9125–9127.
11. Kieda C., Monsigny M. // *Invasion Metastasis*. 1986. V. 6. P. 347–366.
12. Миронов А.Ф., Исаева Г.М., Швец В.И., Евстигнеева П.П., Степанов А.Н., Перов А.А., Курьянов С.Е. // *Биоорган. химия*. 1978. Т. 10. С. 1410–1413.
13. Maillard P., Guerquin J.-L., Huel C., Momenteau M. // *J. Org. Chem.* 1993. V. 58. P. 2774–2780.
14. Driaf K., Granet R., Krausz P., Kaouadji M., Tomasson F. // *Can. J. Chem.* 1996. V. 74. P. 1550–1563.
15. Maillard P., Vilain S., Huel C., Momenteau M. // *J. Org. Chem.* 1994. V. 59. P. 2887–2890.
16. Maillard P., Guerquin J.-L., Momenteau M. // *Tetrahedron Lett.* 1991. V. 37. P. 4901–4904.
17. Kohata K., Yamaguchi Y., Higashio H., Odashima T., Ishii H. // *Chem. Lett.* 1992. P. 489–492.
18. Oulmi D., Maillard P., Guerquin J.-L., Huel C., Momenteau M. // *J. Org. Chem.* 1995. V. 60. P. 1554–1564.
19. Mikata Y., Onchi Y., Tabata K., Ogura S.-I., Okura I., Ono H., Yano S. // *Tetrahedron Lett.* 1998. V. 39. P. 4505–4508.
20. Mikata Y., Onchi Y., Shibata M., Kakuchi T., Ono H., Ogura S.-I., Okura I., Yano S. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998. V. 8. P. 3543–3548.
21. Driaf K., Krausz P., Verneuil B., Spiro M., Blais J.-C., Bolbach G. // *Tetrahedron Lett.* 1993. V. 34. P. 1027–1030.
22. Sol V., Branland P., Granet R., Kaldapa C., Verneuil B., Krausz P. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998. V. 8. P. 3007–3010.
23. Carre V., Gaud O., Sylvain I., Bourdon O., Spiro M., Blais J., Granet R., Krausz P., Guillon M. // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*. 1999. V. 48. P. 57–62.
24. Gaud O., Granet R., Kaouadji M., Krausz P., Blais J., Bolbach B. // *Can. J. Chem.* 1996. V. 74. P. 481–489.
25. Cornia M., Valenty C., Capacchi S., Gozzini P. // *Tetrahedron*. 1998. V. 54. P. 8091–8106.

26. Cornia M., Casiraghi G., Binacchi S., Zanardi F., Ras-su G. // *J. Org. Chem.* 1994. V. 59. P. 1226–1230.
27. Ono N., Bougauchi M., Maruyama K. // *Tetrahedron Lett.* 1992. V. 33. P. 1629–1632.
28. Capacchi S., Cornia M., Gozzini P. // Abstracts of First Intern. Conference on Porphyrins and Phthalocyanins (ICPP-1), Dijon, France. 25–30 June, 2000. P. 363.
29. Pasetto P., Chen X., Drain C.M., Franck R.W. // *Chem. Commun.* 2001. P. 81–82.
30. Bourhim A., Czernecki S., Krausz P. // *J. Carbohydr. Res.* 1990. V. 9. P. 761–765.
31. Fulling G., Schroder D., Franck B. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1992. V. 28. P. 1519–1521.
32. Аксенова А.А., Себякин Ю.Л., Миронов А.Ф. // *Био-орган. химия.* 2001. Т. 27. С. 140–145.
33. Миронов А.Ф., Себякин Ю.Л., Аксенова А.А. // *Ученые записки МИТХТ.* 2000. Вып. 1. С. 14–19.
34. Аксенова А.А. Синтез и изучение свойств конъюгатов порфиринов с углеводами. Дис. ... канд. хим. наук. М.: Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, 2000. С. 45–68.
35. Hoekstra D., Duzgunes N. // *Subcell. Biol.* 1989. V. 14. P. 229–278.
36. Maillard P., Hery C., Momenteau M. // *Tetrahedron Lett.* 1997. V. 38. P. 3731–3734.
37. Tome J.P.C., Neves M.G.P., Tome A.C., Cavaleiro J.A. // Abstracts of First Intern. Conference on Porphyrins and Phthalocyanins (ICPP-1), Dijon, France. 25–30 June, 2000. P. 587.
38. Li H., Czuchajowski L. // *Tetrahedron Lett.* 1994. V. 35. P. 1629–1630.
39. Li Z.-Y., Cong C., Li L., Wang T.-F. // *Chem. J. Chin. Univ.* 2000. V. 21. P. 840–843.
40. Karagianis G., Reiss J. A., Scourides P. A. // *Aust. J. Chem.* 1993. V. 46. P. 1755–1762.
41. Silvain I., Benhaddou R., Carre V., Gottas S., Driguez H., Granet R., Guilloton M., Krausz P. // *J. Porph. and Phthal.* 1999. V. 3. P. 1–4.
42. Silvan I., Benhaddou R., Granet R., Huang Y.M., Lagorce J.-L., Guilloton M., Krausz P. // Abstracts of First Intern. Conference on Porphyrins and Phthalocyanins (ICPP-1), Dijon, France. 25–30 June, 2000. P. 577
43. Adams K., Berenbaum M., Bonnett R., Nizhnik A., Salgado A., Valles M. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* 1992. P. 1465–1471.
44. Аксенова А.А., Себякин Ю.Л., Миронов А.Ф. // *Био-орган. химия.* 2000. Т. 26. С. 126–129.
45. Hombreckner H., Ohm S., Koll D. // *Tetrahedron.* 1996. V. 52. P. 5441–5448.
46. Fuhrhop J.-H., Demoulin C., Boettcher C., Koning J., Siggel U. // *J. Am. Chem. Soc.* 1992. V. 114. P. 4159–4165.
47. Жилина З.И., Ишков Ю.В. // *Успехи химии порфиринов.* 1999. Т. 2. С. 7–26.
48. Chen W.-H., Yan J.-M., Tagashira Y., Yamaguchi M., Fujita K. // *Tetrahedron Lett.* 1999. V. 40. P. 891–894.
49. Kuroda Y., Ito M., Sera T., Ogoshi H. // *J. Am. Chem. Soc.* 1993. V. 115. P. 7003–7004.
50. Kuroda Y., Sera T., Ogoshi H. // *J. Am. Chem. Soc.* 1991. V. 113. P. 2793–2794.
51. Kuroda Y., Hiroshige T., Sera T., Shiroiwa Y., Tanaka H., Ogoshi H. // *J. Am. Chem. Soc.* 1989. V. 111. P. 1912–1913.
52. Davoust E., Granet R., Krausz P., Carre V., Guilloton M. // *Tetrahedron Lett.* 1999. V. 40. P. 2513–2516.
53. Guo C.-C., Zhang X.-B., Song J.-X., Li H.-P. // *Acta Chim. Sin.* 2000. V. 58. P. 332–337.
54. Zhang X.-B., Guo C.-C., Xu J.-B., Yu R.-Q. // *J. Mol. Catal. A: Chem.* 2000. V. 154. P. 31–38.
55. Bonnett R. *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy.* London: Gordon and Breach Science Publishers, 2000. 305 p.
56. Csik G., Balog E., Voszka I., Tolgyesi F., Oulmi D., Maillard P., Momenteau M. // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* 1998. V. 44. P. 216–224.
57. Momenteau M., Oulmi D., Maillard P., Croisy A. // *SPIE Proc.* 1994. V. 2325. P. 13–23.
58. Oulmi D., Maillard P., Vever-Bizet C., Momenteau M., Brault D. // *Photochem. Photobiol.* 1998. V. 67. P. 511–518.
59. Gabor F., Szolnoki J., Toth K., Fekete A., Maillard P., Csik G. // *Photochem. Photobiol.* 2001. V. 73. P. 304–311.
60. Shell C., Hombreckner H. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999. V. 7. P. 1857–1865.
61. Sol V., Blais J.-C., Bolbach G., Carre V., Granet R., Guilloton M. // *Tetrahedron Lett.* 1997. V. 38. P. 6391–6394.
62. Sol V., Blais J.-C., Carre V., Granet R., Guilloton M., Spiro M., Krausz P. // *J. Org. Chem.* 1999. V. 64. P. 4431–4444.

## Conjugates of Porphyrins with Carbohydrates

A. A. Aksenova, Yu. L. Sebyakin, and A. F. Mironov<sup>#</sup>

<sup>#</sup> Phone: +7 (095) 434-8678, e-mail: mironov@httos.mitht.msk.ru

Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

The methods of synthesis and properties of porphyrins covalently linked with carbohydrates are considered. Special attention is paid to the prospects of using this class of compounds as photosensitizers in photodynamic cancer therapy. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2003, vol. 29, no. 3; see also <http://www.maik.ru>.

*Key words:* carbohydrates, conjugates, porphyrins, properties, synthesis, use