

## Синтез и цитотоксическая активность порфиринов переходных металлов с фрагментом диэтиленгликоля на периферии макроцикла

Я. И. Пылина,<sup>a</sup> О. М. Старцева,<sup>b</sup> Е. Е. Расова,<sup>a</sup> Д. В. Белых<sup>b@</sup>

<sup>a</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982 Сыктывкар, Россия

<sup>b</sup>Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167000 Сыктывкар, Россия

@E-mail: [belykh-dv@chemi.komisc.ru](mailto:belykh-dv@chemi.komisc.ru), [belykh-dv@mail.ru](mailto:belykh-dv@mail.ru)

Синтезирован ряд новых порфиринов переходных металлов на основе производных хлорофилла *a* с фрагментами диэтиленгликоля на периферии хлорофиллового макроцикла и изучено влияние положения фрагмента диэтиленгликоля, наличия и природы координированного катиона металла ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ) на цитотоксическую активность производных хлорофилла *a* по отношению к клеткам линии HeLa. Основные тенденции влияния металла на цитотоксические свойства заключаются в том, что внедрение катиона цинка существенно повышает цитотоксичность при переходе от низкотоксичных безметалльных хлорофилов к соответствующим комплексам и слабо влияет в случае относительно токсичных хлорофилов, а внедрение катиона никеля и меди практически не изменяет или несколько снижает цитотоксический эффект. Исключение составляет диэтиленгликолевый эфир пиррофеофорбида *a*, который значительно менее цитотоксичен, чем соответствующий порфиринат меди. Влияние внедрения фрагмента диэтиленгликоля в случае порфиринов меди заключается в повышении цитотоксичности, а в случае порфиринов цинка и никеля цитотоксические свойства в большинстве случаев изменяются слабо. Наибольшей цитотоксической активностью обладают комплексы на основе производных хлорофилла *a* без экзоцикла, а так же порфиринат цинка на основе диэтиленгликолевого эфира пиррофеофорбида *a*. Среди них наибольшей цитотоксичностью обладает порфиринат никеля на основе 13-метиламидного производного хлорофилла *a* с фрагментом диэтиленгликоля в положении 17 макроцикла. Все перечисленные производные представляют интерес с точки зрения более подробного изучения в качестве потенциальных темных противоопухолевых цитотоксических агентов.

**Ключевые слова:** Порфиринаты переходных металлов, производные хлорофилла *a*, производные пиррофеофорбида *a*, метилпиррофобид *a*, диэтиленгликоль, фотонезависимая цитотоксическая активность, *in vitro*.

## Synthesis and Cytotoxic Activity of Transition Metal Porphyrins with a Fragment of Diethylene Glycol on the Periphery of the Macrocyclic

Y. I. Pylina,<sup>a</sup> O. M. Startseva,<sup>b</sup> E. E. Rasova,<sup>a</sup> and D. V. Belykh<sup>b@</sup>

<sup>a</sup>Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Syktyvkar, Russia

<sup>b</sup>Institute of Chemistry of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167000 Syktyvkar, Russia

@Corresponding author E-mail: [belykh-dv@chemi.komisc.ru](mailto:belykh-dv@chemi.komisc.ru), [belykh-dv@mail.ru](mailto:belykh-dv@mail.ru)

*A number of new transition metal porphyrinates based on chlorophyll *a* derivatives with diethylene glycol fragments at the chlorin macrocycle periphery were synthesized, and the influence of the position of the diethylene glycol fragment, as well as of the presence and nature of the coordinated metal cation ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ) on the cytotoxic activity of chlorophyll *a* derivatives against HeLa cells was studied. The main tendencies of metal influence on cytotoxic properties are that the introduction of the zinc cation significantly increases cytotoxicity going from low-toxic metal-free chlorins to the corresponding complexes and has little effect in the case of relatively toxic chlorins, and the introduction of the nickel and copper cations hardly alters or slightly reduces the cytotoxic effect. The exception is pyropheophorbide *a* diethylene glycol ether, which is significantly less cytotoxic than the corresponding copper porphyrinate. The insertion of the diethylene glycol fragment increases cytotoxicity in the case of copper porphyrinates, and in the case of zinc and nickel porphyrinates the cytotoxic properties slightly change. The complexes based on chlorophyll *a* derivatives without exocycle have the greatest cytotoxic activity, as well as zinc porphyrinate based on pyropheophorbide *a* diethylene glycol ether. Among these complexes nickel porphyrinate based on a 13-methylamide chlorin  $e_6$  derivative with a fragment of diethylene glycol in position 17 of the macrocycle has the greatest cytotoxicity. All of these derivatives are of interest from the point of view of a more detailed study as potential dark antitumor cytotoxic agents.*

**Keywords:** Transition metal porphyrinates, derivatives of chlorin  $e_6$ , derivatives of pyropheophorbide *a*, methylpheophorbide *a*, diethylene glycol, photoindependent cytotoxic activity, *in vitro*.

## Введение

Известно, что хлорофилл *a* и его производные являются перспективными исходными соединениями для получения биологически активных соединений, обладающих, в частности, противоопухолевой активностью. В связи с этим, некоторые представители такого типа соединений применяют в медицине в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии онкологических заболеваний.<sup>[1-3]</sup> Кроме того, показано,<sup>[4-6]</sup> что ряд порфиринов переходных металлов на основе производных хлорофилла *a* проявляют фотонезависимую цитотоксическую активность в отношении клеток злокачественных новообразований, что в сочетании с высокой вероятностью селективного накопления этих соединений в опухолях может быть использовано для химиотерапии онкологических заболеваний. Известно, что внедрение на периферию хлоринового макроцикла фрагментов олигоэтиленгликолей повышает биодоступность соединения в целом.<sup>[7-12]</sup> В то же время, внедрение фрагмента олигоэтиленгликоля, а также его положение в хлориновом макроцикле может оказывать влияние на темновую цитотоксичность соединения.<sup>[13]</sup> В связи с этим в настоящей работе синтезированы новые порфириновые комплексы переходных металлов (меди, цинка и никеля) с фрагментом диэтиленгликоля (ДЭГ) на периферии макроцикла (**Cu-1**, **Cu-3**, **Ni-1**, **Ni-3**, **Zn-1**, **Zn-3**, Схема 1) и исследована темновая цитотоксическая активность вновь и ранее синтезированных комплексов (**Cu-2**, **Ni-2**, **Zn-2**) в сравнении с соответствующими безметалльными хлоринами (**1-3**) на линиях опухолевых клеток HeLa с целью выявления перспективных темновых противоопухолевых цитостатиков.

## Экспериментальная часть

ЯМР  $^1\text{H}$  спектры соединений записывали на приборе Bruker Avance 300 (рабочая частота 300 МГц) в дейтерохлороформе. Масс-спектры были записаны на масс-спектрометре

Thermo Finnigan LCQ Fleet (ESI). ИК спектры записывали на приборе Specord M-80 в таблетках KBr. Электронные спектры были записаны на спектрометре UV-1700 (PharmaSpec) фирмы SHIMADZU с диапазоном длин волн 200–1100 нм. Съемку образцов проводили в кварцевых кюветах толщиной 10 мм. Образец сравнения – хлороформ.

Соединения **1-3** синтезированы согласно.<sup>[7]</sup> Соединения **Cu-2**, **Ni-2**, **Zn-2** синтезированы согласно.<sup>[5]</sup>

*Синтез порфиринов меди и цинка (Cu-1, Cu-3, Zn-1, Zn-3) (общая методика).* К раствору исходного лиганда (0.06–0.10 ммоль) в 4 мл хлороформа прибавляли раствор ацетата соответствующего металла (меди или цинка) (1–2 ммоль) в 4 мл метанола. Полученный раствор перемешивали в течение 60 минут при комнатной температуре. Образование продукта реакции контролировали методом ТСХ (Sorbfil, элюент – смесь  $\text{CCl}_4$  с ацетоном 2:1 по объему). По окончании реакции смесь разбавляли 50 мл хлороформа, метанол и избыток ацетата металла отмывали водой, полученный раствор сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали досуха при пониженном давлении. Остаток после упаривания хроматографировали на силикагеле (элюент – смесь  $\text{CCl}_4$  с ацетоном в объемных соотношениях от 50:1 до 5:1, контроль за разделением при помощи ТСХ, Sorbfil, элюент – смесь  $\text{CCl}_4$  с ацетоном 2:1 по объему). Элюат, содержащий основной продукт, упаривали при пониженном давлении, остаток после упаривания перекристаллизовывали из смеси хлороформа с гексаном.

*Zn-хлорин  $e_6$  13-N-метиламид 15-метильный 17-(2-(2-гидроксиэтокс)этиловый) эфир (Zn-1).* Из 40 мг (0.06 ммоль) **1** и 193 мг (1.06 ммоль) ацетата цинка получили 25.4 мг (53 %) комплекса (**Zn-1**). *m/z* (ESI): для  $[\text{MH}^+]$  ( $\text{C}_{40}\text{H}_{48}\text{N}_5\text{O}_7\text{Zn}$ ) вычислено 774.3, найдено 774.3; для  $[\text{MNa}^+]$  ( $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{NaO}_7\text{Zn}$ ) вычислено 796.3, найдено 796.6. ИК (KBr)  $\nu$  см $^{-1}$ : 3381 ( $\nu(\text{OH})$ ), 3088 ( $\nu(\text{CH } 5, 10 \text{ и } 15 \text{ CH}, 3(1)\text{CH}, 3(2)\text{CH}_2)$ ), 2957 ( $\nu(\text{CH}_{\text{ас}} \text{ CH}_3)$ ), 2926 ( $\nu(\text{CH}_{\text{ас}} \text{ CH}_2)$ ), 2868 ( $\nu(\text{CH}_2 \text{ CH}_3)$ ), 2731 ( $\nu(\text{CH} \text{ CH}_2\text{-O-})$ , гликоль), 1732 ( $\nu(\text{C=O})$ , сложный эфир), 1630 (плечо ( $\nu(\text{C=O})$ ), «амид I»), 1611 ( $\nu(\text{C=C})$  макроцикл, «хлориновая полоса»), 1553 («амид-II»). UV-Vis ( $\text{CHCl}_3$ )  $\lambda$  нм: 637 (40 %), 593 (7 %), 512 (6 %), 411 (100 %), 299 (15 %). ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ , 300 МГц)  $\delta_{\text{H}}$  м.д.: 9.54 (1H, с,  $\text{H}^{10}$ ), 9.53 (1H, с,  $\text{H}^5$ ), 8.54 (1H, с,  $\text{H}^{20}$ ), 8.08 (1H, дд  $J=17.4$  и 11.0 Гц, 3-( $\text{CH}=\text{CH}_2$ )), 6.35 (1H, уш. к  $J=4.6$  Гц, 13-( $\text{CONHCH}_3$ )), 6.20 (1H, д  $J=17.4$  Гц, 3-( $\text{CH}=\text{CHH}_{\text{транс}}$ )), 6.04 (1H, д  $J=11.0$  Гц, 3-( $\text{CH}=\text{CHH}_{\text{цис}}$ )), 5.38 (1H, д  $J=19.2$  Гц, 15-( $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CO}_2\text{CH}_3$ )), 5.11 (1H, д  $J=19.2$  Гц, 15-( $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CO}_2\text{CH}_3$ )),

4.36 (1H, уш. д  $J=6.4$  Гц,  $H^{17}$ ), 4.34 (1H, к  $J=7.3$  Гц,  $H^{18}$ ), 3.81 (2H, к  $J=7.3$  Гц, 8-( $CH_2CH_3$ )), 3.78 (3H, с, 15-( $CH_2COC(=O)CH_3$ )), 3.58 (2H, уш. т  $J=3.7$  Гц, 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ )), 3.40 (3H, с, 12- $CH_3$ ), 3.39 (3H, с, 2- $CH_3$ ), 3.35 (3H, с, 7- $CH_3$ ), 3.21 (3H, д  $J=4.6$  Гц, 13-( $CONHCH_3$ )), 2.79–2.69 (1H, м, 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ )), 2.46–1.61 (10H, м, 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ )), 1.73 (3H, т  $J=7.3$  Гц, 8-( $CH_2CH_3$ )), 1.67 (3H, д  $J=7.3$  Гц, 18- $CH_3$ ).

**Zn-пирофеофорбид а 17-(2-(2-гидроксиэтокси)-этиловый) эфир (Zn-3).** Из 50 мг (0.09 ммоль) **3** и 256.0 мг (1.41 ммоль) ацетата цинка получили 43.0 мг (90 %) комплекса (**Zn-3**).  $m/z$  (ESI): для  $[MH^+]$  ( $C_{37}H_{41}N_4O_5Zn$ ) вычислено 685.2, найдено 685.3; для  $[MNa^+]$  ( $C_{37}H_{40}N_4NaO_5Zn$ ) вычислено 707.2, найдено 707.3. ИК (KBr)  $\nu$  см $^{-1}$ : 3418 ( $\nu(OH)$ ), 3175 ( $\nu(CH$  5, 10 и 15  $CH$ , 3(1) $CH$ , 3(2) $CH_2$ ), 2961 ( $\nu CH_{as}$   $CH_3$ ), 2924 ( $\nu CH_{as}$   $CH_2$ ), 2868 ( $\nu CH_s$   $CH_3$ ), 2787 ( $\nu(CH$   $CH_2-O-$ ), гликоль), 1722 ( $\nu(C=O)$ , сложный эфир), 1682 ( $\nu(13(1)-C=O)$ ), 1612 ( $\nu(C=C)$  макроцикл, «хлориновая полоса»). UV-Vis ( $CHCl_3$ )  $\lambda$  нм: 657 (71 %), 610 (14 %), 521 (8 %), 427 (100 %), 323 (24 %).  $^1H$  ЯМР ( $CDCl_3$ , 300 МГц)  $\delta_H$  м.д.: 9.47 (1H, с,  $H^{10}$ ), 9.24 (1H, с,  $H^5$ ), 8.41 (1H, с,  $H^{20}$ ), 8.01 (1H, дд  $J=17.4$  и 11.9 Гц, 3-( $CH=CH_2$ )), 6.20 (1H, д  $J=17.4$  Гц, 3-( $CH=CH_{trans}$ )), 6.07 (1H, д  $J=11.9$  Гц, 3-( $CH=CH_{cis}$ )), 4.65 (1H, д  $J=19.2$  Гц, 13(2)-( $CH_AH_B$ )), 4.47 (1H, кд  $J=7.3$  и 1.8 Гц,  $H^{18}$ ), 4.36 (1H, д  $J=19.2$  Гц, 13(2)-( $CH_AH_B$ )), 4.30–4.22 (1H, м  $J=6.4$  Гц,  $H^{17}$ ), 3.72 (2H, к  $J=8.2$  Гц, 8-( $CH_2CH_3$ )), 3.59 (3H, с, 12- $CH_3$ ), 3.36 (3H, с, 2- $CH_3$ ), 3.24 (3H, с, 7- $CH_3$ ), 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ )), 3.79–3.51 (2H, м), 2.71–2.10 (6H, м), 1.77–1.58 (2H, м) и 1.19–0.95 (2H, м), 1.89 (3H, д  $J=7.3$  Гц, 18- $CH_3$ ), 1.71 (3H, т  $J=8.2$  Гц, 8- $CH_2CH_3$ ).

**Си-хлорин е, 13-N-метиламид 15-метиловый 17-(2-(2-гидроксиэтокси)этиловый) эфир (Cu-1).** Из 30 мг (0.04 ммоль) **1** и 153.7 мг (0.85 ммоль) ацетата меди получили 28.4 мг (92 %) комплекса (**Cu-1**).  $m/z$  (ESI): для  $[MH^+]$  ( $C_{40}H_{48}N_5O_5Cu$ ) вычислено 773.3, найдено 773.3; для  $[MNa^+]$  ( $C_{40}H_{47}N_5NaO_5Cu$ ) вычислено 795.3, найдено 795.3. ИК (KBr)  $\nu$  см $^{-1}$ : 3399 ( $\nu(OH)$ ), 3084 ( $\nu(CH$  5, 10 и 15  $CH$ , 3(1) $CH$ , 3(2) $CH_2$ ), 2957 ( $\nu CH_{as}$   $CH_3$ ), 2926 ( $\nu CH_{as}$   $CH_2$ ), 2868 ( $\nu CH_s$   $CH_3$ ), 2750 ( $\nu(CH$   $CH_2-O-$ ), гликоль), 1734 ( $\nu(C=O)$ , сложный эфир), 1634 ( $\nu(C=O)$ , «амид I»), 1595 ( $\nu(C=C)$  макроцикл, «хлориновая полоса»), 1564 («амид-II»). UV-Vis ( $CHCl_3$ )  $\lambda$  нм: 636 (39 %), 501 (5 %), 410 (100 %), 290 (15 %).

**Си-пирофеофорбид а 17-(2-(2-гидроксиэтокси)-этиловый) эфир (Cu-3).** Из 25.4 мг (0.05 ммоль) **3** и 160 мг (0.88 ммоль) ацетата меди получили 23.7 мг (85 %) комплекса (**Cu-3**).  $m/z$  (ESI): для  $[MH^+]$  ( $C_{37}H_{41}N_4O_5Cu$ ) вычислено 684.2, найдено 684.3. ИК (KBr)  $\nu$  см $^{-1}$ : 3468 ( $\nu(OH)$ ), 3092 ( $\nu(CH$  5, 10 и 15  $CH$ , 3(1) $CH$ , 3(2) $CH_2$ ), 2961 ( $\nu CH_{as}$   $CH_3$ ), 2926 ( $\nu CH_{as}$   $CH_2$ ), 2866 ( $\nu CH_s$   $CH_3$ ), 2739 ( $\nu(CH$   $CH_2-O-$ ), гликоль), 1726 ( $\nu(C=O)$ , сложный эфир), 1694 ( $\nu(13(1)-C=O)$ ), 1636 ( $\nu(C=C)$  макроцикл, «хлориновая полоса»). UV-Vis ( $CHCl_3$ )  $\lambda$  нм: 654 (75 %), 607 (16 %), 552 (7 %), 426 (100 %), 405 (79 %), 317 (24 %).

**Синтез порфиринов никеля (Ni-1, Ni-3) (общая методика).** Раствор исходного лиганда (0.08–0.10 ммоль), ацетата никеля (0.5–0.6 ммоль) и 0.1 мл ацетилацетона (0.8 ммоль) кипятили в течение 10 минут с обратным холодильником. Образование продукта реакции контролировали методом ТСХ (Sorbfil, элюент – смесь  $CCl_4$  с ацетоном 2:1 по объему). Реакционную смесь наносили на колонку (силикагель L 100/400, наполнение «мокрым» способом, растворитель –  $CCl_4$ ) и элюировали смесью  $CCl_4$  с ацетоном, постепенно повышая содержание ацетона в диапазоне объемных соотношений от 70:1 до 10:1. Фракцию, содержащую основное вещество, упаривали, и остаток после упаривания кристаллизовали из смеси гексана с хлороформом.

**Ni-хлорин е, 13-N-метиламид 15-метиловый 17-(2-(2-гидроксиэтокси)этиловый) эфир (Ni-1).** Из 30 мг (0.04 ммоль) **1** и 71 мг (0.40 ммоль) ацетата никеля получили 20 мг (65 %) комплекса (**Ni-1**).  $m/z$  (ESI): для  $[MH^+]$  ( $C_{40}H_{48}N_5NiO_7$ )

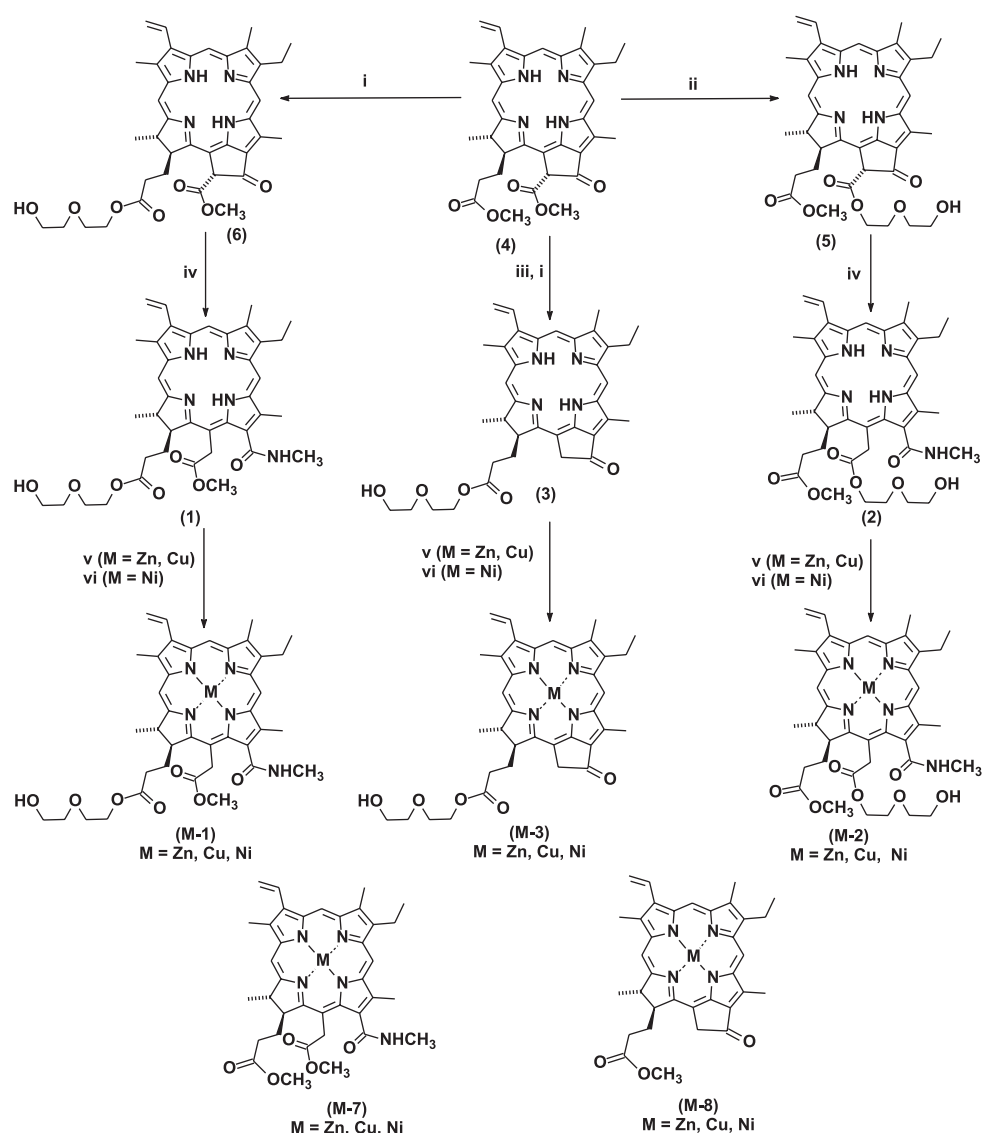
вычислено 768.3, найдено 768.2; для  $[MNa^+]$  ( $C_{40}H_{47}N_5NaNiO_7$ ) вычислено 790.3, найдено 790.5. ИК (KBr)  $\nu$  см $^{-1}$ : 3391 ( $\nu(OH)$ ), 3084 ( $\nu(CH$  5, 10 и 15  $CH$ , 3(1) $CH$ , 3(2) $CH_2$ ), 2957 ( $\nu CH_{as}$   $CH_3$ ), 2926 ( $\nu CH_{as}$   $CH_2$ ), 2868 ( $\nu CH_s$   $CH_3$ ), 2750 ( $\nu(CH$   $CH_2-O-$ , гликоль), 1732 ( $\nu(C=O)$ , сложный эфир), 1639 ( $\nu(C=O)$ , «амид I»), 1605 ( $\nu(C=C)$  макроцикл, «хлориновая полоса»), 1570 («амид-II»). UV-Vis ( $CHCl_3$ )  $\lambda$  нм: 636 (52 %), 498 (6 %), 410 (100 %), 275 (22 %).  $^1H$  ЯМР ( $CDCl_3$ , 300 МГц)  $\delta_H$  м.д.: 9.12 (1H, с,  $H^{10}$ ), 9.07 (1H, с,  $H^5$ ), 8.07 (1H, с,  $H^{20}$ ), 7.83 (1H, дд  $J=17.4$  и 11.9 Гц, 3-( $CH=CH_2$ )), 6.28 (1H, уш. к  $J=4.6$  Гц, 13-( $CONHCH_3$ )), 6.05 (1H, д  $J=17.4$  Гц, 3-( $CH=CH_{trans}$ )), 5.96 (1H, д  $J=11.9$  Гц, 3-( $CH=CH_{cis}$ )), 4.95 (1H, д  $J=18.3$  Гц, 15-( $CH_AH_BCO_2CH_3$ )), 4.57 (1H, д  $J=18.3$  Гц, 15-( $CH_AH_BCO_2CH_3$ )), 4.29–4.20 (2H, м, 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ )), 4.15 (1H, к  $J=7.3$  Гц,  $H^{18}$ ), 4.04 (2H, дд  $J=10.1$  и 3.7 Гц,  $H^{17}$ ), 3.84 (3H, с, 15-( $CH_2COC(=O)CH_3$ )), 3.77–3.49 (9H, м, 8-( $CH_2CH_3$ ), 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ )), 3.24 (3H, с, 12- $CH_3$ ), 3.22 (3H, д  $J=4.6$  Гц, 13-( $CONHCH_3$ )), 3.16 (3H, с, 2- $CH_3$ ), 3.15 (3H, с, 7- $CH_3$ ), 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ ): 2.58–2.27 (3H, м) и 1.87–1.84 (1H, м), 1.60 (3H, т  $J=8.2$  Гц, 8-( $CH_2CH_3$ )), 1.50 (3H, д  $J=7.3$  Гц, 18- $CH_3$ ).

**Ni-пирофеофорбид а 17-(2-(2-гидроксиэтокси)этиловый) эфир (Ni-3).** Из 51 мг (0.09 ммоль) **3** и 116.3 мг (0.66 ммоль) ацетата никеля получили 44.6 мг (73 %) комплекса (**Ni-3**).  $m/z$  (ESI): для  $[MH^+]$  ( $C_{37}H_{41}N_4NiO_5$ ) вычислено 679.2, найдено 679.3; для  $[MNa^+]$  ( $C_{37}H_{40}N_4NaNiO_5$ ) вычислено 701.2, найдено 701.3. ИК (KBr)  $\nu$  см $^{-1}$ : 3441 ( $\nu(OH)$ ), 3084 ( $\nu(CH$  5, 10 и 15  $CH$ , 3(1) $CH$ , 3(2) $CH_2$ ), 2961 ( $\nu CH_{as}$   $CH_3$ ), 2922 ( $\nu CH_{as}$   $CH_2$ ), 2868 ( $\nu CH_s$   $CH_3$ ), 2735 ( $\nu(CH$   $CH_2-O-$ , гликоль), 1732 ( $\nu(C=O)$ , сложный эфир), 1690 ( $\nu(13(1)-C=O)$ ), 1659 и 1624 ( $\nu(C=C)$  макроцикл, «хлориновая полоса»). UV-Vis ( $CHCl_3$ )  $\lambda$  нм: 652 (100 %), 608 (21 %), 547 (8 %), 423 (92 %), 396 (89 %), 296 (33 %).  $^1H$  ЯМР ( $CDCl_3$ , 300 МГц)  $\delta_H$  м.д.: 9.19 (1H, с,  $H^{10}$ ), 8.99 (1H, с,  $H^5$ ), 8.18 (1H, с,  $H^{20}$ ), 7.75 (1H, дд  $J=18.3$  и 11.9 Гц, 3-( $CH=CH_2$ )), 6.03 (1H, д  $J=18.3$  Гц, 3-( $CH=CH_{trans}$ )), 5.99 (1H, д  $J=11.9$  Гц, 3-( $CH=CH_{cis}$ )), 4.88 (1H, д  $J=19.2$  Гц, 13(2)-( $CH_AH_B$ )), 4.81 (1H, д  $J=19.2$  Гц, 13(2)-( $CH_AH_B$ )), 4.30 (1H, к  $J=6.4$  Гц,  $H^{18}$ ), 4.01 (1H, дд  $J=7.3$  и 5.5 Гц,  $H^{17}$ ), 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ ): 4.30–4.14 (2H, м), 3.78–3.70 (2H, м), 3.65 (2H, т  $J=4.6$  Гц) и 3.60–3.54 (2H, м), 3.49 (2H, к  $J=7.4$  Гц, 8-( $CH_2CH_3$ )), 3.45 (3H, с, 12- $CH_3$ ), 3.17 (3H, с, 2- $CH_3$ ), 3.05 (3H, с, 7- $CH_3$ ), 17-( $CH_2CH_2COOCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ ): 2.60–2.45 (2H, м) и 2.10–2.06 (3H, м), 1.58 (3H, т  $J=7.4$  Гц, 8-( $CH_2CH_3$ )), 1.57 (3H, д  $J=6.4$  Гц, 18- $CH_3$ ).

Цитотоксическую активность определяли согласно ранее описанной методике.<sup>[14]</sup>

## Результаты и обсуждение

Для выявления влияния строения макроцикла и положения фрагмента ДЭГ на его периферии на фотонезависимую цитотоксическую активность хлорина в целом были определены концентрации полумаксимального ингибирования роста клеток ( $IC_{50}$ , мкмоль/л) для ряда неописанных ранее комплексов (**Cu-1**, **Cu-3**, **Ni-1**, **Ni-3**, **Zn-1**, **Zn-3**), а также комплексов, синтезированных нами ранее (**Cu-2**, **Ni-2**, **Zn-2**). Влияние металла на фотонезависимую цитотоксичность оценивали путем сравнения значений  $IC_{50}$ , полученных для комплексов с определенными ранее величинами  $IC_{50}$  для соответствующих безметалльных хлоринов (**1-3**). Лиганды (**1-3**) синтезированы на основе метилфеофорбида **а** (**4**) согласно описанным нами ранее методикам.<sup>[7]</sup> Синтез порфиринов меди и цинка (**Cu-1**, **Cu-2**, **Cu-3**, **Zn-1**, **Zn-2**, **Zn-3**) проводили действием аце-



i: ДЭГ- $\text{H}_2\text{SO}_4$  (конц), комн. темп. 12-16 °C;<sup>[7]</sup> ii: CMPI, DMAP, толуол, кипячение 60 мин;<sup>[7]</sup> iii: коллидин, кипячение, 30-40 мин;<sup>[7]</sup> iv:  $\text{CH}_3\text{NH}_2/\text{H}_2\text{O}$ , ТГФ, комн. темп., 1-2 ч;<sup>[7]</sup> v:  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  или  $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ , комн. темп., 60 мин; vi:  $\text{Ni}(\text{OAc})_2$ , АсАс, толуол, кипячение 10 мин.

Схема 1.

тата соответствующего металла в смеси хлороформа с метанолом. Комплексы никеля (Ni-1, Ni-2, Ni-3) в смеси хлороформа с метанолом не образуются, поэтому они были синтезированы при кратковременном кипячении в толуоле с ацетатом никеля с добавлением ацетилаcetона. Без добавления ацетилаcetона образование комплексов не происходит. По всей видимости, добавление ацетилаcetона способствует образованию *in situ* ацетилаcetонатов и, тем самым, способствует образованию целевых порфиринов. Спектральные характеристики исходных безметалльных хлоринов (1-3) и ранее описанных комплексов (Cu-2, Ni-2, Zn-2) соответствуют литературным данным.<sup>[5,7]</sup> Строение неописанных ранее комплексов (Cu-1, Cu-3, Ni-1, Ni-3, Zn-1, Zn-3) подтверждено данными масс-спектрометрии, а также ИК и электронной (UV-Vis) спектроскопии и, в случае диамагнитных порфиринов никеля

и цинка, спектроскопии ЯМР. Изменения электронного спектра поглощения при переходе от лигандов к соответствующим продуктам их взаимодействия с солями металлов соответствуют образованию комплексов. Полоса I смещается в сторону коротких волн, и количество полос в видимой области сокращается. В масс-спектрах всех полученных порфиринов наблюдаются пики, значения  $m/z$  которых соответствуют протонированным молекулярным ионам и, в ряде случаев, аддуктов с катионом  $\text{Na}^+$ . В ИК спектрах всех полученных комплексов проявляются те же периферические заместители, что и в исходных лигандах. В спектрах всех комплексов наблюдаются полосы валентных колебаний связей C-H метиленовых групп фрагментов ДЭГ, полосы поглощения связи C=O сложноэфирной группы, а также так называемая «хлороновая полоса». В спектрах комплексов амидных производных хлорина

$e_6$  (**Cu-1**, **Ni-1**, **Zn-1**) наблюдаются полосы поглощения амидной группы («амид I» и «амид II»), а в спектрах комплексов (**Cu-3**, **Ni-3**) – полоса поглощения связи C=O кето-группы экзоцикла. В спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  диамагнитных порфиринов цинка и никеля (**Ni-1**, **Ni-3**, **Zn-1**, **Zn-3**) наблюдаются те же сигналы, что и в спектрах исходного лиганда за исключением сигналов внутрициклических протонов NH. Кроме того, сигналы большинства протонов макроцикла смещаются в сильное поле по сравнению со спектрами исходного лиганда, что также характерно для образования комплексов.

Ранее на основе результатов исследования воздействия производных хлорофилла *a* на клетки линии HeLa были отмечены следующие тенденции изменения темновой цитотоксичности в зависимости от периферических заместителей в макроцикле, а также наличия и природы координированного катиона переходного металла.<sup>[4-6,13]</sup> Во-первых, переход от форбиновых производных с цикlopentanовым экзоциклом на периферии к хлоринам без экзоцикла, как правило, приводит к повышению токсичности (например, хлорин **7** значительно более токсичен, чем форбин **8**)<sup>[6]</sup> (Таблица 1). Аналогичная тенденция наблюдается в случае производных хлорофилла *a* с фрагментом ДЭГ в положении 17<sup>[13]</sup> (17-диэтиленгликолевый эфир метиламидного производного хлорина  $e_6$  (**1**) значительно токсичнее эфира пиррофеофорбида *a* (**3**)), причем положение гликольного фрагмента в макроцикле без экзоцикла

**Таблица 1.** Значения  $\text{IC}_{50}$  (мкмоль/л) исследуемых соединений, определенные в экспериментах на клетках линии HeLa.

№ соединения	$\text{IC}_{50}$ , мкмоль/л
<b>1</b>	$1.43 \pm 0.21^{[13]}$
<b>Cu-1</b>	$2.86 \pm 0.27$
<b>Zn-1</b>	$1.32 \pm 0.15$
<b>Ni-1</b>	$0.58 \pm 0.25$
<b>2</b>	$3.50 \pm 0.84^{[13]}$
<b>Cu-2</b>	$2.08 \pm 0.41$
<b>Zn-2</b>	$5.07 \pm 0.93$
<b>Ni-2</b>	$10.65 \pm 0.60$
<b>7</b>	$4.01 \pm 0.80^{[6]}$
<b>Cu-7</b>	$7.90 \pm 1.32^{[6]}$
<b>Zn-7</b>	$3.04 \pm 0.33^{[6]}$
<b>Ni-7</b>	$9.44 \pm 1.54^{[6]}$
<b>3</b>	$>100^{[13]}$
<b>Cu-3</b>	$18.58 \pm 1.87$
<b>Zn-3</b>	$2.28 \pm 0.08$
<b>Ni-3</b>	$>100$
<b>8</b>	$>100^{[6]}$
<b>Cu-8</b>	$>100^{[6]}$
<b>Zn-8</b>	$4.85 \pm 2.54^{[6]}$
<b>Ni-8</b>	$>100^{[6]}$

практически не влияет на токсичность (изомерные производные метиламида (**1**) и (**2**) близки по токсическим свойствам).<sup>[13]</sup>

Внедрение катиона цинка в случае производных хлорофилла *a* без фрагмента ДЭГ для всех исследованных соединений приводит к повышению токсичности (например, лиганд (**8**) значительно менее токсичен, чем комплекс (**Zn-8**)) или к ее сохранению на прежнем уровне в тех случаях, когда токсичность лиганда достаточно высока (например, цитотоксичность слабо меняется при переходе от **7** к **Zn-7**).<sup>[6]</sup> Внедрение катионов меди или никеля не изменяет или несколько снижает цитотоксичность.<sup>[6]</sup>

Исследование ранее описанных комплексов (**Cu-2**, **Ni-2**, **Zn-2**) и синтезированных в настоящей работе порфиринов (**Cu-1**, **Cu-3**, **Ni-1**, **Ni-3**, **Zn-1**, **Zn-3**) и сопоставление полученных результатов с литературными данными позволяет отметить следующие тенденции влияния наличия и природы координированного катиона металла, а также положения фрагмента ДЭГ на цитотоксическую активность. Как и в описанных в литературе случаях,<sup>[5-6]</sup> внедрение катиона цинка существенно повышает цитотоксичность при переходе от низкотоксичного, содержащего фрагмент ДЭГ лиганда (**3**) к соответствующему комплексу (**Zn-3**) и слабо влияет при переходе от относительно токсичных лигандов (**1**) и (**2**) к соответствующим комплексам (**Zn-1**) и (**Zn-2**) (Таблица 1). Внедрение катиона никеля не изменяет или несколько снижает токсический эффект (в случае перехода от **2** к **Ni-2**). Внедрение катиона меди, как и в описанных ранее случаях, слабо влияет на цитотоксические свойства при переходе от относительно цитотоксичного лиганда (**1**) к комплексу (**Cu-1**). При переходе от форбинового производного с фрагментом ДЭГ (**3**) к соответствующему комплексу меди (**Cu-3**) происходит значительное усиление цитотоксичности, в противоположность случаю перехода форбинового производного без фрагмента ДЭГ (**8**) к порфирилату (**Cu-8**), при котором цитотоксичность не изменяется. Таким образом, основные тенденции влияния металла на цитотоксические свойства, за некоторыми исключениями, аналогичны отмеченным ранее. Сопоставление цитотоксических свойств порфиринов цинка, меди и никеля на основе лигандов, содержащих и не содержащих фрагмент ДЭГ, позволяет отметить, что внедрение фрагмента ДЭГ в случае порфиринов меди повышает цитотоксичность, для порфиринов цинка и никеля цитотоксические свойства изменяются слабо, за исключением перехода от **Ni-7** к **Ni-1**: при внедрении фрагмента ДЭГ в положение 17 цитотоксичность заметно повышается.

Таким образом, значительная часть исследованных порфиринов переходных металлов с фрагментом ДЭГ на периферии макроцикла обладают темновой цитотоксической активностью в экспериментах *in vitro*. Наиболее активны и, поэтому, интересны как возможные темновые противоопухолевые цитотоксические агенты порфирилаты на основе производных хлорофилла *a* без экзоцикла. Из всех порфиринов диэтиленгликолевого эфира пиррофеофорбида *a* сопоставимой цитотоксической активностью обладает только комплекс

(Zn-3). Среди всех исследованных соединений наибольшей цитотоксичностью обладает комплекс (Ni-1) с фрагментом ДЭГ в положении 17 макроцикла.

## Заключение

Таким образом, в настоящей работе синтезирован ряд новых порфиринов переходных металлов на основе производных хлорофилла *a* с фрагментами ДЭГ на периферии хлороинового макроцикла и изучено влияние положения фрагмента ДЭГ, наличия и природы координированного катиона металла ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ) на цитотоксическую активность производных хлорофилла *a* по отношению к клеткам линии HeLa. Показано, что основные тенденции влияния металла на цитотоксические свойства, за некоторыми исключениями, аналогичны отмеченным ранее. В частности, внедрение катиона цинка существенно повышает цитотоксичность при переходе от низкотоксичных безметалльных хлоринов к соответствующим комплексам и слабо влияет в случае относительно токсичных хлоринов. Внедрение катиона никеля и меди практически не изменяет или несколько снижает цитотоксический эффект. Исключение составляет диэтиленгликолевый эфир пиррофеофорбида *a*, который значительно менее цитотоксичен, чем соответствующий порфиринат меди. Внедрение фрагмента ДЭГ в случае порфиринов меди повышает цитотоксичность, для порфиринов цинка и никеля цитотоксические свойства в большинстве случаев изменяются слабо. Наибольшей цитотоксической активностью обладают комплексы на основе производных хлорофилла *a* без экзоцикла, а также порфиринат цинка на основе диэтиленгликолевого эфира пиррофеофорбида *a*. Среди всех исследованных соединений наибольшей цитотоксичностью обладает порфиринат никеля на основе метиламидного производного хлороина *e*<sub>6</sub> с фрагментом ДЭГ в положении 17 макроцикла. Все перечисленные производные представляют интерес с точки зрения более подробного изучения в качестве потенциальных темных противопуховых цитотоксических агентов.

**Благодарность.** Синтез соединений выполнен в рамках темы НИР № 115041410119. Исследование цитотоксической активности выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00002 в ЦКП «Молекулярная биология» Института биологии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар). Спектральные данные были получены при помощи оборудования ЦКП «Химия» Института химии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар).

## Список литературы

## References

1. Nyman E.S., Hynninen P.H. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **2004**, 73, 1–28.
2. Fadda A.A., El-Mekawy R.E., El-Shafei A.I. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2015**, 19, 1–16.
3. Spikes J.D. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **1990**, 6, 259–274.
4. Wongsinkongman P., Brossi A., Wang H.-K., Bastow K.F., Lee K.-H. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 583–591.
5. Tarabukina I.S., Pylina Ya.I., Velegzhaninov I.O., Startseva O.M., Shadrin D.M., Belykh D.V. *Butlerovskie Soobshcheniya (Butlerov Commun.)* **2015**, 43(7), 18–23 (in Russ.).
6. Pylina Y.I., Shadrin D.M., Shevchenko O.G., Khudyaeva I.S., Belykh D.V., Velegzhaninov I.O. *Macroheterocycles* **2017**, 10, 279–288.
7. Belykh D.V., Startseva O.M., Patov S.A. *Macroheterocycles* **2014**, 7, 401–413.
8. Berezin D.B., Soloduhin T.N., Shuhto O.V., Belykh D.V., Startseva O.M., Khudyaeva I.S., Kustov A.V. *Izv. Akad. Nauk, Ser. Khim.* **2018**, 7, 1273–1279 (in Russ.).
9. Kim Ch.S., Lee Ch.-H., Lee Ph.H., Han S. *Molecules and Cells* **2004**, 17, 347–352.
10. Lim D.-S., Ko S.-H., Won D.-H., Lee Ch.-H., Lee W.Y. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2003**, 7, 155–161.
11. Choi Y.-H., Ko S.-H., Kim S.J., Lee W., Park J.H., Lee J.M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, 337, 1059–1064.
12. Lim D.-S., Ko S.-H., Lee Ch.-H., Ahn W.-Sh., Lee W.-Y. *Photochem. Photobiol.* **2006**, 82, 600–605.
13. Pylina Y.I., Shadrin D.M., Shevchenko O.G., Startseva O.M., Velegzhaninov I.O., Belykh D.V. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, 18, 103.
14. Lindhagen L., Nygren P., Larsson R. *Nature Protocols* **2008**, 3(8), 1364–1369.

Received 17.12.2018

Accepted 01.07.2019