

Синтез катионных производных хлорина e_6

О. И. Гущина,[@] Е. А. Ларкина, А. Ф. Миронов

Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, 119571 Москва, Российская Федерация

[@]E-mail: ms.gushchina@inbox.ru

Осуществлён синтез положительно заряженных соединений хлорина e_6 путём метилирования *N,N*-диметиламиноамидов хлорина e_6 . Целевые соединения получены в мягких условиях с высоким выходом, а их структура подтверждена физико-химическими методами (ИК, ¹H ЯМР спектроскопия, масс-спектрометрия).

Ключевые слова: Хлорин e_6 , синтез, антимикробная ФДТ.

Synthesis of Cationic Derivatives of Chlorin e_6

Olga I. Gushchina,[@] Ekaterina A. Larkina, and Andrey F. Mironov

M.V. Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies, 119571 Moscow, Russian Federation

[@]Corresponding author E-mail: ms.gushchina@inbox.ru

A synthesis of cationic photosensitizers based on aminoamide derivatives of chlorin e_6 is performed. For the disclosure of exocycle of the initial compound - methyl ester of pheophorbide a (1), we used the reaction of opening cyclopentanone part with primary aliphatic amines (*N,N*-dimethylethylenediamine, *N,N*-dimethylpropylenediamine). The reaction was carried out at mild conditions in chloroform with heating to 40 °C. We have succeeded in reducing the reaction time to 2 hours and in increasing the yield of the reactions to 65 %. Then, we performed reaction of methylation of the compounds obtained 2a,b by adding excess of methyl iodide in chloroform at room temperature for 10-30 minutes. The yields of compounds 3a,b were 91-95 %. The structure of all compounds obtained was confirmed by means of electronic, IR, ¹H NMR spectroscopy and mass-spectrometry. Thus, in this paper we propose a reliable scheme of synthesis of positively charged chlorin's photosensitizers which are promising agents for antimicrobial PDT.

Keywords: Chlorin e_6 , synthesis, antimicrobial photodynamic therapy (PDT).

Метод фотодинамической терапии (ФДТ), активно развивающийся в последние 20-25 лет, первоначально был предложен для лечения раковых заболеваний.^[1-4] Однако в последнее время метод ФДТ всё более широко используется в иных областях медицины, включая офтальмологию,^[5] стоматологию,^[6] косметологию и антимикробную терапию.^[7-11] В основе антимикробной ФДТ лежит фотохимическая деструкция патогенных микроорганизмов с использованием окрашенных веществ – фотосенсибилизаторов (ФС) и последующим

облучением светом определённой длины волны. Объектами антимикробной ФДТ являются вирусы, бактерии, грибы и простейшие микроорганизмы. Среди микробных патогенов наиболее устойчивыми к различным типам воздействий являются грамотрицательные бактерии.^[12-14] Однако, при использовании ФДТ наличие отрицательного заряда на внешней поверхности бактериальных клеток облегчает селективную адсорбцию ФС с положительным зарядом, а последующее облучение лазером приводит к образованию

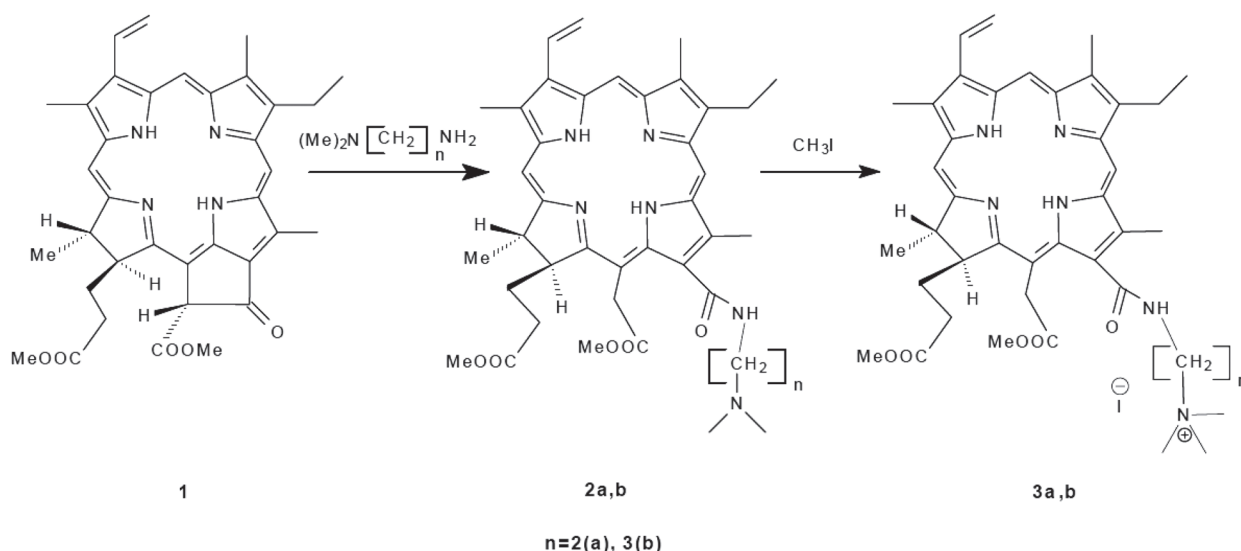


Схема 1.

активных форм кислорода и разрушению патогенов.^[15-17] В связи с вышеизложенным в настоящей работе синтезированы катионные производные хлорина e_6 .

В данной работе предложен синтез катионных ФС на основе аминоксидных производных хлорина e_6 . Наиболее удобным способом получения подобных производных является реакция размыкания циклопентанового фрагмента феофорбида *a*. Для раскрытия экзоцикла исходного соединения – метилового эфира феофорбида **1** мы использовали первичные амины (*N,N*-диметилендиамин, *N,N*-диметилпропилендиамин).[§] Реакцию проводили в хлороформе в темноте в инертной атмосфере и нагревании до 40°C (Схема 1). Ранее при проведении аналогичных реакций размыкания экзоцикла феофорбида *a* первичными алифатическими аминами нами было показано, что оптимальное соотношение молярного избытка амина по отношению к феофорбиду составляет 40:1, т.к. это позволяет существенно сократить время протекания реакции (до 1.5-2 часов) и обеспечить выход целевых соединений до 70%.^[18] Ход реакции контролировали с помощью ТСХ и электронной спектроскопии, по гипсохромному сдвигу полос Q и Sore с 668 и 413 нм до 663 и 403 нм, соответственно. Полученные соединения **2a,b** очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле. Чистота и структура *N,N'*-диметиламиноалкиламидных производных хлорина e_6 **2a,b** подтверждены с помощью ИК, ¹H ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии.[§]

Далее проводили метилирование полученных соединений **2a,b** путём добавления избытка иодистого метила.[#] Реакцию проводили в хлороформе при комнатной температуре в течение 10-30 минут. Ход реакции контролировали с помощью ТСХ. Выход соединений **3a,b** составил 91-95%. Их структура доказана с помощью электронной, ИК, ¹H ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии.[#] Наличие положительно заряженного атома азота, отделённого от макроцикла одной и двумя метиленовыми группами практически не сказывается

на положении основных полос поглощения в электронном спектре. ИК-спектры соединений **2a,b** и **3a,b** были практически аналогичными и имели следующие характеристические чистоты 3316 см⁻¹ – валентные колебания NH-группы, 1738 см⁻¹, – C=O-группа в COOCH₃, 1639-1625 см⁻¹ и 1550-1543 см⁻¹ – полосы амид I и амид II. В тоже время введение метильной группы вносило существенные изменения в спектр ¹H ЯМР, а именно сдвиг сигнала от метильных групп при атоме азота в более слабое поле у иодида 13(1)-*N*-(2-триметиламиниоэтил)амида-15(2),17(3)-диметилового эфира хлорина e_6 (**3a**) по сравнению с 13(1)-*N*-(2-*N,N'*-диметиламиноэтил)амидом-15(2),17(3)-диметиловым эфиром хлорина e_6 (**2a**) с 2.25 до 2.57 м.д. соответственно, что свидетельствует о наличии положительного заряда на атоме азота. Полученные катионные соединения не растворимы в воде, но хорошо растворимы в хлороформе, ацетоне и этаноле.

Таким образом, в данной работе предложена надёжная схема синтеза положительно заряженных производных хлорина e_6 , перспективных с точки зрения дальнейшего исследования в качестве фотосенсибилизаторов для антимикробной ФДТ.

Список литературы и примечания

Notes and References

[§]13(1)-*N*-(2-*N,N'*-Диметиламиноэтил)амид-15(2),17(3)-диметиловый эфир хлорина e_6 (**2a**). К раствору 50 мг (0.082 ммоль) метилового эфира феофорбида *a* (**1**) в 2 мл хлороформа добавляли 0.36 мл (3 ммоль) *N,N*-диметилендиамина. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов в темноте в инертной атмосфере при нагревании до 40°C. Реакционную смесь промывали водой до нейтрального значения pH. Органический слой отделяли, сушили над Na₂SO₄, отфильтровывали, растворитель упаривали досуха и получали

технический N,N -диметиламиноэтиламин хлорина e_6 , далее очищали методом колоночной хроматографии (1.2×10 см) на силикагеле. Элюировали смесью хлороформ-изопропанол 30:1 (по объему). Выход 37 мг (65%). ЭСП (CHCl₃) $\lambda_{\text{макс}}$ нм: 403.0; 502.3; 529.8; 663.2. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ м.д.: 9.70 (1H, с, 10-H); 9.63 (1H, с, 5-H); 8.81 (1H, с, 20-H); 8.05 (1H, дд, $J=15.6$ Гц, $J=11.4$ Гц, 3(1)-H); 7.11 (1H, уш. м, 13(1)-NH (амид)); 6.34 (1H, д, $J=15.6$ Гц, 3(2)-H (*транс*)); 6.12 (1H, д, $J=11.4$ Гц, 3(2)-H (*цис*)); 5.57 и 5.31 (2H, все д, $J=18.9$ Гц, 15(1)-CH₂); 4.48-4.39 (2H, м, 17-H, 18-H); 3.98-3.92 (4H, м, 8(1)-CH₂), 3.80 (2H, м, CO-NH-CH₂); 3.75 (3H, с, 15(3)-CH₃); 3.63 (3H, с, 12(1)-CH₃); 3.57 (3H, с, 2(1)-CH₃); 3.49 (3H, с, 7(1)-CH₃); 3.32 (3H, с, 17(3)-CH₃); 2.75 (2H, м, 7(1)-CH₂); 2.58-2.53 (2H, м, 13(2)-CH₂); 2.25 (6H, м, 13(3)-(CH₃)₂); 1.76-1.71 (8H, м, 8(2)-(CH₃), 17(2)-CH₂, 18(1)-CH₃); -1.59 (1H, уш. с, I – NH); -1.79 (1H, с, III – NH). Масс-спектр, m/z : 694.320 [M⁺]. Для C₄₀H₅₀N₆O₅ вычислено M_r 694.384.

13(1)- N -(3- N,N -Диметиламинопропил)амид-15(2), 17(3)-диметилэфир хлорина e_6 (**2b**). Получали аналогично соединению **2a**. Выход 35 мг (55%). ЭСП (CHCl₃) $\lambda_{\text{макс}}$ нм: 403.2; 502.0; 663.0. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ м.д.: 9.71 (1H, с, 10-H); 9.64 (1H, с, 5-H); 8.80 (1H, с, 20-H); 8.07 (1H, дд, $J=16.4$ Гц, $J=11.2$ Гц, 3(1)-H); 7.12 (1H, уш. м, 13(1)-NH (амид)); 6.37 (1H, д, $J=16.4$ Гц, 3(2)-H (*транс*)); 6.10 (1H, д, $J=11.2$ Гц, 3(2)-H (*цис*)); 5.56 и 5.31 (2H, все д, $J=18.3$ Гц, 15(1)-CH₂); 4.46-4.38 (2H, м, 17-H, 18-H); 4.01-3.95 (4H, м, 8(1)-CH₂), 3.81 (2H, м, CO-NH-CH₂); 3.76 (3H, с, 15(3)-CH₃); 3.62 (3H, с, 12(1)-CH₃); 3.56 (3H, с, 2(1)-CH₃); 3.46 (3H, с, 7(1)-CH₃); 3.31 (3H, с, 17(3)-CH₃); 2.73 (2H, м, 17(1)-CH₂); 2.56-2.51 (4H, м, 13(2)-(CH₂)₂); 2.25 (6H, м, 13(4)-(CH₃)₂); 1.74-1.70 (8H, м, 8(2)-(CH₃), 17(2)-CH₂, 18(1)-CH₃); -1.60 (1H, с, I – NH); -1.92 (1H, с, III – NH). Масс-спектр, m/z : 708.121 [M⁺]. Для C₄₁H₅₃N₆O₅ вычислено M_r 708.400.

[#]Иодид 13(1)- N -(2-триметиламмониетил)амид-15(2), 17(3)-диметилэфир хлорина e_6 (**3a**). К раствору 30 мг (0.043 ммоль) N,N -диметиламиноэтиламина хлорина e_6 в 1.5 мл хлороформа добавляли 1 мл (0.016 моль) метилиодида. Реакцию проводили при перемешивании при комнатной температуре в течение 30 минут. Растворитель упаривали досуха. Полученное соединение **3a** очищали методом колоночной хроматографии (1.2×6 см). Элюировали смесью хлороформ-метанол 15:1 (по объему). Выход 29 мг (95%). ЭСП (CHCl₃) $\lambda_{\text{макс}}$ нм: 403.0; 502.3; 663.0. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ м.д.: 9.49 (1H, с, 10-H); 9.43 (1H, с, 5-H); 8.75 (1H, с, 20-H); 7.71 (1H, дд, $J=15.8$ Гц, $J=11.7$ Гц, 3(1)-H); 7.43 (1H, уш. м, 13(1)-NH (амид)); 6.05 (1H, д, $J=15.8$ Гц, 3(2)-H (*транс*)); 5.84 (1H, д, $J=11.7$ Гц, 3(2)-H (*цис*)); 4.93 (2H, м, 15(1)-CH₂); 4.46-4.29 (2H, м, 17-H, 18-H); 3.60-3.57 (6H, м, 8(1)-CH₂, 13(2)-CH₂N(CH₃)₃, 13(3) CO-NH-CH₂); 3.26 (3H, с, 15(3)-CH₃); 3.23 (3H, с, 12(1)-CH₃); 3.10 (3H, с, 2(1)-CH₃); 2.57 (9H, с, 13(3)-N(CH₃)₃); 2.17 (2H, м, 17(2)-CH₂); 1.74-1.63 (12H, м, 8(2)-(CH₃), 18(1)-CH₃, 17(3)-CH₃, 7(1)-CH₃); -1.59 (1H, с, I – NH); -1.84 (1H, с, III – NH). Масс-спектр, m/z : 709.469 [M⁺]. Для C₄₁H₅₃N₆O₅ вычислено M_r 709.408.

Иодид 13(1)- N -(3-триметиламмонипропил)амид-15(2), 17(3)-диметилэфир хлорина e_6 (**3b**). Получали аналогично соединению **3a**. Выход 29 мг (91%). ЭСП (CHCl₃) $\lambda_{\text{макс}}$ нм: 403.2; 502.0; 663.0. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ м.д.: 9.59 (1H, с, 10-H); 9.49 (1H, с, 5-H); 8.80 (1H, с, 20-H); 7.86 (1H, дд, $J=15.7$ Гц, $J=10.9$ Гц,

3(1)-H); 7.12 (1H, уш. м, 13(1)-NH (амид)); 6.14 (1H, д, $J=15.7$ Гц, 3(2)-H (*транс*)); 5.90 (1H, д, $J=10.9$ Гц, 3(2)-H (*цис*)); 5.12 и 4.96 (2H, все д, $J=18.2$ Гц, 15(1)-CH₂); 4.47-4.27 (2H, м, 17-H, 18-H); 4.01-3.95 (4H, м, 8(1)-CH₂), 3.59 (3H, с, 15(3)-CH₃); 3.57 (3H, с, 12(1)-CH₃); 3.36 (3H, с, 2(1)-CH₃); 3.26 (3H, с, 7(1)-CH₃); 3.12 (3H, с, 17(3)-CH₃); 2.60 (2H, м, 17(1)-CH₂); 2.19 (9H, с, 13(4)-N(CH₃)₃); 1.72-1.58 (6H, м, 13(2)-CH₂, 13(3)-CH₂N(CH₃)₃, CO-NH-CH₂); 1.28-1.25 (8H, м, 8(2)-(CH₃), 17(2)-CH₂, 18(1)-CH₃); -1.67 (1H, с, I – NH); -1.95 (1H, с, III – NH). Масс-спектр, m/z : 723.341 [M⁺]. Для C₄₂H₅₅N₆O₅ вычислено M_r 723.423.

Электронные спектры были записаны на спектрофотометре JASCO UV/VIS 7800 (Япония) в диапазоне 350-750 нм в хлороформе. ИК-спектры (плёнка, KBr) снимали на ИК-Фурье спектрофотометре Bruker Equinox 55 (Германия). Масс-спектры записаны на приборе Ultraflex TOF/TOF с использованием метода MALDI, матрица – 2,5-дигидроксibenзойная кислота. ¹H ЯМР спектры регистрировали на спектрометре Bruker DPX-300 (Германия) в CDCl₃.

- Mironov A.F. *Uspekhi Khimii* **2013**, 82, 333-351.
- Kessel D., Korbelik M., Moan J., Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B.C., Golab J. *et al. CA Cancer J. Clin.* **2011**, 61, 250-281.
- Lazter K., Krammer B., Berlanda J., Berr F., Kiesslich T. *Lazer Med. Sci.* **2009**, 24, 259-268.
- Vicente M.G.H. *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents* **2001**, 1, 175-194.
- Spaide R.F., Sorenson J., Maranan L. *Ophthalmology* **2005**, 112, 301-304.
- Jurczyszyn K., Gerber H., Osiecka B.J. *Dent. Med. Probl.* **2007**, 44, 255-258.
- Carpenter B., Feese E., Sadeghifar H., Argyropoulos D.S., Ghiladi R.A. *Photochem. Photobiol.* **2012**, 88, 527-536.
- Ahmed A., Daneshalab M. *Pharm. Pharmaceut. Sci.* **2012**, 15, 52-72.
- Feese E., Sadeghifar H., Gracz H., Argyropoulos D.S., Ghiladi R.A. *Biomacromolecules* **2011**, 12, 3528-3539.
- Garland M.J., Cassidy C.M., Woolfson D., Donnelly R.F. *Future Med. Chem.* **2009**, 1, 667.
- Almeida A., Cunha A., Faustino M. A. F., Tome A.C., Neves M.G.P.M.S. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2011**, 10, 1691-1700.
- Malik Z., Hanania J., Nitzan Y. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1990**, 5, 281-293.
- Jori G. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2011**, 8, 124.
- Caruso E., Banfi S., Barbieri P., Leva B., Orlandi V.T. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2012**, 114, 44-51.
- Grin M.A., Mironov A.F., Shtil A.A. *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2008**, 8, 683-697.
- Wilson B.C. *Comprehensive Biomedical Physics* **2014**, 10, 205-230.
- Ethirajan M., Chen Y., Joshi P., Pandey R.K. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 340-362.
- Gushchina O.I., Larkina E.A., Nikol'skaya T.A., Mironov A.F. *Bull. №27 (27.09.2014) Inventions. Useful Models.* **2014**, Application №2014123592/04.

Received 17.09.2014

Accepted 30.10.2014