

**На правах рукописи**

**МАЛЬШАКОВА Марина Вячеславовна**

**СИНТЕЗ И ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ АМИНО- И ГИДРОКСИ-  
ХЛОРИНОВ**

**02.00.03 "Органическая химия"**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата химических наук**

**Иваново – 2006**

Работа выполнена в Государственном образовательном  
учреждении высшего профессионального образования  
“Сыктывкарский государственный университет”

Научный руководитель: кандидат химических наук, старший  
научный сотрудник  
Белых Дмитрий Владимирович

Официальные оппоненты:

Ведущая организация:

Защита состоится 200 г. в часов на заседании  
диссертационного совета Д 212.063.01 при Государственном  
образовательном учреждении высшего профессионального  
образования “Ивановский государственный химико-технологический  
университет” по адресу: 153000, г. Иваново, пр. Ф. Энгельса, д. 7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке при  
Государственном образовательном учреждении высшего  
профессионального образования “Ивановский государственный  
химико-технологический университет” по адресу: 153000, г. Иваново,  
пр. Ф. Энгельса, д. 10.

Автореферат разослан " " 2006 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Хелевина О.Г.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Природные и синтетические порфирины и их аналоги находят применение в самых разных областях науки и техники. Из-за высокой стоимости и относительно низкой стабильности природные порфирины, в частности, хлорофиллы и их производные используются главным образом для синтеза биологически активных веществ и медицинских препаратов. Основные направления применения производных хлорофилла в медицине – онкология и гематология. В настоящее время ряд производных хлорофилла (а) активно исследуются в качестве фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ) онкологических заболеваний. Некоторые из этих веществ (хлорин  $e_6$ ) уже используются в клинической практике как действующие вещества медицинских препаратов. Хлорины, содержащие карборановые фрагменты, считаются перспективными препаратами для борнейтронзахватной терапии (Б-НЗТ) онкологических заболеваний, причем сочетание в одной молекуле хлоринового и карборанового фрагментов позволяет применять Б-НЗТ совместно с ФДТ (так называемые «двойные» или «бинарные» стратегии терапии). Высокая тропность производных хлорофилла к злокачественным новообразованиям позволяет рассматривать их как основу противоопухолевых препаратов с любым механизмом действия (ингибирование МЛУ, цитостатическое действие и т.п.). Присоединение к молекуле природного хлорина соответствующего фармакофора может дать соединение направленного действия, избирательно поражающее злокачественное новообразование. Кроме того, сочетание в одной молекуле двух и более фармакофоров может привести к усилению уже известных активностей вещества и возникновению новых. Спектральные характеристики природных хлоринов и их низкая темновая токсичность позволяют считать эти соединения так же потенциальными ФС для фотодинамической стерилизации донорской крови.

Кроме того, природные хлорины зачастую являются практически альтернативными исходными соединениями для синтеза несимметричных хлоринов и порфиринов: синтез таких соединений, исходя из пиррола и его производных, зачастую более сложен, чем получение таких соединений из хлорофилла и его ближайших производных.

Таким образом, изучение химических превращений природных хлоринов и разработка методов введения в их молекулы фармакофорных групп и фрагментов биологически активных соединений представляет интерес, как с точки зрения фундаментальной науки, так и с практической точки зрения.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы является разработка методов введения на периферию хлоринового макроцикла

фрагментов биологически активных молекул, фармакофорных групп и других заместителей.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

-синтез амидных производных хлорина  $e_6$ , содержащих amino- и гидроксигруппы;

-изучение взаимодействия метилфеофорбида (а) с этилендиамином с целью синтеза ди- и три-аминохлоринов;

-синтез хлоринов, содержащих фармакофорные группы, фрагменты биологически активных молекул и другие заместители с использованием реакций гидроксильных и amino-групп полученных производных хлорина  $e_6$ .

**Научная новизна работы.** С высокими выходами синтезированы амидные производные хлорина  $e_6$ , содержащие в молекуле одну, две и три amino-группы, а так же хлорины, содержащие amino-группы, присоединенные к хлориновому циклу мостиками различной длины. На примере синтеза ряда полифункциональных хлоринов показана возможность использования реакций алкилирования и ацетилирования периферических гидроксильных и amino-групп амидных производных хлорина  $e_6$  для введения дополнительных заместителей на периферию хлоринового цикла. Варьирование длины спейсера, присоединяющего amino-группу, позволяет регулировать расстояние, на котором располагается вводимый на периферию хлоринового цикла фрагмент. В результате впервые синтезированы хлорины, содержащие на периферии хлоринового цикла один или два фрагмента дитерпеноида изостевиола. Получены новые производные хлорина  $e_6$ , содержащие в молекуле карборановый фрагмент. Осуществлено введение на периферию хлоринового макроцикла присоединенной гибкими длинными спейсерами винильной группы. Предложенный в настоящей работе подход к введению дополнительных заместителей на периферию хлоринового цикла может быть распространен на синтез других полифункциональных хлоринов.

**Практическая значимость.** Синтезированные соединения являются потенциальными ФС для терапии онкологических и вирусных заболеваний (хлорины, содержащие на периферии хлоринового цикла один или два фрагмента дитерпеноида изостевиола); препаратами для совместного применения ФДТ и Б-НЗТ злокачественных новообразований (производные хлорина  $e_6$ , содержащие карборановый фрагмент); мономерами для синтеза полимерных ФС для фотодинамической стерилизации крови (хлорины, содержащие на периферии макроцикла винильную группу, присоединенную мостиками различной длины).

**Апробация работы и публикации.** Основные материалы работы докладывались и обсуждались на 3 Всероссийских конференциях: Санкт-Петербург, (2005); Казань (2005); Сыктывкар, (2006). По материалам диссертации опубликовано 2 статьи и тезисы 5 докладов

на Всероссийских конференциях. Получено положительное решение на патент.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на стр., содержит таблицы, рисунков и состоит из введения, 3-х глав, выводов и списка литературы из наименований.

## **Основное содержание работы**

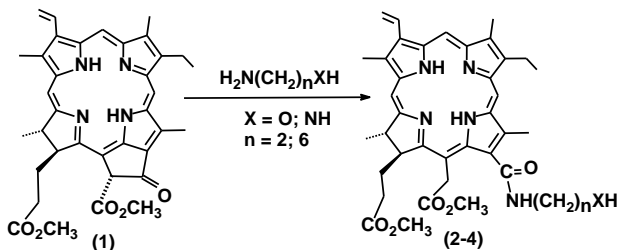
### **1. Литературный обзор**

В литературном обзоре рассмотрены методы введения amino- и гидрокси-групп на периферию хлоринового цикла и использование реакций введенных amino- и гидрокси-групп для дальнейшей химической модификации природных хлоринов. Анализ имеющихся литературных данных позволяет заключить, что одним из самых простых способов введения гидроксильной и amino-группы на периферию хлоринового цикла является реакция раскрытия экзоцикла метилфеофорбида (a) и его аналогов под действием amino-спиртов и диаминов соответственно. В то же время, дальнейшая химическая модификация с использованием реакций гидроксильных и amino-групп получаемых таким образом 13-амидов хлорина  $e_6$  в литературе не описана. Синтез хлоринов с двумя и тремя гидроксильными группами может быть осуществлен амидированием сложноэфирных групп хлорина  $e_6$  13-N-(2-гидроксиэтил)-амида 15,17-диметилового эфира при действии чистого этаноламина, причем реакция протекает в мягких условиях с высоким выходом ди- и три-аминохлоринов и не требует предварительной активации исходного соединения. Несмотря на то, что этот подход, по-видимому, ограничен и может быть использован только в случае простых аминов, жидких при обычных условиях, простота исполнения реакции, регио-селективность и высокие выходы являются его важными преимуществами. На основе анализа литературных данных определены цель и задачи исследования.

### **2. Результаты и их обсуждение**

#### **2.1. Синтез amino- и гидроксихлоринов**

Исходя из метилфеофорбида (a) (1) синтезирован ряд amino- и гидрокси-хлоринов.

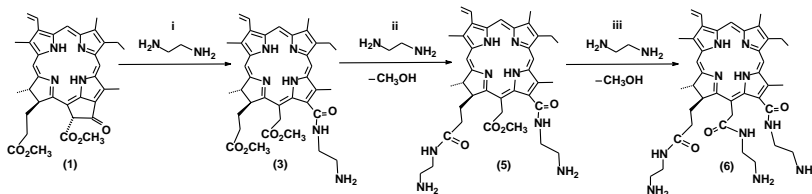


	X; n	Условия реакции	Выход, %
2	O; 2	Этанолламин, $\text{CHCl}_3$ , комнатная температура, 2 ч.	80
3	N; 2	Этилендиамин, $\text{CHCl}_3$ , комнатная температура, 3 ч.	75
4	N; 6	Гексаметилендиамин, ТГФ, комнатная температура, 3 ч.	77

Рис. 1. Синтез гидрокси- и аминоклоринов

Взаимодействие с этаноламином для получения соответствующего амида проводилось согласно литературной методике, спектральные характеристики совпадают с описанными в литературе. Аминоклорины с амино-группами, присоединенными спейсерами различной длины получены при действии на метилфеофорбид (а) этилендиамина и гексаметилендиамина, изменения, происходящие в спектральных характеристиках (ИК и ЯМР) аналогичны описанным в литературе.

Изучено взаимодействие (1) с этилендиамином. Показано, что при действии чистого этилендиамина на амид (3) происходит амидирование его сложноэфирных групп, причем сначала в реакцию вступает сложноэфирная группа заместителя в положении 17:



i: этилендиамин,  $\text{CHCl}_3$ , 20°C, 3 ч; ii: этилендиамин, 20°C, 20 ч, без выделения исходного моноамида; iii: этилендиамин, 20°C, 40 ч.

Рис. 2. Синтез ди- и триаминоклоринов

Получение ди- и три-аминохлоринов (5) и (6) может быть осуществлено с высокими выходами и без выделения промежуточных соединений. Показано, что в реакции амидирования этилендиамином большей реакционной способностью обладает сложноэфирная группа в положении 17, что совпадает с литературными данными по реакциям амидирования этаноламином и кислотно-катализируемого гидролиза сложноэфирных групп аналогичных амидных производных хлорина е<sub>6</sub>. Более высокую реакционную способность сложноэфирной группы в положении 17 можно объяснить ее меньшей стерической затрудненностью.

Ввиду не очень хорошей растворимости синтезированного триаминохлорина (6) в органических растворителях, подтверждение его строения при помощи ПМР-спектроскопии оказалось затруднительным. Поэтому был получен его триацетат (7), структура которого была установлена при помощи ИК- и ПМР-спектроскопии.

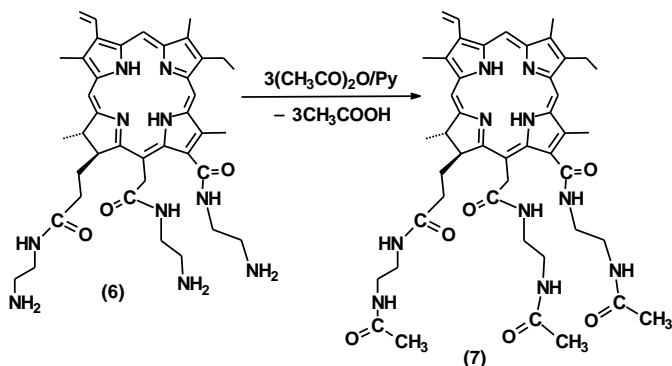


Рис. 3. Синтез триацетата триаминохлорина (7).

## 2.2. Химическая модификация amino- и гидрокси-производных хлорина е<sub>6</sub> с использованием реакций amino- и гидрокси-групп

### 2.2.1. Алкилирование amino- и гидрокси-групп производных хлорина е<sub>6</sub>

Алкилирование amino-хлоринов бензилхлоридом приводит к соответствующим N-бензильным производным:

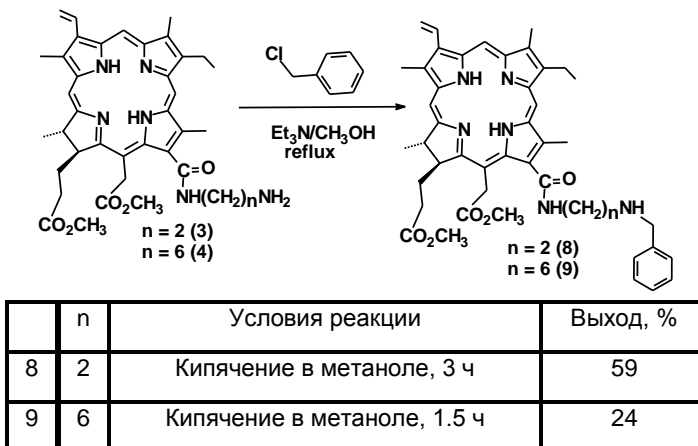


Рис. 4. Синтез N-бензильных производных хлорина  $e_6$

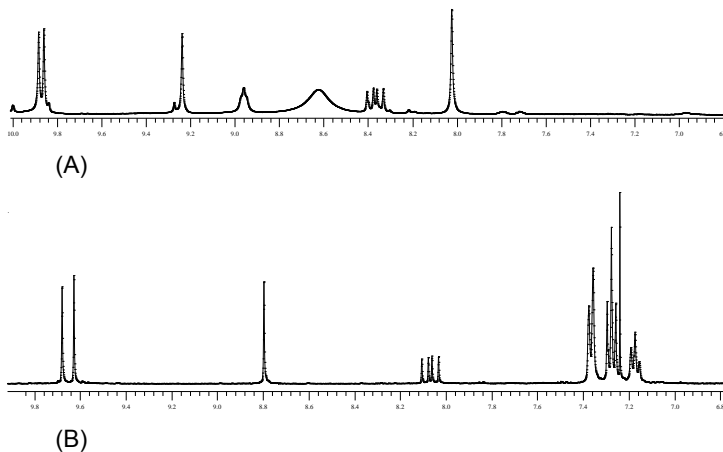


Рис. 5. Спектры ПМР хлорина  $e_6$  13-N-(6-аминогексил)-амида-15,17-диметилового эфира (4) – (А) и хлорина  $e_6$  13-N-(6-(N-бензил)аминогексил)-амида-15,17-диметилового эфира (9) – (В), (область 6.8-10.0 м.д.).

Алкилирование аминогруппы одного из полученных аминопроизводных хлорина  $e_6$  позволяет получить хлорины с удаленной от макроцикла винильной группой:



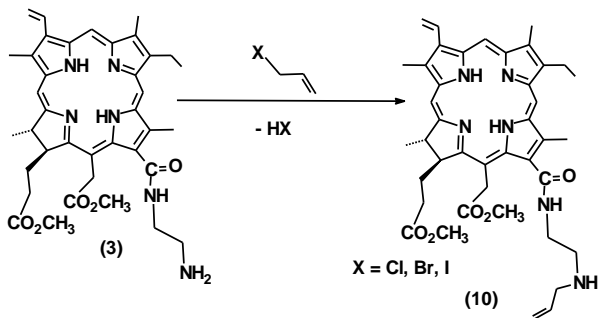


Рис. 6. Синтез хлорина  $e_6$  13-N-(2-(N-аллил) аминоэтил)-амида-15,17-диметилового эфира (10)

Наилучший выход (30%) был достигнут при использовании в качестве алкилирующего агента бромистого аллила (реакция проводилась при кипячении в ТГФ в присутствии ацетата натрия).

Дополнительная винильная группа может быть введена в одну стадию при действии на метилфеофобид (а) аллиламина:

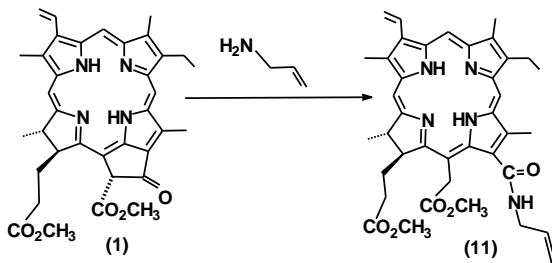


Рис. 7. Синтез хлорина  $e_6$  13-N-аллиламида-15,17-диметилового эфира (11)

Однако, несмотря на высокий выход продукта реакции (90%), мостик, соединяющий винильную группу с макроциклом, в этом соединении заметно короче.

Винильную группу на более длинном мостике можно ввести на периферию хлоринового макроцикла с хорошим выходом (72%) действием аллиламина на пиррофеофорбид (а) с использованием дитретбутилпирокарбоната:

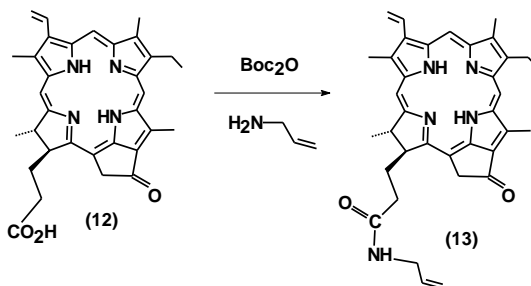


Рис. 8. Синтез пиррофеофорбида (а) 17-N-аллиламида (13)

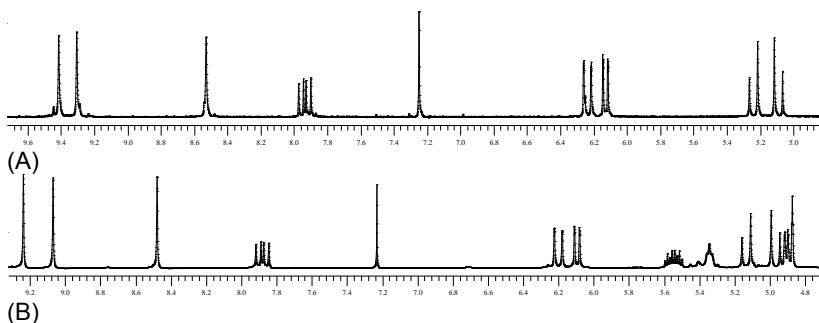
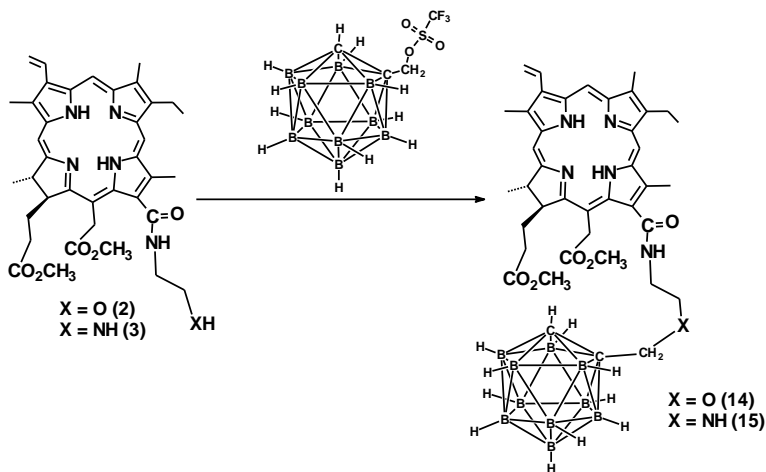


Рис. 9. Спектры ПМР пиррофеофорбида (а) (12) – (А) и пиррофеофорбида (а) 17-N-аллиламида (13) – (В), (область 4.80-9.40 м.д.).

Полученные хлорины с винильной группой могут быть использованы в качестве мономеров для получения хлорин-содержащих полимеров путем сополимеризации.

Реакция алкилирования amino- и гидроксигрупп была использована так же для введения на периферию хлоринового цикла карборанового фрагмента. В качестве алкилирующего агента использовался соответствующий карборанилтрифлат:



	X	Конверсия, %	Выход, %
14	O	30	10
15	N	100	18

Рис. 10. Синтез карборанилхлоринов

Как и следовало ожидать, наилучшие результаты были получены при алкилировании amino-группы. Полученное при этом соединение (**15**) проходило испытания на цитотоксичность и исследование фармакинетики и распределение между опухолью и здоровой тканью. Исследования показали, что борированный хлорин обладает фотоактивными свойствами и проведение работ, направленных на создание борсодержащих хлоринов перспективно.

Деборирование карборанового фрагмента позволяет повысить гидрофильность карборанил-хлоринов. Нами было исследовано деборирование при использовании тетрабутиламмонийфторида двухводного  $((C_4H_9)_4NF \cdot 2H_2O)$ . Реакция проводилась при кипячении в ТГФ. Данный способ деборирования оказался неудачным ввиду образования большого количества примесных веществ, строение которых установить не удалось. Успешной оказалась попытка деборирования при использовании пиперидина в абсолютном бензоле при комнатной температуре. Этот способ оказался более селективным и выход основного продукта реакции (**16**) составил 60 %.

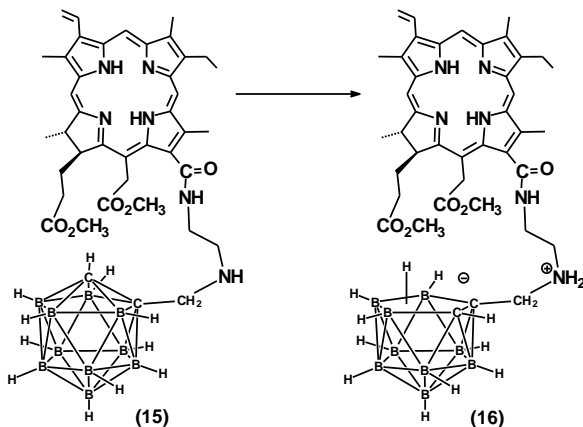
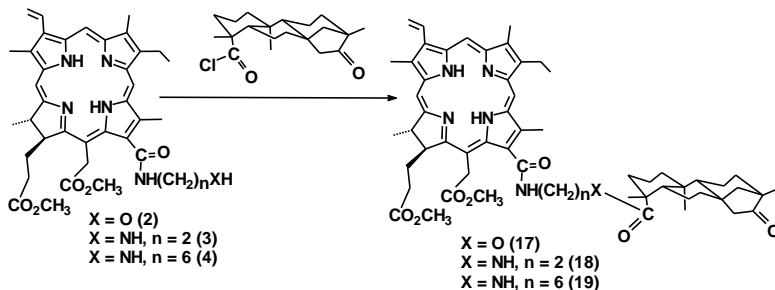


Рис. 11. Синтез хлорина  $e_6$  13-N-(2-(N-о-метил-нидо-карборанил) аминоэтил)-амида-15,17-диметилового эфира (16)

### 2.2.2. Ацетилирование amino- и гидрокси-групп производных хлорина $e_6$

Для введения на периферию хлоринового цикла фрагмента изостевиола была использована реакция ацетилирования. Мы предполагаем, что введение на периферию хлоринового цикла дитерпеноида изостевиола, проникающего в мембраны клеток и проявляющего разноплановую биологическую активность (антигипертензивный эффект, ингибирование окислительного фосфорилирования, снижение АТФ-активности некоторых фосфотаз и оксидаз) может привести к соединениям, обладающим новыми, полезными свойствами, например, увеличить способность хлорина к взаимодействию с клеточными мембранами.

В качестве ацетилирующего агента был использован хлорангидрид изостевиола:



X = O (2)  
X = NH, n = 2 (3)  
X = NH, n = 6 (4)

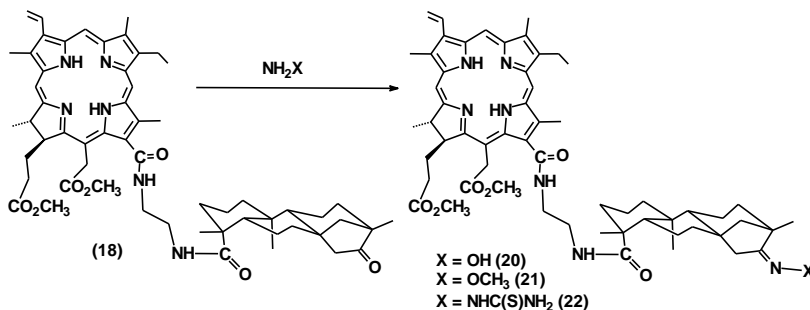
X = O (17)  
X = NH, n = 2 (18)  
X = NH, n = 6 (19)

	X, n	Условия реакции	Выход, %
18	NH, 2	ТГФ, Et <sub>3</sub> N, кипячение 1.5 ч	52
19	NH, 6	ТГФ, Et <sub>3</sub> N, кипячение 2 ч	23
17	O, 2	ТГФ, Et <sub>3</sub> N, кипячение 4 ч	12

Рис. 12. Схема ацетилирования гидрокси- и аминохлоринов хлорангидридом изостевиола

Как и в случае реакции алкилирования, наилучших результатов удалось достичь при ацетилировании амино-группы (см. табл.).

Введенный изостевиольный фрагмент может быть подвергнут дальнейшим химическим превращениям. Так, с использованием реакции кето-группы изостевиольного фрагмента нами был получен ряд иминных производных:



	NH <sub>2</sub> X	Условия реакции	Выход, %
20	NH <sub>2</sub> OH	NH <sub>2</sub> OH·HCl, Py, кипячение 40 мин.	49
21	NH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub> ·HCl, Py, кипячение 40 мин.	75
22	NH <sub>2</sub> NHC(S)NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub> NHC(S)NH <sub>2</sub> ·HCl, Py, кипячение 1 ч.	63

Рис. 13. Синтез иминных производных изостевиолхлоринов

Использование в качестве субстрата для ацетилирования диаминохлорина и двукратного избытка хлорангидрида изостевиола позволяет получить хлорины с двумя дитерпеноидными фрагментами:

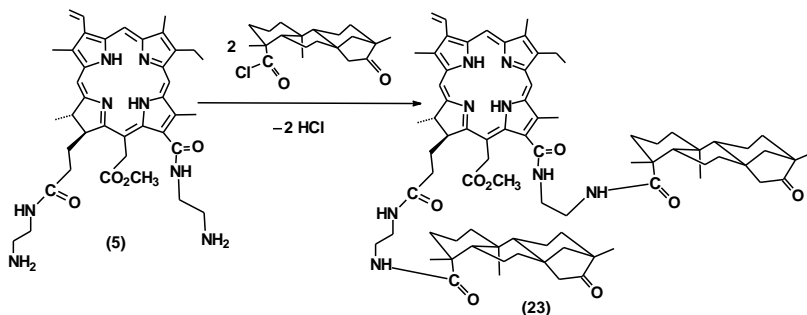


Рис. 14. Схема ацетилирования диаминохлорина (5) хлорангидридом изостевиола

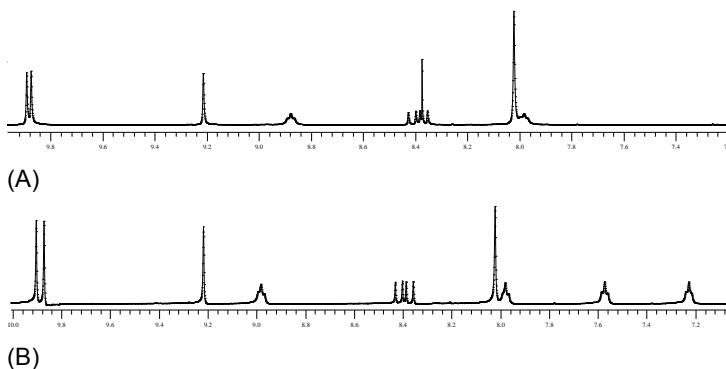


Рис. 15. Спектры ПМР хлорина  $e_6$  13,17- $N,N'$ -(2-аминоэтил)-диамида-15-метилового эфира (5) – (А) и хлорина  $e_6$  13,17- $N,N'$ -(2-( $N,N'$ -диизостевиол)аминоэтил)-диамида-15-метилового эфира (23) – (В), (область 7.2-10.0 м.д.).

## ВЫВОДЫ

1. С целью введения в молекулу хлорина дополнительной реакционно-способной функциональной группы проведено взаимодействие этилендиамина и гексаметилендиамина с метилфеофорбидом (а). В результате с высоким выходом синтезированы амидные производные хлорина  $e_6$ , содержащие в молекуле amino-группы, присоединенные к хлориновому циклу мостиками различной длины.

2. С целью синтеза хлоринов с несколькими амино-группами изучено взаимодействие метилфеофорбида (а) с этилендиамином. Показано, что при действии на метилфеофорбид (а) чистого этилендиамина происходит не только раскрытие экзоцикла, но и амидирование сложноэфирных групп образующегося амида хлорина  $e_6$ , причем в реакцию сначала вступает сложноэфирная группа в положении 17. Более высокую реакционную способность сложноэфирной группы в положении 17 можно объяснить ее меньшей стерической затрудненностью. В результате предложен простой способ синтеза амидных производных хлорина  $e_6$ , содержащих в молекуле две и три амино-группы: ди- и три-аминохлорины могут быть получены с высоким выходом действием чистого этилендиамина на метилфеофорбид (а) без выделения промежуточных соединений.

3. Впервые синтезированы хлорины, содержащие на периферии хлоринового цикла один или два фрагмента биологически активного дитерпеноида изостевиола, присоединенных к макроциклу мостиками различной длины. Введение изостевиольного фрагмента было осуществлено при помощи реакции ацетилирования амино- и гидроксигрупп полученных в ходе настоящей работы производных хлорина  $e_6$  хлорангидридом изостевиола. Показана возможность дальнейшей модификации изостевиольного фрагмента, присоединенного к хлориновому макроциклу.

4. Синтезированы новые хлорины, содержащие винильную группу, удаленную от макроцикла мостиками различной длины. Полученные хлорины могут быть использованы в качестве мономеров для получения полимерных ФС для фотодинамической стерилизации крови.

5. Синтезированы новые производные хлорина  $e_6$ , содержащие в молекуле карборановый фрагмент. В настоящее время проводится изучение биологической активности одного из полученных карборанил-хлоринов.

#### **Основное содержание работы изложено в следующих публикациях**

1. Мальшакова М.В., Белых Д.В.. Синтез хлоринов, содержащих аминогруппы. // Тезисы докладов VI школы-конференции молодых ученых стран СНГ по химии порфиринов и родственных соединений. г. Санкт-Петербург – 2005. - С. 65-66.
2. Мальшакова М.В., Белых Д.В., Кучин А.В.. Синтез и модификация производных хлорофилла, содержащих аминогруппу. // Тезисы докладов VIII школы-конференции по органической химии. г. Казань – 2005. - С. 393.

3. Мальшакова М.В., Белых Д.В., Корочкина М.Г., Катаев В.Е., Кучин А.В.. Синтез конъюгатов на основе хлориновых и изостевиолольных строительных блоков. // Тезисы докладов IV всероссийской научной конференции по химии и технологии растительных веществ. г. Сыктывкар – 2006. - С. 118.
4. Мальшакова М.В., Белых Д.В., Кучин А.В.. Синтез аминокхлоринов и алкилирование их амино-групп аллильными и бензильными галогенидами. // Тезисы докладов IV всероссийской научной конференции по химии и технологии растительных веществ. г. Сыктывкар – 2006. - С. 119.
5. Мальшакова М.В., Белых Д.В., Ольшевская В.А., Петровский П.В., Калинин В.Н., Штиль А.А., Кучин А.В.. Синтез новых карборановых производных хлорина  $e_6$ . // Тезисы докладов IV всероссийской научной конференции по химии и технологии растительных веществ. г. Сыктывкар – 2006. - С. 120.
6. Мальшакова М.В., Белых Д.В.. Синтез амидов хлорина  $e_6$ , содержащих аминогруппу. // Труды Коми научного центра УрО РАН, № 176. Химия и технология растительных веществ. г. Сыктывкар – 2005. - С. 60-74.
7. Кучин А.В., Ольшевская В.А., Мальшакова М.В., Белых Д.В., Петровский П.В., Иванов О.Г., Штиль А.А., Калинин В.Н. // Доклады Академии Наук. – 2006. - Т. 409, № 4. - С. 493-496.
8. Белых Д.В., Мальшакова М.В., Кучин А.В.. Способ синтеза ди- и три-аминокхлоринов. // Патент на изобретение № 024009, заявка № 2006122108, зарегистрировано в Федеральном государственном учреждении «Федеральный институт промышленной собственности Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам» (ФГУ ФИПС) (РОСПАТЕНТ) 20 июня 2006 г.