



## РАСКРЫТИЕ ЭКЗОЦИКЛА ФОРБИНОВ СЛАБЫМИ О-НУКЛЕОФИЛАМИ. ИЗУЧЕНИЕ И ОПТИМИЗАЦИЯ ПУТЕЙ СИНТЕЗА СВОБОДНОГО ХЛОРИНА $e_6$

Д. Р. Каримов

Дмитрий Рустамович Каримов, канд. хим. наук, доцент

Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново, Россия,  
dmitriy.karimov@list.ru

**Ключевые слова:** форбины, О-нуклеофилы; размыкание экзоцикла, производные хлорина  $e_6$ , фотосенсибилизаторы

**Аннотация.** В работе рассмотрены вопросы, касающиеся реакции размыкания (раскрытия) экзоцикла в молекулах форбинов (на примере метилфеофорбида  $a$ ) при действии О-нуклеофилов – воды и спиртов. Показано, что даже такие относительно слабые нуклеофилы, как вода и спирты, способны в определённых условиях приводить к размыканию экзоцикла в молекуле метилфеофорбида  $a$  с образованием производных хлорина  $e_6$ . Изучение данной реакции, помимо прочего, открывает новые синтетические пути к получению эфиров хлорина  $e_6$  различной степени замещения, а в конечном итоге – и свободного хлорина  $e_6$  в виде трикислоты, являющегося ценным фотосенсибилизатором для фотодинамической терапии (ФДТ) и исходным соединением для получения других фотосенсибилизаторов. Рассмотрены также возможные синтетические подходы к получению свободного хлорина  $e_6$ .

### Для цитирования:

Каримов Д.Р. Раскрытие экзоцикла форбинов слабыми О-нуклеофилами. Изучение и оптимизация путей синтеза свободного хлорина  $e_6$  // От химии к технологии шаг за шагом. 2023. Т. 4, вып. 4. С. 68-81. URL: <http://chemintech.ru/index.php/tor/2023-4-4>

### Введение

Даже в XXI в. некоторые проблемы медицины по-прежнему остаются актуальными и не решёнными окончательно. Это, в частности, вопросы борьбы с онкологическими заболеваниями, а также с резистентными к антибиотикам бактериальными инфекциями [1-8]. Данное обстоятельство предопределяет постоянные поиски новых эффективных и при этом максимально безопасных путей решения названных проблем [7]. Одним из наиболее перспективных методов, направленных на борьбу как с онкозаболеваниями, так и с патогенной бактериальной микрофлорой представляется фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод, связанный с использованием фотосенсибилизаторов (ФС) [7-10]. Фотосенсибилизатор – это обычно органический краситель, обладающий способностью избирательно накапливаться в тканях опухолей



либо в клетках бактерий и при облучении светом определённой длины волны этих тканей генерирующий активный (синглетный) кислород, который, в свою очередь, разрушает окружающие опухолевые ткани или органеллы бактериальной клетки [7]. Поскольку синглетный кислород образуется лишь в месте накопления фотосенсибилизатора при его лазерном облучении, здоровые ткани вокруг опухоли или очага бактериальной инфекции не затрагиваются [7]. Однако к фотосенсибилизаторам предъявляется ряд требований (одновременная водо- и жирорастворимость (амфифильность), способность поглощать кванты света в красной и ближней ИК-области спектра, эффективная генерация синглетного кислорода и других активных форм кислорода, тропность к опухолевым клеткам, низкая токсичность и фототоксичность, высокая скорость выведения из организма), и далеко не все из них удаётся реализовать посредством одного химического соединения. Таким образом, «идеального фотосенсибилизатора» не существует [7], что предопределяет постоянные поиски новых фотосенсибилизаторов – как природных, так и синтетических.

Хорошо зарекомендовавшими себя в качестве фотосенсибилизаторов соединениями показали полусинтетические производные природного хлорофилла – производные форбинов, а также амиды и эфиры хлорина  $e_6$  (как в свободном виде, так и в виде конъюгатов с различными мономерными биомолекулами и биополимерами) [11-16]. Тем не менее, даже эти соединения всё же не удовлетворяют в полной мере всей совокупности требований к фотосенсибилизаторам, поэтому поиски новых путей их синтеза и модификации продолжаются. Нетривиальную задачу представляет собой и получение свободного хлорина  $e_6$  в чистом виде по стандартным методикам – таким как щелочной гидролиз его эфиров или метилфеофорбида  $a$ , поскольку при этом образуется смесь соединений близкой структуры, которую необходимо подвергать разделению [17].

Исходным соединением для получения различных производных хлорина  $e_6$  является метилфеофорбид  $a$  – продукт, получаемый из природного хлорофилла  $a$  в две стадии, первой из которых является деметаллирование (удаление иона магния при действии соляной кислоты), а второй – переэтерификация (замена остатка фитола на метильную группу в положении 17 при действии смеси метанол – серная кислота (5% об.)). Для того, чтобы из метилфеофорбида  $a$  получить производные хлорина  $e_6$ , необходимо раскрыть форбиновый экзоцикл. Реакция размыкания экзоцикла представляет собой нуклеофильное замещение при карбонильном атоме углерода в положении 13(1) [18]. Склонность экзоцикла к раскрытию под действием нуклеофильных реагентов обусловлена, в первую очередь, снятием стерических напряжений (искажение валентных углов в экзоцикле и отталкивание близко расположенных объёмных заместителей в положениях 17 и 13(2)) в ходе реакции, а также особенностями механизма процесса (возможность делокализации отрицательного заряда в карбоанионе, образующемся при гетеролитическом разрыве связи 13(1)-C–13(2)-C) [16].

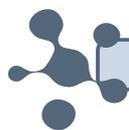
Реакция размыкания экзоцикла довольно хорошо изучена на примере взаимодействия метилфеофорбида  $a$  с аминами, выступающими в качестве



N-нуклеофилов [18, 19]. Известно, что значительное влияние на возможность протекания данной реакции оказывает пространственное строение амина (степень экранирования атома азота имеющимися при нём заместителями), а также электронное строение макроцикла (наличие электроноакцепторных заместителей гипотетически должно облегчать протекание реакции) [18]. При этом стерический фактор играет главенствующую роль и не может быть скомпенсирован электронным. Считается, что гладко вступают в реакцию первичные и вторичные алифатические амины, причём в случае вторичных аминов заместители при атоме азота не должны быть более объёмными, чем *n*-пропильная группа [18]. Особенностью проведения процесса является также использование больших избытков аминов (100–200-кратные). В то же время известны работы [20, 21], в которых описано раскрытие экзоцикла объёмными молекулами аминов при их минимальных избытках. Следует также отметить, что использование более жёстких условий при проведении реакции размыкания экзоцикла (кипячение в толуоле вместо комнатной температуры) приводит к изменению направления реакции, и происходит амидирование сложноэфирной группы экзоцикла без его раскрытия [18].

В литературе описано раскрытие экзоцикла в молекулах метилфеофорбида *a* и его производных также и O-нуклеофилами [22, 23], однако только весьма сильными (в частности, метилатом натрия). Считается, что щелочной гидролиз форбиновых производных препаративно нецелесообразен, поскольку приводит к образованию трудно разделяемой смеси свободного хлорина  $e_6$  и его метиловых эфиров различной степени замещения [18]. Для целенаправленного получения триметилового эфира хлорина  $e_6$  обычно используется обработка таких смесей диазометаном [22, 23], получение которого связано с определёнными трудностями (сравнительно малодоступные реактивы) и рисками (исходные вещества для синтеза – в частности, N-нитрозометилмочевина – являются канцерогенами, а сам диазометан ядовит и взрывоопасен). Триметильный эфир хлорина  $e_6$  может быть получен обработкой метилфеофорбида *a* метилатом натрия [22], а также образуется при действии раствора гидроксида калия в метаноле на метилфеофорбид *a* в пиридине [24] или тетрагидрофуране. Было найдено, что даже такой слабый нуклеофил, как вода, при взаимодействии с форбинами в определённых условиях способен образовывать продукты раскрытия экзоцикла, хотя и в следовых количествах. Феофорбид *a* также подвергается раскрытию экзоцикла при обработке гидроксидом калия в системе «ТГФ – метанол» при комнатной температуре с образованием 17-карбоксии-13,15-диметилового эфира хлорина  $e_6$ .

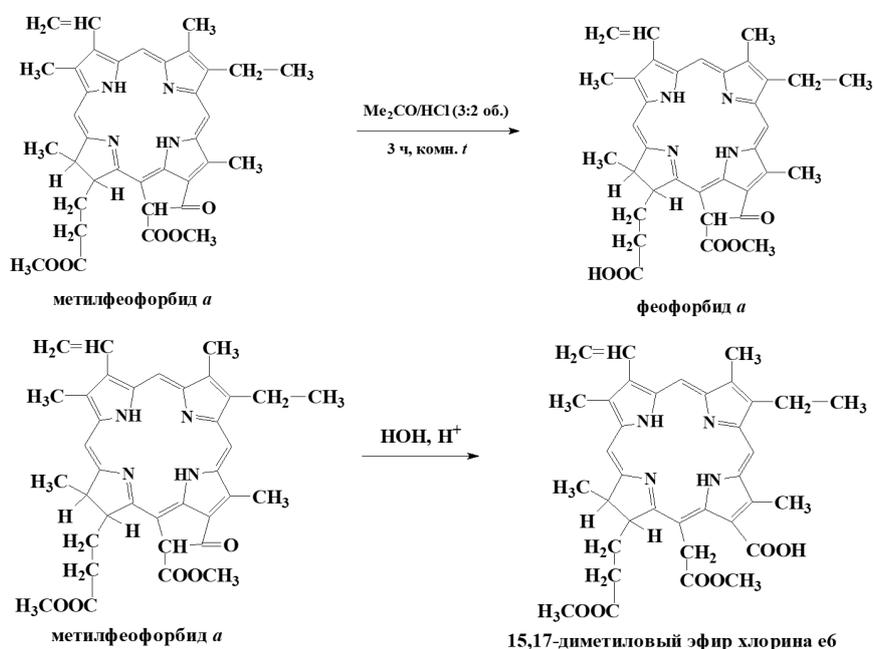
При обработке раствора метилфеофорбида *a* в ТГФ водным раствором гидроксида калия при кипячении происходит образование свободного хлорина  $e_6$  наряду с другими продуктами. Одним из побочных продуктов является хлорин  $e_4$ , представляющий собой продукт однократного декарбоксилирования хлорина  $e_6$  по положению 15 макроцикла. Реакция декарбоксилирования хлорина  $e_6$  описана в литературе [25], она протекает при нагревании хлорина  $e_6$  в основных средах.



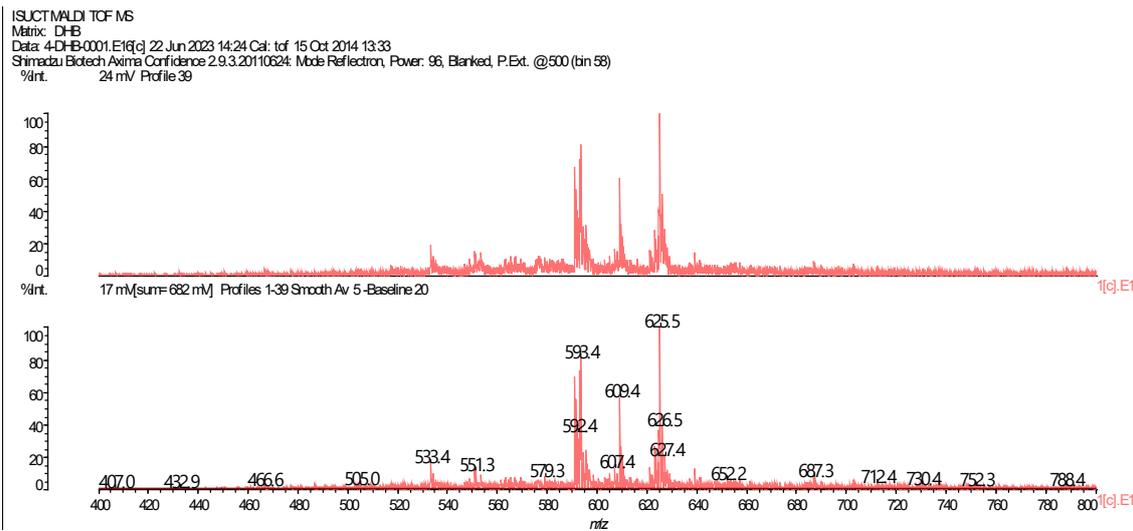
### Экспериментальная часть

Метилфеофорбид *a* был получен в соответствии с [26]. Растворители были очищены в соответствии с общепринятыми методиками. Метанол был осушен путём перегонки над металлическим магнием, тетрагидрофуран и хлороформ были подвергнуты перегонке после выдерживания над гидроксидом калия и сульфатом натрия соответственно. Ацетон был подвергнут перегонке с дефлегматором. Гидроксид калия и соляная кислота использовались без предварительной подготовки. Масс-спектры регистрировались с помощью времяпролетного тандемного масс-спектрометра с матричной ионизацией (MALDI TOF) Axima Confidence (Shimadzu, Япония). В качестве матрицы использовались 2,5-дигидроксибензойная кислота (DHB) и  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричная кислота (CHCA). Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР регистрировались на спектрометре Avance-500 (Bruker, Германия) с рабочей частотой 500 МГц при 293 К.

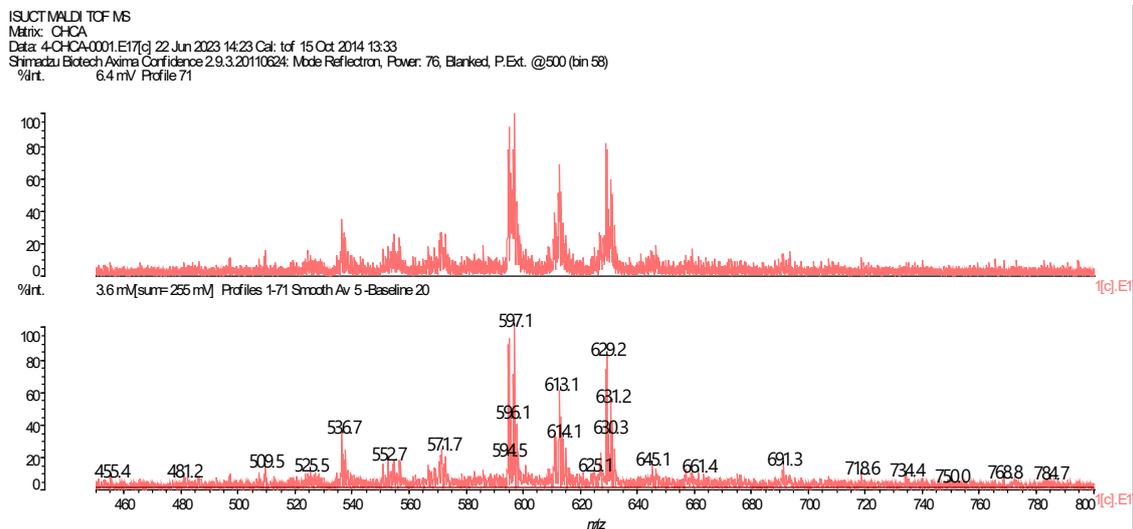
#### 1. Изучение возможности протекания гидролиза метилфеофорбида *a* в кислой среде.



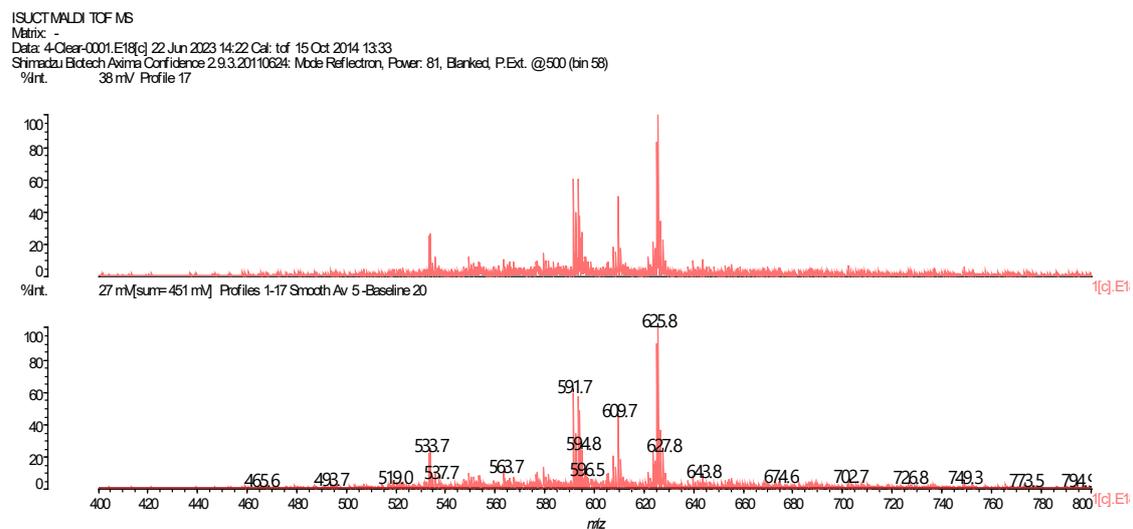
Метилфеофорбид *a* (200 мг, 0,329 ммоль) был растворён в 6 мл ацетона. К полученному раствору было добавлено 4 мл концентрированной соляной кислоты. Реакционная смесь была подвергнута перемешиванию при комнатной температуре в течение 4 ч, после чего была проведена экстракция хлороформом с добавкой метанола и промывка органического слоя водой. ТСХ (силикагель, дихлорметан – метанол (10% об.)) реакционной смеси после экстракции демонстрирует, помимо основных зон (феофорбида *a* в качестве основного продукта и следов не вступившего в реакцию исходного метилфеофорбида *a*), также наличие трудноподвижной фракции зелёного цвета. Была проведена колоночная хроматография полученного продукта на силикагеле с использованием смесей хлороформ – метанол (2–20% об.) в качестве элюента. Фракция зелёного цвета сходила с колонки последней и вымывалась смесью хлороформ – метанол (20% об.). Данные масс-спектрометрии продемонстрировали, что данная фракция представляет собой смесь свободного хлорина *e*<sub>6</sub> и его метиловых эфиров разной степени замещения, однако преобладающим компонентом смеси является диметилловый эфир хлорина *e*<sub>6</sub> ( $M = 625$ ) (рис. 1).



DHB



CHCA



Без матрицы

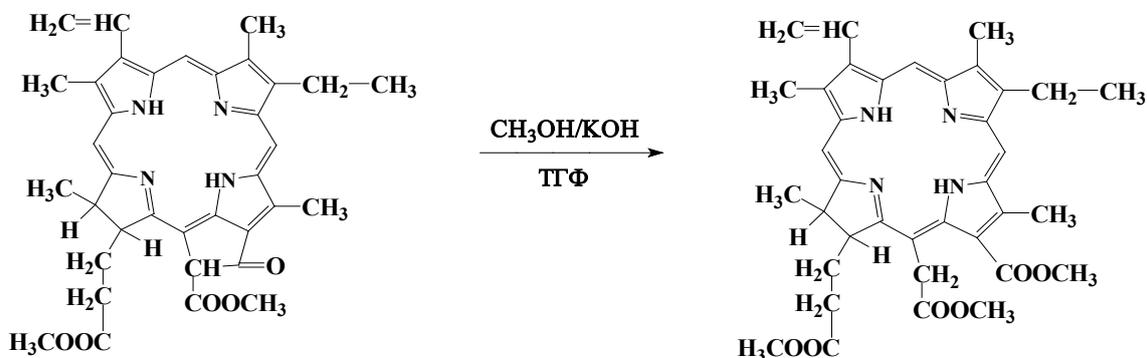
Рис. 1. Масс-спектры «зелёной фракции» на различных матрицах, а также без них



Логично предположить, что он представляет собой 15,17-диметиловый эфир хлорина  $e_6$  со свободной карбоксильной группой в положении 13, по месту раскрытия экзоцикла, а раскрывающим экзоцикл агентом в таком случае является вода.

В смеси также присутствует монометиловый эфир хлорина  $e_6$  ( $M = 611$ ) (см. рис. 1), по-видимому, являющийся 15-монометиловым эфиром, поскольку 17- $\text{COOCH}_3$ -группа подвергается кислотному гидролизу легче, чем 15- $\text{COOCH}_3$ -группа, что следует из многочисленных экспериментальных данных по получению 17-монокарбоксильных производных 13-амидов 15-монометиловых эфиров хлорина  $e_6$ , а также феофорбида, получаемого избирательным гидролизом 17- $\text{COOCH}_3$ -группы в молекуле метилфеофорбида до 17- $\text{COOH}$ -группы с сохранением 15- $\text{COOCH}_3$ -фрагмента. Наконец, свободному хлорину  $e_6$  соответствует сигнал 597, имеющийся в масс-спектрах (см. рис. 1).

## 2. Синтез 13,15,17-триметилового эфира хлорина $e_6$ .



Метилфеофорбид *a* (121,6 мг, 0,2 ммоль) был растворён в 6 мл тетрагидрофурана. Гидроксид калия (336 мг, 6 ммоль) был растворён в 12 мл метанола. Раствор гидроксида калия был добавлен к раствору метилфеофорбида *a*; притом реакционная смесь приобретала зелёную окраску. К реакционной смеси были добавлены хлороформ и вода; при этом происходило разделение на два слоя. Нижний окрашенный органический слой был отделён и промыт водой. Была проведена колоночная хроматография полученного неочищенного продукта на силикагеле с использованием смеси хлороформ – метанол (1% об.) в качестве элюента. Первая фракция (зелёного цвета) представляет собой целевой продукт, что подтверждается данными масс-спектрометрии ( $M = 640$ ) (рис. 2) и  $^1\text{H}$ -ЯМР.

**13,15,17-Триметиловый эфир хлорина  $e_6$ .** Тёмно-зелёный порошок. Выход 89,6 мг (70%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ , м.д.: 9,71 (с, 1H, 10-H), 9,58 (с, 1H, 5-H), 8,76 (с, 1H, 20-H), 8,08 (дд, 1H, 3(1)-H), 6,37 (дд, 1H, 3(2)-H-*транс*), 6,16 (дд, 1H, 3(2)-H-*цис*), 5,37 (д, 1H, 15(1)-CH), 5,26 (д, 1H, 15(1)-CH'), 4,47 (дд, 1H, 18-H), 4,42 (д, 1H, 17-H), 4,28 (с, 3H, 13- $\text{COOCH}_3$ ), 3,84 – 3,76 (наложение м + с, сумм. 5H, 8(1)- $\text{CH}_2$ , 15(3)- $\text{CH}_3$ ), 3,66 (с, 3H, 12(1)- $\text{CH}_3$ ), 3,60 (с, 3H, 17(4)- $\text{CH}_3$ ), 3,49 (с, 3H, 2(1)- $\text{CH}_3$ ), 3,32 (с, 3H, 7(1)- $\text{CH}_3$ ), 2,58 (м, 1H) и 2,22 (м, 2H): 17(1)- $\text{CH}_2$ , 17(2)- $\text{CH}_2$ ; 1,80–1,71 (наложение д + т + м, сумм. 7H, 8(2)- $\text{CH}_3$ , 18(1)- $\text{CH}_3$ , 17- $\text{CH}_2$ ), -1,28 (с, 1H, 21-NH), -1,44 (с, 1H, 23-NH).



ISUCTMALDI TOF MS  
Matrix: DHB  
Data: 1-DHB-0001.A19[c] 14 Jul 2023 12:31 Cal: tof 15 Oct 2014 13:33  
Shimadzu Biotech Axima Confidence 2.9.3.20110624: Mode Reflectron, Power: 67, Blanked, P.Ext. @600 (bin 58)  
%Int. 86 mV Profile 21

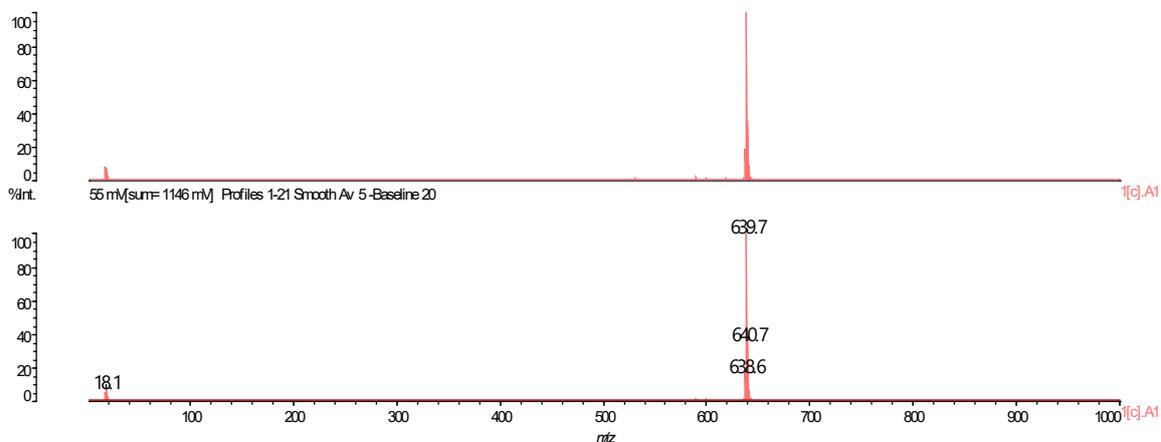


Рис. 2. Масс-спектр 13,15,17-триметилowego эфира хлорина  $e_6$

Следует отметить, что в качестве побочных продуктов в следовых количествах образуются также моно- и диметилowy эфиры хлорина  $e_6$ , что следует из данных масс-спектрометрии ( $M = 612$  и  $625$  соответственно) (рис. 3). Они могут быть легко отделены хроматографически (вымываются с колонки лишь высокими концентрациями метанола вплоть до 100%).

ISUCTMALDI TOF MS  
Matrix: DHB  
Data: 3-DHB-0001.C19[c] 14 Jul 2023 12:34 Cal: tof 15 Oct 2014 13:33  
Shimadzu Biotech Axima Confidence 2.9.3.20110624: Mode Reflectron, Power: 79, Blanked, P.Ext. @600 (bin 58)  
%Int. 20 mV Profile 19

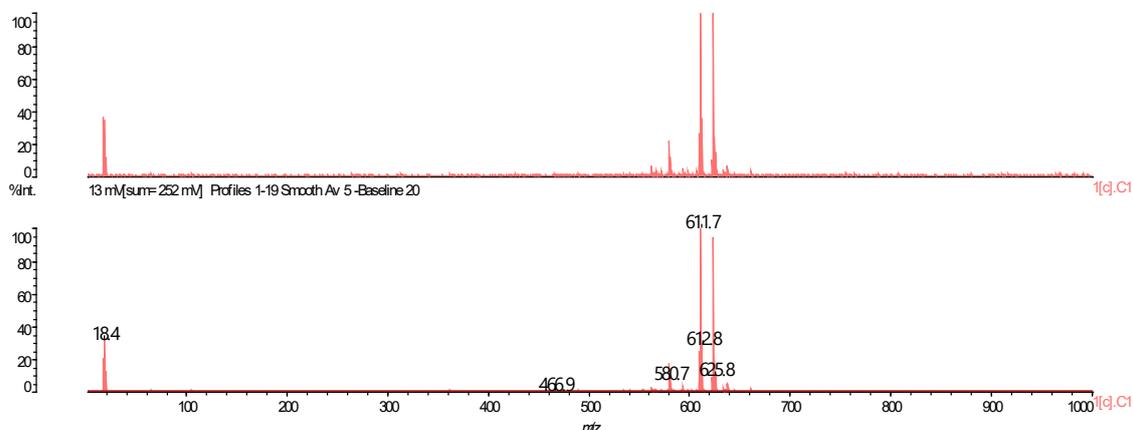
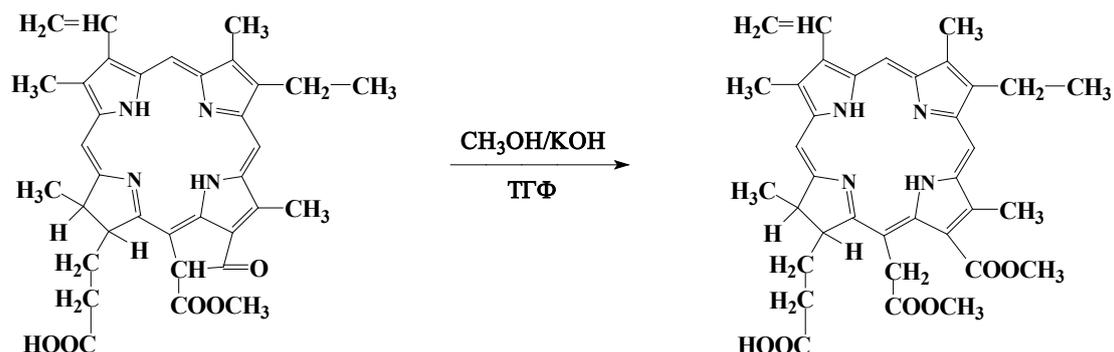


Рис. 3. Масс-спектр смеси моно- и диметилowego эфиров хлорина  $e_6$

### 3. Синтез 17-карбокситетра-13,15-диметилowego эфира хлорина $e_6$ .





Феофорбид *a* (59,4 мг, 0,1 ммоль) был растворён в 4 мл тетрагидрофурана, гидроксид калия (145,9 мг, 2,6 ммоль) – в 6 мл метанола. Раствор щёлочи был добавлен к раствору феофорбида. Полученный результирующий раствор (зелёного цвета) был разбавлен водой и нейтрализован расчётным количеством разбавленной соляной кислоты (0,2 мл конц. HCl в 20 мл воды). При этом происходило выпадение окрашенного осадка, который был отфильтрован на бумажном фильтре, высушен при комнатной температуре и подвергнут колоночной хроматографии на силикагеле с использованием смеси хлороформ – метанол (2% об.) в качестве элюента. Первая фракция зелёного цвета представляет собой целевой продукт, что подтверждается данными масс-спектрометрии  $M = 626,1$  (рис. 4) и  $^1\text{H}$ -ЯМР.

**17-Карбокси-13,15-диметиловый эфир хлорина  $e_6$ .** Тёмно-зелёный порошок. Выход 21,1 мг (34%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ , м.д.: 9,71 (с, 1H, 10-H), 9,58 (с, 1H, 5-H), 8,77 (с, 1H, 20-H), 8,08 (дд, 1H, 3(1)-H), 6,37 (дд, 1H, 3(2)-H-*транс*), 6,16 (дд, 1H, 3(2)-H-*цис*), 5,34 (д, 1H, 15(1)-CH), 5,28 (д, 1H, 15(1)-CH'), 4,46 (наложение д + дд, сумм. 2H, 18 H, 17-H), 4,26 (с, 3H, 13-COOCH<sub>3</sub>), 3,80 (кв., 2H, 8(1)-CH<sub>2</sub>), 3,76 (с, 3H, 15(3)-CH<sub>3</sub>), 3,59 (с, 3H, 12(1)-CH<sub>3</sub>), 3,49 (с, 3H, 2(1)-CH<sub>3</sub>), 3,31 (с, 3H, 7(1)-CH<sub>3</sub>), 2,62 и 2,22 (оба – м, сумм. 4H, 17(1)-CH<sub>2</sub>, 17(2)-CH<sub>2</sub>), 1,77 (д, 3H, 8(2)-CH<sub>3</sub>), 1,73 (т, 3H, 18(1)-CH<sub>3</sub>), -1,45 (с, 1H, 23-NH).

ISUCTMALDI TOF MS

Matrix: DHB

Data: 2-DHB-0001.N16[c] 18 Aug 2023 16:22 Cal: tof 15 Oct 2014 13:33

Shimadzu Biotech Axima Confidence 2.9.3.20110624: Mode Reflectron, Power: 101, Blanked, P.Ext. @800 (bin 58)

%Int. 201 m/z Profile 44

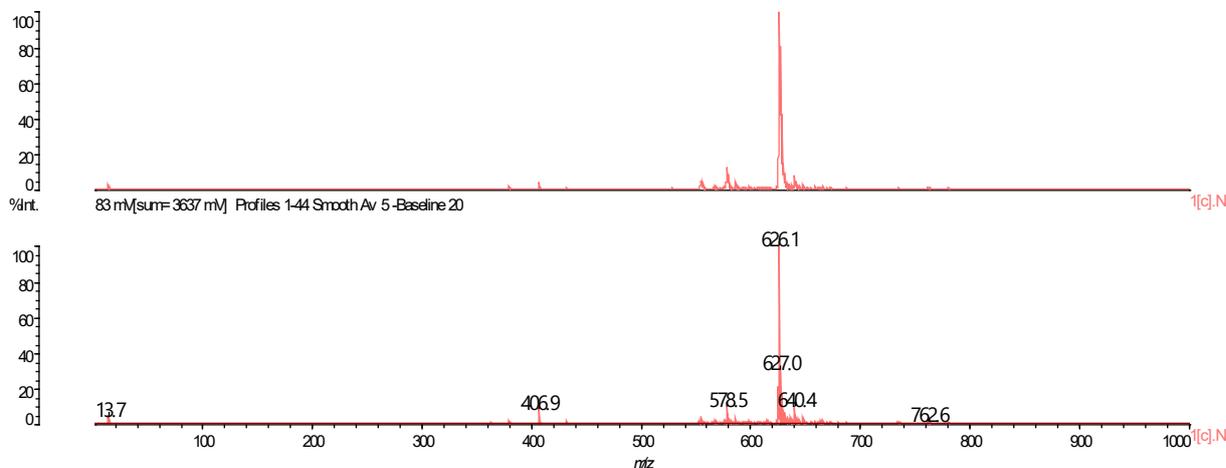


Рис. 4. Масс-спектр 17-карбокси-13,15-диметилового эфира хлорина  $e_6$

В качестве побочного продукта образуется также монометиловый эфир хлорина  $e_6$  ( $M = 612$ ), вымываемый с колонки (совместно с остаточными количествами целевого продукта) смесью хлороформ – метанол (1:1 об.), что видно по данным масс-спектрометрии (рис. 5).



ISUCTMALDI TOF MS

Matrix: DHB

Data: 4-DHB-0001.P16[c] 18 Aug 2023 16:25 Cal: tof 15 Oct 2014 13:33

Shimadzu Biotech Axima Confidence 2.9.3.20110624: Mode Reflectron, Power: 95, Blanked, P.Ext. @800 (bin 58)

%Int. 23 mV Profile 32

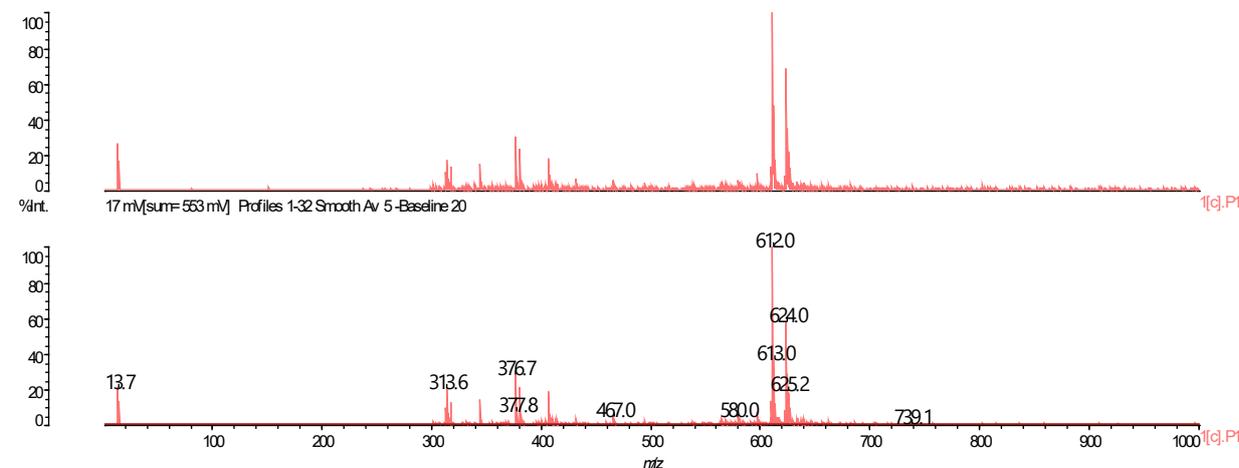
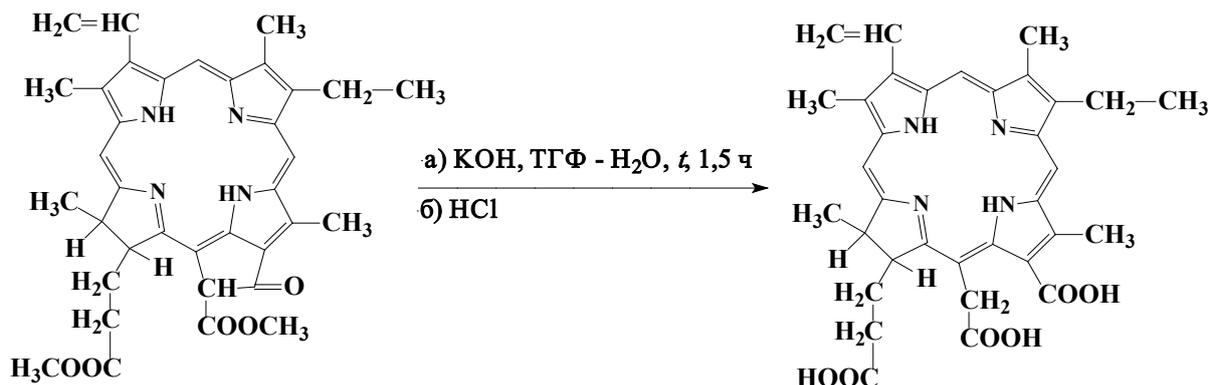


Рис. 5. Масс-спектр побочной фракции при синтезе 17-карбокситриэтилэфира хлорина  $e_6$

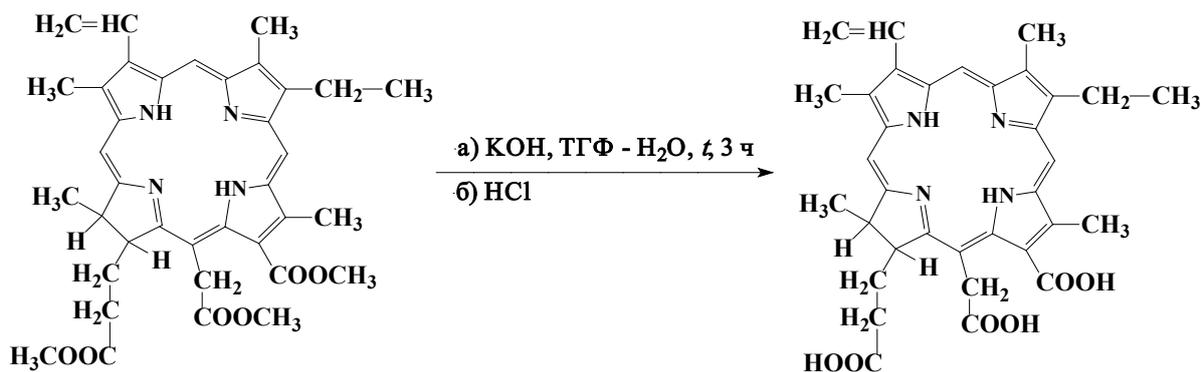
#### 4. Синтез хлорина $e_6$ из метилфеофорбида $a$ .



Метилфеофорбид  $a$  (121,6 мг, 0,2 ммоль) был растворён в 10 мл тетрагидрофурана, гидроксид калия (3,36 г, 60 ммоль) – в 10 мл воды. Раствор щёлочи был добавлен к раствору макроциклического соединения. Реакционная смесь была подвергнута кипячению с обратным холодильником в течение 1,5 ч, по остывании разбавлена водой и нейтрализована разбавленной соляной кислотой (5 мл  $\text{HCl}_{\text{конц.}}$  в 50 мл воды). Выпавший осадок был отфильтрован и высушен при комнатной температуре. Была проведена колоночная хроматография полученного продукта на силикагеле с использованием смесей «хлороформ – метанол» в качестве элюента. Хлорин  $e_6$  элюируется с колонки в широком диапазоне концентраций метанола в хлороформе, но основное его количество вымывается смесью хлороформ – метанол 1:1 об. (при меньших концентрациях метанола вымываются преимущественно побочные продукты). Даже после проведения колоночной хроматографии хлорин  $e_6$  всё же содержит некоторое количество примесей; выход такого «сырого» хлорина  $e_6$  составил 29,9 мг (25%).



5. Синтез хлорина  $e_6$  из 13,15,17-триметилового эфира хлорина  $e_6$ .



13,15,17-Триметиловый эфир хлорина  $e_6$  (192,0 мг, 0,3 ммоль) был растворён в 15 мл тетрагидрофурана, гидроксид калия (5,04 г, 90 ммоль) – в 15 мл воды. Раствор щёлочи был добавлен к раствору макроциклического соединения. Реакционная смесь была подвергнута кипячению с обратным холодильником в течение 3 ч, по остывании разбавлена водой и нейтрализована разбавленной соляной кислотой (7,5 мл HCl<sub>конц.</sub> в 75 мл воды). Выпавший осадок был отфильтрован и высушен при комнатной температуре. Была проведена колоночная хроматография полученного продукта на силикагеле с использованием смесей «хлороформ – метанол» в качестве элюента. Основное количество хлорина  $e_6$  было элюировано с колонки смесью хлороформ – метанол 1:1 об.; выход «сырого» хлорина составил 19,0 мг (10,6%).

### Результаты и их обсуждение

Методика гидролиза сложноэфирной группы в положении 17 (в системе ацетон – соляная кислота 10:2 об., 24 ч перемешивания при комнатной температуре) первоначально использовалась для синтеза 17-монокарбоксыпроизводных 13-амидов 15-монометиловых эфиров хлорина  $e_6$  из соответствующих 13-амидов 15,17-диметиловых эфиров хлорина  $e_6$  [28]. Также известен модифицированный вариант этой методики – соотношение ацетон – соляная кислота 3:2 об., время перемешивания – 3 ч (при комнатной температуре) [29]. Оба варианта дают в качестве основного продукта именно 17-монокарбоксыпроизводные, не затрагивая 15-сложноэфирную группу и экзоцикл (в случае форбинов), что видно по данным <sup>1</sup>H-ЯМР. Однако увеличение времени проведения модифицированного варианта методики до 4 ч приводит к частичному раскрытию экзоцикла в молекуле метилфеофорбида *a* несмотря на то, что основным продуктом реакции всё же остаётся феофорбид *a*. Сам феофорбид *a* в схожих условиях (ацетон – соляная кислота 1:1 об., 5 ч перемешивания при комнатной температуре) также образует хлориновые производные в следовых количествах, однако, вопреки теоретическим ожиданиям, метилфеофорбид *a* вступает в реакцию по этому направлению несколько легче (хотя является более электрононасыщенным соединением по сравнению с собственно феофорбидом и содержит больше сложноэфирных групп).



Принципиальная возможность раскрытия форбинового экзоцикла даже таким слабым нуклеофилом, как вода, наводит на мысль о большей эффективности процесса при использовании более сильных нуклеофилов. Поэтому нами была предпринята попытка проведения раскрытия экзоцикла в молекуле метилфеофорбида *a* при помощи раствора щёлочи – гидроксида калия – в метаноле. При этом допускалась и возможность одновременного гидролиза сложноэфирных групп. Однако сам метилфеофорбид *a* в метаноле растворим очень плохо, поэтому в реакционную смесь для повышения растворимости был добавлен инертный по отношению к щелочам органический растворитель – тетрагидрофуран (ТГФ). При переходе метилфеофорбида *a* в раствор реакционная смесь приобретала ярко-зелёную окраску, что свидетельствовало о раскрытии экзоцикла. ТСХ продукта, выделенного экстракцией, демонстрировала в качестве основного продукта неполярную фракцию ярко-зелёного цвета,двигающуюся с фронтом растворителя уже при минимальных концентрациях метанола (0,5-1% об.) в смесях его с хлороформом, использовавшихся в качестве элюента. В случае даже монокарбокисильных производных полярность продукта должна была бы быть более высокой, что косвенно свидетельствовало в пользу образования триметилового эфира хлорина  $e_6$ . Впоследствии образование триметилового эфира хлорина  $e_6$  было подтверждено данными масс-спектрометрии и  $^1\text{H}$ -ЯМР. В спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР продукта в  $\text{CDCl}_3$  исчезает сигнал протона форбинового экзоцикла при 6,28 м.д. и появляется сигнал дополнительной метильной группы при 4,28 м.д. Гидролиз же сложноэфирных групп требует более жёстких условий (более значительные избытки щёлочи, наличие воды в растворе, повышенная температура), но осложняется протеканием побочных процессов (в частности, декарбокисилированием образующегося хлорина  $e_6$ ).

Ожидалось, что 13,15,17-триметиловый эфир хлорина  $e_6$  окажется наиболее удобным предшественником свободного хлорина  $e_6$  (в виде трикислоты), поскольку содержит три очень близкие по химической активности сложноэфирные группы, которые должны подвергаться гидролизу в практически одинаковых условиях (в отличие от форбинов, содержащих различные реакционные центры – как минимум, экзоцикл и сложноэфирную группу). Однако на практике оказалось, что при большем времени проведения процесса гидролиза (3 ч по сравнению с 1,5 ч в случае метилфеофорбида *a*) триметиловый эфир хлорина  $e_6$  даёт меньший выход целевого продукта (хлорина  $e_6$ ) и большее количество побочных продуктов по сравнению с метилфеофорбидом *a*, что видно из данных масс-спектрометрии (рис. 6). Кроме того, хлорин  $e_6$  даже после проведения колоночной хроматографии всё же содержит некоторое количество примесей и требует дополнительной очистки.

При использовании избытка  $\text{NaNO}_2$  в смеси преобладает продукт с молекулярной массой, соответствующей изомерным  $\text{NO}_2$ - или  $\text{ONO}$ -производным; при использовании стехиометрического количества нитрита в смеси остаётся значительное количество не вступившего в реакцию исходного амида, содержащего в качестве примеси продукты 20-замещения в макроцикле.

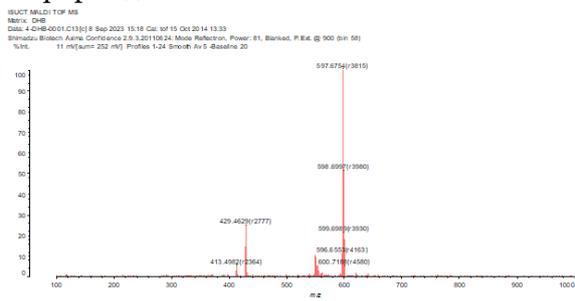
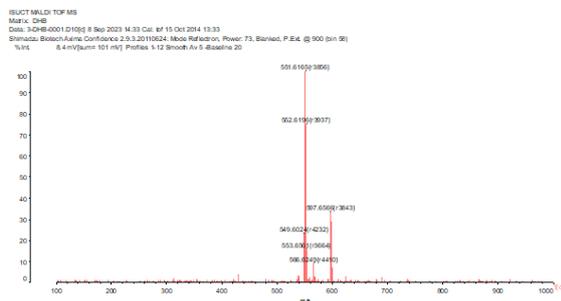
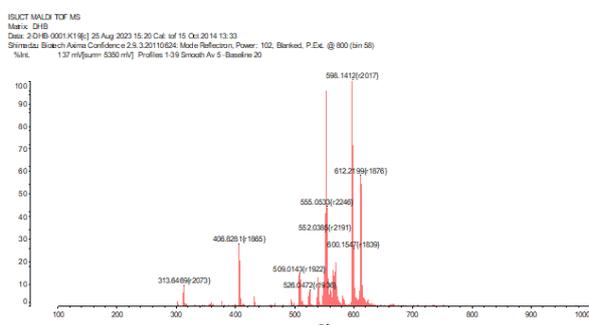
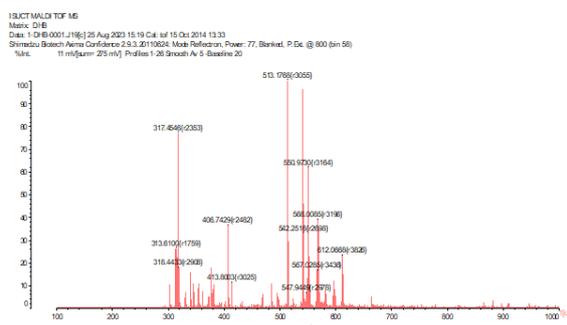
Фракция 1 (CHCl<sub>3</sub> – 20% об. MeOH)Фракция 2 (CHCl<sub>3</sub> – 50% об. MeOH)Метилфеофорбид *a*13,15,17-Триметилловый эфир хлорина *e*<sub>6</sub>

Рис. 6. Масс-спектры основных фракций, полученных в ходе щелочного гидролиза метилфеофорбида *a* и 13,15,17-триметилового эфира хлорина *e*<sub>6</sub> гидроксидом калия в системе «тетрагидрофуран»

Последний вывод следует из данных спектроскопии <sup>1</sup>H-ЯМР: сигналы всех протонов, кроме 20-H, получают расщеплёнными, причём мажорные сигналы соответствуют исходному амиду хлорина *e*<sub>6</sub>. Поскольку продукты 20-замещения не содержат протона в указанном положении макроцикла, то не дают сигнала в спектре <sup>1</sup>H-ЯМР.

## Выводы

Было продемонстрировано, что форбиновый экзоцикл способен раскрываться не только сильными O- и N-нуклеофилами, но и такими относительно слабыми O-нуклеофилами, как спирты и даже вода. Изучены условия образования хлорина *e*<sub>6</sub> и его метиловых эфиров при обработке форбинов гидроксидом калия в различных условиях. Рассмотрены возможные альтернативные методы получения и очистки свободного хлорина *e*<sub>6</sub>.

## Список источников

1. **Миронов А.Ф.** Современное состояние химии фотосенсибилизаторов на основе природных порфиринов, хлоринов и бактериохлоринов // *Успехи химии порфиринов*. 2004. Т. 4. С. 271-289.
2. **Agostinis P., Berg K., Cengel K.A. et al.** Photodynamic therapy of cancer: an update // *CA Cancer J. Clin.* 2011. Vol. 61, no. 4. P. 250-281. DOI: 10.3322/caac.20114.
3. **Cabuy E.** Photodynamic therapy in cancer treatment. RCT summary for professionals // *Reliable cancer therapies. Energy-based therapies*. 2012. Vol. 3, no. 2. P. 1-54.
4. **Цыб А.Ф., Каплан М.А., Романко Ю.С., Попучиев В.В.** Клинические аспекты фотодинамической терапии. Калуга: Изд-во науч. лит-ры, 2009. 204 с.



5. **Van Straten D., Mashayekhi V., De Bruijn H.S., Oliveira S., Robinson D.J.** Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions // *Cancers*. 2017. Vol. 9, no. 19. P. 1-54. DOI: 10.3390/cancers9020019.
6. **Bonnett R.** Chemical aspects of photodynamic therapy. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 2000. 324 p.
7. **Кустов А.В., Березин Д.Б., Стрельников А.И., Лапочкина Н.П.** Противоопухолевая и антимикробная фотодинамическая терапия: механизмы, мишени, клинико-лабораторные исследования: руководство / под науч. ред. проф. А.К. Гагуа. М.: Ларго, 2020. 108 с.
8. **Koifman O.I. et al.** Synthetic strategy of tetrapyrrolic photosensitizers for their practical application in photodynamic therapy // *Macroheterocycles*. 2022. Vol. 15, no. 4. P. 207-304. DOI: 10.6060/mhs224870k.
9. **Березин Д.Б., Каримов Д.Р., Кустов А.В.** Корролы и их производные: синтез, свойства, перспективы практического применения / под ред. О.И. Койфмана. М.: ЛЕНАНД, 2018. 304 с.
10. **Каримов Д.Р., Березин Д.Б., Томилова И.К.** Корролы как ароматические аналоги корриноидов и витамина В<sub>12</sub>: синтез, структурные особенности и свойства макрогетероциклов, перспективы химии материалов на их основе // *От химии к технологии шаг за шагом*. 2020. Т. 1, вып. 1. С. 9-55. DOI: 10.52957/27821900\_2020\_01\_9. URL: <http://chemintech.ru/index.php/tor/2020tom1n1>
11. **Pandey S.K., Sajjad M., Chen Y., Zheng X., Yao R., Missert J.R., Batt C., Nabi H.A., Oseroff A.R., Pandey R.K.** Comparative Positron-Emission Tomography (PET) Imaging and Phototherapeutic Potential of <sup>124</sup>I- Labeled Methyl- 3-(1'-iodobenzyloxyethyl)pyropheophorbide-*a* vs the Corresponding Glucose and Galactose Conjugates // *J. Med. Chem.* 2009. Vol. 52. P. 445-455. DOI: 10.1021/jm8012213.
12. **Zhang M., Zhang Z., Blessington D., Li H., Busch T.M., Madrak V., Miles J., Chance B., Glickson J.D., Zheng G.** Pyropheophorbide 2-Deoxyglucosamide: A New Photosensitizer Targeting Glucose Transporters // *Bioconjugate Chem.* 2003. Vol. 14. P. 709-714. DOI: 10.1021/bc034038n.
13. **Varchi G., Rapozzi V., Ragno D., Castoria G., Di Donato M., Pietra E.D., Benfenati V., Ferroni C., Guerrini A., Cesselli D., Saracino E.** Androgen receptor targeted conjugate for bimodal photodynamic therapy of prostate cancer in vitro // *Bioconjugate Chem.* 2015. Vol. 26, no. 8. P. 1662-1671. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00261.
14. **Tegos G.P., Anbe M., Yang Ch., Demidova T.N., Satti M., Mroz P., Janjua S., Gad F., Hamblin M.R.** Protease-Stable Polycationic Photosensitizer Conjugates between Polyethyleneimine and Chlorin(e6) for Broad-Spectrum Antimicrobial Photoinactivation // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006. Vol. 50, no. 4. P. 1402-1410. DOI: 10.1128/aac.50.4.1402-1410.2006.
15. **Hamblin M.R.** Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes // *Current opinion in Microbiology*. 2016. Vol. 33. P. 67-73. DOI: 10.1016/j.mib.2016.06.008.
16. **Kustov A.V., Morshnev Ph. K., Kukushkina N.V., Smirnova N.L., Berezin D.B., Karimov D.R., Shukhto O.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Mal'shakova M.V., Zorin V.P., Zorina T.E.** Solvation, Cancer Cell Photoinactivation and the Interaction of Chlorin Photosensitizers with a Potential Passive Carrier Non-Ionic Surfactant Tween 80 // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23. P. 5294-5305. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms23105294>
17. **Hunninen P.H.** Chlorophylls. IV. Preparation and purification of some derivatives of chlorophylls *a* and *b* // *Acta Chem. Scand.* 1973. Vol. 27. P. 1771 - 1780.
18. **Белых Д.В.** Формирование связей С-О, С-S, С-N и С-С на периферии макроцикла фитохлоринов при их химической модификации: основные методы и синтетические применения // *Российский химический журнал*. 2017. Т. LXI, № 3. С. 69-109.
19. **Белых Д.В., Копылов Е.А., Груздев И.В., Кучин А.В.** Раскрытие экзоцикла метилфеофорбида а при действии аминов как одностадийный метод внедрения дополнительных фрагментов на периферию хлоринового макроцикла // *Журн. орг. химии*. 2010. Т. 46, № 4. С. 584-592.
20. **Nikolaeva I.A., Misharin A.Yu., Ponomarev G.V., Timofeev V.P., Tkachev Ya. V.** Chlorin e6-cholesterol conjugate and its copper complex. Simple synthesis and entrapping in phospholipid vesicles // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010. Vol. 20. P. 2872-2875. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.03.041.
21. **Gushchina O.I., Larkina E.A., Nikolskaya T.A., Mironov A.F.** Synthesis of amide derivatives of chlorin e<sub>6</sub> and investigation of their biological activity // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*. 2015. Vol. 153. P. 76-81. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2015.09.007.



22. **Hargus J.A., Fronczek F.R., Vicente M.G.H., Smith K.M.** Mono-(L)-aspartylchlorin- $e_6$  // *Photochemistry and Photobiology*. 2007. Vol. 83. P. 1006-1015. DOI: 10.1111/j.1751-1097.2007.00092.x.
23. **Jinadasa R.G.W., Hu X., Vicente M.G.H., Smith K.M.** Syntheses and cellular investigations of 17<sup>3</sup>-, 15<sup>2</sup>-, and 13<sup>1</sup>-amino acid derivatives of chlorin  $e_6$  // *J. Med. Chem.* 2011. Vol. 54. P. 7464-7476. DOI: 10.1021/jm2005139.
24. **Аскарлов К.А., Березин Б.Д., Евстигнеева Р.П. и др.** Порфирины: структура, свойства, синтез. М.: Наука, 1985. 333 с.
25. **Taima H., Okubo A., Yoshioka N., Inoue H.** Synthesis of cationic water-soluble esters of chlorin  $e_6$  // *Tetrahedron Lett.* 2005. Vol. 46. P. 4161–4164. DOI: 10.1016/j.tetlet.2005.04.069.
26. Патент 2490273 РФ. Способ получения метилфеофорбида (А) / **Койфман О.И., Пономарёв Г.В.** Оpubл. 2013.
27. **Макаров В.В.** Синтез и физико-химические характеристики тетрапиррольных макроциклов с полярными группами для антимикробной фотодинамической терапии: дис. ... канд. хим. наук. Иваново, 2023. 229 с.
28. **Тулаева Л.А., Белых Д.В., Яковлева Н.М., Селькова И.А., Рочева А.В., Кучин А.В.** Синтез и исследование производных хлорофилла, содержащих свободную карбоксильную группу // *Химия и химическая технология*. 2006. Т. 49, вып. 4. С. 82-87.
29. **Березин М.Б.** Сольватация хлорофилла и родственных соединений: дис. ... д-ра хим. наук. Иваново: ИХР РАН, 1993. 340 с.

Поступила в редакцию 27.10.2023

Одобрена после рецензирования 15.11.2023

Принята к опубликованию 21.11.2023