

## НЕКОТОРЫЕ МЕЗО-ТЕТРА-N-ЗАМЕЩЕННЫЕ КАТИОННЫЕ ПИРИДИЛПОРФИРИНЫ И ИХ БИОАКТИВНОСТЬ

В.Н.Мадакян, Р.К.Казарян, Н.В.Саакян, В.И.Музыка,  
Н.Г.Нонезян, Т.Д.Карапетян, А.С.Степанян, Л.А.Саакян

*/Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци,  
кафедра фарм. химии/  
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова:* тетра-N-замещенные пиридилпорфирины, металлокомплексы, проницаемость, гематоэнцефалический барьер, мембраны, эритроциты

Ряд вопросов, связанных с синтезом, выделением, а также изучением некоторых физико-химических свойств и биологической активности порфиринов и их металлокомплексов, неизменно привлекает к себе внимание исследователей [1]. Учитывая то обстоятельство, что порфирины входят в состав физиологически активных природных соединений, целесообразным является изучение их влияния на разнообразные ткани и органы животных и человека [2–4].

Необходимым условием, позволяющим проводить многоплановые фармакологические и биохимические исследования порфиринов и металлопорфиринов, является растворимость их в воде. В этом аспекте несомненный интерес для сравнительной оценки представляют N-кватернизованные мезо-тетра(3- и 4-пиридил)порфирины.

### Материал и методы

Металлопорфирины 2–10 получены по известной методике [6,7]. Синтезированные соединения 1–11 охарактеризованы данными элементного анализа, инфракрасной и электронной абсорбционной спектроскопии, которые совпадают с литературными [5–8].

ИК спектры образцов в области 3800–400  $см^{-1}$  сняты на спектрофотометре "Specord M-80" в виде таблеток с KBr, либо суспензии в вазелиновом масле, а электронные спектры поглощения в области 300–800 нм — на приборе "Specord M40". В качестве растворителя использовалась дистиллированная вода. Ход реакции контролировали хроматографированием на пластинках "Sorbfil" в системе хлороформ — метанол (4:1). Для

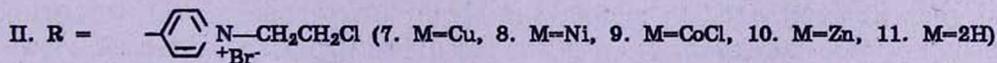
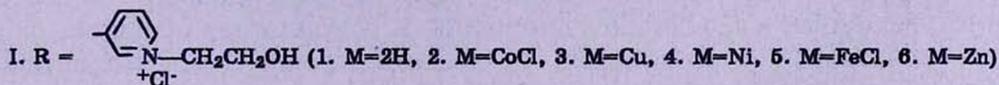
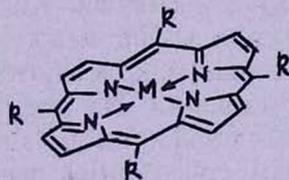
колоночной хроматографии использовался  $Al_2O_3$ , II ст. акт. по Брокману (элюент — дистиллированная вода).

В качестве объектов исследования взяты водорастворимые тетрапиридилпорфирины I (1–6) и II (7–11) групп. Для изучения воздействия синтезированных порфиринов и их металлокомплексов в организме в связи с их проницаемостью через гематоэнцефалический барьер и мембраны эритроцитов в качестве экспериментального материала использовались кролики-самцы одного возраста. Порфирины вводились внутривенно из расчета 1 мг/кг веса животного. Кровь бралась через 15, 30 и 60 мин после введения, и определялось содержание порфиринов в плазме крови и эритроцитах. Через 1 ч после введения порфиринов и сразу после последнего взятия крови животных забивали, выделяли головной мозг. В ткани мозга содержание водорастворимых порфиринов определяли спектрофотометрически в кислом растворе после осаждения белков трихлоруксусной кислотой.

### Результаты и обсуждение

Известный способ получения водорастворимых тетрапиридилпорфиринов заключается во взаимодействии мезо-тетра(3-пиридил)порфина и мезо-тетра(4-пиридил)порфина с соответствующими алкилгалогенидами с последующим хроматографированием на колонке с  $Al_2O_3$  (II ст. акт. по Брокману) в системе хлороформ — метанол [5,8].

Нами предложен модифицированный способ получения водорастворимых мезо-тетра-N-замещенных пиридилпорфиринов. Исходные тетрапиридилпорфирины выделяют из реакционной смеси в сыром виде и обрабатывают при кипячении соответствующими галогенидами (этиленхлоргидрин, 1-хлор-2-бромэтан) в течение 2 ч. Реакционную смесь упаривают досуха и хроматографируют на колонке с  $Al_2O_3$ .



I. *Тетрахлорид мезо-тетра[3-N(β-оксиэтил)пиридил]порфина (I)*. К кипящей пропионовой кислоте (1,5 л) добавляют по каплям 26,8 г (0,4 моля) пиррола и 42,8 г (0,4 моля) 3-пиридинальдегида в течение 10 мин при интенсивном перемешивании. Кипячение продолжают в течение 40 мин. После охлаждения реакционную массу упаривают досуха на ротаторном испарителе, к остатку добавляют 500 г (6,2 моля) этиленхлоргидрина и кипятят в течение 2 ч (хроматографический контроль). Реакционную массу упаривают досуха, растворяют в дистиллированной воде (800 мл) и пропускают через колонку с  $Al_2O_3$ . После упаривания в вакууме получают 19,5 г (24,5%) продукта.

II. *Тетрабромид мезо-тетра[4-N(β-хлорэтил)пиридил]порфина (II)*. 26,8 г (0,4 моля) пиррола и 42,8 г (0,4 моля) 4-пиридинальдегида аналогично вышеописанной методике взаимодействуют с 100 г (0,7 моля) 1-хлор-2-бромэтана в 400 мл свежеперегнанного диметилформамида. Обработкой аналогично I получают 28,6 г (24%) продукта.

Синтезированные соединения исследованы на проницаемость через гематоэнцефалический барьер и мембраны эритроцитов. Обычно у здоровых животных в тканях, эритроцитах и плазме крови содержится незначительное количество эндогенных порфиринов, благодаря отлаженной длительной эволюцией системы регуляции их синтеза, которые не могут мешать определению содержания экзогенных порфиринов в биологическом материале. Все исследуемые соединения I–II в области pH, близкой к нейтральной, меняют окраску. В буферных растворах в этой области они относительно нестабильны (через 24 ч появляется осадок). В кислой и щелочной среде растворы порфиринов (особенно I группы) стабильны в течение нескольких суток. Порфирины I–II уже через 1 ч почти не определяются в плазме крови в свободном виде. Это исчезновение обусловлено переходом порфиринов в другие ткани организма и, вероятно, в каком-то объеме прочным связыванием белками (обычно альбумином и гаптоглобином) плазмы крови. Количественные различия в скорости элиминации из плазмы крови между отдельными исследуемыми соединениями незначительны и колеблются от 0,7 до 1,8 мкг/мл плазмы через 60 мин после их введения. На рис.1 представлена средняя кривая элиминации производных порфиринов из плазмы крови.

Параллельно с определением содержания введенных соединений в плазме крови в течение 1 ч определялось содержание их в эритроцитах. Оказалось, что количество экзогенных порфиринов в эритроцитах постепенно увеличивается. Однако однородность результатов, подобная скорости исчезновения соединений из плазмы крови, здесь отсутствует (табл.1).

Содержание экзогенных порфиринов в эритроцитах через 60 мин после их введения (мкг/мл)

Соединения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Количество	7,1±0,2	3,0±0,2	1,1±0,15	2,4±0,3	2,2±0,2	2,5±0,1	0	0,2±0,08	0,4±0,1	0,6±0,1

Как видно из таблицы, в эритроцитах через 1 ч после введения появляются производные порфиринов I группы. В больших количествах, по сравнению с другими, содержится безметалльный порфирин 1. Соединения II группы плохо проходят через мембрану эритроцитов. Вероятно, такое отличие объясняется наличием в молекулах соединений II группы четырех атомов брома. О скорости проникновения производных порфиринов в эритроциты можно судить из графика (рис.2).

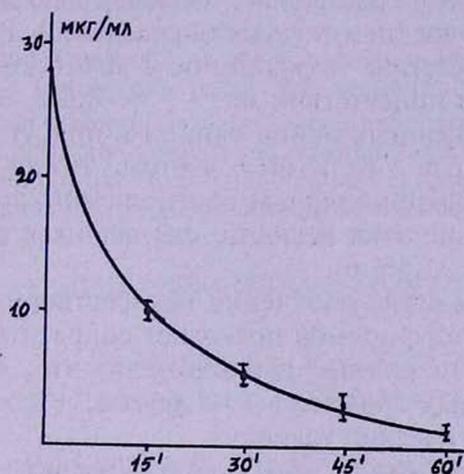


Рис. 1. Содержание в/в введенных порфиринов в плазме крови в течение часа после введения

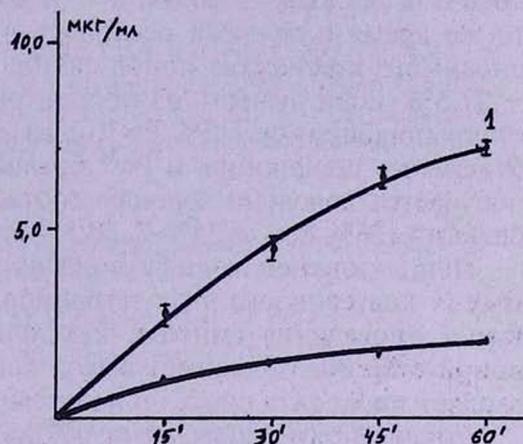


Рис. 2. Содержание в/в введенных порфиринов в эритроцитах в течение часа после введения

Содержание порфиринов определялось в водном экстракте из головного мозга после осаждения белков. При данных условиях в ткани головного мозга обнаруживалось наличие производных порфиринов только I группы. Соединения II группы через гематоэнцефалический барьер не проникают. Из определяемых порфиринов через 60 мин после их внутривенного введения в головном мозге, как и в эритроцитах, обнаруживается больше всего соединение 1 (табл. 2).

Содержание экзогенных порфиринов в ткани головного мозга через 60 мин после их введения (мкг/мл)

Соединения	1	2	3	4	5	6
Количество	7,2±0,3	2,6±0,4	1,2±0,3	1,5±0,4	0,9±0,3	2,5±0,2

Далее, в прямых опытах проводилось исследование свойств производных 1 и 6, обладающих наибольшей способностью проникать в нервную ткань. Для этого гомогенат ткани головного мозга, содержащий определенное количество ионов свинца ( $Pb^{2+} \sim 1 \text{ мМ}$ ), инкубировался в присутствии соединения 1 или 6 или в их отсутствие. Концентрации ионов свинца с порфиринами брались в молярном соотношении 1:1. Инкубация продолжалась 30 мин при 37°C. Смеси депротеинизировались, осадки дважды промывались и в объединенных растворах определялась концентрация  $Pb^{2+}$  и порфиринов. Оказалось, что из растворов с белками связалось и осадилось 1 — 26% и 6 — 30,5%, в среднем из трех определений. В то же время с белками осадилось в отсутствие порфиринов 1 и 6 6,2% вносимого количества ионов свинца, а в присутствии их — 1 — 31,2%, 6 — 37,5%. Если вычесть из процентов связанных ионов свинца в присутствии порфиринов 6,2%  $Pb^{2+}$ , связавшегося с белками с учетом, что добавляемые порфирины и  $Pb^{2+}$  брались в эквимольном соотношении, то получается довольно хорошее соответствие этих веществ, связавшихся с белками (26%  $Pb^{2+}$  и 25% 1, 30,5%  $Pb^{2+}$  и 31,5% 6).

Использование модифицированного метода получения водорастворимых N-кватернизованных тетрапиридилпорфиринов позволяет сократить время проведения синтеза, исключить токсичные растворители, что, с одной стороны, повышает выход конечных продуктов и, с другой, — позволяет проводить синтез в полутехнологических условиях.

Анализ полученных нами результатов показал, что с белками связывается определенное количество исследуемых соединений, причем соединение 6 несколько лучше, чем 1, и что оба соединения необратимо связывают или обменивают центральный атом металла на ионы свинца в эквимольном соотношении.

Результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод о способности тетрахлорида мезо-тетра[3-N( $\beta$ -оксиэтил)пиридил]порфина (1) и его цинкового комплекса (6) проникать через гематоэнцефалический барьер в центральную нервную систему, связывать ионы свинца, что является перспективным для изучения возможности их использования в токсикологической практике.

Поступила 25.02.99

Վ.Ն. Մադակյան, Ռ.Կ. Դազարյան, Ն.Վ. Սահակյան, Վ.Ի.Մուզիկա,  
Ն.Գ.Նոնեզյան, Թ.Դ.Կարապետյան, Ա.Ս.Ստեփանյան, Լ.Ա. Սահակյան

Մեր կողմից առաջարկված է ջրալուծ մեզո-տետրա-N-տեղակալված պիրիդիլ-պորֆիրինների ստացման ձևափոխված եղանակ: Ի տարբերություն ստացման հայտնի եղանակին ելալին պորֆիրինները չեն անջատվում ռեակցիոն միջավայրից, այլ մշակվում են համապատասխան ակլիլհալոգենիդների (տրիենքլորհիդրին, 1-քլոր-2-քրոմեթան) ավելցուկով:

Ռեակցիոն խառնուրդը գոլորշացվում է, մնացորդը լուծվում է թորած ջրում և ենթարկվում աշտարակային քրոմատոգրաֆիայի  $Al_2O_3$ -ի վրա (ըստ Բրոկմանի II աստիճանի ակտիվությամբ):

Ուսումնասիրվել է սինթեզված միացությունների թափանցելիությունը հեմատո-ենցեֆալիկ արգելակի և էրիթրոցիտների թաղանթի միջով:

Բոլոր հետազոտվող պորֆիրինները, արդեն մեկ ժամ անց, ազատ փրճակում չեն հայտնաբերվում արյան պլազմայում և համապատասխամաբար մեծանում է դրանց պարունակությունը էրիթրոցիտներում և այլ հյուսվածքներում:

Քլորեթիլ ածանցյալները չեն թափանցում հեմատոենցեֆալիկ արգելակով, ի տարբերություն օքսիէթիլ ածանցյալների:

Ստացված տվյալների արդյունքների հիման վրա կարելի է եզրակացնել, որ մեզո-տետրա[(3-N-β-օքսիէթիլ)պիրիդիլ]պորֆինը և նրա ցինկի կոմպլեքսը հեմատո-ենցեֆալիկ արգելակով անցնում են կենտրոնական նյարդային համակարգ և կապում կապարի իոնները, որն էլ հնարավոր է դարձնում նշված միացությունների կիրառումը թունաբանական պրակտիկայում:

#### SOME MEZO-TETRA-N-SUBSTITUTED CATIONIC PYRIDILPORPHYRINS AND THEIR BIOACTIVITY

V.N.Madakyany, R.K.Kazaryan, N.V.Sahakyan, V.I.Mouzika,  
N.G.Nonezyan, T.D.Karapetyan, A.S.Stepanyan, L.A.Sahakyan

We suggested a modified method of preparation of water-soluble mezo-tetra-N-substituted pyridilporphyrins.

In contrast to the common way of obtaining the initial porphyrins are not enduced from the reaction mixture but they are influenced by the surplus of corresponding alkylhalogenids (ethylen-chlorhydrin ethylene chlorobromide).

The synthetized compounds are investigated for penetrability via the hematoencephalic bar and membranes erythrocytes. In an hour they are not found in the blood plazma in a free state and the content of mezo-tetra-N-oxyethyl substituted porphyrins correspondingly increase. Chlorethyl derivatives do not penetrate via hematoencephalic bar. The same regularity is observed at the investigation of the brain tissue. The analysis of the obtained data allows to conclude that due to ability of tetrachloride mezo-tetra[(3-N-β-oxyethyl)pyridile]porphin and its Zn complex to penetrate via hematoencephalic bar into the central nervous system, they connect lead ions, which gives opportunity to use them in toxicological practice.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Аскаргов К.А., Березин Б.Д., Евстигнеева Р.П. и др.* Порфирины: структура, свойства, синтез. М., 1985.
2. *Музыка В.И.* Тез. I симпозиума по физиологии и патологии обмена порфиринов и гема. Таллин, 1974, с.38.
3. *Музыка В.И.* Тез. II симпозиума по физиологии и патологии обмена порфиринов и гема. Таллин, 1979, с.95
4. *Кахн Х.А., Музыка В.И.* Тез. симпозиума: Медико-биологические аспекты изучения и применения порфиринов. Таллин, 1989, с.3.
5. *Мадакян В.Н., Казарян Р.К., Куртикян Т.С. и др.* Арм. хим. ж., 1985, 38, 6, с.391.
6. *Мадакян В.Н., Казарян Р.К., Степанян А.С. и др.* Арм. хим. ж., 1985, 38, 6, с.386.
7. *Мадакян В.Н., Казарян Р.К., Манукян Ш.М. и др.* Арм. хим. ж., 1989, 42, 11, с.724.
8. *Kobayashi N., Fujihiza M., Osa T., Kuwana T.* Bull. Chem. Soc. Jap., 1980, 53, 8, p.2195.