

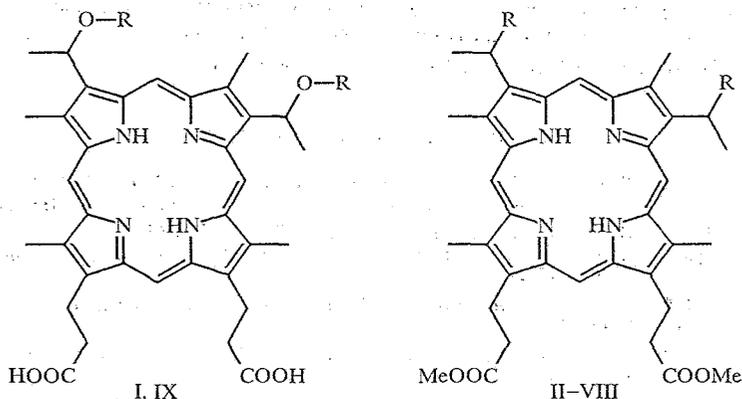
Т. А. Бабушкина, Г. В. Кириллова, Г. В. Пономарев

ПОРФИРИНЫ

33*. СПЕКТРЫ ПРОТОННОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА
ПРОИЗВОДНЫХ ГЕМАТОПОРФИРИНА. СВОЙСТВА
ДИМЕТОКСИПРОИЗВОДНОГО (ДИМЕГИНА) В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Исследованы спектры ПМР производных гематопорфирина-IX в органических и водных растворах. Показано, что наличие двух хиральных центров в положениях 2 и 4 макроцикла проявляется в специфическом расщеплении сигналов мезо-протонов. Изучено строение димерных ассоциатов 2,4-ди(α-метоксиэтил)дейтеропорфирина-IX (димегина) в водных растворах в широком диапазоне pH, которые, по данным ПМР, имеют строение «сдвинутого сэндвича».

Развитие разработанного ранее метода [2] замещения группы OH в гематопорфирине-IX (I) привело к синтезу соединений II—VIII, в которых заместители в положениях 2 и 4 имели вместо оксигруппы другие N-, S- и O-содержащие радикалы. Среди синтезированных соединений некоторые обладали заметным радиопротекторным действием [3], а водорастворимая динатриевая соль одного из них — 2,4-ди(α-метоксиэтил)дейтеропорфирина-IX (IX), названная нами димегином, была успешно применена для фотодеструкции сосудов глаза в офтальмологии [4].



I R = H; II R = OMe; III R = OAc; IV R = NMe₂; V R = N(Me)CH₂Ph; VI R = NEt₂;
VII R = Im (имидазол-1); VIII R = SC(S)NBu₂; IX R = Me

Целью настоящей работы явилось изучение спектров ПМР полученных соединений и, особенно, их поведение в водных растворах, поскольку фотофизические характеристики и проявление физиологической активности порфиринов связано с их состоянием в биологических средах. Спектры ПМР таких производных гематопорфирина-IX в виде диметилвых эфиров приведены в таблицах 1 и 2.

Известно, что гематопорфирин-IX может иметь 4 изомера, отличающихся стереоизомерией оксиэтильных заместителей в положениях 2 и 4 (RR, SS, RS, SR). Для тетраметилового эфира гематопорфирина II в разбавленных и кислых растворах (табл. 1), а также аминопроизводных IV—VII (табл. 2),

* Сообщение 32 см. [1].

Параметры спектров ПМР тетраметилового эфира гематопорфирина-IX (II)

Химические сдвиги, δ , м. д.					
мезо-Н	СН ₃ -кольца ОСН ₃ и СООСН ₃	СН ₂ СН ₂ СО	СН(СН ₃)	СН(СН ₃)	NH
а)					
10,55 (1Н)	3,71 (3Н)	4,42 (4Н)	6,05 кв	2,26 д	-3,70
10,51 (1Н)	3,67 (6Н)	3,30 (4Н)	(2Н)	(6Н)	
10,13 (1Н)	3,66 (3Н)		$J = 6,6$ Гц	2,25 д	
10,08 (1Н)	3,65 (3Н)			(6Н)	
	3,61 (3Н)				
б)					
	3,71 и 3,669				
	3,665 и 3,66				
	3,65 и 3,618				
	3,614				
в)					
11,45	3,875 и 3,865	4,72 м	6,43 м	2,336 д	
11,408	3,728 и 3,714	3,33 т		2,33 д	
11,407	3,65 и 3,642	3,31 т		2,24 д	
11,36	3,638 и 3,623			2,22 д	
11,194	3,613 и 3,60				
11,19	3,58 и 3,542				
11,089	3,538				
11,059					
г)					
11,19	3,91 и 3,74	4,51 т	6,14	2,17	
11,17	3,73 и 3,71	3,17 т	6,12	2,12	
11,13	3,69 и 3,685	3,14 т		2,06	
11,11	3,673 и 3,665			2,05	
10,95	3,669				
10,94					
10,73					
10,72					

Условия съемки спектров:

- а) в CDCl_3 , 2 мг порфирина в 0,4 мл раствора;
 б) в CDCl_3 , 0,4 мг порфирина в 0,4 мл раствора, область сигналов метильных протонов;
 в) в CF_3COOD ;
 г) в $\text{CDCl}_3 + 1\% \text{CF}_3\text{COOD}$.

эта изомерия проявляется в спектрах ПМР в области регистрации мезо-протонов по наличию двух групп сигналов, разделенных иногда интервалом до 1 м. д. и содержащих 4 сигнала и 2 сигнала вдвое большей интенсивности. (В случае порфирина II при съемке на приборах 360 и 400 Мгц в области мезо-протонов отчетливо проявляются 8 сигналов, характеризующие присутствие двух изомеров.) Такой же спектр, но с меньшей разницей химических сдвигов, наблюдается у самого гематопорфирина в подкисленном водном растворе. Подобное спектроскопическое проявление оптически активных изомеров наблюдалось в некоторых производных хлорофилла, также имеющих асимметрические атомы углерода [5]. В кислых растворах происходит уширение сигналов от мезо-протонов.

В кислоте спектр димегина имеет отмеченный выше характерный спектр мезо-протонов (6 линий), два дублета для протонов метильной группы заместителя $\text{СН}(\text{СН}_3)$ (ОСН_3). Более того, один из дублетов, в свою очередь, расщепляется на два (рис. 1 и табл. 3). Сигналы метильных и оксиметильных протонов расположены очень тесной группой и их интенсивность также отвечает наличию двух изомеров.

Очень интересно поведение сигналов ПМР димегина при постепенном повышении рН раствора: сначала уширяется один из сигналов мезо-протонов с удвоенной интенсивностью и сдвигается в сильное поле, затем другой и

Параметры спектров ПМР производных диметилового эфира
 гематопорфирина-IX в растворе CDCl_3

Соединение, R	Химические сдвиги, δ , м. д.					
	мезо-Н	CH_3	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	$\text{CH}(\text{CH}_3)$	R	NH
III OCOCH_3	10,46 (1H)	3,79 (3H),	4,41 (2H)	7,54 (2H)	2,30 (6H)	-
	10,40 (1H)	3,75 (3H),	4,38 (2H)	2,33 (6H)		3,75
	10,10 (1H)	3,67 (6H),	3,29 (2H)			
	10,05 (1H)	3,64 (3H), 3,61 (3H)	3,28 (2H)			
IV $\text{N}(\text{CH}_3)_2$	10,80 (1H)	3,73 (6H),	4,42 (4H)	4,82 уш.	2,66 (6H)	-
	10,79 (1H)	3,66 (6H),	3,29 (2H)	2,15 уш.		3,72
	10,10 (1H)	3,65 (3H),	3,28 (2H)			
	10,05 (1H)	3,64 (3H)				
V $\text{NMe}(\text{CH}_2\text{Ph})$	11,095 (1H)	3,80 (6H),	4,45 (4H)	5,04 (4H)	2,58 (CH_3)	-
	11,06 (3H)	3,75 (6H)	4,43 (4H)	2,22	3,63 (CH_2)	3,67
	10,09 (2H)	3,70 (6H),	3,30 (8H)	(12H)	7,21 (Ph) м	
	10,05 (2H)	3,67 (12H) 3,65 (6H)			7,48 (Ph) м	
VI $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$	11,15 (1H)	3,69 (6H),	4,42 (8H)	5,28 (4H)	3,10 кв	-
	11,14 (1H)	6,7 (12H)	3,30 (4H)	2,10 (6H)	1,21 т	3,72
	11,12 (1H)	3,65 (6H),	3,28 (4H)	2,08 (6H)		
	11,11 (1H)	3,64 (12H)				
	10,07 (2H)					
	10,02 (2H)					
VI дикатион	11,11 (2H) м	3,71 (6H) м,	4,40 (4H)	5,65 (2H)	3,95 кв,	-
	11,02 (1H)	3,63 (6H)	3,17 (4H)	м	1,55 т	
	10,54 (1H)	3,533 (3H), 3,526 (3H)		2,63 (6H)		
VII Imidazolyl-1	10,14 (2H)	3,65 (12H)	4,40 (4H)	6,99 (4H)	8,13 (4H) м	-
	10,09 (2H)	3,64 (6H)	3,29 (4H)	м	7,30 (8H) м	3,70
	9,70 (1H)	3,59 (3H)	4,38 (4H)	2,65 (6H)		
	9,66 (1H)	3,58 (3H)	3,26 (4H)	2,62 (6H)		
	9,64 (1H)	3,48 (6H)				
	9,62 (1H)	3,42 (3H) 3,40 (3H)				
VIII $\text{SC}(\text{S})\text{NBu}_2$	10,51 (1H)	3,84 (3H)	4,41 (4H)	7,24 (2H)	4,04 (3H) т	-
	10,47 (1H)	3,81 (3H)	3,28 (4H)	м	3,71 (3H) т	3,68
	10,09 (1H)	3,67 (6H)		2,53 (6H)	1,71 (4H) м	
	10,05 (1H)	3,65 (3H) 3,63 (3H)			1,35 (4H) м 0,85 (6H) т	
H в ($\text{D}_2\text{O} + \text{DCI}$)	11,21 (1H)	3,75 (12H)	4,56 (4H)	6,71 (2H)		
	11,20 (1H)	3,70 (6H)	3,32 (4H)	2,05 (6H)		
	11,19 (1H)					
	11,18 (1H)					
	10,93 (2H)					
	10,90 (2H)					

далее сдвигаются сигналы одинарной интенсивности. Одновременно уширяются и смещаются в сильное поле высокопольные сигналы метильных протонов (рис. 2). По всей видимости, повышение pH как бы «размораживает» движение объемных заместителей в молекуле димегина, причем для одного из изомеров этот процесс начинается при более низком pH, чем для другого (разница всего 0,1...0,2 м. д.). Динамический характер этого процесса доказывается температурными измерениями — нагрев образца приводит к сужению линий.

Дальнейшее повышение pH раствора приводит к динамическому равновесию целого ряда изомерных форм молекул, связанных между собой в ассоциаты. В спектрах ПМР эти изомеры становятся неразличимыми. Даже при концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ М при $6,6 < \text{pH} < 11$ доля ассоциатов в растворах димегина очень значительна. Четыре линии мезо-протонов расположены в

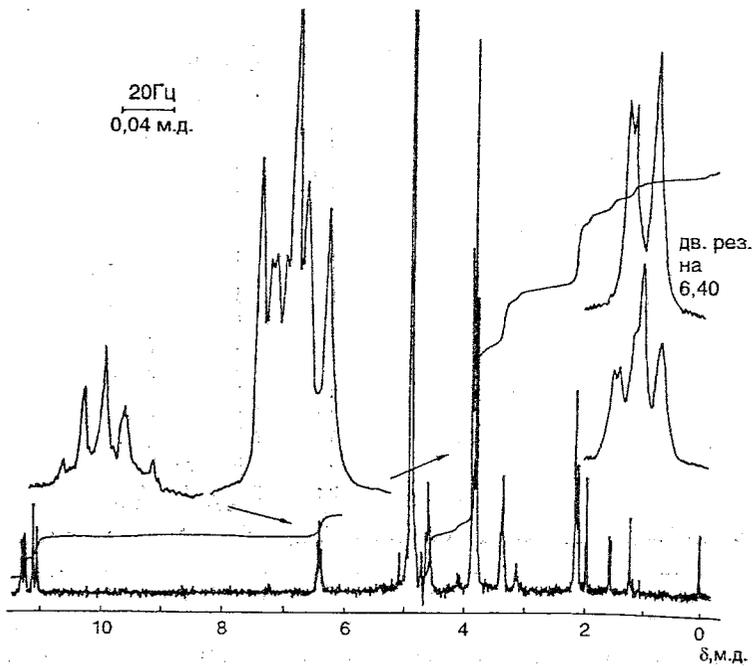


Рис. 1. Спектр ПМР димегина в растворе DCl в D₂O

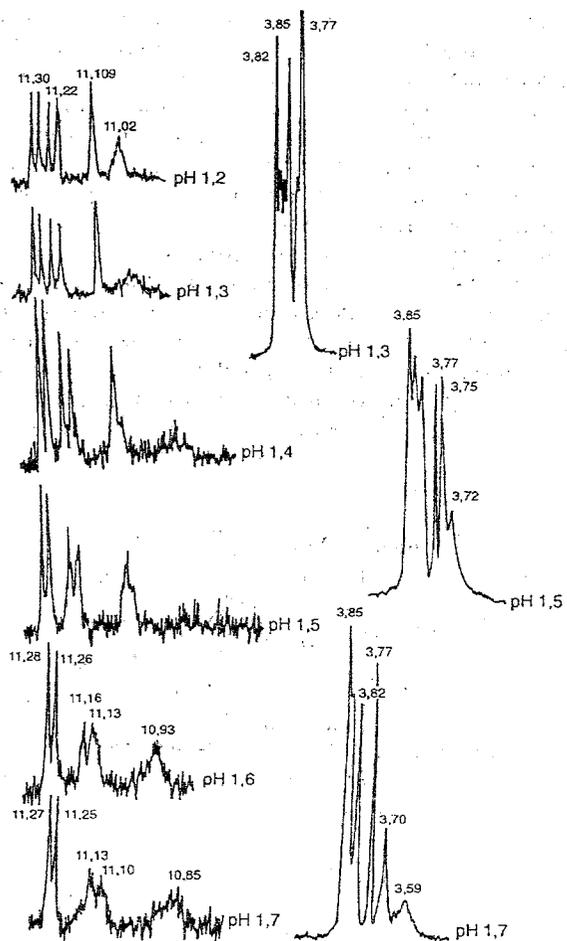


Рис. 2. Вид ПМР сигналов мезо-протонов и метильных протонов димегина в растворе соляной кислоты при $1,2 < \text{pH} < 1,7$

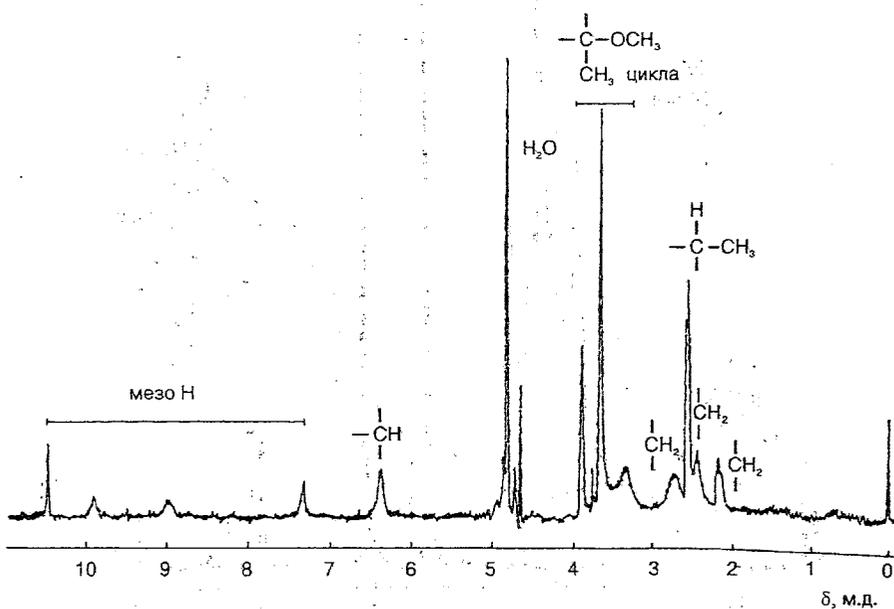


Рис. 3. Спектр ПМР димегина в водном растворе при pH 6,6; $c = 1,25 \times 10^{-3}$ М

области 10,5...7,3 м. д., две из них очень широки (20 Гц) (табл. 3, рис. 3). Резко неэквивалентны остатки пропионовых кислот — сигналы СН групп, присоединенных к порфириновому кольцу, широкие, и обе группы сильно смещены в сторону высокого поля. Положение сигналов протонов группы OCH_3 заместителей в положениях 2 и 8 можно определить только по интегральной интенсивности и тенденции изменения значений их химических сдвигов при подщелачивании кислых растворов. В то же время сигналы метильных групп и протонов $\text{CH}(\text{CH}_3)$ группы имеют обычные химические сдвиги и достаточно узки.

Можно предположить, что самоассоциаты димегина имеют структуру «сдвинутого сэндвича», в которой под экранирующее влияние π -тока молекулы-партнера попадает только часть молекулы порфирина, включающих в себя остатки порфириновых кислот и два мезо-протона.

Вопросы взаимной ориентации порфириновых колец в димерах и металлокомплексах порфиринов приобретают в последнее время особую важность в связи с рассмотрением механизма и скорости реакций

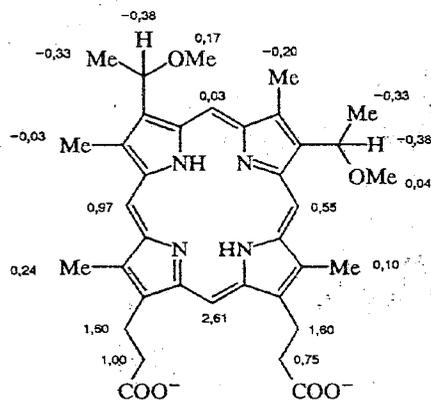


Рис. 4. Изменения химических сдвигов ($\Delta\delta$) протонов димегина под влиянием π -токов в мономерном состоянии (в хлороформе) и в воде при pH 10,2

Значения спектров ПМР димегина IX и гематопорфирина I в различных растворителях

Условия	Химические сдвиги, δ , м. д.				
	мезо-Н	CH ₃ кольца	OCH ₃	CH ₂ CH ₂ CO	CH(CH ₃)
IX дикислота в CDCl ₃	10,04 (1H)	3,58 (3H)	3,696 (3H)	4,41 (4H)	6,04 (2H)
	10,08 (1H)	3,62 (6H)	3,705 (3H)	3,34 (4H)	2,25 (6H)
	10,51 (1H)	3,64 (3H)			
	10,52 (1H)				
IX дикатион дикислоты в CDCl ₃	10,67 (1H)	3,653 (6H)	3,70 (3H)	4,45 (8H)	6,07 (2H)
	10,70 (1H)	3,659 (3H)	3,72 (3H)	3,24 (4H)	2,13 (6H)
	10,89 (2H)	3,665 (6H)	3,882 (3H)	3,195 (4H)	6,045 (2H)
	11,12 (1H)	3,674 (6H)	3,886 (3H)		2,00 (6H)
	11,13 (1H)	3,688 (3H)			
	11,18 (1H)				
IX дикислота в DCl (рН < 1)	11,06 (2H)	3,78 (6H)	3,84 (3H)	4,60 (8H)	6,40 (4H)
	11,12 (2H)	3,81 (6H)	3,85 (3H)	3,36 (8H)	2,15 (6H)
	11,23 (1H)	3,82 (9H)	3,86 (6H)		2,12 (6H)
	11,26 (1H)	3,83 (3H)			
	11,29 (1H)				
IX динатрие- вая соль в D ₂ O, рН 10,2	7,43 (1H)	3,34 (3H)	3,67 (3H)	2,73 (4H)	6,42 (2H)
	9,11 (1H)	3,57 (3H)	3,87 (3H)	2,44 (2H)	2,16 (2H)
	9,96 (1H)	3,64 (3H)		2,58 (6H)	
	10,53 (1H)	3,66 (3H)			
IX динатрие- вая соль в D ₂ O, рН 10,2, 306 К	9,18 (1H)	3,48 (3H)	3,71 (3H)	2,73 (2H)	6,20 (2H)
	9,55 (1H)	3,54 (3H)	3,73 (3H)	2,87 (2H)	2,34 (6H)
	10,16 (1H)	3,59 (3H)		3,18 (2H)	
	10,37 (1H)	3,62 (3H)		3,32 (2H)	
I в D ₂ O + DCl	11,21 (1H)	3,75 (12H)		4,56 (4H)	6,71 (2H)
	11,20 (1H)	3,70 (6H)		3,32 (4H)	2,05 (6H)
	11,19 (1H)				
	11,18 (1H)				
	10,93 (2H)				
10,90 (2H)					

электронного переноса в биологических системах. Расчеты [6] по одноэлектронной модели, в которой переносимый электрон находится в потенциальной сферической яме специфической глубины, показали, что термическая матрица электронного переноса очень чувствительна к взаимной ориентации порфириновых колец. С другой стороны, доступные экспериментальные данные показывают, что геометрия «сдвинутой стопки» является фундаментальным свойством порфирина-порфириновых взаимодействий — она найдена в растворах, твердом теле, в димерах и более сложных ассоциатах [7].

Нами выполнены вычисления кольцевых токов для грубой оценки геометрии димера с использованием изменений химических сдвигов мезо-протонов, протонов пропионовых остатков и протонов кольцевых метильных групп в мономере димегина (раствор в хлороформе) и димере (раствор в щелочном водном растворе при рН 10,2 и концентрации $1,25 \times 10^{-3}$ М). Сдвиги под влиянием π -токов в димере димегина показаны на рис. 4. Расчеты показывают, что центр одного кольца димера димегина сдвинут относительно центра другого кольца димера, $z = 3,8 \text{ \AA}$, $x = 3,6 \text{ \AA}$, $y = 2,5 \text{ \AA}$.

Конечно, нельзя исключить при концентрации 10^{-3} М образование более сложных ассоциатов, чем димеры, поскольку широкие линии свидетельствуют о вариации межмолекулярных взаимодействий в различных изомерах ассоциатов.

При повышении температуры в эксперименте наблюдается сужение и сдвиг сигналов в слабое поле. Так, при $T = 306$ К химические сдвиги сигналов мезо-протонов равны 10,37; 10,16; 9,55; 9,18 м. д. По всей видимости, повышение температуры нейтральных и щелочных растворов димегина приводит к увеличению скорости превращения молекулярных форм друг в друга, т. е. к усреднению химических сдвигов сигналов протонов, а с другой стороны — к разрушению сложных ассоциатов и димеров и, тем самым, к уменьшению взаимного влияния π -токов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Съемку спектров ПМР проводили на приборах фирмы Bruker WM-250, WM-360 и AM-400.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Московкин А. С., Пономарев Г. В. // ХГС. — 1996. — № 1. — С. 43.
2. А. с. 857138 СССР / Г. В. Кириллова, Т. А. Бабушкина, В. Г. Яшунский, Г. В. Пономарев // Б. И. — 1981. — № 31. — С. 115.
3. Новосельцева С. Д., Ярцев Е. И., Кириллова Г. В., Пономарев Г. В. // Радиобиология. — 1979. — Т. 119. — С. 297.
4. Kopaeva V. G., Andree Yu. V., Sukhin G. M., Ronkina T. I., Kishkina V. Ya., Kachalina G. F., Vasin V. L., Ponomarev G. V., Kovtun V. Yu. // Ophthalmosurgery. — 1993. — Vol. 3. — P. 46.
5. Risch N., Kosler B., Schostmann A., Siemans T., Brockmann H. // Liebigs Ann. Chem. — 1988. — N 4. — S. 343.
6. Cave R. J., Siders P., Marcus R. A. // J. Phys. Chem. — 1986. — Vol. 90. — P. 1436.
7. Leighton P., Cowan J. A., Abrsham R. J., Sanders J. M. // J. Org. Chem. — Vol. 53. — P. 733.

Государственный научный центр России —
Институт биофизики, Москва 123182

Поступило в редакцию 13.12.95

Институт биологической и медицинской
химии РАМН, Москва 119832