



УДК 547.979.733'953.2:57.017

**МОДЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ЛИПИД-ПОРФИРИНОВЫХ
АНСАМБЛЕЙ И ЛИПОПОРФИРИНОВ
В БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ**© 1996 г. С. С. Пикуз, Ю. Л. Себякин[#]*Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,
117571, Москва, просп. Вернадского, 86*

Поступила в редакцию 14.03.96 г.

Рассмотрены современное состояние и перспективы использования липид-порфириновых ассоциатов и липопорфиринов для изучения тонких механизмов функционирования сложноорганизованных биологических систем и решения различных задач биохимии и медицины. Суммированы результаты исследований взаимодействия производных порфиринов с природными и искусственными мембранами. Обсуждаются данные о моделировании процессов переноса электронов и транспорта кислорода с помощью липид-порфириновых ансамблей.

Ключевые слова: липид-порфириновые ансамбли, липопорфирины, липосомы, модельные мембраны, перенос электронов, транспорт кислорода.

Порфирины обладают уникальной структурой, благодаря которой занимают особое место среди биологически активных соединений. Образую металлокомплексы, они участвуют в различных окислительно-восстановительных реакциях, процессах переноса кислорода и фотосинтеза [1]. Природные объекты, выполняющие эти функции, представляют собой сложноорганизованные молекулярные системы, поэтому изучение тонких механизмов их действия связано со значительными трудностями. Одним из подходов к их исследованию может служить создание искусственных моделей, которые имитируют отдельные стадии упомянутых биологических процессов. Несмотря на заведомое упрощение, такой подход, с одной стороны, позволяет приблизиться к пониманию природы физиологических явлений, а с другой – приводит к созданию инструментов, используемых в терапевтической практике, а также в различных биохимических и биофизических исследованиях [2, 3].

Как известно, на свойства порфиринов сильное влияние оказывает их окружение. Например, для нормальной работы гем должен находиться в так называемом гидрофобном кармане глобина [4]. В связи с этим в последнее десятилетие особый интерес проявляется к сложным моделям, в состав которых помимо порфиринов входят и другие природные соединения, в частности липиды.

Возможно несколько способов объединения порфиринов с липидами. Наиболее простой – погружение порфириновых производных в липидный бислой модельных мембран, происходящее за счет гидрофобных взаимодействий порфиринового кольца и алифатических цепей высших жирных кислот (ВЖК) липидных молекул [5–10]. При необходимости размещения порфиринов на поверхности мембраны можно использовать нековалентные ионные взаимодействия между заряженными боковыми группами порфирина (например, карбоксилат пропионовой кислоты) с полярными головками молекул фосфатидилхолина [11, 12]. Наконец, возможно непосредственное ковалентное присоединение остатков ВЖК или липидов к молекуле порфирина или его производного. Такие сложные конъюгаты называют липопорфиринами [13–20].

Благодаря своей структуре, амфифильной природе и многофункциональности такие модели обладают рядом необычных свойств. Наличие в липопорфиринах внутренней гидрофобной области позволяет проводить исследования в условиях, близких к физиологическим [13–16, 21], тогда как для большинства других моделей требуются органические апротонные растворители. С помощью липид-порфириновых ансамблей можно специфически ориентировать порфириновые молекулы внутри или на поверхности бислоя [11, 12, 22]. Кроме того, некоторые амфифильные порфирины сами обладают структурообразующими свойствами [4, 22].

[#] Автор для переписки.

*Липид-порфириновые комплексы
и их свойства*

Как известно, в биологических системах порфирины функционируют в большинстве случаев только в составе сложноорганизованных мембранных ансамблей [1]. В этой связи вполне логичными были попытки включить порфириновые молекулы в липидный бислой и исследовать их свойства в составе искусственных супрамолекулярных комплексов.

Одной из наиболее удобных моделей липидной мембраны с включенными в нее порфиринами являются липосомы и везикулы. Супрамолекулярные ансамбли, такие, как мицеллы, липосомы, микроэмульсии, обладают двумя важными свойствами: 1) упорядоченная среда способствует локализации порфиринов в определенных областях системы (на поверхности агрегатов, внутри липидного бислоя или во внутреннем компартменте липосом), что может приводить к изменению их свойств по сравнению со свойствами в гомогенных растворах [19]; 2) возможна специфическая локализация и ориентирование порфиринов в различных частях молекулярного ансамбля, облегчающие протекание направленных процессов. Упорядоченная структура бислоя облегчает также проведение необходимых измерений и интерпретацию полученных результатов [22].

Пример изучения влияния липидного окружения на свойства порфиринов – сравнение поведения гематопорфирина в водной среде и в составе липосом [8, 23]. Порфирины, ассоциированные с липосомами, аккумулируются клетками почти в 2 раза лучше, чем растворенные в воде.

Показано, что взаимодействие гематопорфирина и его производных с липидным бислоем липосомы зависит от типа и состава искусственной мембраны, образования в ней доменов и граничных зон, микровязкости, температуры и ионной силы раствора [24].

Исследован механизм взаимодействия гематопорфирина (GP), протопорфирина (PP) и уропорфирина (UP) с мембранами моноламеллярных везикул, образованных из дипальмитоилфосфатидилхолина, и их локализация в структуре бислоя [5]. В соответствии с полярностью порфиринов (UP > GP > PP) протопорфирин локализовался преимущественно в наиболее гидрофобной части липидного матрикса, гематопорфирин распределялся по гидрофильной области, а уропорфирин находился во внутрелипосомном пространстве.

Сродство порфиринов к плазматической мембране сильно зависит от того, в каком виде они доставляются к клетке. Так, клеточная мембрана имеет высокое сродство к гематопорфирину, находящемуся как в водорастворенной, так и в липосомной форме, но связывание значительно повышается в присутствии фосфолипидного носи-

теля. Это может быть обусловлено тем, что в липидном бислое порфирины находятся в виде мономеров, а в водной среде, особенно при высоких концентрациях, образуют агрегаты [5].

Физические параметры мембраны влияют на связывание производных гематопорфирина в липосоме [9], причем электрические свойства мембраны практически не оказывают действия на распределение порфиринов в мембране, тогда как ее упорядоченность и микровязкость являются основными параметрами, определяющими положение производных гематопорфирина в фосфолипидном бислое. В работе [8] были проведены обширные исследования взаимодействия порфиринов с модельной мембраной из яичного лецитина и сделаны обобщающие выводы:

1) положительно заряженные формы порфиринов проявляют низкое сродство к липосомам;

2) нейтральные порфирины имеют высокое сродство к модельным мембранам, а наибольшую активность проявляют асимметрические порфирины, имеющие гидрофобный и гидрофильный фрагменты молекулы по разные стороны плоскости кольца;

3) различия в аффинности к липидному бислою для различных протонированных форм объясняют зависимость степени включения порфиринов в липосомы от pH среды;

4) для исследования порфиринов, включенных в модельные липидные системы, могут быть использованы обычно применяемые спектральные методы.

Обнаруженные закономерности позволили сформулировать требования к моделям для изучения процессов, протекающих с участием порфиринов. Так, на основе двухкомпонентных липосом, состоящих из смеси диолеилфосфатидилхолина и диолеилфосфатидовой кислоты (I) (9 : 1) была разработана система, способная преобразовывать и передавать световую энергию, а также принимать участие в транспорте электронов через поверхность мембраны [12, 25, 26]. Облучение голубым светом возбуждало молекулы мезотетракис(*n*-триметиламинофенил)порфирина (II), связанные на поверхности липосомы за счет ионных взаимодействий с диолеилфосфатидовой кислотой (I). Затем происходил перенос энергии вдоль плоскости мембраны к бис(3-триметиламинопропил)тиодикарбодиазину (III), также взаимодействующему с кислотой (I). Это инициировало перенос электронов от цианина к трифенилбензилборату, функционирующему как донор электронов внутри липидного бислоя.

Для изучения и моделирования систем, преобразующих световую энергию, были предложены более сложные многокомпонентные липосомные системы с участием липидов, способных к полимеризации [11]. Как известно, в природных системах

ориентацию кофакторов в пространстве определяют апоферменты, интегрированные в липидную мембрану. При определенном взаимном расположении окислительно-восстановительных центров в пространстве образуются комплексы, способные преобразовывать фотохимическую энергию. В модельных мембранах в отсутствие белков кофакторы, связанные с липидами, могут свободно мигрировать по поверхности липидного бислоя. Использование двухкомпонентных мембран с одним полимеризующимся компонентом, бис(8-сорбиноилоксиоктаноил)глицерофосфохолином (IV), содержащим в качестве полимеризуемых групп остатки сорбиновой кислоты, позволило зафиксировать кофакторы (II), (III) и получить активные системы, преобразующие энергию аналогично природным (схема 1) [11].

Известно, что порфирины, их производные и комплексы с другими биологически активными соединениями успешно используются в диагностике и терапии раковых заболеваний [27–31]. Селективно накапливаясь в некоторых типах опухолевых тканей, порфирины действуют как фотосенсибилизаторы, превращаясь под действием света в активные радикалы либо переводя кислород в синглетное состояние, что и приводит в дальнейшем к разрушению клетки.

Согласно одной из гипотез, причиной селективной локализации порфиринов в малигнизированных тканях является повышенное сродство порфи-

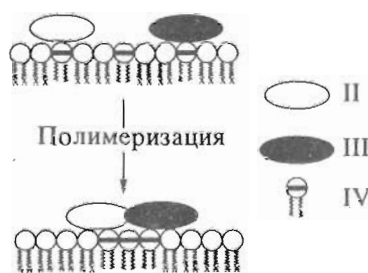
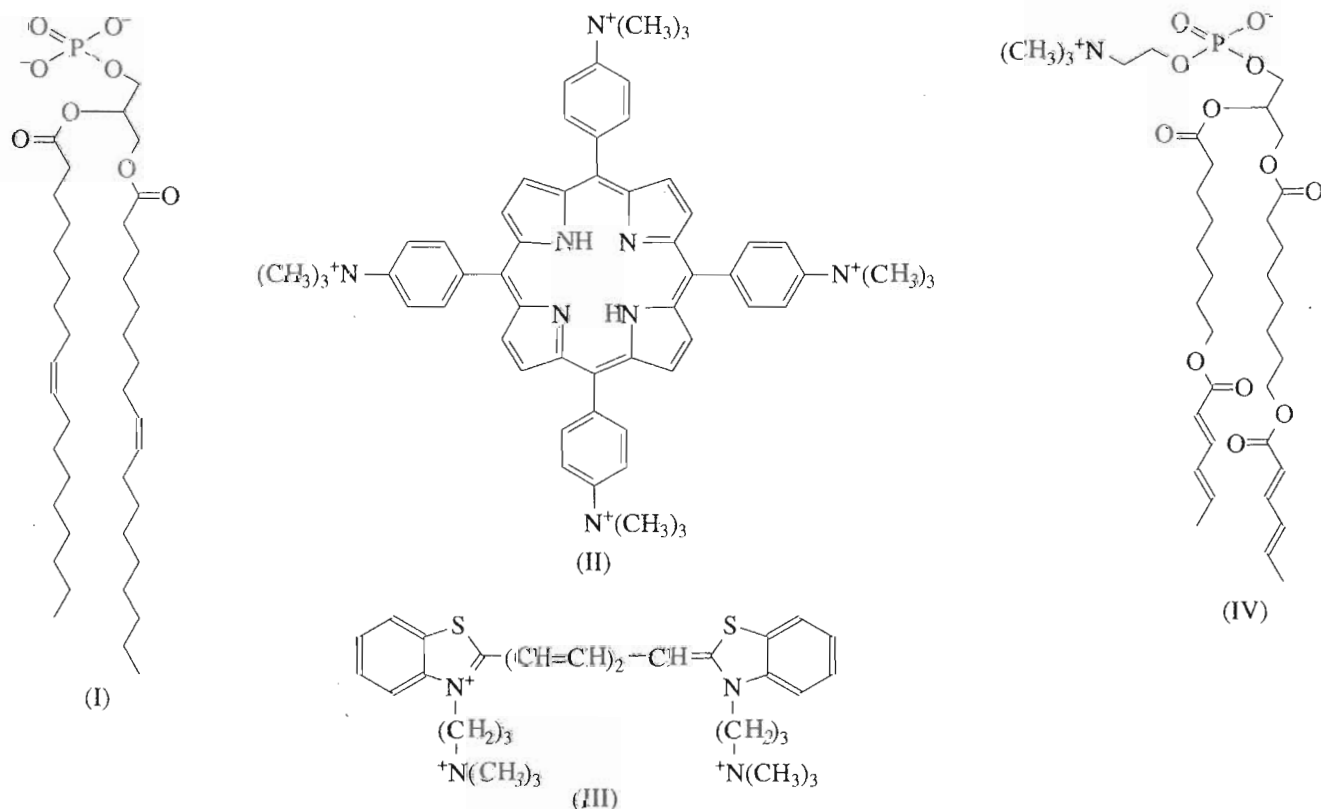
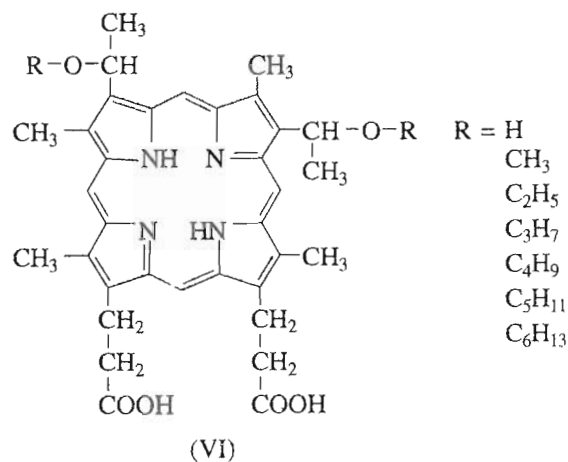
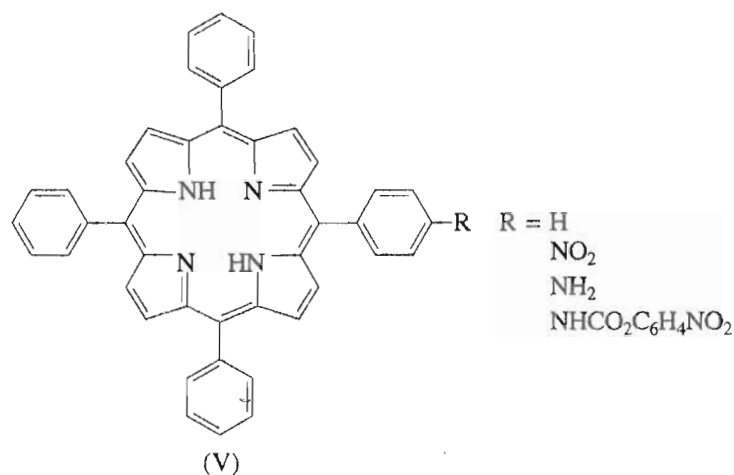


Схема 1.

ринов к липидному составу и липопротеиновому окружению опухолевых клеток [8]. Данная гипотеза нашла свое подтверждение в ряде работ по использованию в качестве фотосенсибилизаторов арил- (V) и алкилпроизводных (VI) гематопорфирина [32–35]. Увеличение гидрофобности молекулы, по всей вероятности, способствует облегчению встраивания ее в цитоплазматическую мембрану раковых клеток и более эффективному воздействию на рост опухоли после соответствующего облучения. Для группы соединений (VI) фотосенсибилизирующая активность увеличивалась с ростом длины алифатической цепи.

Позднее было выяснено, что порфириновые производные лучше аккумулируются опухолевыми клетками, если находятся в фосфолипидной оболочке [5–7, 36]. Более того, при введении препарата в липосомной форме улучшается селективность





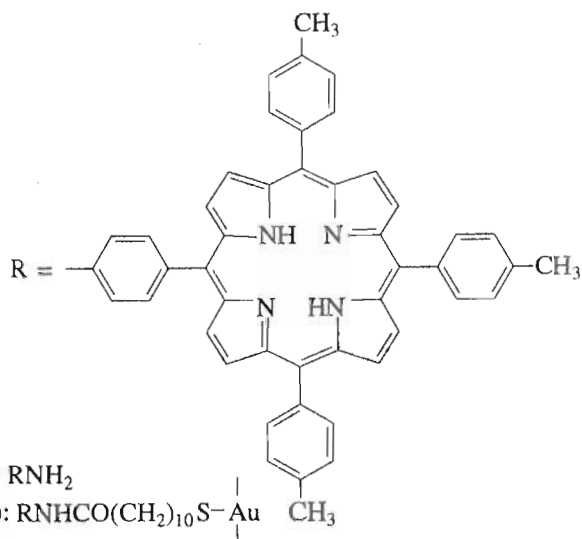
его действия по отношению к опухолевым тканям по сравнению с нормальными тканями [7]. Таким образом, эффективность фотодинамической терапии рака повышается при использовании фотосенсибилизаторов, включенных в везикулы. Эти данные хорошо согласуются с приведенными ранее фактами о влиянии липидного окружения порфиринов на их свойства. Взаимодействие липосомной формы препарата с опухолевой клеткой, вероятно, происходит за счет эндоцитоза или слияния искусственной и природной мембран.

Моделирование процессов переноса электронов

Направленные биологические процессы, протекающие с переносом электронов, играют большую роль в природе [1]. Для их моделирования используются системы, содержащие доноры и акцепторы электронов и позволяющие имитировать процесс разделения зарядов [12]. Разработанные модельные системы помимо участия в изучении фундаментальных биологических процессов могут найти практическое применение в качестве новых источников энергии [2].

К настоящему времени проведены многочисленные исследования природных и искусственных систем, участвующих в транспорте электронов, позволившие оценить зависимость скорости переноса электронов от расстояния между донором и акцептором, их взаимной ориентации, свободной энергии реакции и т.д. [37]. Однако в большинстве случаев сложно учесть влияние конкретного фактора на протекание процесса. Использование синтетических мембранных моделей, в которых ключевую роль играют производные порфиринов, может быть очень полезным при исследовании влияния расстояния и ориентации активных центров в таких системах. Одним из примеров решения этой проблемы служит модель на основе монослоев, образуемых производным порфирина, содержащим в своей структуре боковую алифатическую цепь [38].

Использованию монослойных порфириновых моделей препятствует сложность получения монофункциональных порфиринов. Некоторые порфирины, такие, как протопорфирин IX и мезопорфирин II, имеют более одной нуклеофильной или электрофильной функциональной группы. Общий выход при синтезе тетрафенилпорфиринов из пиррола и ароматических альдегидов по методу Роземунда не очень высок [4, 39,40]. Если же подобным образом получать монофункциональные тетрафенилпорфирины, используя смесь исходных альдегидов, то после отделения побочно образующихся ди-, три- и тетрафункциональных производных и очистки целевого продукта его выход будет еще ниже [41]. Так, получение в качестве исходного соединения 5,15-дифенил-10-иодпорфирина – очень трудоемкий и многостадийный процесс [42, 43]. Примером удачного решения этой проблемы является синтез порфириновых производных алкантиолов (VIII) и исследование их свойств в составе монослоев на поверхности золота [38]. В качестве исходного соединения авторы использовали монозамещенный тетраарилпорфирин (VII).



Монослой, образуемый соединением (VIII), стабилен и имеет направленную ориентацию, похожую на ориентацию липидов в плоских бислоиных мембранах и пленках Ленгмюра–Блоджетта. Изучение подобных моделей необходимо для исследования окислительно-восстановительных систем в апротонных органических растворителях. С их помощью могут быть получены важные данные об электрохимических потенциалах, фотофизических свойствах порфиринов и родственных им соединений. Сравнение окислительно-восстановительных реакций порфиринов в растворах и на золотой подложке позволяет судить о процессах переноса электронов в молекулярных ансамблях. Предполагается, что на основе таких монослоев могут быть созданы искусственные фотосинтезирующие системы.

Удобными моделями для изучения процессов передачи электронов являются системы с использованием алкильных производных порфиринов, экспонированных на поверхности раздела липидный бислой–вода [44, 45]. Реакции переноса электронов в такой системе протекают быстро (менее 5 нс) и не лимитируются скоростью диффузии через бислой [46]. На таких моделях с помощью изменения заряда порфирина и ионной силы водного раствора исследовалось влияние электростатических взаимодействий на скорость переноса электронов.

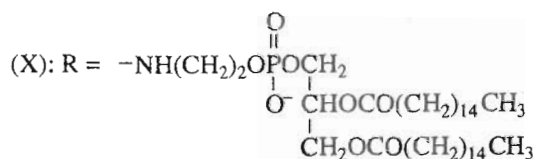
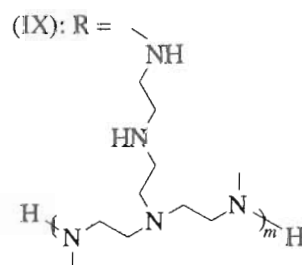
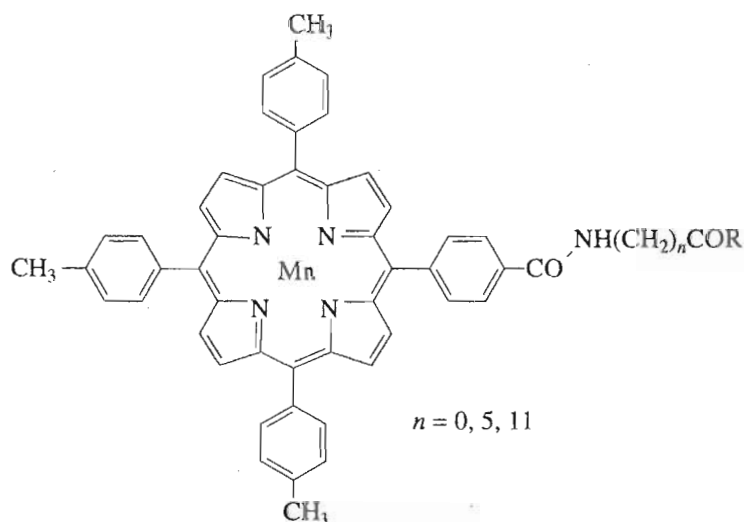
Еще одним вариантом модельных систем, учитывающих ориентацию окислительно-восстановительных центров в пространстве и взаимовлияние компонентов сложноорганизованных мембранных ансамблей, являются производные металлопорфирины, интегрированные в синтетические мембраны [22, 47, 48].

Перенос электронов между изопотенциальными металлокомплексами порфиринов в липидном бислое аналогичен транспорту электронов в реальных биологических системах. Большинство подобных процессов осуществляется между ассоции-

рованными с мембранами окислительно-восстановительными центрами с небольшой разностью потенциалов, что возможно только при очень малых, порядка нескольких ангстрем, расстояниях между ними. Такой механизм является основой селективности реакций с участием одного из близких по строению субстратов, позволяющей минимизировать побочные реакции [49–51].

Ранее в качестве активных компонентов окислительно-восстановительных процессов применялись хлорофилл [52], металлопорфирины [53, 54], цитохромы [55]. В предложенных модельных системах [22] были использованы марганцевые комплексы порфиринов (IX), соединенные алифатическим фрагментом с водорастворимым полимером полиэтиленимином. Порфирин и углеводородная цепь благодаря своей гидрофобности оказывались погруженными в липидный бислой, а гидрофильный полиэтиленимин находился на поверхности мембраны в водной среде. Используя ω-аминокислоты с различной длиной углеводородной цепи ($n = 0, 5, 11$), авторы фиксировали положение присоединенного металлопорфирина в липидном бислое и оценивали расстояние между изоэнергетическими окислительно-восстановительными центрами двух порфириновых молекул, находящихся с разных сторон бислоя. Для определения скорости трансмембранного переноса электронов во внутреннюю гидрофобную область бислоя вводили феррицианид, а затем по появлению полосы поглощения при 605 нм, соответствующей окисленной форме индигосульфокислоты, фиксировали перенос к нему электронов от восстановленной формы индигосульфокислоты [22].

Эксперименты, проведенные на липосомах различного диаметра (30 и 80 нм), доказали, что наблюдаемый эффект электронного транспорта не является следствием специфического взаимодействия с определенным типом мембраны и перенос электронов возможен даже между изопотенциальными центрами, если расстояние между ними составляет менее 4 Å.



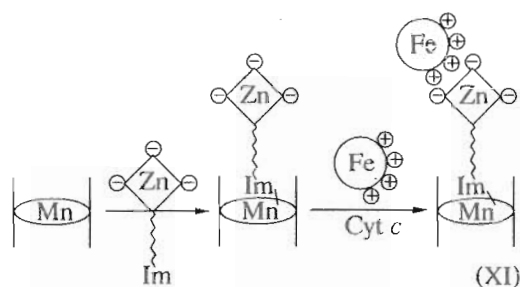


Схема 2.

Несколько позднее подобная, но более эффективная модель была создана на основе марганцевого комплекса тетраарилпорфирина, ковалентно связанного с остатком дипальмитоилфосфатидилэтаноламина (X), включенного в липосомы из DPPC [48]. Присутствие фосфолипидного остатка настолько повышало устойчивость ассоциата, что удалить производное порфирина (X) из липосом с помощью гель-фильтрации не представлялось возможным. По мнению авторов, перенос электронов происходил между марганцевыми комплексами, находящимися с противоположных сторон мембраны, а расстояние между порфиринами в фосфолипидном бислое изменялось в зависимости от длины спейсера. С помощью данной модели было исследовано влияние на процесс переноса электронов расстояния между окислительно-восстановительными центрами и фазового состояния липидного бислоя. Было показано, что транспорт электронов через липосомную мембрану коррелирует с трансформациями липидного бислоя [48].

Недавно была предложена стратегия конструирования мембранных систем, наиболее адекватных природным [47, 56], на основе супрамолекулярного ансамбля, включающего бинарный комплекс металлопорфиринов (схема 2).

мезо-Тетракис(*n*-аминофенил)порфириномарганец, ковалентно связанный с четырьмя остатками стероидных молекул, за счет гидрофобных взаимодействий и стерических эффектов располагается в середине липидного бислоя параллельно его поверхности. Имидазольный лиганд (Im), соединенный через спейсерную группу с цинковым комплексом *мезо*-тетракис(*n*-карбоксифенил)порфирина, координируется центральным ионом марганца, образуя бинарную систему порфиринов. Ионные взаимодействия, возникающие между отрицательно заряженными группами производного порфиринаоцинка и положительно заряженными аминогруппами лизинового остатка цитохрома *c* (Cyt *c*), обуславливают связь белка с поверхностью липосомы [47].

Фосфолипидная мембрана служит опорой для расположения тройного комплекса. Технология сборки, при которой белок закрепляется на внеш-

ней поверхности мембраны предварительно полученной везикулы, позволяет создать упорядоченную структуру (XI), переносящую электроны только в одном направлении [56]. Расстояние между окислительно-восстановительными центрами, а следовательно, и эффективность транспорта электронов через мембрану определяются толщиной липидного монослоя и величиной стероидных остатков. Длина спейсера между порфириновым кольцом и имидазолом влияет на подвижность всего комплекса. Авторы предполагают, что, уменьшив длину алифатических цепей мембранообразующего липида и подобрав соответствующий стероидный остаток, удастся сократить расстояние между активными центрами и увеличить скорость переноса электронов [47].

Подобные системы могут служить гибким экспериментальным инструментом для исследования интегрированных с мембранами ансамблей и биологических процессов переноса электронов.

Моделирование процессов переноса кислорода

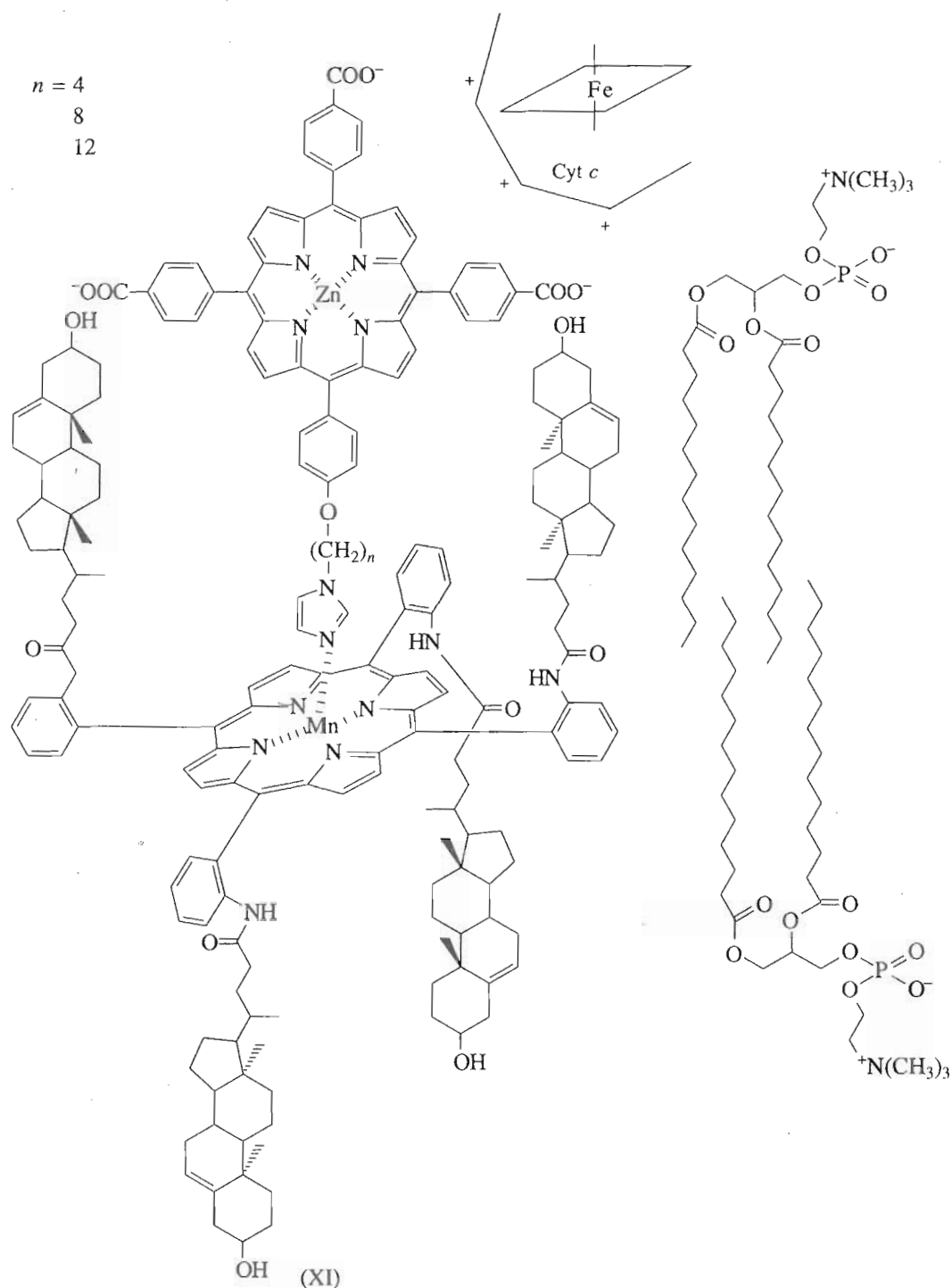
Природные переносчики кислорода, гемоглобин и миоглобин, способны обратимо связывать кислород за счет образования оксигенированного комплекса ферропротопорфирина IX [2]. Стабильность этого комплекса и обратимость связывания кислорода определяются несколькими факторами [4]:

1) имидазол проксимального гистидина является одним из лигандов железа в геме и способствует координации O_2 ;

2) дистальный гистидин стабилизирует диоксигенированный комплекс и одновременно способствует отрыву кислорода при дезоксигенации;

3) группа протогема находится в гидрофобной полости, образованной полипептидной цепью глобина; участок связывания кислорода полностью окружен гидрофобной средой, что позволяет образовываться стабильному кислородному аддукту и препятствует необратимому окислению.

При создании искусственных моделей обратимых переносчиков O_2 необходимо учитывать эти факторы. Предложено несколько подходов с использованием металлопорфиринов, позволяющих моделировать связывание и перенос кислорода [2]. При этом было обнаружено, что диоксигенированные комплексы порфиринов в апротонных растворителях в той или иной степени способны к необратимому связыванию кислорода с образованием μ -оксодимера. Включение производных порфиринов в фосфолипидные везикулы позволяет достигать в физиологических условиях (рН 7.4, 37°C) обратимого связывания O_2 . Однако неравномерная локализация порфириновых молекул в бислое не позволяла получать с использованием



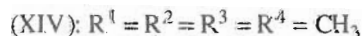
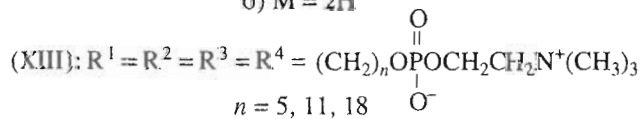
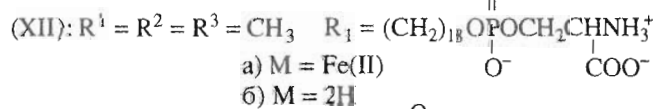
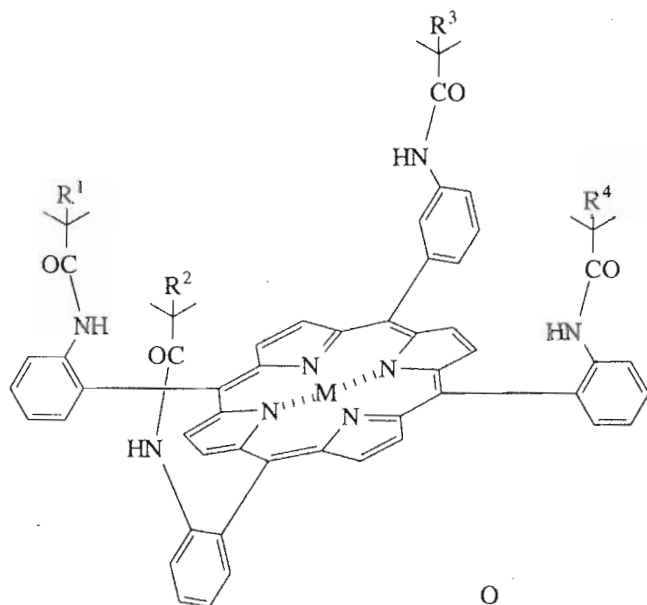
этих моделей достаточно стабильные результаты [57–60].

Для решения этой проблемы был предложен ряд порфириновых производных, содержащих в своей структуре несколько амфифильных или липофильных фрагментов [61]. Липопорфирины подобного строения способны легко встраиваться в бислои фосфолипидных липосом без нарушения их целостности или самостоятельно образовывать организованные агрегаты и эффективно

участвовать в обратимой оксигенации в физиологических условиях.

В данной связи представляет интерес серия работ [62–66], посвященных синтезу и изучению влияния амфифильности порфиринов, включенных в липидный бислой липосом, на кинетические и термодинамические характеристики процесса обратимого связывания кислорода. Амфифильность молекулы порфирина изменялась введением различных по структуре липидных фрагментов и их

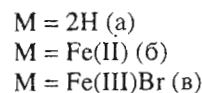
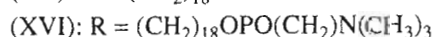
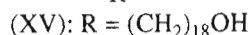
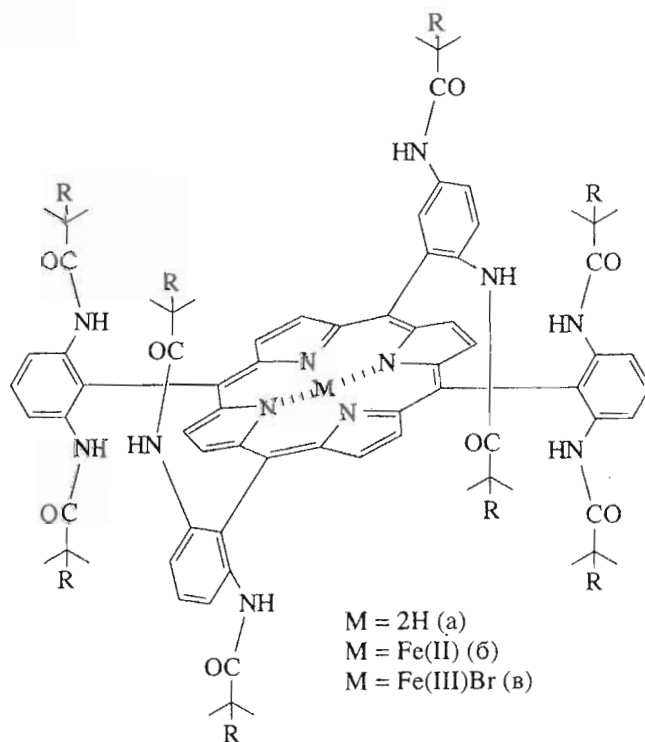
количеством (XII)–(XIV). Было показано, что присутствие одной амфифильной цепи в молекуле порфирина (XII) увеличивает константу скорости оксигенации более чем на порядок по сравнению с этим же показателем для соединения (XIV). Введение четырех алкилфосфохолиновых остатков в соединение (XIII) увеличивало этот параметр почти на четыре порядка. По мнению авторов, амфифильные фрагменты в составе липидных бислоев ориентированы по одну сторону порфиринового кольца [62].



С помощью липосомных систем, содержащих железные комплексы 5,10,15,20-тетракис[α -О-(пиваламидо)фенил]порфирина (XIV) – “гем” – и 5,10,15,20-тетракис[α -О-[2',2'-диметил-20'-(фосфатидилхолин)эйкозанамидо]фенил]порфирина (XIII) – “гем-липид”, – в присутствии избытка 1-додецил-2-метилимидазола были исследованы некоторые физические параметры обратимого связывания кислорода [61]. Как оказалось, сродство к кислороду, квантовый выход фотодиссоциации и константа скорости связывания O_2 системы, содержащей “гем”, сопоставимы с соответствующими характеристиками красных кровяных клеток, а параметры включенного в мембрану “гем-липид” близки по значениям характеристикам гемоглобина и миоглобина. Кислородный аддукт “гем-липид”, включенного в мембрану, очень стабилен: время его существования при физиологических условиях

достигало нескольких суток. Даже после фотоиндуцированной диссоциации через короткий промежуток времени комплекс вновь связывал кислород.

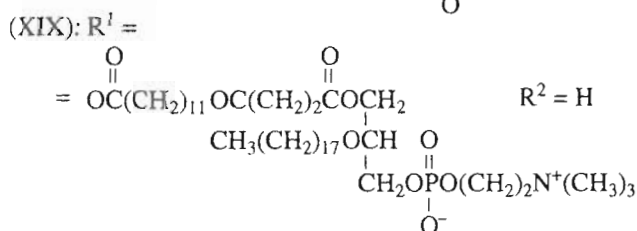
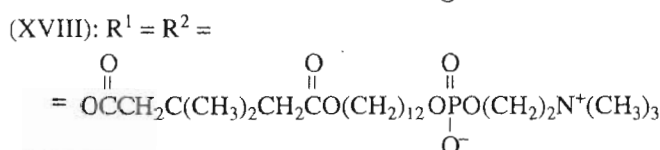
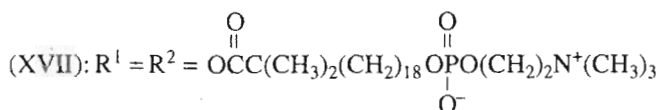
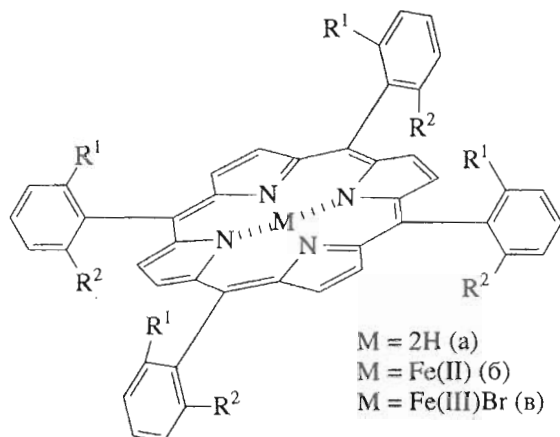
Использование в предложенных моделях [61] избыточного количества имидазольных лигандов обусловлено стремлением избежать бимолекулярного окисления. С другой стороны, эта проблема может быть решена другим путем: введением в структуру порфиринов (XV) и (XVI) восьми остатков алифатических оксикислот, которые в составе липидного бислоя ориентируются симметрично относительно плоскости порфиринового кольца [13]. Такое расположение заместителей позволяет защитить шестое координационное положение атома Fe(II) и препятствует необратимому окислению.



Логическим продолжением приведенной выше серии работ явилась дальнейшая модификация производных порфирина с целью получения соединений, самопроизвольно организующихся в водной среде. Высокоупорядоченные порфириновые агрегаты в последнее время представляют собой предмет пристального внимания. Они получили распространение в качестве моделей для исследования окислительно-восстановительных и фотохимических реакций.

Преимуществами порфириновых ансамблей являются четкая структура, высокая плотность реакционных центров и их упорядоченность. Осуществлен синтез, изучены агрегатное состояние и

способность связывать кислород амфифильных тетрафенилпорфиринов, имеющих по четыре алкилфосфохолиновых группы с каждой стороны порфиринового кольца ("октопус-порфирины" (XVII, XVIII)) [14].



Липопорфирины (XVII), (XVIII) легко растворялись в дистиллированной воде и в 0.1 М концентрации образовывали прозрачный красный раствор, который не менял своей гомогенности в течение нескольких месяцев. Критическая концентрация мицеллообразования октопус-порфирина составляла 1 мкМ. При этой концентрации образовывались агрегаты, легко различимые с помощью электронного микроскопа [67]. Соединение (XVIII) образует мицеллярные волокна шириной около 6 нм и длиной около 5 мкм. Авторы предполагают, что волокна образованы молекулами амфифильных порфириновых производных, ассоциированными "грань к грани".

Агрегатное состояние октопус-порфириновых ансамблей менялось при добавлении алкилимидазола и/или фосфолипида. Под электронным микроскопом наблюдалось образование моноламеллярных везикул диаметром 100 нм. Везикулярный комплекс порфирина с Fe(II) в присутствии 1-додецил-2-метилимидазола обратимо связывал кислород.

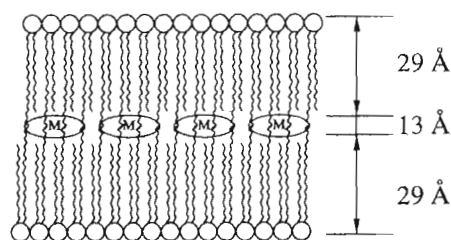
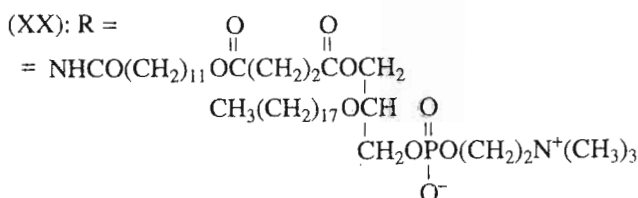
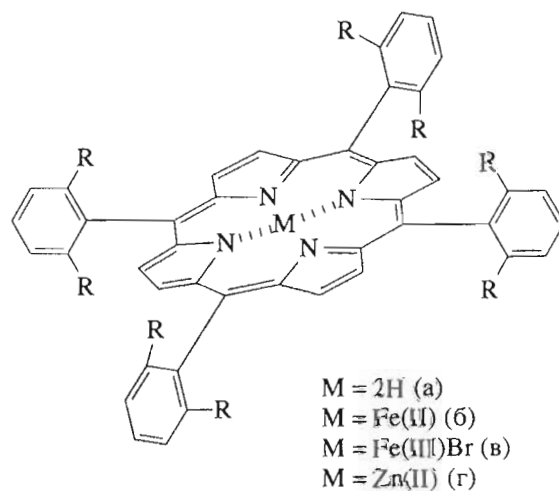


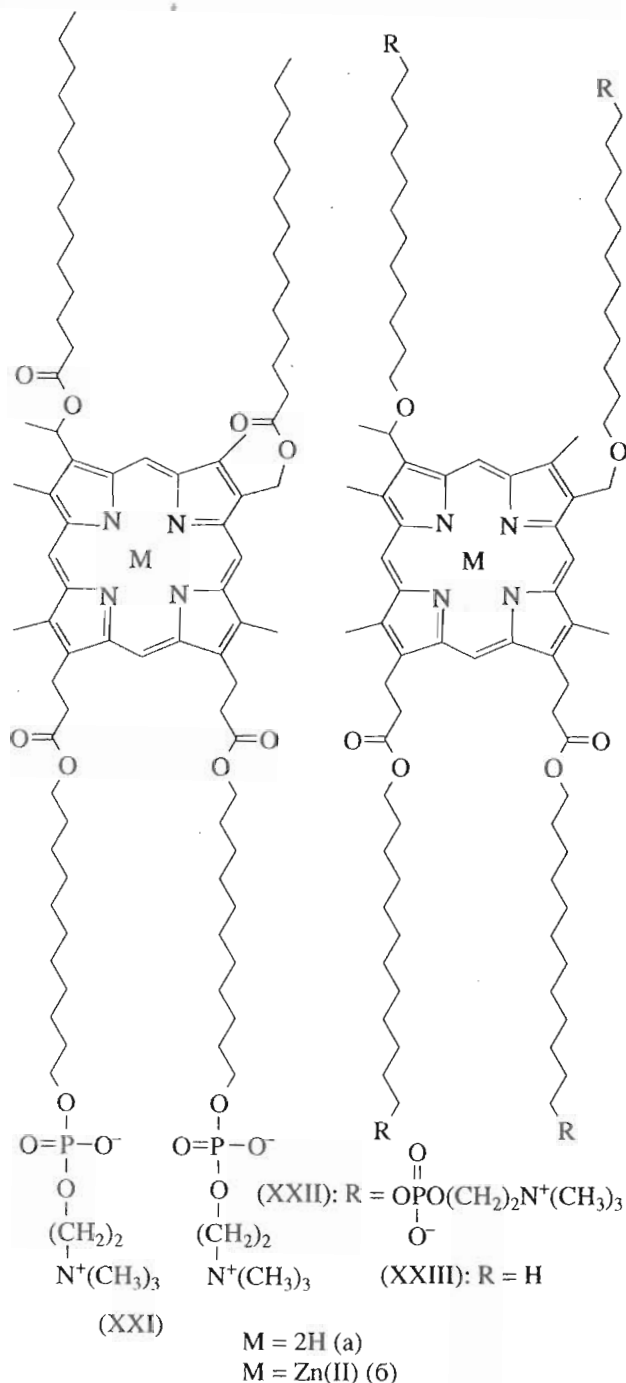
Схема 3.

Липопорфирины (XIX), содержащие четыре фосфолипидных фрагмента, самопроизвольно (без добавления диалкилимидазола) образовывали в водной среде моноламеллярные везикулы диаметром около 100 нм [15]. При этом толщина мембраны была равна 7–8 нм, что соответствует бислойной структуре, так как длина молекулы липопорфирина составляет 3.5 нм.

Октопус-липопорфирины (XX) [16], содержащие восемь фосфолипидных остатков, образовывали в физиологических условиях (водная среда, pH 7.4, 37°C) сферические моноламеллярные везикулы. С помощью криоэлектронной микрографии в центре бислоя наблюдалась белая полоса толщиной около 13 Å (схема 3). Авторы связывают это с более низкой электронной плотностью порфиринового кольца по сравнению с электронной плотностью ориентированных алкильных цепей. Данное обстоятельство является убедительным доказательством высокой организации липопорфиринов (XX) с расположением порфиринового кольца в центре бислоя параллельно плоскости мембраны.



Модельные системы для переноса кислорода были получены также с использованием липопорфиринов, в которых алкил- и алкилфосфолиновые фрагменты были связаны с природным протопорфирином IX (XXI)–(XXIII) [4, 20]. Участок связывания кислорода в структурах, образуемых данными соединениями, имеет полностью гидрофобное окружение, что способствует образованию стабильного кислородного аддукта, не подверженного необратимому окислению.



Авторы считают такие системы наиболее перспективными, так как они достаточно адекватно

имитируют процессы обратимой оксигенации, протекающие в природных условиях [20].

Приведенные в обзоре данные о способности модельных систем, включающих ассоциативные и ковалентно связанные молекулы порфиринов и липидов, эффективно выполнять функции природных комплексов, адекватно имитируя процессы, протекающие в биологических средах, свидетельствуют о большой значимости данного класса производных порфиринов в био- и фотохимии. Липид-порфириновые ансамбли и липопорфирины могут найти практическое применение в фотодинамической терапии злокачественных опухолей.

Значительный интерес представляют не включенные в настоящий обзор данные об использовании липопорфиринов в качестве катализаторов реакций гидроксирования [19, 67] и эпоксицирования [68, 69] органических веществ. Специфическая структура, стабильность и высокая эффективность предполагают создание на их основе катализаторов для субстрато-, регио- и энантио-селективной оксигенации биологически активных веществ [19, 67–69]. Рассмотрение этих вопросов служит предметом последующих обзоров статей авторов.

Авторы выражают признательность академику РИА А.Ф. Миронову за ценные замечания и помощь, оказанную в ходе написания настоящего обзора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1994. С. 467–476.
2. Евстигнеева Р.П. // Порфирины: структура, свойства, синтез / Ред. Н.С. Ениколопан. М.: Наука, 1985. С. 147–169.
3. Gust D., Moore T.A. // Top. Curr. Chem. 1991. V. 159. P. 103–151.
4. Tsuchida E., Komatsu T., Toyano N., Kumamoto S., Nishide H. // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1993. P. 1731–1733.
5. Ricchelli F., Jori G., Moreno G., Vinzens F., Salet C. // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 1990. P. 69–77.
6. Milanese C., Sargato F., Jori G. // Int. J. Radiat. Biol. 1989. V. 55. P. 59–69.
7. Jori G., Reddi E., Cozzani I., Tomio L. // Br. J. Cancer. 1986. V. 53. P. 615–621.
8. Brault D. // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 1990. P. 79–86.
9. Gross E., Malik Z., Ehrenberg B. // J. Membran. Biol. 1987. V. 97. P. 215–221.
10. Bohorquez M., Patterson L.K., Brault D. // Photochem. Photobiol. 1987. V. 46. P. 953–957.

11. Armitage B., Klelotka P.A., Oblinger E., O'Brien D.F. // *J. Am. Chem. Soc.* 1993. V. 115. P. 7920–7921.
12. Clapp P.J., Armitage B., Roosa P., O'Brien D.F. // *J. Am. Chem. Soc.* 1992. V. 114. P. 9166–9173.
13. Tsuchida E., Hasegawa E., Komatsu T. // *Chem. Lett.* 1990. P. 389–392.
14. Komatsu T., Nakao K., Nishide H., Tsuchida E. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1993. P. 728–730.
15. Tsuchida E., Komatsu T., Arai K., Nishide H. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1993. P. 730–732.
16. Tsuchida E., Komatsu T., Arai K., Yamada K., Nishide H., Boettcher C., Fuhrhop J.-H. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1995. P. 1063–1064.
17. Lindsey J.S., Schreiman I.C., Hsu H.C., Kearney P.C., Marguerettaz A.M. // *J. Org. Chem.* 1987. V. 52. P. 827–836.
18. Onaka M., Shinoda T., Izumi Y., Nolen E. // *Chem. Lett.* 1993. P. 117–120.
19. Iida K., Nango M., Okada K., Matsumoto S., Matsura M., Yamashita K., Tsuda K., Kuruno Y., Kimura Y. // *Chem. Lett.* 1994. P. 1304–1310.
20. Komatsu T., Yamada K., Yanagisawa S., Nishide H., Tsuchida E. // *Chem. Lett.* 1994. P. 1953–1956.
21. Ricchelli F., Stevanin D., Jori G. // *Photochem. Photobiol.* 1988. V. 48. P. 13–18.
22. Dannhauser T.J., Nango M., Oku N., Anzoi K., Loach P.A. // *J. Am. Chem. Soc.* 1986. V. 108. P. 5865–5871.
23. Chernyaeva E.B., Vardanyan A.G., Koroteev N.I., Kamalov V.F., Lobanov O.V., Mironov A.F., Rumyanzeva V.D. // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1991. V. 10. P. 239–248.
24. Черняева Е.Б., Степанова Н.В., Литинская Л.Л. // *Итоги науки и техники. Сер. Современные проблемы лазерной физики. Т. 3 / Ред. С.А. Ахманов, Е.Б. Черняева. М.: ВИНТИ, 1990. С. 136–224.*
25. Armitage B., O'Brien D.F. // *J. Am. Chem. Soc.* 1991. V. 113. P. 9678–9679.
26. Armitage B., O'Brien D.F. // *J. Am. Chem. Soc.* 1992. V. 114. P. 7396–7403.
27. Matthews S.E., Pouton C.W., Threadgill M.D. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1995. P. 1809–1811.
28. Berenbaum M.C., Bonnett R., Scourides P.A. // *Br. J. Cancer.* 1982. V. 45. P. 571–581.
29. Furmanski P., Langley C. // *Cancer Res.* 1988. V. 48. P. 4604–4610.
30. Maziere J.C., Santus R., Morliere P., Reyftmann J.-P., Candide C., Mora L., Salmon S., Marriere C., Gait S., Dubertret L. // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1990. P. 61–68.
31. Миронов А.Ф. // *Итоги науки и техники. Сер. Современные проблемы лазерной физики. Т. 3 / Ред. С.А. Ахманов, Е.Б. Черняева. М.: ВИНТИ, 1990. С. 5–64.*
32. Maillard Ph., Guerquin-Kern J.L., Momenteau M., Gaspard S. // *J. Am. Chem. Soc.* 1989. V. 111. P. 9125–9127.
33. Enensen J.F., Sommer S., Remington C., Moan J. // *Br. J. Cancer.* 1987. V. 55. P. 483–485.
34. Maillard Ph., Guerquin-Kern J.L., Huel C., Momenteau M. // *J. Org. Chem.* 1993. V. 58. P. 2774–2780.
35. Ouimi D., Maillard Ph., Guerquin-Kern J.L., Huel C., Momenteau M. // *J. Org. Chem.* 1995. V. 60. P. 1554–1564.
36. Shopova M., Gantchev T. // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1990. P. 49–59.
37. Gust D., Moore T.A. // *Science.* 1989. V. 244. P. 35–41.
38. Akiyama T., Imahori H., Sakata Y. // *Chem. Lett.* 1994. P. 1447–1450.
39. Adler A.D., Longo F.R., Finarelli F.R., Goldmasher J., Assour J., Korsakoff L. // *J. Org. Chem.* 1967. V. 32. P. 476.
40. Gradillas A., Del Campo C., Sinisterra G.V., Llama E.F. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* 1995. V. 20. P. 2611–2613.
41. Lindsey J.S., Brown P.A., Siesel D.A. // *Tetrahedron.* 1989. V. 45. P. 4845–4866.
42. Boyle R.W., Johnson C.K., Dolphin D. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1995. P. 527–528.
43. Kruper W.J., Chamberlin T.A., Kochanny M. // *J. Org. Chem.* 1989. V. 54. P. 2753–2756.
44. Varnardor W.E., Arrieta R.T., Duchek J.R., Hueber J.S. // *J. Membran. Biol.* 1982. V. 65. P. 147–153.
45. Hwang K.C., Mauzerall D., Wagner R.W., Lindsey J.S. // *Photochem. Photobiol.* 1994. V. 59. P. 145–151.
46. Woodle M., Zhang J.M., Mauzerall D. // *Biophys. J.* 1987. V. 52. P. 577–586.
47. Groves J.T., Fate G.D., Lahiri J. // *J. Am. Chem. Soc.* 1994. V. 116. P. 5477–5478.
48. Nango M., Mizusana A., Miyake T., Yoshinaga J. // *J. Am. Chem. Soc.* 1990. V. 112. P. 1640–1642.
49. Heesemann J. // *J. Am. Chem. Soc.* 1984. V. 106. P. 5679–5683.
50. Mooney W.F., Brown P.E., Russell J.S., Costa S.B., Pedersen L.G., Whitten D.G. // *J. Am. Chem. Soc.* 1984. V. 106. P. 5659–5667.
51. Brown P.E., Whitten D.G. // *J. Phys. Chem.* 1985. V. 89. P. 1217–1220.
52. Bolton J.R., Janzen A.F. // *J. Am. Chem. Soc.* 1979. V. 101. P. 6342–6348.
53. Bolton J.R., Janzen A.F., Stillman M.J. // *J. Am. Chem. Soc.* 1979. V. 101. P. 6337–6341.
54. Miller J.R., Calcaterra L.T., Gloss G.L. // *J. Am. Chem. Soc.* 1983. V. 105. P. 670–671.
55. Penner T.L., Mobius D. // *J. Am. Chem. Soc.* 1982. V. 104. P. 7407–7413.
56. Groves J.T., Ungashe S.B. // *J. Am. Chem. Soc.* 1990. V. 112. P. 7796–7797.
57. Momenteau M., Loock B., Teatreau C., Lavalette D., Croisy A., Schaeffer S., Huel C., Lhost J.M. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* 1987. P. 249–257.
58. Wuenschell G.E., Teaveau C., Lavalette D., Reed C.A. // *J. Am. Chem. Soc.* 1992. V. 114. P. 3346–3355.

59. Momenteau M., Looock B., Huel C., Lhost J.M. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. 1988. P. 283-295.
60. Komatsu T., Arai K., Nishide H., Tsuchida E. // Chem. Lett. 1992. P. 799-802.
61. Tsuchida E., Yuasa M., Nishide H. // J. Makromol. Sci., Chem. 1987. V. 24. P. 333-341.
62. Matsushita Y., Hasegawa E., Eshima K., Tsuchida E. // Chem. Lett. 1983. P. 1387-1390.
63. Tsuchida E., Nishide H., Yuasa M., Hasegawa E., Matsushita Y. // J. Chem. Soc. Dalton Trans. 1984. P. 1147-1151.
64. Tsuchida E., Nishide H., Yuasa M., Hasegawa E., Matsushita Y., Eshima K. // J. Chem. Soc. Dalton Trans. 1985. P. 275-278.
65. Hasegawa E., Nishide H., Tsuchida E. // Chem. Lett. 1990. P. 123-126.
66. Tsuchida E., Komatsu T., Kumamoto S., Audo K., Nishide H. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. 1988. P. 283.
67. Baufi S., Legramandi F., Montanari F. // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1991. P. 1285-1287.
68. Groves J.T., Neuman R. // J. Am. Chem. Soc. 1987. V. 109. P. 5045-5047.
69. Groves J.T., Neuman R. // J. Am. Chem. Soc. 1989. V. 111. P. 2900-2909.

Model Systems Based on Lipid-Porphyrin Assemblies and Lipoporphyrins in Biochemical Studies (Review)

S. S. Pikuz and Yu. L. Sebyakin

Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

Abstract—Reviewed are the modern state and prospects of using lipid-porphyrin assemblies and lipoporphyrins to study fine functional mechanisms of complex biological systems and to solve applied problems in biochemistry and medicine. Data on the interaction of porphyrin derivatives with natural and artificial membranes are summarized. Models for electron transfer and oxygen transport via lipid-porphyrin assemblies are discussed.

Key words: lipid-porphyrin assemblies, lipoporphyrins, liposomes, model membranes, electron transfer, oxygen transport.