

СИНТЕЗ И АФФИННОСТЬ НЕСИММЕТРИЧНЫХ ГЕТАРИЛЗАМЕЩЕННЫХ ПОРФИРИНОВ К ГЕЛИКАЗЕ SARS-CoV-2

© 2021 г. С. А. Сырбу^a, А. Н. Киселев^{a,b}, М. А. Лебедев^{a,b}, Ю. А. Губарев^a,
Е. С. Юрина^{a,*}, Н. Ш. Лебедева^a

^a Институт химии растворов имени Г. А. Крестова Российской академии наук,
ул. Академическая 1, Иваново, 153045 Россия

^b Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново, 153000 Россия
*e-mail: yurina_elena77@mail.ru

Поступило в Редакцию 21 апреля 2021 г.

После доработки 21 апреля 2021 г.

Принято к печати 6 мая 2021 г.

Получены новые порфириновые соединения с остатками бензотиазола, бензоксазола и бензимидазола и подтверждена их структура. Проведен молекулярный докинг несимметричных гетарилзамещенных порфиринов и хлорина е6 с геликазой SARS-CoV-2. Аффинность гетарилзамещенных порфиринов по отношению к геликазе существенно выше, чем у препаратов, разрешенных Управлением по санитарно-му надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (США), и хлорина е6. Проанализировано строение комплекса геликазы SARS-CoV-2 с исследуемыми макрогетероциклическими соединениями. Исходя из локализации порфиринов и хлорина е6 в доменах геликазы выдвинуто предположение о возможных способах ингибирования и фотоинактивации геликазы SARS-CoV-2.

Ключевые слова: порфирины, молекулярный докинг, геликаза, вирус SARS-CoV-2, ингибирование, инаktivация

DOI: 10.31857/S0044460X21060093

В настоящее время во всем мире наблюдается вспышка коронавирусной инфекции Covid-19, вызванной патогеном SARS-CoV-2. По состоянию на апрель 2021 г. было инфицировано более 133 млн человек, из которых более 2.9 млн скончались. У пациентов с SARS-CoV-2 наблюдается широкий спектр клинических проявлений от легкой до быстро прогрессирующей тяжелой болезни с летальным исходом. В большинстве случаев Covid-19 вызывает нарушения дыхания, острый респираторный синдром, нарушение деятельности ЦНС [1–3]. Возможны также индивидуальные проявления заболевания. Проникновение вируса SARS-CoV-2 опосредуется взаимодействием S-белка вируса с превращающим ангиотензин ферментом 2 (ACE2). Поскольку фермент ACE2 в высокой

степени локализуется на альвеолярных эпителиальных клетках легких и энтероцитах кишечника, слизистой оболочке носа и полости рта, а также на артериальных и венозных эндотелиальных клетках и гладкомышечных клетках артерий, вирусные частицы обнаруживаются в таких органах, как легкие, кишечник, кожа, селезенка и мозг [4].

Интенсивно ведутся исследования по созданию лекарственных препаратов для борьбы с вирусной инфекцией Covid-19. Однако до создания лекарственного средства проходят годы, что связано как с необходимостью и длительностью доклинических и клинических испытаний, так и со сложностью создания препарата, обладающего вирулицидной активностью. Объективно осложняет создание вирулицидного препарата сама природа

коронавируса, имеющего одноцепочечный геном позитивно-смысловой РНК. Одноцепочечные РНК-вирусы очень лабильны, легко мутируют в фазе репликации и транскрипции [5–8], поэтому препарат с высокой селективностью и аффинностью по отношению к РНК создать практически невозможно. Это относится к вирусам геморрагической лихорадки Эбола, ТОРСа, СПИДа, бешенства, гепатитов С и Е, лихорадки Западного Нила, полиомиелита, с которыми ведется борьба несколько десятилетий. Поэтому геном SARS-CoV-2 практически не рассматривается как мишень в отличие от вирусных белков SARS-CoV-2. Потенциальными мишенями могут быть 4 структурных белка [S-белок, матричный (М) белок и белок оболочки (Е), нуклеокапсидный белок (N)], 16 неструктурных белков (nsp1–nsp16) и несколько дополнительных белков (ORF), из которых самая очевидная мишень – S-белок шиповидного отростка вируса [9–12]. Связывание лекарства с этой мишенью приведет к ингибированию проникновения вируса в клетки и создаст конкуренцию связывания с ACE2. Возможно, эта стратегия не очень продуктивна, так как S-белок подвержен мутациям особенно в рецептор-связывающем мотиве (RBM), отвечающем за распознавание рецептором клеток хозяина ACE2. Согласно литературным данным [13], общее сходство аминокислотных последовательностей между S-белками SARS-CoV-2 и SARS-CoV, выделенными от человека, циветты или летучей мыши, составляет от 76 до 78% для всего белка, от 73 до 76% для рецептор-связывающего домена и от 50 до 53% для RBM. Исходя из этого следует, что рецептор-связывающий мотив – менее консервативная часть S-белка коронавирусов. Поэтому более перспективная мишень – достаточно консервативный вирусный белок геликаза SARS-CoV-2 [14].

Геликаза – неструктурный белок коронавируса, он необходим для его репликации, обеспечивает раскручивание нуклеиновых кислот и разделение двухцепочечных нуклеиновых кислот на одноцепочечные [14]. Две молекулы геликазы наряду с РНК-полимеразой и неструктурными белками nsp7 и nsp8 входят в состав комплекса мини-репликации и транскрипции SARS-CoV-2. Геликаза комплементарно связывается с неструктурными

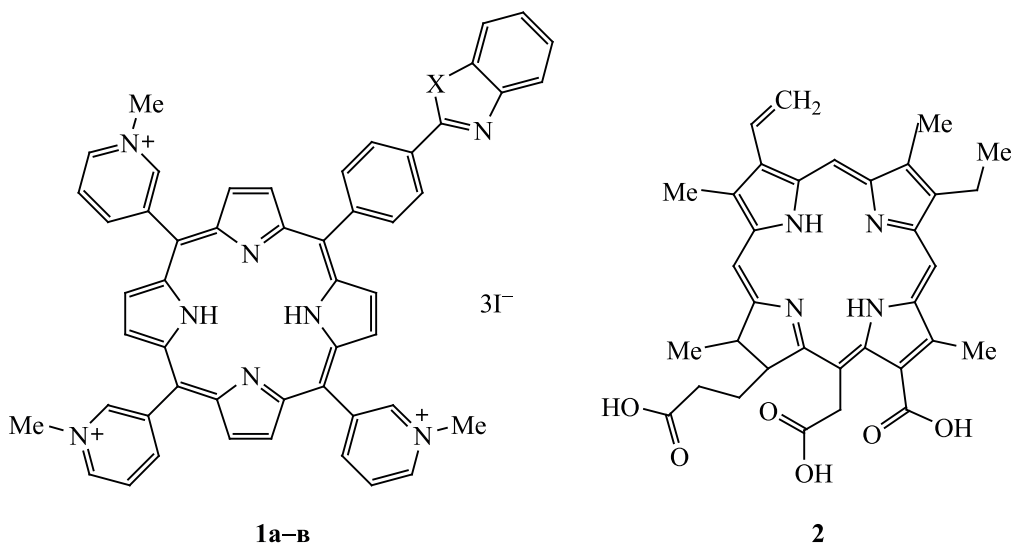
Таблица 1. Аффинность геликазы к потенциальным ингибиторам SARS-CoV-2

Соединение	Аффинность, ккал/моль	Литературная ссылка
Вапреотид	–12.88	[16]
1б	–12.30	Данная работа
Кангрелор	–11.48	[17]
Атазанавир	–11.28	[16]
1а	–11.20	Данная работа
Нистатин	–11.10	[18]
1в	–10.90	Данная работа
Лопинавир	–10.71	[16]
Ивермектин	–10.70	[18]
Эльбасвир	–10.50	[19]
Симепревир	–10.42	[20]
Цефалантин	–10.30	[21]
Ритонавир	–9.39	[16]
Хлорин еб, комплекс А	–9.30	Данная работа
Гразопревир	–9.15	[20]
Хлорин еб, комплекс В	–9.00	Данная работа
Рилпивирин	–8.03	[16]
Фавипиравир	–4.65	[16]

белками [15], и мы полагаем, что образование прочного комплекса с геликазой будет ингибировать действие данного вирусного фермента. Известен ряд соединений, в том числе разрешенных к применению в медицинской практике, способных, согласно данным молекулярного докинга, связываться с геликазой (табл. 1).

Однако эти соединения не вирулицидны. Вирулицидной активностью обладают порфириновые соединения, способные при фотооблучении генерировать синглетный кислород и окислять аминокислотные остатки полипептидной цепи [22–26]. Изменение в первичной структуре белка при фотоокислении может привести к полной потере функциональности данного фермента. В качестве потенциальных сенситизаторов были выбраны несимметричные гетарилзамещенные порфирины **1а–в** – 5-[4-(1,3-бензотиазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридин-3-ил)порфирин трииодид (**1а**, X = S), 5-[4-(1,3-бензоксазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридин-3-ил)порфирин трииодид (**1б**, X = O), 5-[4-(1-метил-1,3-бензоимидазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метил-

Схема 1.



пиридин-3-ил)порфирин трииодид (**1в**, $X = NCH_3$) – и хлорин еб **2** (препарат, используемый в фотодинамической терапии онкозаболеваний) (схема 1).

Выбранные нами несимметрично замещенные порфирины **1a–в** в литературе не описаны. Их синтез осуществляли в соответствии со схемой 2. Соединения **1a–в** охарактеризованы спектрально, их индивидуальность и чистота подтверждена методом ТСХ.

Выбор порфиринов **1a–в** обусловлен следующими причинами: гетарильный фрагмент, с одной стороны, создает условия для Н-связывания с аминокислотными фрагментами, с другой стороны, придает порфириновому соединению клиновидную форму, что также способствует связыванию с белком. Введение в состав периферийных заместителей групп NCH_3 способствует растворимости гетарилзамещенных порфиринов в водных средах, а также первичному связыванию геликазы. Карта электростатического потенциала поверхности, созданная с помощью системы PyMOL, наглядно демонстрирует, что геликаза SARS-CoV-2 – высокоосновный белок (рис. 1). Протяженные области отрицательного потенциала на поверхности белка предопределяют прочное связывание поликатионных соединений (гетарилзамещенных порфиринов). Участки геликазы с положительным зарядом на поверхности могут взаимодействовать с хлорином еб.

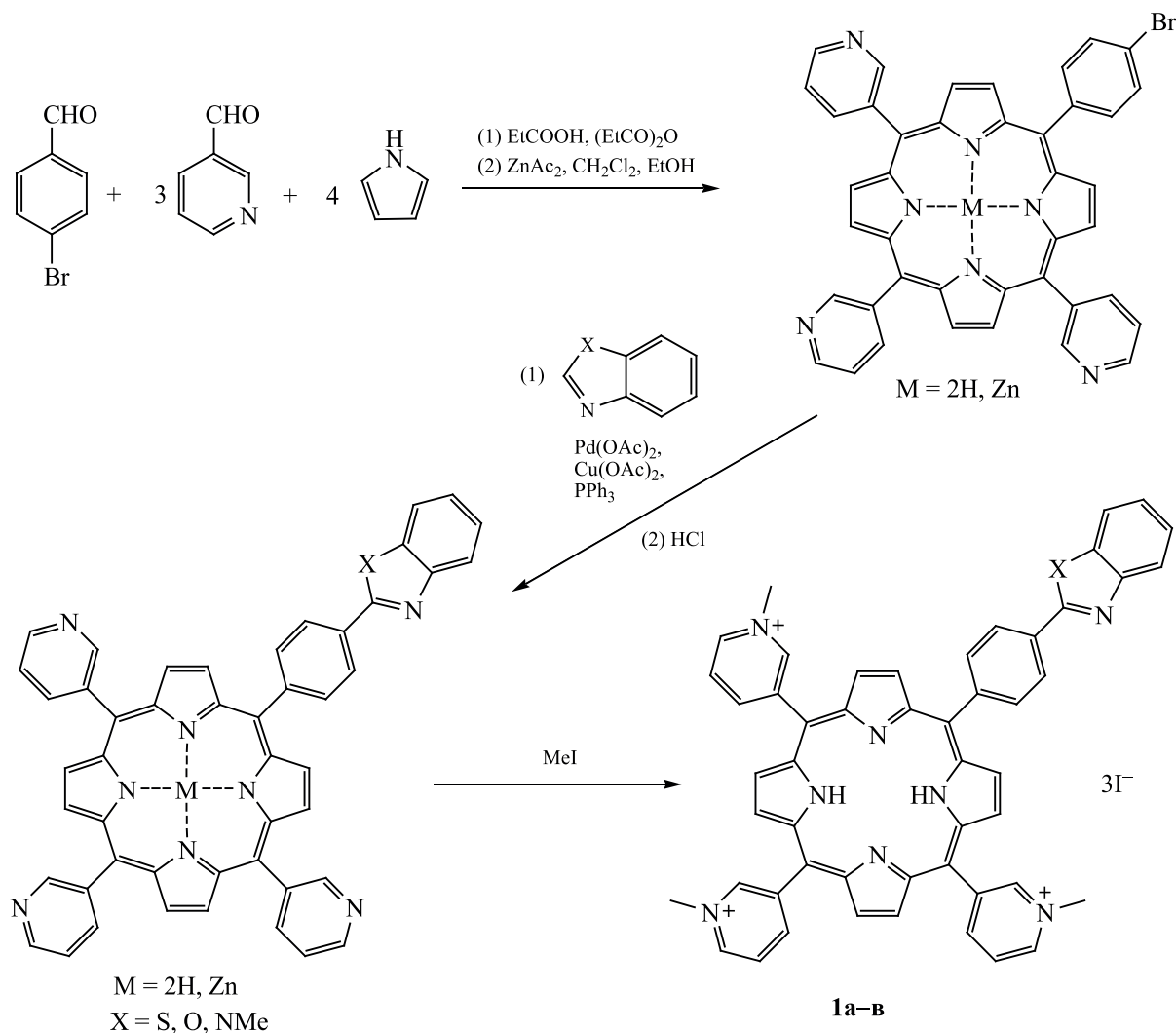
В составе белка геликазы SARS-CoV-2 выделяют домены: N-концевой цинк-связывающий домен ZBD (аминокислотная последовательность 1–99), стержневой домен S (аминокислотная последовательность 100–149), домен 1В (аминокислотная последовательность 151–260), домен 1А (аминокислотная последовательность 261–442) и домен 2А (аминокислотная последовательность 442–596) (рис. 1) [27].

Несимметричные гетарилзамещенные порфирины **1a–в** связываются с геликазой SARS-CoV-2 в одном сайте. В качестве примера на рис. 1 представлены результаты молекулярной стыковки порфирина **1в** с геликазой.

Порфирины **1a–в** вклиниваются между доменами 1А, 2А, 1В. Наиболее энергетически выгодны конформации комплексов порфирина **1в** с остатком бензимидазола, в которых гетарильный фрагмент расположен между доменами 1А и 2А (рис. 1). Для комплексов геликазы с порфиринами **1a, б** с остатками бензотиазола и бензоксазола наиболее выгодна конформация, в которой гетарильный фрагмент расположен в домене 1В геликазы (рис. 2).

Аффинность геликазы по отношению к гетарилзамещенным порфиринам последовательно увеличивается при замене группы NCH_3 на атом серы и кислорода в периферийном заместителе

Схема 2.



$\text{M} = 2\text{H, Zn}; \text{X} = \text{S} \text{ (1a)}, \text{O} \text{ (1b)}, \text{NMe} \text{ (1v)}.$

(табл. 1). При этом е порфирины **1a–v** не образуют специфических π – π , Н-связей с аминокислотными остатками (табл. 2). Вероятно, высокая аффинность геликазы по отношению к порфирину **1b** с остатком бензоксазола обусловлена оптимальным геометрическим, электростатическим соответствием сайта связывания и порфирина.

В научной литературе рассматривались исключительно ингибиторы геликазы, причем всего несколько потенциальных ингибиторов геликазы SARS-CoV-2 имеют энергию связывания, близкую к полученным значениям аффинности для

порфиринов **1a–v** (табл. 1). Энергия связывания остальных соединений более низкая. Таким образом, порфирины **1a–v** могут быть возможными ингибиторами геликазы. Как отмечалось выше, наибольшее перспективны для исследования соединения, способные к полной инактивации фермента. Способность к фотоокислению геликазы порфиринами **1a–v** зависит как от фотоактивности порфирина, так и от наличия подверженных к фотоокислению аминокислотных остатков и их удаленности от порфирина. К таким аминокислотам относятся цистеин, метионин, триптофан, тирозин и гистидин, константы скорости их хими-

Таблица 2. Структурное описание комплексов геликазы с гетарилзамещенными порфиринами **1a–в** и хлорином е6

Соединение	Аминокислотное окружение в радиусе 4 Å	Водородные связи периферийный заместитель порфирина–аминокислотный остаток геликазы (<i>d</i> , Å) ^a
1б	ASN177, ASN 179, GLU201, LYS202, TYR205 , SER310, GLU375, MET378 , PRO408, ASN516, ALA520, GLN531, ASP534, SER535, GLN537, HIS554 , ARG560	Нет
1a	ASN177, ASN179, GLU201, LYS202, ASP204, TYR205 , SER310, ALA312, GLU375, MET378 , PRO408, ASN516, SER517, ALA520, THR530, GLN531, THR532, ASP534, SER535, GLN537, HIS554 , ARG560	Нет
1в	ASN177, LYS202, ASP204, TYR205 , SER310, ALA312, GLU375, MET378 , ASN516, SER517, THR530, GLN531, THR532, ASP534, SER535	Нет
Хлорин е6, комплекс A	ASN177, ASN179, PRO406, PRO408, LEU412, THR413, LYS414, GLY415, THR416, LEY417, PHE422, ASP534, ASN557, ASN559, ARG560	GLY415 (2.7), LEY417 (1.9), ASN557 (3.1), PRO408 ^a (3.8)
Хлорин е6, комплекс B	PRO284, GLY285, THR286, GLY287, LYS288, SER289, HIS290 , ALA312, ALA313, ALA316, GLU319, LYS320, LYS323, ASP374, ARG443, GLY538, GLU540	GLY285 (1.6, 3.3), GLY538 (3.1), THR286 (2.9), GLY287 (2.0), LYS288 (1.7), HIS290 (1.5), SER289 (3.0)

^a Н-Связь с атомом N реакционного центра.

ческой реакции с $^1\text{O}_2$ составляют 8.9×10^6 , 1.6×10^7 , 3.0×10^7 , 8×10^6 и 3.2×10^7 моль $^{-1}$ ·л·с $^{-1}$ соответственно [28]. Расстояние, которое может преодолеть реакционноспособный синглетный кислород в белке вируса, сложно оценить. Согласно литературным данным, в водной среде максимально возможный путь $^1\text{O}_2$ в отсутствие тушителей не превышает 150 нм [29], в живых клетках пространственная область внутриклеточной активности синглетного кислорода оценивается 100–150 нм [30, 31]. Можно ожидать, что при наличии в ближайшем аминокислотном окружении гетарилзамещенных порфиринов остатков цистеина, метионина, триптофана, тирозина и гистидина они с большой долей вероятности подвергнутся фотоокислению. Согласно полученным данным, в радиусе 4 Å от порфиринов **1a**, **б** расположены уязвимые аминокислотные остатки: TYR205 (сайт 1B), MET378 (сайт 1A), HIS

554 (сайт 2A). Ближайшие к порфирину **1в** уязвимые аминокислотные остатки – TYR205 (сайт 1B), MET378 (сайт 1A). Результаты молекулярного докинга позволяют рассчитывать, что порфирины **1a–в** могут не только ингибировать фермент геликазы SARS-CoV-2, но и полностью нарушать его первичную структуру.

Хлорин е6 связывается с геликазой в двух сайтах (рис. 3), наибольшая аффинность (комплекс **A**, табл. 1) выявлена для хлорина е6, локализованного преимущественно между доменами 1A, 2A и 1B. Несколько меньшая аффинность хлорина в комплексе **B**, в котором хлорин взаимодействует с аминокислотными последовательностями доменов 2A, 1A и S.

Атомы кислорода в несимметрично замещенной молекуле хлорина е6 способны образовать водородные связи в обоих комплексах (рис. 3,

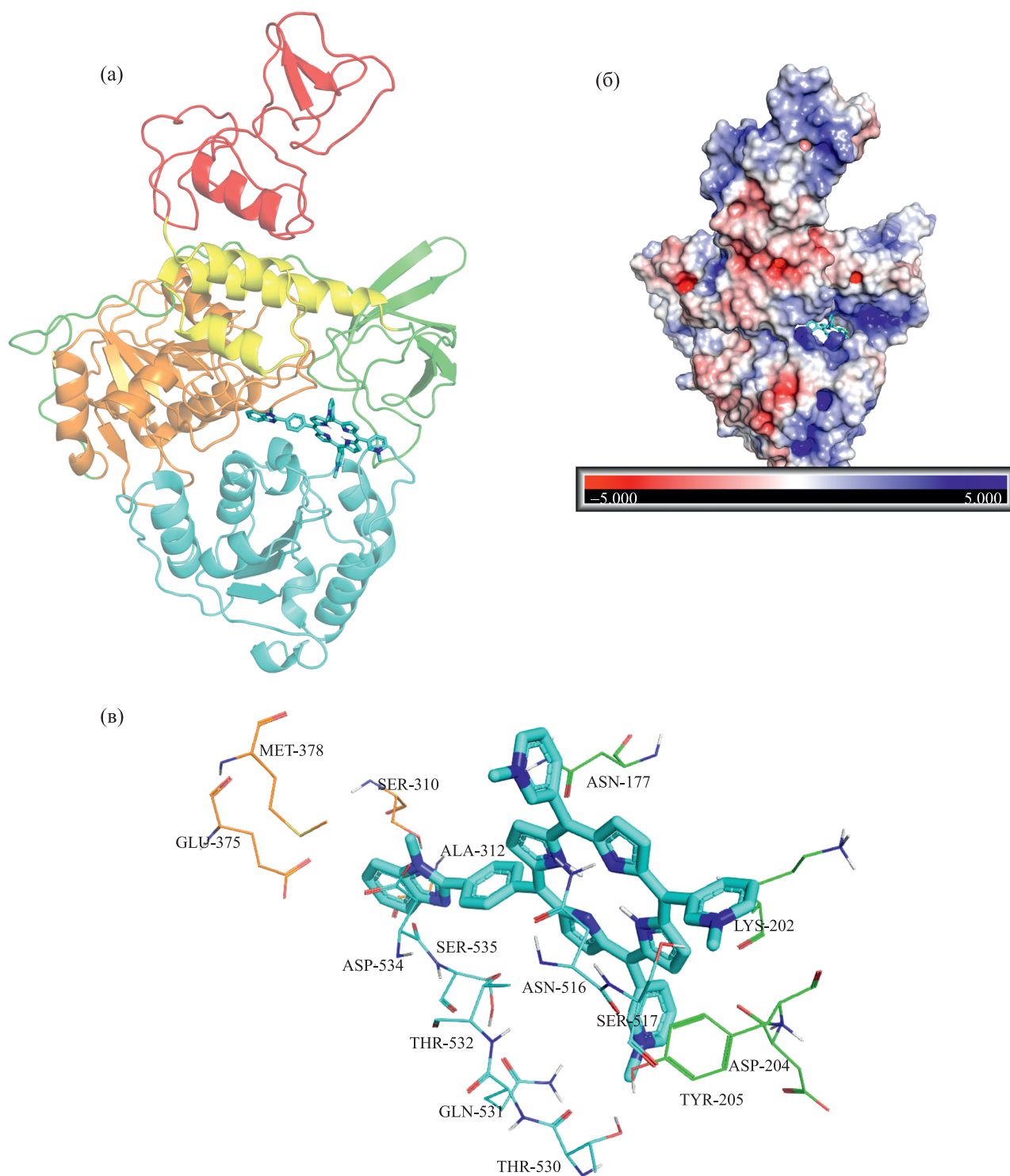


Рис. 1. Молекулярный докинг 5-[4-(1-метил-1,3-бензимидазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридин-3-ил)порфирина к геликазе SARS-Cov-2. (а) общий вид комплекса, (б) электростатический потенциал поверхности комплекса, (в) структура комплекса.

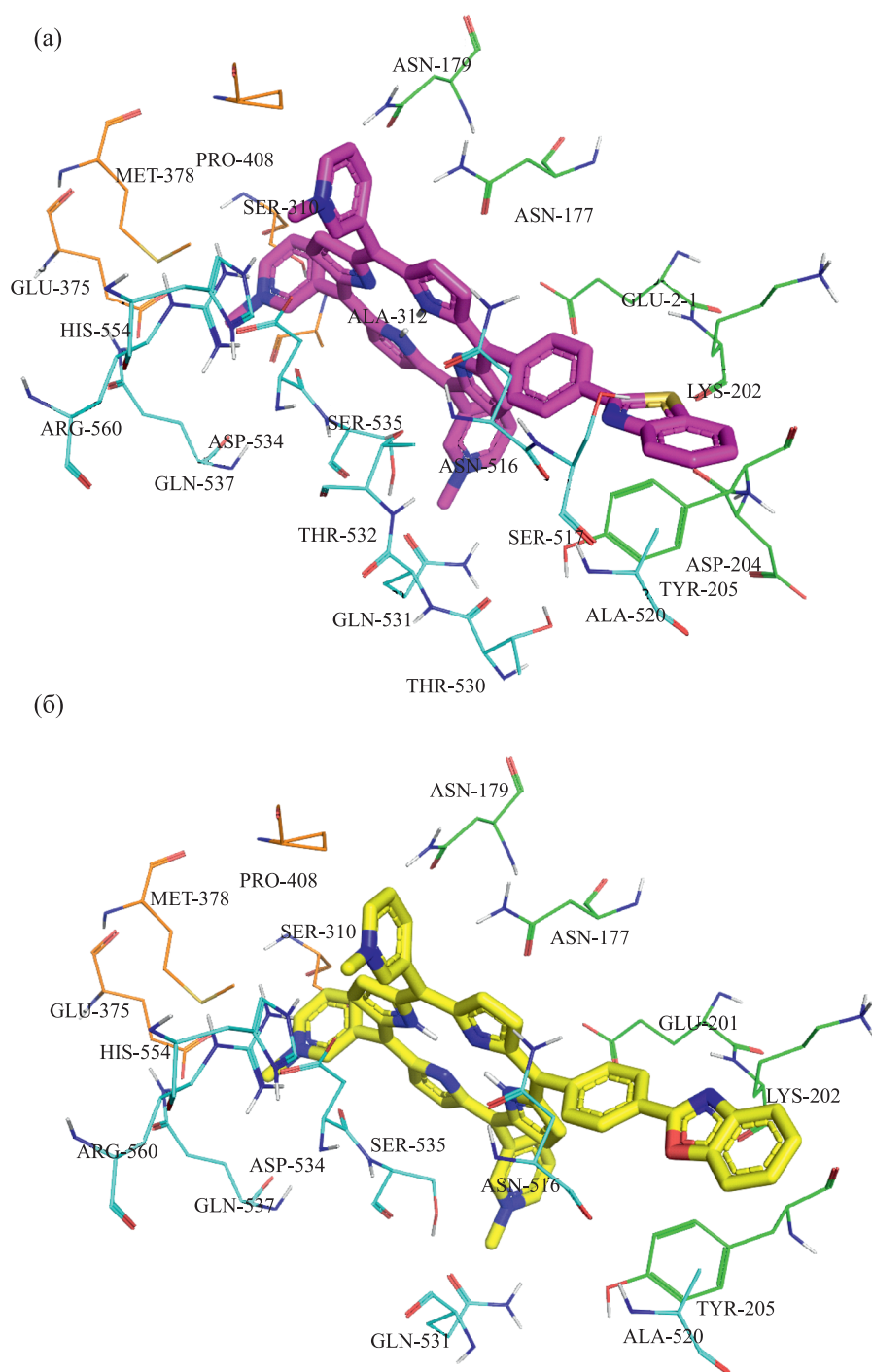


Рис. 2. Аминокислотное окружение в радиусе 4 Å от 5-[4-(1,3-бензотиазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридин-3-ил)-порфирина (а) и 5-[4-(1,3-бензоксазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридин-3-ил)порфирин в комплексе с геликазой SARS-CoV-2 (б).

табл. 2). В комплексе **A** формируется слабая водородная связь между атомом N порфиринового центра и аминокислотным остатком PRO408 по-

липептидной цепи. Несмотря на это, аффинность геликазы к хлорину еб сравнительно невысока (табл. 1), возможно, из-за неоптимальных элек-

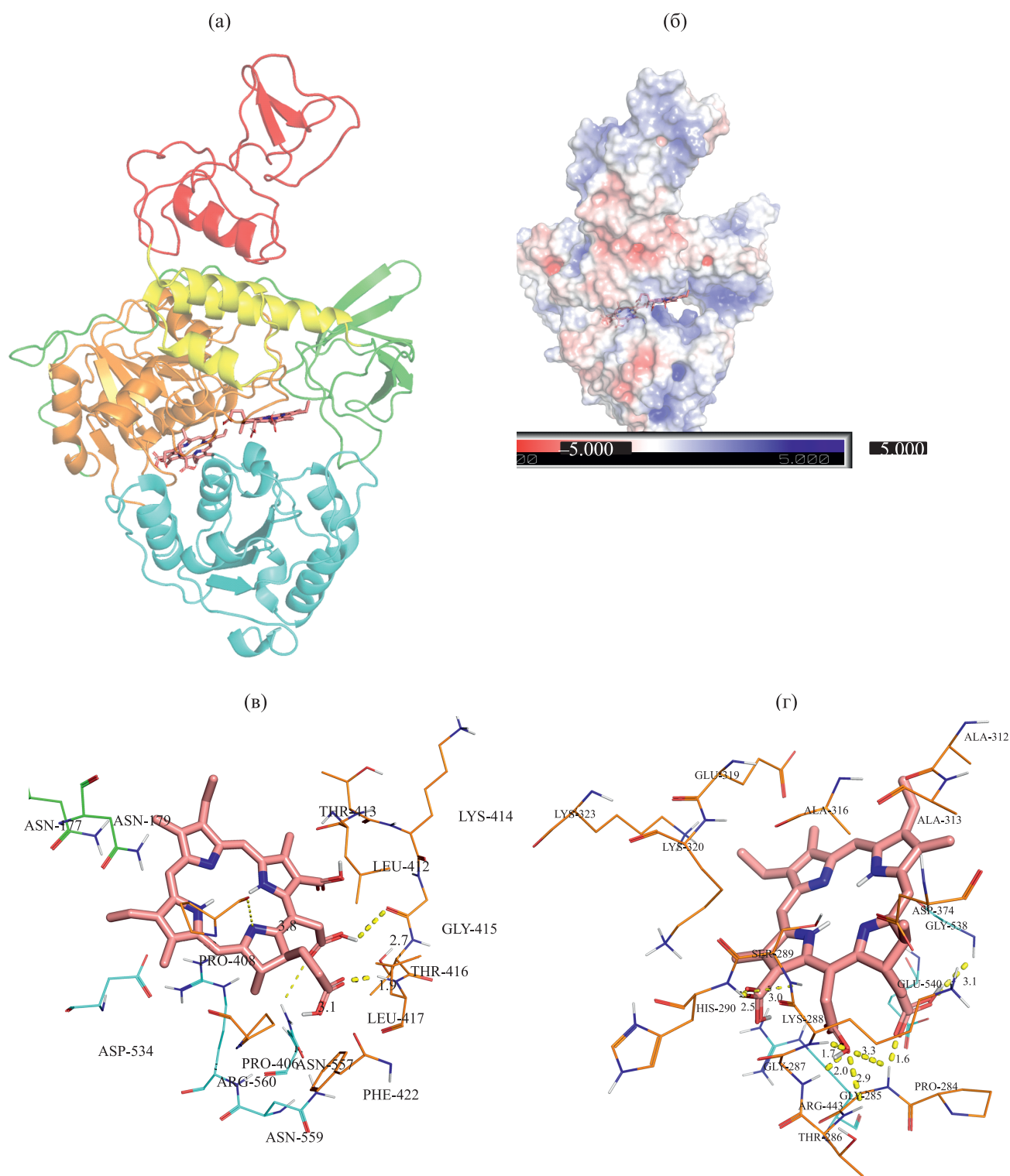


Рис. 3. Молекулярный докинг хлорина е6 к геликазе SARS-CoV-2. (а) общий вид комплекса, (б)– электростатический потенциал поверхности комплекса, (в) структура комплекса А, (г) структура комплекса Б. Н-Связи показаны пунктиром.

тростатических взаимодействий и структурного несоответствия, так как хлорин е6 расположен практически на поверхности белка (рис. 3), и его нецелесообразно рассматривать в качестве эффективного ингибитора (табл. 1). Оба сайта связывания не содержат уязвимых к действию $^1\text{O}_2$ аминокислот [28], исключение составляет HIS290 в комплексе **Б**, участвующий в Н-связывании с периферийными карбоксильными группами хлорина е6 (табл. 2). Исходя из состава аминокислотного окружения хлорина е6 в комплексах **А** и **Б** с геликазой, следует, что вирулицидное действие хлорина е6 маловероятно.

Таким образом молекулярный докинг новых несимметричных гетарилзамещенных порфиринов с остатками бензотиазола, бензоксазола и бензимидазола и хлорина е6 к геликазе SARS-CoV-2 показывает, что они способны ингибировать и полностью дезактивировать важнейший фермент репликации вируса SARS-CoV-2. Высокая консервативность данного вирусного белка позволяет рассчитывать, что полученные порфирины будут активны и в отношении геликаз всей линейки коронавирусов. Полученные теоретические результаты нуждаются в экспериментальной проверке.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали структуру геликазы SARS-CoV-2 QHD43415_12 из базы <https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/CoVID-19/>. Структуры хлорина е6 и гетарилзамещенных порфиринов с остатками бензотиазола (**1a**), бензоксазола (**1b**) и бензоимидазола (**1в**) минимизированы в программе ORCA 4.0 с использованием метода DFT b3lyp. [32]. Молекулярную стыковку белков с порфиринами **1a–в** и хлорином е6 проводили с использованием программного обеспечения AutoDock Vina 1.1.2 [33] и визуализировали с помощью программного обеспечения PyMOL. Файлы структур порфиринов и белка подготовлены с помощью утилиты AutoDockTools 1.5.6, созданы файлы PDBQT. Затем в AutoDockTools установлено трехмерное поле и создан файл параметров стыковки. После завершения стыковки результаты показаны в системе PyMOL, после чего оценена энергия взаимодействия белок–порфирин.

Электронные спектры поглощения соединений **1a–в** регистрировали в дихлорметане на спектро-

фотометре UV/VIS Hitachi U2001 (Япония) при комнатной температуре в диапазоне λ 200–1000 нм. Спектры ЯМР ^1H регистрировали на приборе Bruker Avance-500 (США). В качестве внутренних стандартов использовали сигналы растворителей. Масс-спектры MALDI-TOF положительных ионов регистрировали на времяпролетном масс-спектрометре с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией Shimadzu AXIMA Confidence (Япония) и на приборе Bruker Daltonics Ultraflex (США).

Растворители перед использованием высушивали и перегоняли. В работе использовали соединения с чистотой не менее 99% (Реахим, ЭКОС-1, Aldrich, Fluka).

5-(4-Бромфенил)-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирин. К кипящему раствору 500 мл пропионовой кислоты и 35 мл (0.27 моль) пропионового ангидрида при пропускании воздуха прибавляли за 20 мин смесь 10 мл (0.144 моль) пиррола, 6.66 г (0.036 моль) 4-бромбензальдегида и 10.15 мл (0.108 моль) пиридин-3-карбальдегида. Смесь кипятили 1.5 ч при пропускании воздуха. Пропионовую кислоту отгоняли в вакууме. К остатку добавляли 300 мл метанола и 30 мл раствора аммиака. Осадок смеси порфиринов отфильтровывали, промывали метанолом и сушили при комнатной температуре до постоянной массы. Высушенный осадок растворяли в 200 мл дихлорметана и хроматографировали на колонке с Al_2O_3 (активность III по Брокману), элюируя смесью этанол–хлористый метилен, 10:1. Собирали третью фракцию 5-(4-бромфенил)-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирина. Растворитель выпаривали, порфирин повторно хроматографировали на колонке с Al_2O_3 (активность III по Брокману), элюируя смесью этанол–хлористый метилен, 10:1. Индивидуальность продукта реакции контролировали с помощью ТСХ на алуфоле и масс-спектрометрии (MALDI-TOF). Выход 3.95 г (15.8%). R_f 0.72 (силуфол, дихлорметан–этанол, 10:1). ЭСП (дихлорметан), λ_{max} , нм (lgε): 416 (5.91), 512 (4.60), 547 (4.58), 588 (4.48), 643 (4.58). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д. (J , Гц): 9.50 с (3H, $\text{H}^{2'}$, Py), 9.10 д (3H, $\text{H}^{6'}$, Py, J 5.5), 9.02 д (2H, $\text{H}^{8,12}$, J 4.5), 8.89 с (4H, $\text{H}^{3,7,13,17}$), 8.57 д (2H, $\text{H}^{2,18}$, J 4.5), 8.44 д (3H, $\text{H}^{4'}$, Py, J 5.5), 8.07 д (2H, $\text{H}^{2'',6''}$, Ph, J 8.0), 7.91 д (5H, $\text{H}^{5'}$, $\text{H}^{3'',5''}$, Ph, J 8.0), –2.78 с (2H,

NH). Масс-спектр (MALDI-TOF), m/z : 696.68 $[M]^+$. $C_{41}H_{26}BrN_7$. M 696.60.

5-(4-Бромфенил)-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирилат цинка. Растворяли 3 г (4.3 ммоль) 5-(4-бромфенил)-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирина и 4.7 г (0.021 моль) безводного ацетата цинка в смеси 200 мл метанола и 100 мл хлористого метилена. Смесь кипятили 1.5 ч, контролируя протекание реакции с помощью ЭСП. Смесь охлаждали, отгоняли избыток растворителя, остаток хроматографировали на колонке с Al_2O_3 (активность III по Брокману), элюируя смесью этанол–хлористый метилен, 10:1. Растворитель отгоняли в вакууме, остаток промывали водой, отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре до постоянной массы. Выход 3.2 г (98%). R_f 0.67 (силуфол, дихлорметан–этанол, 10:1). ЭСП (дихлорметан), λ_{max} , нм (lg ϵ): 416 (6.06), 549 (4.62), 590 (4.71). Спектр ЯМР ^1H ($CDCl_3$), δ , м. д. (J , Гц): 9.50 с (3H, $H^{2'}$, Py), 9.10 д (3H, $H^{6'}$, Py, J 5.5), 9.02 д (2H, $H^{8,12}$, J 4.5), 8.89 с (4H, $H^{3,7,13,17}$), 8.57 д (2H, $H^{2,18}$, J 4.5), 8.44 д (3H, $H^{4'}$, Py, J 5.5), 8.27 д (2H, $H^{2'',6''}$, Ph, J 6.0), 7.82–7.79 м (5H, $H^{5'}$, Py, $H^{3'',5''}$, Ph), 8.02 д (2H, бензотиазол, J 8.2), 7.46–7.54 м (2H, бензотиазол), –2.78 с (2H, NH). Масс-спектр (MALDI-TOF), m/z : 760.03 $[M]^+$. $C_{41}H_{24}BrN_7Zn$. M 759.97.

5-[4-(1,3-Бензотиазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирин. Смесь 0.03 г $Pd(OAc)_2$ (20 мол%), 0.026 г $Cu(OAc)_2 \cdot H_2O$ (20 мол%), 0.176 г трифенилфосфина (1 экв.), 0.51 г 5-(4-бромфенил)-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфината цинка (0.671 ммоль), 45 мл толуола, 146 мкл (2 экв., 1.342 ммоль) бензотиазола кипятили при перемешивании 48 ч, охлаждали до комнатной температуры и добавляли 50 мл хлористого метилена и фильтровали. Осадок промывали 10 мл хлористого метилена, объединенные органические фракции упаривали в вакууме. Остаток растворяли в 30 мл хлористого метилена и хроматографировали на колонке с Al_2O_3 (активность III по Брокману), элюируя сначала дихлорментаном, а затем смесью этанол–хлористый метилен, 1:10. Собирали вторую фракцию. Цинковый комплекс растворяли в дихлорметане и для разрушения комплекса добавляли 3 мл конц. HCl, затем обрабатывали водным раствором аммиака и отмывали водой. Раствор осушали безводным сульфатом натрия и упаривали в вакууме. Хроматографировали на колонке с Al_2O_3 (активность III по Брок-

ману), элюируя сначала дихлорментаном, а затем смесью этанол–хлористый метилен, 1:10, собирали вторую фракцию. Выход 0.345 г (67 %), зелено-фиолетовый кристаллический порошок. R_f 0.73 (силуфол, дихлорметан–этанол, 10:1). ЭСП (дихлорметан), λ_{max} , нм (lg ϵ): 420 (5.96), 516 (4.66), 550 (4.57), 590 (4.60), 646 (4.59). Спектр ЯМР ^1H ($CDCl_3$), δ , м. д. (J , Гц): 9.50 с (3H, $H^{2'}$, Py), 9.10 д (3H, $H^{6'}$, Py, J 5.5), 9.02 д (2H, $H^{8,12}$, J 4.5), 8.89 с (4H, $H^{3,7,13,17}$), 8.57 д (2H, $H^{2,18}$, J 4.5), 8.44 д (3H, $H^{4'}$, Py, J 5.5), 8.27 д (2H, $H^{2'',6''}$, Ph, J 6.0), 7.82–7.79 м (5H, $H^{5'}$, Py, $H^{3'',5''}$, Ph), 8.02 д (2H, бензотиазол, J 8.2), 7.46–7.54 м (2H, бензотиазол), –2.78 с (2H, NH). Масс-спектр (MALDI-TOF), m/z : 750.89 $[M]^+$. $C_{48}H_{30}N_8S$. M 750.87.

5-[4-(1,3-Бензотиазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридин-3-ил)порфирин трииодид (1a). Смесь 0.22 г (0.29 ммоль) 5-[4-(1,3-бензотиазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирина и 0.5 мл (0.46 ммоль) метилиодида кипятили в диметилформамиде (30 мл) 1 ч. Раствор охлаждали и разбавляли бензолом, 1:1. Осадок отфильтровывали, промывали последовательно бензолом, ацетоном и сушили. Выход 0.21 г (98%). ЭСП (вода), λ_{max} , нм (lg ϵ): 418 (6.09), 516 (4.69), 549 (4.63), 585 (4.65), 634 (4.65). Спектр ЯМР ^1H ($DMCO-d_6$), δ , м. д.: 9.52 с (3H, $H^{2'}$, Py), 9.11 д (3H, $H^{6'}$, Py, J 5.3), 9.02 д (2H, $H^{8,12}$, J 4.4), 8.89 с (4H, $H^{3,7,13,17}$), 8.57 д (2H, $H^{2,18}$, J 4.4), 8.44 д (3H, $H^{4'}$, Py, J 5.2), 8.27 д (2H, $H^{2'',6''}$, Ph, J 5.9), 7.82–7.79 м (5H, $H^{5'}$, Py, $H^{3'',5''}$, Ph), 7.94–8.11 м (2H, бензотиазол), 7.46–7.54 м (2H, бензотиазол), 4.72 с (9H, CH_3N), –2.78 уш. с (2H, NH). Масс-спектр (MALDI-TOF), m/z : 1176.73 $[M]^+$. $C_{51}H_{39}I_3N_8S$. M 1176.69.

5-[4-(1,3-Бензоксазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирин получали аналогично 5-[4-(1,3-бензотиазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирину. Вместо бензотиазола использовали 0.159 г (2 экв., 1.342 ммоль) бензоксазола. Выход 0.395 г (79%), зелено-фиолетовый кристаллический порошок. R_f 0.73 (силуфол, дихлорметан–метанол, 10:1). ЭСП (дихлорметан), λ_{max} , нм (lg ϵ): 420 (5.97), 516 (4.67), 551 (4.57), 590 (4.62), 646 (4.62). Спектр ЯМР ^1H ($CDCl_3$), δ , м. д. (J , Гц): 9.50 с (3H, $H^{2'}$, Py), 9.10 д (3H, $H^{6'}$, Py, J 5.5), 9.02 д (2H, $H^{8,12}$, J 4.5), 8.89 с (4H, $H^{3,7,13,17}$), 8.57 д (2H, $H^{2,18}$, J 4.5), 8.44 д (3H,

H^{4'}, Py, *J* 5.5), 8.26 д (2H, H^{2'',6''}, Ph, *J* 6.0), 7.82–7.80 м (5H, H^{5'}, Py, H^{3'',5''}, Ph), 7.58–8.02 м (2H, бензоксазол), 7.34–7.43 м (2H, бензоксазол), –2.79 с (2H, NH). Масс-спектр (MALDI-TOF), *m/z*: *m/z* 734.83 [M]⁺. C₄₈H₃₀N₈. *M* 734.80.

5-[4-(1,3-Бензоксазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридиний-3-ил)порфирин триодид (1б) получали аналогично соединению **1а** из 5-[4-(1,3-бензооксазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирина. Выход 0.23 мг (98%), коричневатый кристаллический порошок. ЭСП (вода), λ_{max}, нм (lgε): 418 (6.05), 516 (4.67), 550 (4.64), 585 (4.64), 634 (4.66). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ, м. д. (*J*, Гц): 9.51 с (3H, H^{2'}, Py), 9.10 д (3H, H^{6'}, Py, *J* 5.4), 9.02 д (2H, H^{8,12}, *J* 4.4), 8.90 с (4H, H^{3,7,13,17}), 8.57 д (2H, H^{2,18}, *J* 4.4), 8.44 д (3H, H^{4'}, Py, *J* 5.5), 8.26 д (2H, H^{2'',6''}, Ph, *J* 5.9), 7.82–7.80 м (5H, H^{5'}, Py, H^{3'',5''}, Ph), 7.58–8.02 м (2H, бензоксазол), 7.34–7.43 м (2H, бензоксазол), 4.71 с (9H, CH₃N), –2.79 с (2H, NH). Масс-спектр (MALDI-TOF), *m/z*: 1160.67 [M]⁺. C₅₁H₃₉I₃N₈O. *M* 1160.62.

5-[4-(1-Метил-1,3-бензимидазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирин получали аналогично 5-[4-(1,3-бензотиазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридин-3-ил)порфирину. Вместо бензотиазола использовали 0.178 г (2 экв., 1.342 ммоль) 1-метилимидазола. Выход 0.228 г (45 %), зелено-фиолетовый кристаллический порошок. *R*_f 0.70 (силуфол, дихлорметан–метанол, 10:1). ЭСП (дихлорметан), λ_{max}, нм (lgε): 420 (5.97), 516 (4.67), 550 (4.62), 590 (4.59), 646 (4.62). Спектр ¹H ЯМР (CDCl₃), δ, м. д. (*J*, Гц): 9.50 с (3H, H^{2'}, Py), 9.10 д (3H, H^{6'}, Py, *J* 5.5), 9.02 д (2H, H^{8,12}, *J* 4.5), 8.89 с (4H, H^{3,7,13,17}), 8.57 д (2H, H^{2,18}, *J* 4.5), 8.44 д (3H, H^{4'}, Py, *J* 5.5), 8.26 д (2H, H^{2'',6''}, Ph, *J* 6.0), 7.82–7.80 м (5H, H^{5'}, Py, H^{3'',5''}, Ph), 7.59 д (2H, имидазол, *J* 8.4), 7.42–7.47 м (2H, имидазол), 3.88 с (3H, NMe), –2.78 с (2H, NH). Масс-спектр (MALDI-TOF), *m/z*: 747.36 [M]⁺. C₄₉H₃₃N₉. *M* 747.29.

5-[4-(1-Метил-1,3-бензимидазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(1-метилпиридиний-3-ил)порфирин триодид (1в) получали аналогично соединению **1а** из 5-[4-(1-метил-1,3-бензимидазол-2-ил)фенил]-10,15,20-трис(пиридин-3-ил)порфирина. Выход 0.19 г (99%), коричневатый кристаллический порошок. ЭСП (вода), λ_{max}, нм (lgε): 418 (6.07), 516 (4.69), 550 (4.65), 585 (4.63), 634 (4.64).

Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ, м. д. (*J*, Гц): 9.50 с (3H, H^{2'}, Py), 9.10 д (3H, H^{6'}, Py), 9.02 д (2H, H^{8,12}, *J* 4.4), 8.89 с (4H, H^{3,7,13,17}), 8.57 д (2H, H^{2,18}, *J* 4.4), 8.44 д (3H, H^{4'}, Py, *J* 5.3), 8.26 д (2H, H^{2'',6''}, Ph, *J* 6.0), 7.83–7.80 м (5H, H^{5'}, Py, H^{3'',5''}, Ph), 7.59 д (2H, имидазол), 7.42–7.47 м (2H, имидазол), 4.72 с (9H, CH₃N), 3.89 с (3H, NMe), –2.78 с (2H, NH). Масс-спектр (MALDI-TOF), *m/z*: 1173.74 [M]⁺. C₅₂H₄₂I₃N₉. *M* 1173.66.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Сырбу Сергей Александрович, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1482-2809>

Киселев Алексей Николаевич, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6664-6221>

Лебедев Михаил Александрович, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9318-3816>

Губарев Юрий Александрович, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2870-2189>

Юрина Елена Сергеевна, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2403-7049>

Лебедева Наталья Шамильевна, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7260-3239>

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-04-60067) с использованием оборудования Центра коллективного пользования Ивановского государственного химико-технологического университета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wu Y., Xu X., Chen Z., Duan J., Hashimoto K., Yang L., Liu C., Yang C. // Brain Behav. Immun. 2020. Vol. 87. P. 18. doi 10.1016/j.bbi.2020.03.031
2. Jahanshahlu L., Rezaei N. // Arch. Med. Res. 2020. Vol. 51. N 7. P. 721. doi 10.1016/j.arcmed.2020.05.016
3. Gandhi S., Srivastava A.K., Ray U., Tripathi P.P. // ACS Chem. Neurosci. 2020. Vol. 11. N 10. P. 1379. doi 10.1021/acscchemneuro.0c00217
4. Hamming I., Timens W., Bulthuis M.L., Lely A.T., Navis G.J., Goor H. // J. Pathol. 2004. Vol. 203. N 2. P. 631. doi 10.1002/path.1570

5. Drake J.W. // PNAS. 1993. Vol. 90. N 9. P. 4171. doi 10.1073/pnas.90.9.4171
6. Villa T. G., Abril A.G., Sánchez S., Miguel T., Sánchez-Pérez A. // Arch. Microbiol. 2020. P. 1. doi 10.1007/s00203-020-02040-5
7. Thébaud G., Chadœuf J., Morelli M.J., McCauley J.W., Haydon D.T. // Proc. Royal. Soc. (B). 2010. Vol. 277. N 1682. P. 809. doi 10.1098/rspb.2009.1247
8. Cheng L., Han X., Zhu Z., Qi C., Wang P., Zhang X. // Brief. Bioinformatics. 2021. Vol. 22. N 2. P. 1442. doi 10.1093/bib/bbab042
9. Wu C., Liu Y., Yang Y., Zhang P., Zhong W., Wang Y., Xu Y. Li M., Li X., Zheng M., Chen L., Li H. // Acta Pharm. Sin. B. 2020. Vol. 10. N 5. P. 766. doi 10.1016/j.apsb.2020.02.008
10. Basu A., Sarkar A., Maulik U. // Sci. Rep. 2020. Vol. 10. N 1. P. 1. doi 10.1038/s41598-020-74715-4.
11. Charoute H., Saile R., Barakat A. // ChemRxiv. Preprint. 2020. doi 10.26434/chemrxiv.12115638.v1
12. Narkhede R. R., Cheke R.S., Ambhore J.P., Shinde S.D. // Eurasian J. Med. Oncol. 2020. Vol. 4. N 3. P. 185. doi 10.14744/ejmo.2020.31503
13. Wan Y. Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. // J. Virol. 2020. Vol. 94. N 7. P. 1. doi 10.1128/JVI.00127-20
14. Habtemariam S., Nabavi S.F., Banach M., Berindan-Neagoe I., Sarkar K., Sil P.C., Nabavi, S.M. // Arch. Med. Res. 2020. Vol. 51. N 7. P. 733. doi 10.1016/j.arcmed.2020.05.024
15. Yan L., Zhang Y., Ge J., Zheng L., Gao Y., Wang T., Huang Y., Li M., Wang Q., Rao Z., Lou Z. // Nat. Commun. 2020. Vol. 11. N 1. P. 1. doi 10.1038/s41467-020-19770-1
16. Borgio J.F., Alsuwat H.S., Al Otaibi W.M., Ibrahim A.M., Almandil N.B., Al Asoom L.I., Salahuddin M., Kama-raj B., AbdulAzeez S. // Arch. Med. Sci. 2020. Vol. 16. N 3. P. 508. doi 10.5114/aoms.2020.94567
17. Ugurel O.M., Mutlu O., Sariyer E., Kocer S., Ugurel E., Inci T.G., Ata O., Turgut-Balik D. // Int. J. Biol. Macromol. 2020. Vol. 163. P. 1687. doi 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.138
18. Khater S., Das G. // OSFPREPRINTS. 2020. P. 1. doi 10.31219/osf.io/8dseq
19. Balasubramaniam M., Reis R.J.S. // ChemRxiv. 2020. doi 10.26434/chemrxiv.12084822
20. Gurung A.B. // Gene Rep. 2020. Vol. 21. P. 100860. doi 10.1016/j.genrep.2020.100860
21. White M.A., Lin W., Cheng X. // J. Phys. Chem. Lett. 2020. Vol. 11. N 21. P. 9144. doi 10.1021/acs.jpcclett.0c02421
22. Vzorov A.N., Dixon D.W., Trommel J.S., Marzilli L.G., Compans R.W. // Antimicrob. Agents Chemother. 2002. Vol. 46. N 12. P. 3917. doi 10.1128/AAC.46.12.3917-3925.2002
23. Guo H., Pan X., Mao R., Zhang X., Wang L., Lu X., Chang J., Guo J.-T., Passic S., Krebs F.C. Wigdahl B., Warren T.K., Retterer C.J., Bavari S., Xu X., Cuconati A., Block T.M. // Antimicrob. Agents Chemother. 2011. Vol. 55. P. 478. doi 10.1128/AAC.00989-10
24. Abrahamse H., Hamblin M.R. // Biochem. J. 2016. Vol. 473. P. 347. doi 10.1042/BJ20150942
25. Hamblin M.R., Abrahamse H. // Antibiotics 2020 Vol. 9. P. 53. doi 10.3390/antibiotics9020053
26. Majiya H., Adeyemi O.O., Stonehouse N.J., Millner P. // J. Photochem. Photobiol. (B). 2018. Vol. 178. P. 404. doi 10.1016/j.jphotobiol.2017.11.032
27. Mirza M.U., Froeyen M. // J. Pharm. Anal. 2020. Vol. 10. N 4. P. 320. doi 10.1016/j.jpha.2020.04.008
28. Davies M.J., Truscott R.J.W. // J. Photochem. Photobiol. (B). 2001. Vol. 63. N 1–3. P. 114. doi 10.1016/S1011-1344(01)00208-1
29. Rodgers M.A.J., Snowden P.T. // J. Am. Chem. Soc. 1982. Vol. 104. N 20. P. 5541. doi 10.1021/ja00384a070
30. Moan J. // J. Photochem. Photobiol. (B). 1990. Vol. 6. N 3. P. 343. doi 10.1016/1011-1344(90)85104-5
31. Hatz S., Poulsen L., Ogilby P.R. // Photochem. Photobiol. 2008. Vol. 84. N 5. P. 1284. doi 10.1111/j.1751-1097.2008.00359.x
32. Neese F. // Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci. 2018. Vol. 8. N 1. P. e1327. doi 10.1002/wcms.1327
33. Trott O., Olson A.J. // J. Comput. Chem. 2010. Vol. 31. N 2. P. 455. doi 10.1002/jcc.21334

Synthesis of Hetaryl-Substituted Asymmetric Porphyrins and Their Affinity for SARS-CoV-2 Helicase

S. A. Syrbu^a, A. N. Kiselev^{a,b}, M. A. Lebedev^{a,b}, Yu. A. Gubarev^a,
E. S. Yurina^{a,*}, and N. Sh. Lebedeva^a

^a *G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, 153045 Russia*

^b *Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Ivanovo, 153000 Russia*

^{*}*e-mail: yurina_elena77@mail.ru*

Received April 21, 2021; revised April 21, 2021; accepted May 6, 2021

Molecular docking of asymmetric hetaryl-substituted porphyrins and chlorin e6 with SARS-CoV-2 helicase was carried out. It was found that the affinity of hetaryl-substituted porphyrins for this protein is significantly higher than the analogous characteristics obtained for drugs approved by the FDA and chlorin e6. The structure of the complexes of SARS-CoV-2 helicase with the investigated macroheterocyclic compounds were analyzed. It was suggested that there are possible ways to inhibit and photoinactivate SARS-CoV helicase based on the localization of porphyrins and chlorin e6 in the helicase domains. The new porphyrin compounds containing residues of benzothiazole (S-por), benzooxazole (O-por) and benzoimidazole (N-por) were synthesized and their structures were confirmed. The results can be used in the development of drugs with virucidal activity.

Keywords: porphyrins, molecular docking, helicase, SARS-CoV-2 virus, inhibition, inactivation