

· 综述 ·

富勒烯在医药领域中的研究进展

叶光明¹, 吴秋业², 姜云云², 俞世冲², 廖红利² (1. 中国人民解放军第 102 医院, 江苏 常州 213003; 2. 第二军医大学药学院有机教研室, 上海 200433)

摘要 目的: 评述近几年来有关 C₆₀ 及其衍生物在医药领域的研究情况。**方法:** 通过检索与查询, 较为系统综述了 C₆₀ 的结构修饰、生物活性、作用机制及其应用前景等四个方面的内容。**结果与结论:** C₆₀ 及其衍生物作为一种新型材料, 在医药界具有广泛的应用前景。

关键词 C₆₀; 富勒烯; 结构修饰; 生物活性; 作用机制; 应用

中图分类号: R97 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-0111(2004)02-0073-04

Research progress for fullerene in the domain of medicine

YE Guang-ming¹, WU Qiu-ye², JIANG Yun-yun², YU Shi-chong², LIAO Hong-li², (1. The 102nd Hospital of PLA, Changzhou 213003, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective: To introduce the research about C₆₀ and its derivative in the domain of medicine in the recent years. **Methods:** The structural modification of C₆₀ and Fullerene's bioactivity, impacting mechanism and the prospect of application were summarized. **Results and Conclusion:** As a new material, C₆₀ and its derivatives have a much better future in the domain of medicine.

KEY WORDS C₆₀; Fullerene, structural modification; bioactivity; impacting mechanism; application

富勒烯 (Fullerene), 又名 C₆₀、碳笼烯、球碳等, 是由 Kroto 等于 1985 年在研究激光蒸发石墨的过程中首先发现的。C₆₀ 是由 60 个碳原子组成的球形分子, 包含 12 个五元环和 20 个六元环, 直径为 0.71 nm。C₆₀ 独特的结构赋予了它特殊的理化性质, 也已发现 C₆₀ 具有能量较低的最低空轨道 T_{1u}, 可以接纳 6 个电子, 是一个优良的电子受体; C₆₀ 通过光诱导产生单态氧的效率高达 100%, 被喻为“单态氧的发生器”^[1]; C₆₀ 极易与游离基反应, 被喻为“吸收游离基的海绵”; C₆₀ 的体积与 HIV 病毒活性中心的空穴大小相匹配, 有可能堵住洞口, 切断病毒的营养供给^[2]; C₆₀ 有 30 个双键, 可以发生 Diels-Alder 反应、Bingel 反应等^[3], 使药物设计的理想基体, 可以根据需要接上多种基团, 人们把 C₆₀ 喻为药物设计中的“化学针插”(chemical pin cushion) 基于 C₆₀ 的以上特性, 越来越多的科学家对其展开了一系列研究, 并取得了可喜成就。本文就富勒烯的结构修饰、生物活性、作用机制等几个方面作一概述。

1 富勒烯的结构修饰

1.1 氢化反应 C₆₀ 的 6-6 键可与氢发生加成反应生成还原产物, 一般还原方法易生成多加成产物。

Fukuzumi 等^[4] 利用光诱导的电荷转移反应选择性二电子还原, 合成了最简单的 6-6 加成氢化产物 1, 2-C₆₀H₂ (图 1)

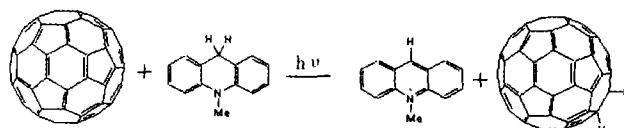


图 1

Bergosh 等^[5] 利用 Zn, Ti, Al, Mg 等不同金属还原 C₆₀, 得到了不同程度氢化的衍生物 C₆₀H₂, C₆₀H₄, C₆₀H₆。利用此法所得衍生物的异构体数目远远少于可能的异构体数目, 但这种异构体的混合物极难分离, 目前最有效的鉴别方法是 ³HeNMR 技术^[6]。

1.2 氧化反应 将氧引入 C₆₀ 表面生成 6-6 闭环的环氧丙烷衍生物 C₆₀O, 某些衍生物在光照下还可发生自氧化。Avent 等^[7] 发现将 C₆₀Ph₅Cl 或 C₆₀Ph₅H 的甲苯溶液暴露在太阳光下放置两周后该衍生物发生了自氧化, 生成了含苯并呋喃和环氧丙烷的 C₆₀ 衍生物 C₆₀Ph₄C₆H₄O₂ (图 2)。

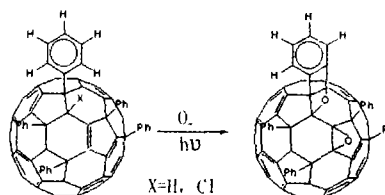


图 2

作者简介: 叶光明 (1976-), 男, 药师, Tel: (021)25070382.

E-mail: shygm8@hotmail.com.

1.3 光敏化反应 在可见光照射下基态 $^1C_{60}$ 被激发到单线态 $^1C_{60}^*$,并以很高的量子效率(接近100%)经系间能量转移转化为三线态 $^3C_{60}^*$, $^3C_{60}^*$ 将能量转移给三线态氧 3O_2 ,使之变成活泼的单线态 1O_2 ,单线态氧参与烯烃的氧化反应生成过氧化物^[8]。

1.4 卤化反应 C_{60} 与卤素分子氟、氯、溴发生加成,所得产物常为多加成卤化物。这些卤化物可以进一步发生化学反应,特别是对 $C_{60}Cl_6$ 在 $FeCl_3$ 催化下的亲电芳香取代反应^[9]已进行了深入研究。 $C_{60}Cl_6$ 在 $FeCl_3$ 催化下与芳烃发生亲电取代,主要产物^[9a,9c]是 C_5 对称性的 $C_{60}Ar_5Cl$ 。而 C_{60} 与苯/ $FeCl_3$ 体系反应^[9b]不仅得到主要产物 $C_{60}Ph_5Cl$,还分离得到了副产物:没有对称性的 $C_{60}Ph_4$ 和 C_s 对称性的 $1,4-C_{60}Ph_2$ 。芳基对氯的取代反应表明可能经历了发生于 C_{60} 球表面的亲核取代,反应中存在 C_{60} 碳正离子中间体^[9c]。最近,Kitagawa等^[10]报道了多氯烷烃对 C_{60} 的亲电加成反应,证实了 C_{60} 碳正离子的存在。

1.5 亲核加成反应 C_{60} 具有缺电子烯烃性质,它能够与有机金属试剂如烷基锂、格氏试剂、叶立德试剂、胺类化合物、氰负离子等亲核试剂进行亲核加成反应,反应物一般为6-6键上的1,2-加成产物,但是由于空间位阻的关系也可能生成1,4-加成产物^[11]。一般认为有机化合物中C-C单键发生均裂,然而这类1,4-加成产物在极性溶剂中发生了C-C单键的异裂,生成了稳定的正离子和负离子^[11c]。

C_{60} 的有机反应有其特殊性,例如,Ohno等最近报道了通常条件下发生1,4-加成,生成 γ -硝基取代产物的碱催化下硝基烷烃与缺电子烯烃的反应,在与 C_{60} 的反应中硝基烷烃对6-6键进行了氧化还原型加成,以中等产率得到了 β -羟基腈类化合物,这一反应为 C_{60} 的双功能化提供了一条新途径(图3)

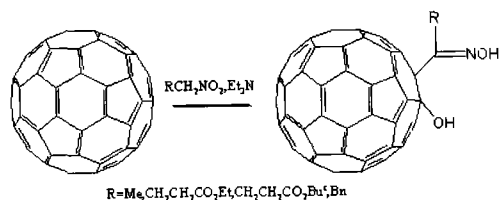


图3

1.6 自由基反应 由于30个6-6键是完全相同的, C_{60} 与自由基的反应往往得到多加成产物^[12]。 C_{60} 也可以发生二聚反应生成二聚体,形成“项链型”化合物; C_{60} 还可以与双自由基反应生成共聚物或环

加成产物。虽然自由基反应难于控制,产物的结构表征也有难度,但是当反应机制被深入了解以后,它也将是 C_{60} 修饰的一个有效方法。

1.7 环加成反应

1.7.1 [4+2]环加成 亲二烯体与二烯体易于发生[4+2]环加成,即Diels-Alder反应,这一反应是合成环己烯类衍生物的有效方法。 C_{60} 具有缺电子烯烃的性质,是一个亲二烯体,可以和1,3-丁二烯、环丁二烯、多环芳香化合物、o-quinodimethanes及其杂环并类似物、杂二烯类化合物等二烯体发生[4+2]环加成反应,反应专一地发生在6-6键上。

1.7.2 [3+2]环加成 1,3-偶极子是多种多样的,如叶立德类化合物、重氮化合物以及其它1,3-偶极子。甲亚胺叶立德是一类常见的1,3-偶极子,它的产生方法有很多种,由醛或酮与 α -氨基酸加热缩合脱羧而制得是其中最常用的方法,尤其是通过选择不同的醛、酮或氨基酸可以方便地将生物活性基团或具特殊物理和电学性质的分子引入 C_{60} ,合成多种吡咯烷并 C_{60} 衍生物。

1.7.3 [2+2]环加成 C_{60} 可与炔胺、苯炔、烯酮等富电子烯烃发生[2+2]环加成反应,反应也发生在6-6键上,目前这类反应的报道还较为少见。

1.7.4 [1+2]环加成 C_{60} 与卡宾、氮宾、硅烯等的[1+2]环加成反应可以合成6-5开环或6-6闭环产物。值得一提的是“Bingle反应”,即碱存在下 C_{60} 与溴丙二酸酯类化合物的反应^[13]。利用这一反应单一的得到6-6闭环产物,且有较好的产率(图4)。

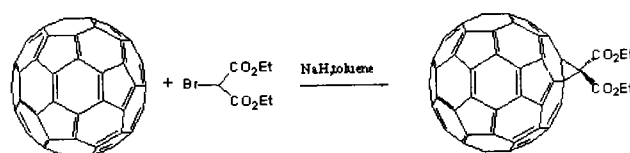


图4

2 生物活性

2.1 抗艾滋病病毒活性 C_{60} 是个球型分子,分子大小与HIV病毒活性中心的孔道大小相匹配。可以设想如果用 C_{60} 分子堵住病毒活性中心的洞口,切断病毒赖以生存的营养供给,就可以杀死病毒,但因 C_{60} 是非极性的,因此将其制备成水溶性 C_{60} 或其衍生物(图5)后,即可嵌入HIV的活性中心。 C_{60} 衍生物的疏水部分与HIVP的活性部位相互结合起来,亲水部分(极性基团)则在膜表面形成溶剂化层,阻断HIVP的活性中心,从而达到抑制HIVP的目的。

2.2 切割DNA C_{60} 衍生物具有专一性地切割

DNA 的能力,实验发现将衍生物 1a 或 1b 分别与超螺旋的 pBR322 DNA 共同培养,经光照后,DNA 即被切断。衍生物 1b 切割 DNA 具有专一性,断裂常发生在鸟嘌呤碱基处^[14]。

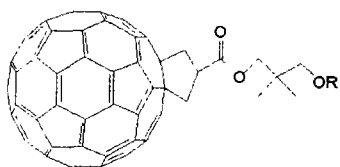


图5 含极性侧链的 C_{60} 水溶性衍生物 1

a: $R = CO(CH_2)_2CO_2H$, b: $R = CO(CH_2)_2CO_2H \cdot NEt_3$

2.3 光动力学治疗 实验发现 C_{60} 衍生物和 1a 与 1b 细胞共同培养并用光照射时,呈现细胞毒性,但当处于黑暗中时对细胞无任何影响^[14]。为了进一步观察化合物 1a 与 1b 中的 C_{60} 的作用,用与 1a 和 1b 分子中侧链相类似的化合物作同样的试验,发现他们没有生物活性。

Li 等^[15]用脂质体包裹的 C_{60} 与人宫颈癌细胞混合,并用光照射很短时间,发现被辐照的癌细胞的繁殖速率增加了大约两倍。血卟啉也有类似现象,这表明只有当激光功率超过某一阈值,并且辐射的时间合适时才会杀死癌细胞,否则反而促进细胞生长^[28]。

2.4 清除生物体系中的游离基 C_{60} 极易与游离基反应,被喻为“吸收游离基的海绵”。Chiang 等^[16]发现水溶性的 C_{60} 多羟基衍生物(富勒醇)保持了 C_{60} 吸收游离基的特性,因此可能有重大的医学用途,特别是可以用来处理侵入的病原体导致产生游离基的那些病例。

3 作用机制

C_{60} 及其衍生物在起作用时大都需要光的诱导,因此, C_{60} 及其衍生物常常被称为光敏分子。事实上,由于 C_{60} 独特的分子结构使其具有特殊的光物理性质。 C_{60} 在紫外及可见光区均有较强的吸收,在光的激发下,很容易形成单线态($^1C_{60}$),而单线态衰减的主要方式则是通过系统间过渡(intersystem crossing, ISC)成为三线态($^3C_{60}$)^[17]。对于 C_{60} 的光敏作用机制,一种观点认为与单线态氧的生成有关^[14,18]。其理由有:①三线态($^3C_{60}$)可以通过能量转移使氧分子(O_2)成为单线态氧(1O_2),而且这是一个非常高效的过程^[17,29];②在 C_{60} 、羧酸 C_{60} 及其他衍生物的水溶液中都检测到单线态氧^[14];③重水中羧酸 C_{60} 对 DNA 的断裂效应较水中更显著^[14],

而单线态氧在重水中具有更长的寿命^[19]。然而 An 等却得到相反的结论^[20]。他们对 C_{60} -寡聚核苷酸和曙红-寡聚核苷酸的 DNA 断裂活性进行了比较,发现曙红-寡聚核苷酸在重水中比在水中效果更好,而 C_{60} -寡聚核苷酸在两种溶剂中的效果没有差异。同时 1O_2 的强淬灭剂 NaN_3 能抑制曙红-寡聚核苷酸的作用,对 C_{60} -寡聚核苷酸则没有效果。他们由此断定 C_{60} 对 DNA 的选择性断裂作用与 1O_2 无关,而可能通过诸如电子转移与鸟嘌呤直接进行反应。黄文栋等人发现, C_{60} 经光激发后对人红细胞膜蛋白中几种重要的氨基酸有明显的破坏作用,并氧化膜蛋白的巯基和膜中不饱和脂肪酸。 NaN_3 并不能消除 C_{60} 的影响而超氧化物歧化酶(SOD)却能够部分抑制 C_{60} 的作用,表明溶剂中可能存在氧自由基,电子顺磁共振(ESR)分析也证实了这种推论。他们因此提出 C_{60} 的光敏作用不仅包含单线态氧机制,也存在氧自由基机制^[21]。值得注意的是,多羟基 C_{60} (富勒醇)不但不能生成氧自由基,相反却能清除水溶液体系中的超氧阴离子自由基和羟基自由基两种活性氧自由基^[22,23]。由此可见, C_{60} 光敏作用可能涉及多种机制,包括单线态氧、氧自由基、电子转移,而且不能排除其他可能的过程。

4 展望

研究表明, C_{60} 及其衍生物作为一种新型材料,在医药界具有广泛的应用前景。由于 C_{60} 的衍生物大都具有抗艾滋病毒的活性以及较低的细胞毒性,他们可能用于血和血产品中艾滋病病毒的灭活,并正在寻找更高效的此类化合物^[24,26];多种 C_{60} 衍生物在一定光照条件下对体外癌细胞与非正常细胞的生长具有抑制或杀伤作用^[14,22,27],静脉注射 C_{60} -聚乙二醇(C_{60} -PEG)水溶液至皮肤癌荷瘤小鼠体内并光照肿瘤部位,肿瘤生长受到明显抑制而正常皮肤组织却不被伤害,表明其成为一类新型光敏抗癌药物的可能性;此外, C_{60} 的氯化物在光照下具有杀虫效应,可以作为杀虫剂。

C_{60} 在医药领域的研究尚处于初始阶段,还存在着很多困难和问题,随着对 C_{60} 研究的不断深入,它在整个生物学领域的应用将为更加广泛。

参考文献:

- [1] Arbogast JW, Foote CS. Photophysical properties of C_{70} [J]. J AM Chem Soc, 1991, 113 (23): 8886.
- [2] Friedman SH, DeCamp DL, et al. Inhibition of the HIV-1 protease by fullerene derivatives: model building studies and experimental verification [J]. J AM Chem Soc, 1993, 115 (15): 6506.

- [3] Diederich F, Thilgen C. Covalent fullerene chemistry. [J]. Science, 1996, 271(5247):317.
- [4] Fukuzumi S, Suenobu T, Kawamura S, *et al.* Selective two-electron reduction of C₆₀ by 10-methyl-9,10-dihydroacridine via photoinduced electron transfer[J]. Chem Commun, 1997:291.
- [5] Bergosh R G, Meier M S, Cooke J A L, *et al.* Dissolving metal reductions of fullerenes[J]. J Org Chem, 1997, 62:7667.
- [6] Sanders M, Jiménez-Vázquez H A, Cross R J, *et al.* Probing the interior of fullerenes by ³He NMR spectroscopy of endohedral ³He @ C₆₀ and 3He @ C₇₀[J]. Nature, 1994, (367):256.
- [7] Avent A. G., Birkett P. R., Darwish A. D, *et al.* Spontaneous oxidation of C₆₀ Ph₅X (X = H, Cl) to a benzo [b] furanyl [60] fullerene [J]. Chem Commun, 1997:1579.
- [8] Orfanopoulos M, Kambourakis S. Fullerene C₆₀ and C₇₀ Photosensitized Oxygenation of Olefins [J]. Tetrahedron Lett, 1994, 35:1945.
- [9] (a) Avent AG, Birkett PR, Crane JD, *et al.* A light-harvesting fluorinated fullerene donor-acceptor ensemble; long-lived charge separation[J]. J Chem Soc Chem. Commun, 2003, 148.
(b) Birkett PR, Avent AG, Crane JD, *et al.* Preparation and characterisation of unsymmetrical C₆₀ Ph₄ and symmetrical C₆₀ Ph₂: the effect of regioselective nucleophilic attack upon C₆₀Cl₆[J]. J Chem Soc Perkin Trans II, 1997:457.
(c) Birkett PR, Avent AG, Darwish AD, *et al.* Arylation of [60] fullerene via electrophilic aromatic substitution involving the electrophile C₆₀Cl₆: frontside nucleophilic substitution of fullerenes [J]. J Chem Soc Perkin Trans II, 1997:1121.
- [10] Kitagawa T, Sakamoto H, Takeuchi K. Nucleophilic substitution of alkylchlorodihydro[60] fullerenes [J]. J Am Chem Soc 1999, 121:4298.
- [11] (a) Kitagawa T, Tanaka T, Takata Y, *et al.* Crystallisation inside fullerene related structures [J]. J Org Chem, 1995, 60:1490.
(b) Kitagawa T, Tanaka T, Takata Y, *et al.* [60] Fullerene chemistry for materials science applications [J]. Tetrahedron, 1997, 53:9965.
(c) Kitagawa T, Tanaka T, Takata Y, *et al.* Reversible Carbon-Carbon Bond Heterolysis of a Hydrocarbon Derived from tert-Butylfulleride Ion and Tricyclopropylcyclopropenyl cation [J]. J Org Chem, 1999, 64:2. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [12] Krusic PJ, Wasserman E, Keizer PN, *et al.* Radical Reaction of C₆₀ [J]. Science, 1991, (254):1183. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [13] Bingle C. Functional polypheders-chiral nematic fullerenes [J]. Chem Ber, 1993, 126:1957. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [14] Tokuyama H, Yamago S, Nakamura E *et al.* Photoinduced biochemical activity of fullerene carboxylic acid [J]. J Am Chem Soc, 1993, 115(117):7918. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [15] Li W, Qian K, Huang W. *et al.* Water-soluble C₆₀-liposome and the biological effect of C₆₀ to human cervix cancer cells [J]. Chin Phys Lett, 1994, 11(4):207. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [16] Chiang LY, Lu F J, Lin J T. Medical application of water-soluble polyhydroxylated fullerene derivatives [J]. Proc Electrochem Soc, 1995, 95(10):699. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [17] Arbogast JW. Photophysical properties of C₆₀ [J]. J Phys. Chem, 1991, 95:11. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [18] Wudl F. The chemical properties of buckminsterfullerene (C₆₀) and the birth and infancy of fullerenes [J]. Acc Chem Res, 1992, 25:157. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [19] Merkel PB, Kearns DR. Reaction Decay of Singlet Molecular Oxygen in solution An Experimental and Theoretical Study of Electronic-to-Vibrational Energy Transfer [J]. J Am Chem Soc, 1972, 94:7244. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [20] An YZ. Sequence-Specific modification of Guanes in DNA by a C₆₀-linked Deoxyoligonucleotide: Evidence for a Non-singlet Oxygen Mechanism [J]. Tetrahedron, 1996, 52:5179. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [21] 黄文栋, 钱凯先, 李文铸. 巴氏碳球 C₆₀ 对红细胞膜的光敏作用研究 [J]. 生物化学杂志, 1996, 12:483. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [22] Schinazi RF, Mead JR, Feorino PM. Insights into HIV chemotherapy [J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 1992, 8:553. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [23] 祝严师, 孙大勇, 刘桂珍. 富勒醇清除 OH 自由基的 ESR 研究 [J]. 高等学校化学学报, 1996, 17(7):1127. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [24] Sijbesma R. Synthesis of a Fullerene Derivative for the Inhibition of HIV Enzymes [J]. J Am Chem Soc, 1993, 115:6510. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [25] Schinazi R. F., Sijbesma R., Srdanov G. *et al.* Synthesis and virucidal activity of a water-soluble, configurationally stable, derivatized C₆₀ fullerene [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1993, 37:1707. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [26] Schinazi RF, Eriksson BFH, Hughes SH. Comparison of inhibitory activities of various antiretroviral agents against particle-derived and recombinant human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptases. Antimicrob [J]. Agents Chemother, 1989, 33:115. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [27] 钱凯先, 严庆丰, 黄文栋, 等. C₆₀ 对体外培养癌细胞的光致作用研究 [J]. 生物化学与生物物理进展, 1997, 24:237. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [28] 杨新林, 程福永, 朱鹤孙. 水溶性 C₆₀ 与 C₆₀ 衍生物的生物效应研究进展 [J]. 细胞生物学杂志, 1999, 21(4):173. J Am Chem Soc, 1999, 121:4298.
- [29] Zhou S, Burger C, Chu B, *et al.* Spherical bilayer vesicles of fullerene-based surfactants in water; a laser light scattering study [J]. Science, 2001, 291(5510):1944.

收稿日期:2003-11-12