

## · 论著 ·

## 二氢卟吩 p6-13,15-环酰亚胺类光敏剂的设计合成

刘明辉<sup>1</sup>, 刘俊宏<sup>2</sup>, 韩贵焱<sup>2</sup>, 张星杰<sup>2</sup>, 盛春泉<sup>2</sup>, 姚建忠<sup>1,2</sup> (1. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122; 第二军医大学药学院, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 设计合成比紫红素-18(2)化学性质更稳定的二氢卟吩 p6-13,15-环酰亚胺类光敏剂(1)。方法 以蚕沙叶绿素 a 粗提物(糊状叶绿素)酸水解产物脱镁叶绿酸 a(3)的五元 β-酮基羧酸酯经碱性条件下空气氧化降解制得的紫红素-18(2)为原料,用各种胺包括羧基保护的氨基酸与其酸酐环发生缩合反应制得目标化合物。结果 以 32.6%~65.2%的收率成功合成了目标化合物 1a~1j,其结构经电喷雾质谱(ESI-MS)、氢谱(<sup>1</sup>H NMR)、紫外谱(UV)和元素分析确证。结论 紫红素-18(2)和胺反应可以制得目标化合物 1。该合成路线具有原料廉价易得、反应条件温和、操作简便等优点。

**[关键词]** 光动力治疗;光敏剂;二氢卟吩 p6;环酰亚胺;抗肿瘤

**[中图分类号]** R914.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)01-0026-06

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.01.007

## Design and synthesis of photosensitizer ,13 ,15-cycloimides chlorin p6

LIU Minghui<sup>1</sup>, LIU Junhong<sup>2</sup>, HAN Guiyan<sup>2</sup>, ZHANG Xingjie<sup>2</sup>, SHENG Chunquan<sup>2</sup>, YAO Jianzhong<sup>1,2</sup> (1. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To design and prepare 13,15-cycloimides chlorin p6 (1), a class of chlorin related antitumor photosensitizers, which contain a more stable six-membered cyclic imide comparing to the exocyclic anhydride ring of purpurin-18 (2). Compounds (1) exhibit strong absorption at long wavelengths near  $\lambda_{max}$  700 nm to take full advantage of greater tissue penetration. **Methods** Pheophorbide a (3) was obtained by acid hydrolysis of *chlorophyll a*, which was from crude chlorophyll extracts of Chinese traditional herb named Silkworm excrement. Purpurin-18 (2) was prepared by air oxidation and alkali open loop simultaneously on five-membered beta-keto carboxylic ester ring of pheophorbide a (3). Finally, the target compounds 1a~1j were synthesized via condensation of its anhydride ring with various amines including carboxyl-protected amino acids. **Results** Target compounds 1a~1j were successfully synthesized in yields ranged from 32.6% to 65.2%. Their structures were confirmed by elemental analysis, ESI-MS and <sup>1</sup>H NMR spectra. **Conclusion** Treatment of purpurin-18 (2) with amines can produce target compounds 1a~1j. The starting raw material was inexpensive and readily available. The reaction conditions were mild and workup was convenient.

**[Key words]** photodynamic therapy; photosensitizer; chlorine p6; cycloimide; antitumor

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是20世纪80年代初兴起的临床肿瘤靶向治疗新方法。该疗法随后也应用于某些常规疗法难以治愈的良性常见病的治疗,如治疗鲜红斑痣、微血管类疾病、视网膜黄斑变性、尖锐湿疣等。它以精确、选择性消除病变为特征,其主要机制是用波长与光敏剂

最大吸收波长一致的激光定向辐照富集光敏剂的病灶组织,由光敏剂诱导组织中的基态氧(O<sub>2</sub>)激发产生单线态氧(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)或超氧阴离子自由基等细胞毒性物质(ROS),损伤靶组织细胞<sup>[1-3]</sup>。

第一代卟啉类光敏剂如血卟啉衍生物(hemato-porphyrin derivative, HpD)和卟吩姆钠(porphimer sodium)配合630 nm激光辐照在临床癌症PDT治疗中取得了令人瞩目的成就,但也存在明显缺陷<sup>[4]</sup>:①均为复杂混合物;②最大吸收波长仅为630 nm且吸收系数小,使得630 nm激光穿透肿瘤深度不够;③体内清除慢,滞留光毒性大,病人治疗后需避光1~2个月。

与第一代临床卟啉类光敏剂相比,二氢卟吩类

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81172950),上海市科委重点科技攻关项目(11431920400,11431920401)

**[作者简介]** 刘明辉,硕士研究生。研究方向:药物设计和合成。E-mail:saint\_silent@163.com

**[通讯作者]** 姚建忠,教授,博士生导师。研究方向:抗肿瘤和抗真菌药物研究。Tel:(021)81871235; E-mail:yaojz6601@sina.com

光敏剂如叶绿素 a 降解产物及其衍生物具有结构单一明确、最大吸收波长红移至 660 nm 以上(对组织穿透更深)且吸收系数高一个数量级(光敏作用更强)、单线态氧产率高、体内清除快(滞留光毒性小)等优点,已成为 PDT 研究领域的热点之一<sup>[5,6]</sup>。其中,二氢卟吩 e6 单天门冬氨酸(商品名:talaporfin, 他拉泊芬)已于 2004 年在日本获准上市<sup>[2]</sup>。因此,叶绿素 a 降解产物为衍生半合成具有优良理化性质、高效、低毒的光敏剂奠定了坚实的基础。

紫红素-18(2)为叶绿素 a 的降解产物,具有明确 PDT 抗癌疗效<sup>[7]</sup>。其最大吸收波长达到 698 nm<sup>[8]</sup>,具有相对更强的组织穿透深度。但是,其酸酐环化学性质活泼、成药性差,限制了其进一步

的新药研发。因此,为了设计具有优良的 PDT 抗癌活性和药代性质的光敏剂,本研究以紫红素-18(2)为先导物,考虑到其酸酐环在中性和碱性条件下很不稳定,将酸酐环与胺反应转化为稳定的环酰亚胺而合成一系列二氢卟吩 p6-13, 15-环酰亚胺衍生物(1)。

首先,按文献[8]方法将蚕沙中的叶绿素 a (chlorophyll a)粗提物(糊状叶绿素)用浓盐酸水解制得脱镁叶绿酸 a(3),然后,将化合物 3 溶于乙醚,加入 25% 氢氧化钾的正丙醇液,通空气氧化五元 β-酮基羧酸酐环制得化合物 2,最后,通过各种胺包括羧基保护的氨基酸与其酸酐环一步缩合反应成功合成得到目标化合物 1a~1j,合成路线见图 1。

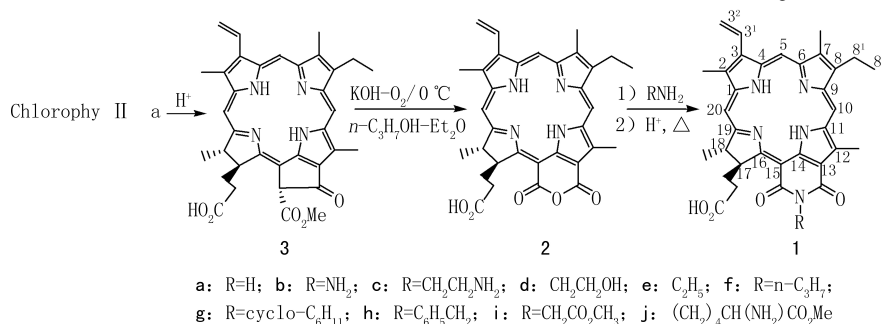


图 1 二氢卟吩 p6-13, 15-环酰亚胺类衍生物(1)的合成

## 1 实验部分

核磁氢谱(<sup>1</sup>H NMR)用 Bruker AVANCE 型核磁共振仪测定, TMS 为内标;电喷雾质谱(ESI-MS)用 Micromass Qtof-Micro LC/MS/MS 质谱仪测定;熔点用 XT4A 显微熔点仪测定,温度未校正;紫外吸收光谱(UV)用 Varian Cary 100 分光光度计测定;元素分析用 MOD-1106 型元素分析仪测定。测定 HPLC 用 Water-600 型高效液相色谱仪(美国),分离柱:ZORBAX ODS 柱(0.46 cm×25 cm),流动相:60% 四氢呋喃水溶液+10% 0.2 mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液,流速:1 ml/min,检测波长:401 nm,灵敏度:0.1 AUFS。柱层析硅胶 H(60 型)由青岛海洋化工集团公司出品。糊状叶绿素由浙江省海宁市天然色素厂生产。其余所用试剂和溶剂均为市售化学纯。脱镁叶绿酸 a(3)粗品按文献[8]方法制备。

**1.1 关键中间体紫红素-18(2)的合成** 取 3 粗品(15 g, HPLC 检测纯度为 55%,理论上含 1 纯品 8.25 g, 13.94 mmol)溶于四氢呋喃(50 ml),加乙醚(500 ml)和 25% (W/V) 氢氧化钾正丙醇液(20 ml),通空气反应 2 h,用水提取(250 ml×3),

18% 盐酸调节 pH 至 5~6,过滤,干燥后经硅胶 H 柱色谱分离得黑色粉末 2(3.2 g),产率 40.7%。HPLC 检测纯度>95%,UV-vis、<sup>1</sup>H NMR 及 ESI-MS 谱符合结构特征,与文献值一致<sup>[8]</sup>。

**1.2 二氢卟吩 p6-13, 15-环酰亚胺(1a)的合成** 取中间体 2(0.4 g, 0.71 mmol)溶于四氢呋喃(20 ml),加浓氨水(5 ml),室温搅拌反应,薄层层析(TLC)监测反应(展开剂:氯仿-甲醇-甲酸=30:1:0.01),反应完毕后除去溶剂,加热溶于醋酐(80 ml),再加无水醋酸钠(4 g)和水(160 ml),于 80 °C 加热反应约 4 h。反应液冷却至室温,用氯仿萃取(50 ml×3)。氯仿液依次用水和饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压回收溶剂后经硅胶 H 柱色谱分离得棕黑色粉末 1a(0.16 g),产率 40.1%。熔点:>250 °C(分解)。HPLC 检测纯度>95%。UV-vis λ<sub>max</sub>(CHCl<sub>3</sub>, nm)(ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>):709(4.3×10<sup>4</sup>),652(9.9×10<sup>3</sup>),551(2.2×10<sup>4</sup>),483(6.9×10<sup>3</sup>),418(1.2×10<sup>5</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm):10.35(br s, 1H, 环酰亚胺 NH),9.70(s, 1H, 10-H),9.44(s, 1H, 5-H),8.76(s, 1H, 20-H),7.86(dd, 1H, J=17.1, 12.0 Hz, 3<sup>1</sup>-H),6.28(d, 1H, J=17.1 Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>b</sub>),6.20(d, 1H, J=

12.0 Hz,  $3^2$ -H<sub>a</sub>), 5.61 (d, 1H,  $J=8.4$  Hz, 17-H), 4.50 (q, 1H,  $J=7.2$  Hz, 18-H), 3.80 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.60 (q, 2H,  $J=7.8$  Hz,  $8^1$ -CH<sub>2</sub>), 3.50 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.16 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.70~2.50 (m, 4H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.92 (d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.63 (t, 3H,  $J=7.8$  Hz,  $8^2$ -Me)。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 564 (M+1)<sup>+</sup> (100%)。元素分析 (C<sub>33</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>) 计算值: C, 70.34; H, 5.86; N, 12.43; 实测值: C, 70.53; H, 5.88; N, 12.39。

**1.3 二氢吡吩 p6-13, 15-(N-氨基)环酰亚胺(1b)的合成** 取中间体 **2** (0.2 g, 0.36 mmol) 溶于四氢呋喃 (20 ml), 加入 40% 水合肼 (NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 10 ml), 室温搅拌反应, TLC 监测 (展开剂: 氯仿-甲醇-甲酸=30:1:0.01) 至反应完毕后, 加醋酸调节 pH 至 3~4, 于 80 °C 加热反应约 12 h。反应液冷却至室温, 加 10 倍量的水稀释, 氯仿萃取 (50 ml×4)。氯仿液依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压回收溶剂后经硅胶 H 柱色谱分离得棕黑色粉末 **1b** (0.13 g), 产率 63.4%。熔点: >250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 >95%。UV-vis λ<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, nm) (ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 711 (4.0×10<sup>4</sup>), 554 (2.3×10<sup>4</sup>), 514 (9.1×10<sup>3</sup>), 421 (1.2×10<sup>5</sup>)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm): 11.93 (br s, H, CO<sub>2</sub>H), 8.94 (s, 1H, 10-H), 8.93 (s, 1H, 5-H), 8.78 (s, 1H, 20-H), 7.89 (dd, 1H,  $J=18.0, 12.0$  Hz,  $3^1$ -H), 6.23 (d, 1H,  $J=18.0$  Hz,  $3^2$ -H<sub>b</sub>), 6.06 (d, 1H,  $J=12.0$  Hz,  $3^2$ -H<sub>a</sub>), 5.16 (d, 1H,  $J=8.4$  Hz, 17-H), 4.45 (q, 1H,  $J=7.2$  Hz, 18-H), 3.38 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.26 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.14 (q, 2H,  $J=7.8$  Hz,  $8^1$ -CH<sub>2</sub>), 2.74 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.40~1.80 [m, 6H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>+13, 15-(CO)<sub>2</sub>N-NH<sub>2</sub>], 1.77 (d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.57 (t, 3H,  $J=7.8$  Hz,  $8^2$ -Me)。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 579 (M+1)<sup>+</sup> (100%)。元素分析 (C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) 计算值: C, 68.51; H, 5.88; N, 14.53; 实测值: C, 68.69; H, 5.90; N, 14.48。

**1.4 二氢吡吩 p6-13, 15-[N-(2-氨基)乙基]环酰亚胺(1c)的合成** 按 **1b** 相同的合成方法, 中间体 **2** (0.2 g, 0.35 mmol) 溶于四氢呋喃 (20 ml) 和新鲜制备的乙二胺一盐酸盐 (NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·HCl, 1.0 g, 10.4 mmol) 反应制得棕黑色粉末 **1c** (0.11 g), 产率 51.2%。熔点: >250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 >95%。UV-vis λ<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, nm) (ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 710 (4.2×10<sup>4</sup>), 653 (1.2×10<sup>4</sup>),

551 (2.3×10<sup>4</sup>), 512 (9.1×10<sup>3</sup>), 484 (7.2×10<sup>3</sup>), 419 (1.2×10<sup>5</sup>)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.79 (s, 1H, 10-H), 9.52 (s, 1H, 5-H), 8.75 (s, 1H, 20-H), 7.90 (dd, 1H,  $J=17.4, 12.0$  Hz,  $3^1$ -H), 6.32 (d, 1H,  $J=17.4$  Hz,  $3^2$ -H<sub>b</sub>), 6.23 (d, 1H,  $J=12.0$  Hz,  $3^2$ -H<sub>a</sub>), 4.80~4.18 [m, 4H, 17-H+18-H+13, 15-(CO)<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>], 3.72 (q, 2H,  $J=7.5$  Hz,  $8^1$ -CH<sub>2</sub>), 3.84 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.34 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.23 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.40~1.80 [m, 8H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>+13, 15-(CO)<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>], 1.87 (d, 3H,  $J=6.6$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.66 (t, 3H,  $J=7.3$  Hz,  $8^2$ -Me)。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 607 (M+1)<sup>+</sup> (100%)。元素分析 (C<sub>35</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) 计算值: C, 69.31; H, 6.27; N, 13.86; 实测值: C, 69.50; H, 6.29; N, 13.81。

**1.5 二氢吡吩 p6-13, 15-[N-(2-羟基)乙基]环酰亚胺(1d)的合成** 按 **1b** 相同的合成方法, 中间体 **2** (0.3 g, 0.53 mmol) 和乙醇胺 (1.0 g, 16.4 mmol) 反应制得棕黑色粉末 **1d** (0.17 g), 产率 52.7%。熔点: >250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 >95%。UV-vis λ<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, nm) (ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 709 (4.1×10<sup>4</sup>), 654 (1.2×10<sup>4</sup>), 552 (2.4×10<sup>4</sup>), 513 (8.9×10<sup>3</sup>), 483 (6.9×10<sup>3</sup>), 420 (1.2×10<sup>5</sup>)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.73 (s, 1H, 10-H), 9.60 (s, 1H, 5-H), 8.72 (s, 1H, 20-H), 7.88 (dd, 1H,  $J=17.8, 12.0$  Hz,  $3^1$ -H), 6.21 (d, 1H,  $J=17.8$  Hz,  $3^2$ -H<sub>b</sub>), 6.08 (d, 1H,  $J=12.0$  Hz,  $3^2$ -H<sub>a</sub>), 5.32 (d, 1H,  $J=7.8$  Hz, 17-H), 4.58 [m, 2H, 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH], 4.35 (q, 1H,  $J=7.2$  Hz, 18-H), 3.81 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.79 [m, 2H, 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH], 3.60 (q, 2H,  $J=7.2$  Hz,  $8^1$ -CH<sub>2</sub>), 3.30 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.15 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.40~1.80 (m, 4H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.75 (d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.62 (t, 3H,  $J=7.2$  Hz,  $8^2$ -Me)。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 608 (M+1)<sup>+</sup> (100%)。元素分析 (C<sub>35</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>) 计算值: C, 69.19; H, 6.10; N, 11.53; 实测值: C, 69.40; H, 6.12; N, 11.49。

**1.6 二氢吡吩 p6-13, 15-(N-乙基)环酰亚胺(1e)的合成** 按 **1a** 相同的合成方法, 中间体 **2** (0.5 g, 0.89 mmol) 和乙胺 (2.0 g, 45.5 mmol) 反应制得棕黑色粉末 **1e** (0.32 g), 产率 61.1%。熔点: >250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 >95%。UV-vis λ<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, nm) (ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 709 (4.0×10<sup>4</sup>), 653 (9.7×10<sup>3</sup>), 551 (2.0×10<sup>4</sup>), 513 (9.1×10<sup>3</sup>), 483

( $7.1 \times 10^3$ ),  $420(1.0 \times 10^5)$ 。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.43(s, 1H, 10-H), 9.20(s, 1H, 5-H), 8.52(s, 1H, 20-H), 7.78(dd, 1H,  $J=18.0, 12.0$  Hz, 3<sup>1</sup>-H), 6.91(d, 1H,  $J=18.0$  Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>b</sub>), 6.07(d, 1H,  $J=12.0$  Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>a</sub>), 5.31(d, 1H,  $J=7.8$  Hz, 17-H), 4.08[m, 2H, 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>], 4.32(q, 1H,  $J=7.2$  Hz, 18-H), 3.71(s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.50(q, 2H,  $J=7.2$  Hz, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.27(s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.03(s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.70~1.90(m, 4H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.72(d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.55[m, 6H, 8<sup>2</sup>-Me + 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 592(M+1)<sup>+</sup> (100%)。元素分析(C<sub>35</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>)计算值: C, 71.07; H, 6.26; N, 11.84; 实测值: C, 71.27; H, 6.28; N, 11.78。

**1.7** 二氢吡吩 p6-13, 15-(*N*-正丙基)环酰亚胺(**1f**)的合成 按 **1a** 相同的合成方法, 中间体 **2** (0.3 g, 0.53 mmol) 和正丙胺 (1.6 g, 27.1 mmol) 反应制得棕黑色粉末 **1f** (0.21 g), 产率 65.2%。熔点: > 250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 > 95%。UV-vis λ<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, nm) (ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 708 (4.1 × 10<sup>4</sup>), 653 (9.8 × 10<sup>3</sup>), 551 (2.1 × 10<sup>4</sup>), 513 (9.2 × 10<sup>3</sup>), 483 (7.2 × 10<sup>3</sup>), 420 (1.1 × 10<sup>5</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.57(s, 1H, 10-H), 9.33(s, 1H, 5-H), 8.56(s, 1H, 20-H), 7.88(dd, 1H,  $J=18.0, 12.0$  Hz, 3<sup>1</sup>-H), 6.25(d, 1H,  $J=18.0$  Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>b</sub>), 6.15(d, 1H,  $J=12.0$  Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>a</sub>), 5.18(d, 1H,  $J=7.8$  Hz, 17-H), 4.38[m, 3H, 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> + 18-H], 3.78(s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.60(q, 1H,  $J=7.5$  Hz, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.32(s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.13(s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.40~1.95[m, 6H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> + 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>], 1.73(d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.63(t, 3H,  $J=7.5$  Hz, 8<sup>2</sup>-Me), 1.15[t, 3H, 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>]。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 606(M+1)<sup>+</sup> (100%), 628(M+Na)<sup>+</sup> (100%)。元素分析(C<sub>36</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>)计算值: C, 71.40; H, 6.45; N, 11.57; 实测值: C, 71.40; H, 6.45; N, 11.53。

**1.8** 二氢吡吩 p6-13, 15-(*N*-环己基)环酰亚胺(**1g**)的合成 按 **1a** 相同的合成方法, 中间体 **2** (0.3 g, 0.53 mmol) 和环己胺 (2.7 g, 27.3 mmol) 反应制得棕黑色粉末 **1g** (0.20 g), 产率 58.3%。熔点: > 250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 > 95%。UV-vis λ<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, nm) (ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 707 (4.1 × 10<sup>4</sup>), 649 (1.0 × 10<sup>4</sup>), 550 (2.1 × 10<sup>4</sup>), 512 (0.89 × 10<sup>3</sup>), 483 (7.1 × 10<sup>3</sup>), 420 (1.1 × 10<sup>5</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.57(s, 1H, 10-H), 9.30(s, 1H, 5-H), 8.58(s, 1H, 20-H), 7.83(dd, 1H,  $J=18.0, 11.1$  Hz, 3<sup>1</sup>-H), 6.24(d, 1H,  $J=18.0$  Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>b</sub>), 6.10(d, 1H,  $J=11.1$  Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>a</sub>), 5.38(m, 2H, 17-H + 环己基叔碳氢), 4.33(q, 1H,  $J=7.2$  Hz, 18-H), 3.78(s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.56(q, 2H,  $J=7.5$  Hz, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.30(s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.10(s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.90~1.40(m, 14H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> + 环己基仲碳氢), 1.73(d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.60(t, 3H,  $J=7.5$  Hz, 8<sup>2</sup>-Me)。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 646(M+1)<sup>+</sup> (62%), 668(M+Na)<sup>+</sup> (100%)。元素分析(C<sub>39</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>)计算值: C, 72.56; H, 6.67; N, 10.85; 实测值: C, 72.78; H, 6.69; N, 10.81。

**1.9** 二氢吡吩 p6-13, 15-(*N*-苄基)环酰亚胺(**1h**)的合成 按 **1a** 相同的合成方法, 中间体 **2** (0.3 g, 0.53 mmol) 和苄胺 (2.9 g, 27.1 mmol) 反应制得棕黑色粉末 **1h** (0.22 g), 产率 63.3%。熔点: > 250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 > 95%。UV-vis λ<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, nm) (ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 708 (4.2 × 10<sup>4</sup>), 653 (1.2 × 10<sup>4</sup>), 550 (2.2 × 10<sup>4</sup>), 512 (9.3 × 10<sup>3</sup>), 483 (7.2 × 10<sup>3</sup>), 420 (1.3 × 10<sup>5</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.43(s, 1H, 10-H), 9.20(s, 1H, 5-H), 8.52(s, 1H, 20-H), 7.82~7.17[m, 6H, 3<sup>1</sup>-H + 5 (Ph-H)], 6.21(d, 1H,  $J=17.7$  Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>b</sub>), 6.10(d, 1H,  $J=11.4$  Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>a</sub>), 5.85(s, 2H, PhCH<sub>2</sub>), 5.35(d, 1H, 17-H), 4.30(q, 1H,  $J=7.2$  Hz, 18-H), 3.75(s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.47(q, 2H,  $J=7.5$  Hz, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.28(s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.03(s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.80~1.93(m, 4H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.73(d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.56(t, 3H,  $J=7.5$  Hz, 8<sup>2</sup>-Me)。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 654(M+1)<sup>+</sup> (100%), 676(M+Na)<sup>+</sup> (16%)。元素分析(C<sub>40</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>)计算值: C, 73.51; H, 5.97; N, 10.72; 实测值: C, 73.72; H, 5.99; N, 10.68。

**1.10** 二氢吡吩 p6-13, 15-[*N*-(甲氧羰基)甲基]环酰亚胺(**1i**)的合成 按 **1a** 相同的合成方法, 中间体 **2** (0.3 g, 0.53 mmol) 和新鲜制备的甘氨酸甲酯 (0.5 g, 5.6 mmol) 反应制得棕黑色粉末 **1i** (0.11 g), 产率 32.6%。熔点: > 250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 > 95%。UV-vis λ<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, nm) (ε / M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 710 (4.2 × 10<sup>4</sup>), 654 (1.1 × 10<sup>4</sup>), 551 (2.3 × 10<sup>4</sup>), 513 (9.1 × 10<sup>3</sup>), 484 (7.3 × 10<sup>3</sup>), 419 (1.2 × 10<sup>5</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 10.01(s, 1H, 10-H), 9.71(s, 1H, 5-H), 8.96(s, 1H, 20-

H), 7.88 (dd, 1H,  $J=18.0, 9.0$  Hz,  $3^1\text{-H}$ ), 6.36 (d, 1H,  $J=18.0$  Hz,  $3^2\text{-H}_b$ ), 6.30 (d, 1H,  $J=9.0$  Hz,  $3^2\text{-H}_a$ ), 5.75 (d, 1H,  $J=7.8$  Hz, 17-H), 5.31 [dd, 2H, 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Me], 4.60 (q, 1H,  $J=7.2$  Hz, 18-H), 4.32 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.91 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.80 (q, 2H,  $J=7.5$  Hz,  $8^1\text{-CH}_2$ ), 3.30 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.25 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.57 (m, 4H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.92 (d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.66 (t, 3H,  $J=7.5$  Hz,  $8^2\text{-Me}$ )。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 636 (M+1)<sup>+</sup> (100%)。元素分析 (C<sub>36</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) 计算值: C, 68.03; H, 5.83; N, 11.02; 实测值: C, 68.23; H, 5.85; N, 10.98。

**1.11 二氢卟吩 p6-13,15-[N-(5-甲氧羰基-5-氨基)戊基]环酰亚胺(1j)的合成** 按 **1a** 相同的合成方法, 中间体 **2** (0.3 g, 0.53 mmol) 和新鲜制备的赖氨酸甲酯 (0.9 g, 5.6 mmol) 反应制得棕黑色粉末 **1j** (0.13 g), 产率 34.6%。熔点: > 250 °C (分解)。HPLC 检测纯度 > 95%。UV-vis  $\lambda_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>, nm) ( $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ): 710 ( $4.3 \times 10^4$ ), 654 ( $1.1 \times 10^4$ ), 551 ( $2.3 \times 10^4$ ), 512 ( $1.0 \times 10^3$ ), 484 ( $7.2 \times 10^3$ ), 419 ( $1.3 \times 10^5$ )。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 9.52 (s, 1H, 10-H), 9.31 (s, 1H, 5-H), 8.70 (s, 1H, 20-H), 7.85 (dd, 1H,  $J=18.0, 11.0$  Hz,  $3^1\text{-H}$ ), 6.20 (d, 1H,  $J=18.0$  Hz,  $3^2\text{-H}_b$ ), 6.09 (d, 1H,  $J=11.0$  Hz,  $3^2\text{-H}_a$ ), 5.75 (d, 1H,  $J=7.8$  Hz, 17-H), 4.61 (q, 1H,  $J=7.2$  Hz, 18-H), 4.36 [m, 2H, 13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH(NH<sub>2</sub>)CO<sub>2</sub>Me], 4.31 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.81 (q, 2H,  $J=7.5$  Hz,  $8^1\text{-CH}_2$ ), 3.68 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.48 [m, 1H, 13, 15-(CO)<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(NH<sub>2</sub>)CO<sub>2</sub>Me], 3.22 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.06 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.50~1.40 [m, 12H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>+13, 15-(CO)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH(NH<sub>2</sub>)CO<sub>2</sub>Me], 1.92 (d, 3H,  $J=7.2$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.65 (t, 3H,  $J=7.5$  Hz,  $8^2\text{-Me}$ )。MS (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ : 707

(M+1)<sup>+</sup> (100%)。元素分析 (C<sub>40</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>) 计算值: C, 67.99; H, 6.52; N, 11.79; 实测值: C, 68.60; H, 6.03; N, 10.73。

## 2 结果与讨论

以蚕沙叶绿素 a 粗提物(糊状叶绿素)酸水解产物脱镁叶绿酸 a(**3**)为原料, 经碱及空气氧化降解制备的紫红素-18(**2**)为关键中间体, 成功设计合成了二氢卟吩 p6-13,15-环酰亚胺类光敏剂 **1a~1j**, 产率达 32.6%~65.2%。该合成路线具有原料廉价易得、反应条件温和、操作简便等优点, 可实现工业化生产。

首先, **3** 的五元  $\beta$ -酮基羧酸酯环的 15<sup>1</sup>-位活泼氢具有酸性, 可在碱作用下形成烯醇负碳离子后与空气中的氧分子发生氧化反应生成过氧化物(**4**), 然后溶液中的氢氧根负离子进攻 13<sup>1</sup>-位羰基形成氧负离子, 通过电子转移导致五元  $\beta$ -酮基羧酸酯环开环形成紫红素-7 甲酯(**5**)过渡中间体, 接着其 13<sup>1</sup>-位酰氧负离子与 15<sup>1</sup>-位羰基进行分子内亲核反应构成六元环并脱去甲氧羰基而最终生成 **2**<sup>[9]</sup>。

其次, **2** 的环状酸酐官能团先与各种胺发生酰化反应开环而形成极不稳定的二氢卟吩 p6-13-酰胺衍生物(**6a**)和二氢卟吩 p6-15-酰胺衍生物(**6b**), 接着其 13<sup>1</sup>-位(或 15<sup>1</sup>-位)酰胺氮原子对 15<sup>1</sup>-位(或 13<sup>1</sup>-位)羰基在酸催化下发生分子内亲核反应形成六元氮杂环并脱水而生成目标化合物 **1a~1j**(图 2)。这样, **2** 的酸酐环修饰为酰亚胺环后, 不但提高了其在中性或碱性条件下的化学稳定性, 紫外最大吸收波长也从 698 nm 红移至 710 nm 左右且摩尔吸收系数较卟吩姆钠( $\epsilon=1170 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )高一个数量级(见表 1), 同时还克服了其酸酐基团性质活泼、成药性差的缺陷, 从而为研发高效、低毒、理化性质稳定的理想光敏剂创造条件。另外, 目标化合物的 PDT 抗癌生物活性评价正在进行中。

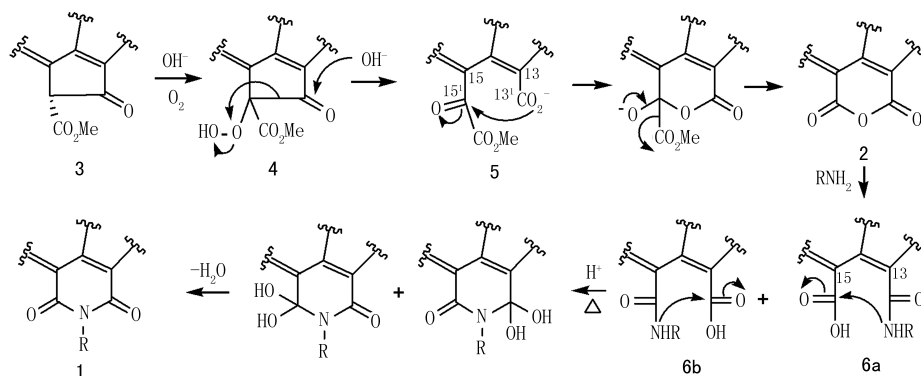


图 2 紫红素-18(**2**)和二氢卟吩 p6-13,15-环酰亚胺(**1**)形成的机制

粉碎时间,筛选出最佳粒径。在使用球磨机的过程中,随着研磨时间增加,药物粒径先减小后增加,分析原因为药物在达到一定粒径后,继续研磨便发生聚集、结块,使粒径增大。

**3.2 影响因素考察结果** 处方筛选结果经相似因子法判定表明,含药层 PEO 分子量及用量、助推层氯化钠用量、控释衣膜厚度及韧性对控释片的体外释放行为均有影响。

**3.2.1 含药层的影响** 含药层需加入释药载体即助悬剂,其目的是保证含药层吸水后难溶性药物形成混悬液,防止药物沉淀析出。如若助悬剂助悬能力不足,药物不能完全混悬,即使增加助推层的推动力,也难以完全释药,并且沉淀物易将释药孔堵塞,使片芯内部压力不断上升,导致衣膜破裂,释药孔胀大。本实验研究表明 PEO ( $M_r$  200 000)能满足要求,使药物顺利释放。当 PEO 相对分子质量继续增加时,水化时间延长,使初期释药速率过慢。同时,PEO 相对分子质量过大会使片芯内部混悬液黏稠度过高,减慢释药速率。

**3.2.2 助推层的影响** 氯化钠是形成片芯内外渗透压的主要因素,故可通过调节助推层氯化钠的用量来调节释药速率。氯化钠用量增加,片芯内外渗

透压差增大,水分渗入片芯速率加快,从而导致药物释放加快。

**3.2.3 控释衣膜的影响** 控释衣膜的性质对于渗透泵控释片的释药影响很大,其具体因素包括控释衣膜对水分的通透性、成膜材料性质、衣膜厚度及释药孔径等。本实验选择 CA 为成膜材料,丙酮为溶剂,当不加增塑剂时,药物释放曲线偏离零级释放,且重现性不好,加入适量的邻苯二甲酸二丁酯,衣膜韧性增强,药物零级释放效果好,也易于重现。

### 【参考文献】

- [1] Thombre AG, Appel LE, Chidlaw M, *et al.* Osmotic drug delivery using swellable-core technology[J]. *J Control Release*, 2004, 94(1):75-89.
- [2] Langley MS, Sorkin EM. Nimodipine: a view of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in cerebra vascular disease [J]. *Drugs*, 1989, 37(5): 669-699.
- [3] 姜红, 金少红. 固体药物制剂的溶出度比较[J]. *中国药事*, 2000, 14(5):326-328.
- [4] 夏锦辉, 刘昌孝. 固体药物制剂的体外溶出度的统计学评价分析[J]. *中国药学杂志*, 2000, 35(2):130-131.

[收稿日期] 2015-08-25 [修回日期] 2016-05-03

[本文编辑] 顾文华

(上接第 30 页)

表 1 目标化合物的最大吸收波长及其摩尔吸收系数数据

	1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h	1i	1j
$\lambda_{\max}$ (nm)	709	711	710	709	709	708	707	708	710	710
$\epsilon \times 10^4$ ( $M^{-1} cm^{-1}$ )	4.3	4.0	4.2	4.1	4.0	4.1	4.1	4.2	4.2	4.3

### 【参考文献】

- [1] Agostinis P, Berg K, Cengel KA, *et al.* Photodynamic therapy of cancer: an update[J]. *CA Cancer Clin*, 2011, 61(4): 250-281.
- [2] Abrahamse H, Hamblin MR. New photosensitizers for photodynamic therapy[J]. *Biochem J*, 2016, 473(4): 347-364.
- [3] Dougherty TJ. An update on photodynamic therapy applications[J]. *J Clin Laser Med Sur*, 2002, 20(1): 3-7.
- [4] Drogat N, Gady C, Granet R, *et al.* Design and synthesis of water-soluble polyaminated chlorins and bacteriochlorins with nearinfrared absorption [J]. *Dyes Pigments*, 2013, 98: 609-614.
- [5] Oliveira KT, Momo PB, Assis FF, *et al.* Chlorins: natural sources, synthetic developments and main applications [J].

*Curr Org Synth*, 2014, 11(1): 42-58.

- [6] Meng Z, Yu B, Han G, *et al.* Chlorin p6-based water-soluble amino acid derivatives as potent photosensitizers for photodynamic therapy[J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 4999-5010.
- [7] 沈卫楠, 姚建忠, 方勇, 等. 叶绿素 a 降解产物紫红素-18 的光动力效应[J]. *中国医药工业杂志*, 2001, 32(5): 217-219.
- [8] 姚建忠, 许德余, 陈文晖, 等. 蚕沙叶绿素的降解及二氢卟吩 P<sub>6</sub> 酰胺衍生物的合成[J]. *中国医药工业杂志*, 1999, 30(9): 403-406.
- [9] 王进军, 韩光范, 郭旭然, 等. 叶绿素-a 及其衍生物的 Q<sub>y</sub> 轴向氧化反应和 E-环重排反应[J]. *有机化学*, 2005, 25(1): 101-108.

[收稿日期] 2016-11-16 [修回日期] 2016-12-12

[本文编辑] 顾文华