

· 论 著 ·

## 二氢卟吩 p<sub>6</sub> 醚类光敏剂的合成及光动力抗癌活性研究

马福家<sup>1</sup>, 孟志<sup>2</sup>, 张星杰<sup>2</sup>, 王媛<sup>3</sup>, 马志强<sup>2</sup>, 姚建忠<sup>2,3</sup> (1. 海军军医大学海军特色医学中心药剂科, 上海 200052; 2. 海军军医大学药学院, 上海 200433; 3. 宁夏医科大学药学院, 宁夏银川 750004)

**[摘要]** 目的 基于前期研究表明二氢卟吩 f 的 3-乙烯基成醚修饰具有更强的光敏抗肿瘤活性而设计合成二氢卟吩 p<sub>6</sub> 醚类光敏剂(1), 研究其初步体外光动力抗癌活性。方法 以蚕沙叶绿素 a 粗提物酸水解产物脱镁叶绿酸 a(5)经碱及空气氧化降解制得的紫红素-18(4)为先导物, 通过碱水解和 CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> 甲基化制得二氢卟吩 p<sub>6</sub> 三甲酯(2), 2 与 33% HBr 加成后再和烷氧醇发生亲核取代反应生成目标化合物(1), 并评价其对黑色素瘤 B16-F10 细胞的光动力杀伤效应。结果 6 个目标化合物 1a-1f 对黑色素瘤 B16-F10 细胞的体外光动力抗癌活性均优于同类阳性对照药他拉泊芬和维替泊芬, 其结构经电喷雾质谱(ESI-MS)、氢谱(<sup>1</sup>H NMR)、碳谱(<sup>13</sup>C NMR)及电喷雾高分辨质谱(ESI-HRMS)确证。结论 二氢卟吩 p<sub>6</sub> 醚类光敏剂具有光动力抗癌活性强、治疗指数(暗毒/光毒比)高等优点, 值得进一步开发研究。

**[关键词]** 光动力治疗; 光敏剂; 二氢卟吩 p<sub>6</sub>; 醚衍生物; 抗肿瘤

**[中图分类号]** R915 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2020)01-0052-05

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.201907017

## Design, synthesis and antitumor activities of chlorin p<sub>6</sub> ether derivatives as photosensitizer for photodynamic therapy

MA Fujia<sup>1</sup>, MENG Zhi<sup>2</sup>, ZHANG Xingjie<sup>2</sup>, WANG Yuan<sup>3</sup>, MA Zhiqiang<sup>2</sup>, YAO Jianzhong<sup>2,3</sup> (1. Department of Pharmacy, Naval Characteristic Medical Center of PLA, Shanghai 200052, China; 2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 3. School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

**[Abstract]** **Objective** To design, synthesize a series of chlorin p<sub>6</sub> ether photosensitizers and preliminarily investigate their photodynamic antitumor activity based on previous research results that alkoxy ether derivatives of 3-vinyl on chlorin f exhibited stronger photosensitive antitumor activity than parent compound. **Methods** Purpurin-18 (4) was obtained by oxidative degradation with air and alkali on pheophorbide a (5) which was prepared through acid hydrolysis of *chlorophyll a* from crude chlorophyll extracts in Chinese traditional herb named Silkworm excrement. Then, chlorin p<sub>6</sub> trimethylester (2) were formed via basic hydrolysis of internal anhydride ring for lead compound 3 and following immediately methylation with CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>. The intermediate 2 reacted with 33% HBr, following nucleophilic substitution with various alkoxy alcohol to get six title compounds (1). All title compounds were subjected to photodynamic antitumor activity screening for melanoma B16-F10 cell *in vitro*. **Results** All title compounds showed much higher phototoxicity against melanoma B16-F10 cells than talaporfin and verteporfin. Their structures were confirmed by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, ESI-MS and ESI-HRMS spectra. **Conclusion** Chlorin p<sub>6</sub> ether compounds were promising candidate photosensitizers for PDT applications due to their high dark toxicity/phototoxicity ratio and excellent phototoxicity, which were worthy of further research and development.

**[Key words]** photodynamic therapy (PDT); photosensitizer; chlorine p<sub>6</sub>; ether derivatives; antitumor

光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)是一种基于光化学的肿瘤治疗新技术。PDT 通过定向光照摄入光敏剂的肿瘤组织, 由光、肿瘤组织中的氧和光敏剂三者联合作用产生单线态氧、超氧阴离

子和自由基等活性氧物质(reactive oxygen species, ROS), 其中, ROS 通过启动 3 种抗肿瘤生物机制而发挥抗肿瘤效应<sup>[1-3]</sup>: ①ROS 直接杀伤肿瘤细胞; ②肿瘤相关性血管闭合, 导致肿瘤组织发生大面积缺血性坏死; ③激活机体内的抗肿瘤免疫记忆和系统免疫反应。

卟啉、二氢卟吩和菌绿素等四吡咯类化合物是目前研究最多的一类光敏剂。第一代卟啉类光敏剂卟吩姆钠(porphimer sodium)和喜泊芬等最早获批

**[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(11431920401)

**[作者简介]** 马福家, 副主任药师, Email: mfujia@126.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, Email: yaojz6601@sina.com

用于临床肿瘤 PDT, 并取得了显著疗效, 但存在成分复杂结构不明确、最大吸收波长短 (~630 nm) 且摩尔吸收系数小使 630 nm 激光对病灶组织的穿透性差、体内代谢慢导致滞留光敏副作用持续时间长等缺陷。相比卟啉类光敏剂, 二氢卟吩及菌绿素类化合物具有化学结构明确、最大吸收波长长 (>650 nm) 且吸收系数高一个数量级 (该波长激光对组织穿透更深)、单线态氧产率高 (光敏作用更强)、体内清除快 (滞留光毒性小) 等优点, 已成为新一代光敏剂的研究热点<sup>[4-8]</sup>。其中, 他拉泊芬 (talaporfin)、维替泊芬 (verteporfin)、替莫泊芬 (temoporfin) 和帕利泊芬 (padeliporfin) 已先后获批上市<sup>[9-10]</sup>。

紫红素-18(4)为二氢卟吩类叶绿素 a 稳定降解产物, 具有显著的 PDT 抗癌活性<sup>[11]</sup>, 但其内酸酐环化学性质活泼、成药性差, 而其内酸酐水解物二氢卟吩 p<sub>6</sub>(3)又极不稳定, 室温放置即很快脱水变回 4。课题组前期研究表明, 二氢卟吩 f 的 3-乙炔基成醚修饰具有更强的体内外光敏抗肿瘤活性<sup>[12-13]</sup>, 据此, 本文以蚕沙叶绿素 a 粗提物 (糊状叶绿素) 酸水解产物脱镁叶绿酸 a(5)经强碱条件下通空气氧化降解制得的 4<sup>[14]</sup>为先导, 通过碱水解及 CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> 甲基化制得的二氢卟吩 p<sub>6</sub> 三甲酯(2)为关键中间体, 与 33% HBr 加成后再和烷氧醇发生亲核取代而设计合成化学性质稳定的二氢卟吩 p<sub>6</sub> 醚类衍生

物 1a-1f, 以期筛选获得高效、低毒的 PDT 治癌药物候选化合物, 合成路线见图 1。

## 1 化学实验

### 1.1 仪器与试剂

#### 1.1.1 仪器

核磁氢谱 (<sup>1</sup>H NMR) 和碳谱 (<sup>13</sup>C NMR) 用 Bruker MSL-300 和 600 型核磁共振仪测定, TMS 为内标; 电喷雾质谱 (ESI-MS) 用 API-3000LC-MS 型质谱仪测定; 高分辨质谱 (ESI-HRMS) 用 Agilent 6538 UHD Accurate-Mass Q-TOF LC/MS 型质谱仪测定。紫外谱 (UV) 用岛津 UV-160 型紫外分光光度计测定。

#### 1.1.2 试剂

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。脱镁叶绿酸 a(5) 和紫红素-18(4) 均按文献 [14] 方法制备。其余所用化学试剂和溶剂均为市售化学纯商品。

### 1.2 二氢卟吩 p<sub>6</sub> 醚类衍生物 (1a-1f) 的合成

#### 1.2.1 二氢卟吩 p<sub>6</sub> 三甲酯(2)的合成

取化合物 4 (1.0 g, 1.77 mmol) 溶于四氢呋喃 (THF) (25 ml), 加甲醇 (100 ml) 和 0.5 M NaOH 水溶液 (125 ml), 室温搅拌反应 45 min, 用稀

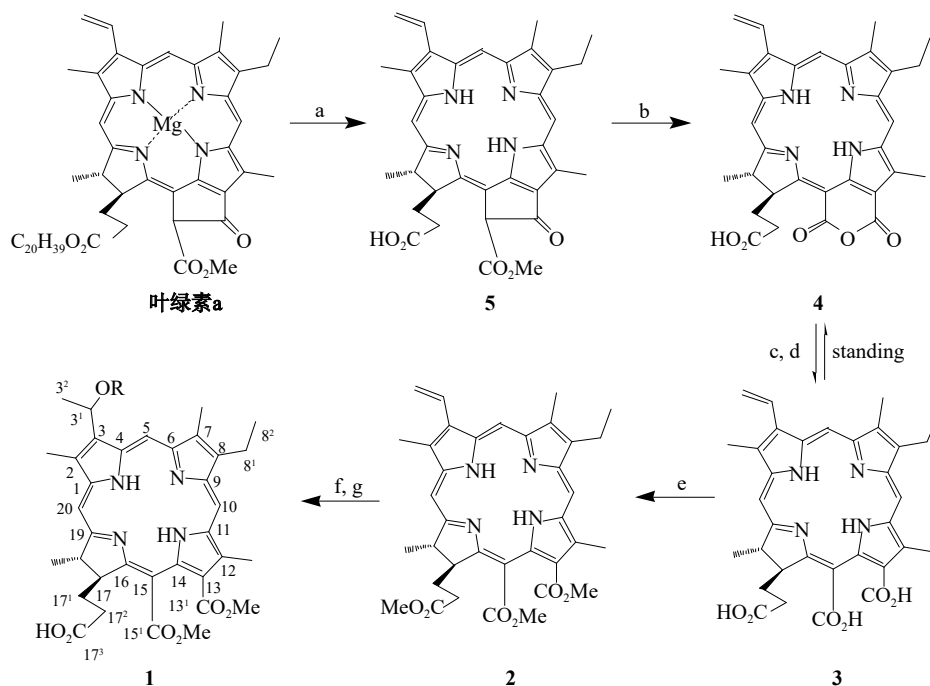


图 1 二氢卟吩 p<sub>6</sub> 醚类衍生物的合成

试剂和反应条件: (a) 36% HCl, Et<sub>2</sub>O, 0~5 °C, 30 min; (b) KOH, *i*-PrOH-Et<sub>2</sub>O, O<sub>2</sub>, 12 h; (c) THF-CH<sub>3</sub>OH-0.5 M NaOH (1 : 4 : 5), 1 h; (d) 稀 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调节 pH 至 5~6→Et<sub>2</sub>O 萃取; (e) CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>-Et<sub>2</sub>O; (f) 33% HBr-HOAc, r.t., 36 h; (g) ROH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, r.t., 2.5 h.  
ROH: R=CH<sub>3</sub> (1a), C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (1b), *n*-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> (1c), *n*-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub> (1d), *n*-C<sub>5</sub>H<sub>11</sub> (1e), *n*-C<sub>6</sub>H<sub>13</sub> (1f)

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调节 pH 至 5~6, 乙醚萃取 (50 ml×3), 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 乙醚液于冰盐浴条件下加入新鲜配制的 2.8% (W/V) 重氮甲烷乙醚液 (CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>-Et<sub>2</sub>O) (10 ml), 反应 5 min, 加少量乙酸, 水洗, 减压回收溶剂, 硅胶 H 柱色谱分离得黑色粉末 **2** (0.92 g), 产率 83.2%。UV-vis λ<sub>max</sub> (THF, nm): 666, 611, 530, 501, 402。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.96 (s, 1H, 10-H), 9.38 (s, 1H, 5-H), 8.68 (s, 1H, 20-H), 7.92 (dd, 1H, *J*=17.9 and 11.5 Hz, 3<sup>1</sup>-H), 6.28 (d, 1H, *J*=17.9 Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>B</sub>), 6.10 (d, 1H, *J*=11.5 Hz, 3<sup>2</sup>-H<sub>A</sub>), 4.46 (m, 2H, 17-H and 18-H), 4.24 (s, 3H, 15<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 4.20 (s, 3H, 13<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 3H, 17<sup>3</sup>-CH<sub>3</sub>), 3.59 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.38 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.18 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 3.55 (q, 2H, *J*=7.5 Hz, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 2.51~2.10 (m, 4H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.85 (d, 3H, *J*=7.2 Hz, 18-Me), 1.62 (t, 3H, *J*=7.5 Hz, 8<sup>2</sup>-Me)。MS (ESI<sup>+</sup>) *m/z*: 625.48 [M+H]<sup>+</sup> (100%)。

#### 1.2.2 3-去乙烯基-3-(1-甲氧基)乙基二氢吡吩 p<sub>6</sub>-13,15-二甲酯 (**1a**) 的合成

取化合物 **2** (100 mg, 0.16 mmol), 磁力搅拌下用注射器缓慢加入 33% 氢溴酸冰醋酸溶液 (20 ml), 避光密封条件下室温继续搅拌反应 36 h。反应完毕, 减压蒸除过量氢溴酸和冰醋酸得黑色固体。所得黑色固体溶于干燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml), 加入 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (100 mg) 和干燥甲醇 (2 ml), 氮气保护下搅拌室温反应 2.5 h。反应完毕, 加 3 倍量水, 分取有机层, 水洗 3 次, 减压回收 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 硅胶 H 柱色谱分离 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇/丙酮/甲酸=100/2/2/0.1), 得黑色固体产物 **1a**, 34.6 mg, 收率 32.7%。UV-vis λ<sub>max</sub> (THF, nm): 662, 608, 525, 497, 397。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm): 12.08 (s, 1H, CO<sub>2</sub>H), 9.79 (s, 2H, 10- and 5-H), 8.98 (s, 1H, 20-H), 5.97 (m, 1H, 3<sup>1</sup>-H), 4.99 (m, 1H, 17-H), 4.55 (m, 1H, 18-H), 4.14 (s, 3H, 15<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 4.10 (s, 3H, 13<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 3.73 (m, 2H, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.60 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.47 (s, 3H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 3.30 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.21 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.35 (m, 2H, 17<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>), 2.15 (m, 2H, 17<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 2.00 (d, 3H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.78 (d, 3H, 3<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.61 (t, 3H, 8<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), -1.16 (s, 1H, NH), -1.30 (s, 1H, NH)。MS (ESI<sup>+</sup>) *m/z*: 643.73 [M+H]<sup>+</sup> (100%); (ESI<sup>-</sup>) *m/z*: 641.62 [M-H]<sup>-</sup> (100%); HRMS (ESI<sup>-</sup>) *m/z*: 642.3059 [M]<sup>-</sup>, calcd for C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 642.3053。

#### 1.2.3 3-去乙烯基-3-(1-乙氧基)乙基二氢吡吩 p<sub>6</sub>-13,15-二甲酯 (**1b**) 的合成

同 **1a** 合成操作, 由化合物 **2** (100 mg, 0.16 mmol)

和 33% 氢溴酸冰醋酸溶液 (20 ml) 反应得到的氢溴酸加成物与无水乙醇 (2 ml) 反应制得黑色固体产物 **1b**, 收率 28.2%。UV-vis λ<sub>max</sub> (THF, nm): 662, 606, 577, 499, 398。MS (ESI<sup>+</sup>) *m/z*: 657.50 [M+H]<sup>+</sup> (100%)。<sup>1</sup>H NMR [300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm]: 12.07 (s, 1H, CO<sub>2</sub>H), 9.62 (s, 1H, 10-H), 9.06 (s, 1H, 5-H), 8.82 (s, 1H, 20-H), 5.91 (m, 1H, 3<sup>1</sup>-H), 4.92 (m, 1H, 17-H), 4.51 (m, 1H, 18-H), 4.32 (s, 3H, 15<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 4.15 (s, 3H, 13<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 3.69 (m, 2H, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.58 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.45 (m, 2H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.33 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.22 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.32 (m, 2H, 17<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>), 2.21 (m, 2H, 17<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 1.96 (d, 3H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.83 (d, 3H, 3<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.63 (t, 3H, 8<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 0.91 (m, 3H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -1.01 (s, 1H, NH), -1.26 (s, 1H, NH)。

#### 1.2.4 3-去乙烯基-3-(1-正丙氧基)乙基二氢吡吩 p<sub>6</sub>-13,15-二甲酯 (**1c**) 的合成

同 **1a** 合成操作, 由化合物 **2** (100 mg, 0.16 mmol) 和 33% 氢溴酸冰醋酸溶液 (20 ml) 反应得到的氢溴酸加成物与无水正丙醇 (2 ml) 反应制得黑色固体产物 **1c**, 收率 32.1%。UV-vis λ<sub>max</sub> (THF, nm): 661, 578, 543, 499, 400。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm): 12.06 (s, 1H, CO<sub>2</sub>H), 9.85 (s, 1H, 10-H), 9.72 (s, 1H, 5-H), 8.97 (s, 1H, 20-H), 5.96 (m, 1H, 3<sup>1</sup>-H), 4.99 (m, 1H, 17-H), 4.57 (m, 1H, 18-H), 4.14 (s, 3H, 15<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 4.12 (s, 3H, 13<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 3.69 (m, 2H, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.57 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.38 (m, 2H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), 3.30 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.16 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.37 (m, 2H, 17<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>), 2.13 (m, 2H, 17<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 1.97 (d, 3H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.80 (d, 3H, 3<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.64 (t, 3H, 8<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.56 (m, 2H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.89 (t, 3H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -1.13 (s, 1H, NH), -1.28 (s, 1H, NH)。MS (ESI<sup>+</sup>) *m/z*: 671.46 [M+H]<sup>+</sup> (100%); MS (ESI<sup>-</sup>) *m/z*: 669.48 [M-H]<sup>-</sup> (100%)。

#### 1.2.5 3-去乙烯基-3-(1-正丁氧基)乙基二氢吡吩 p<sub>6</sub>-13,15-二甲酯 (**1d**) 的合成

同 **1a** 合成操作, 由化合物 **2** (100 mg, 0.16 mmol) 和 33% 氢溴酸冰醋酸溶液 (20 ml) 反应得到的氢溴酸加成物与无水正丁醇 (2 ml) 反应制得黑色固体产物 **1d**, 收率 27.8%。UV-vis λ<sub>max</sub> (THF, nm): 661, 579, 545, 498, 400。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm): 12.02 (s, 1H, CO<sub>2</sub>H), 9.83 (s, 1H, 10-H), 9.66 (s, 1H, 5-H), 8.98 (s, 1H, 20-H), 5.88 (m, 1H, 3<sup>1</sup>-H), 5.05 (m, 1H, 17-H), 4.58 (m, 1H, 18-H), 4.16 (s, 3H, 15<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 4.15 (s, 3H, 13<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 3.58 (m, 2H,

8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.55 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.47 (m, 2H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>), 3.35 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.10 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.40 (m, 2H, 17<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>), 2.12 (m, 2H, 17<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 1.92 (d, 3H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.83 (d, 3H, 3<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.68 (t, 3H, 8<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.60-1.30 (m, 4H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.72 (t, 3H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -1.13 (s, 1H, NH), -1.25 (s, 1H, NH)。 <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm): 174.91, 174.38, 170.22, 167.59, 166.58, 145.46, 141.12, 140.85, 137.70, 136.20, 135.17, 134.73, 132.66, 129.09, 112.95, 104.73, 103.70, 101.03, 94.46, 72.41, 68.82, 53.24, 52.90, 52.73, 48.81, 41.72, 34.11, 32.22, 31.91, 29.23, 24.83, 23.89, 21.82, 19.49, 19.09, 17.90, 14.13, 12.49, 11.09。 MS (ESI<sup>+</sup>) *m/z*: 685.49 [M+H]<sup>+</sup> (100%); MS (ESI<sup>-</sup>) *m/z*: 683.43 [M - H]<sup>-</sup> (52%), 1367.12 [2M - H]<sup>-</sup> (100%)。

### 1.2.6 3-去乙烯基-3-(1-正戊氧基)乙基二氢吡吩 p<sub>6</sub>-13,15-二甲酯(1e)的合成

同 1a 合成操作,由化合物 2(100 mg, 0.16 mmol)和 33% 氢溴酸冰醋酸溶液(20 ml)反应得到的氢溴酸加成物与无水正戊醇(2 ml)反应制得黑色固体产物 1e, 收率 26.7%。UV-vis λ<sub>max</sub> (THF, nm): 661, 581, 542, 499, 401。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm): 12.01 (s, 1H, CO<sub>2</sub>H), 9.87 (s, 1H, 10-H), 9.78 (s, 1H, 5-H), 8.97 (s, 1H, 20-H), 5.96 (m, 1H, 3<sup>1</sup>-H), 4.99 (m, 1H, 17-H), 4.56 (m, 1H, 18-H), 4.15 (s, 3H, 15<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 4.12 (s, 3H, 13<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 3.66 (m, 2H, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.60 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.49 (m, 2H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>), 3.38 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.19 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.36 (m, 1H, 17<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>), 2.06 (m, 2H, 17<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 1.99 (d, 3H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.80 (d, 3H, 3<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.66 (t, 3H, 8<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.60-1.28 (m, 6H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 0.74 (t, 3H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -1.14 (s, 1H, NH), -1.27 (s, 1H, NH)。 <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm): 174.91, 174.34, 170.17, 167.49, 166.57, 145.71, 140.90, 137.69, 136.40, 135.20, 132.73, 129.02, 12.91, 104.92, 103.60, 101.11, 94.43, 72.44, 72.39, 69.14, 53.24, 52.81, 52.72, 48.72, 34.16, 31.68, 31.33, 29.84, 29.39, 28.57, 25.61, 24.55, 23.47, 22.10, 19.19, 18.06, 14.24, 12.54, 11.30, 11.12。 MS (ESI<sup>+</sup>) *m/z*: 699.52 [M+H]<sup>+</sup> (100%); MS (ESI<sup>-</sup>) *m/z*: 697.41 [M-H]<sup>-</sup> (67%), 1395.16 [2M-H]<sup>-</sup> (100%)。

### 1.2.7 3-去乙烯基-3-(1-正己氧基)乙基二氢吡吩 p<sub>6</sub>-13,15-二甲酯(1f)的合成

同 1a 合成操作,由化合物 2(100 mg, 0.16 mmol)和 33% 氢溴酸冰醋酸溶液(20 ml)反应得到的氢溴酸加成物与无水正己醇(2 ml)反应制得黑色固体产物 1f, 收率 36.3%。UV-vis λ<sub>max</sub> (THF, nm): 660, 582, 544, 498, 401。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm): 12.07 (s, 1H, CO<sub>2</sub>H), 9.81 (s, 1H, 10-H), 9.67 (s, 1H, 5-H), 8.95 (s, 1H, 20-H), 5.87 (m, 1H, 3<sup>1</sup>-H), 5.02 (m, 1H, 17-H), 4.56 (m, 1H, 18-H), 4.15 (s, 3H, 15<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 4.13 (s, 3H, 15<sup>1</sup>-OCH<sub>3</sub>), 3.55 (s, 3H, 12-CH<sub>3</sub>), 3.51 (m, 2H, 8<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.37 (m, 2H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>), 3.34 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>), 3.11 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.40~2.10 (m, 4H, 17-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.93 (d, 3H, 18-CH<sub>3</sub>), 1.81 (d, 3H, 3<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.68 (t, 3H, 8<sup>2</sup>-CH<sub>3</sub>), 1.52 (m, 3H), 1.52~1.47 (m, 8H, 3<sup>1</sup>-OCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>), 0.56 (t, 3H, 3<sup>1</sup>-O(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), -1.13 (s, 1H, NH), -1.27 (s, 1H, NH)。 <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ, ppm): 173.84, 173.48, 169.72, 166.87, 166.10, 154.25, 148.25, 145.10, 140.48, 137.06, 135.85, 134.65, 134.00, 132.10, 128.50, 122.41, 104.30, 103.11, 100.67, 93.80, 71.90, 68.61, 53.24, 52.70, 52.38, 48.28, 31.24, 30.95, 29.54, 28.76, 25.44, 24.41, 23.36, 21.85, 18.61, 17.45, 13.57, 11.97, 10.57。 MS (ESI<sup>+</sup>) *m/z*: 713.45 [M+H]<sup>+</sup> (100%)。

## 2 体外光动力抗肿瘤活性测试

### 2.1 实验方法

#### 2.1.1 细胞培养

小鼠黑色素 B16-F10 细胞(中科院上海细胞库)在含 2 mg/ml 的碳酸氢钠、4.5 mg/ml 葡萄糖、100 μg/ml 链霉素硫酸盐、40 mg/ml 庆大霉素、100 U/ml 青霉素、10%(V/V)热灭活胎牛血清(FBS)的 RPMI 1640 培养基(Hyclone, Logan, UT, USA)中,置于 5%CO<sub>2</sub> 温度为 37 °C 的恒温培养箱中培养。

#### 2.1.2 细胞暗毒性

于 96 孔板上每孔接种 5×10<sup>3</sup> 个 B16-F10 细胞,按“2.1.1”项条件培养。取待测样品配成已知浓度的二甲基亚砜待测液,用 PBS 稀释成不同浓度后加入细胞培养液,继续培养 48 h。将细胞培养液吸出,加入含 10%(V/V)CCK-8(Dojindo Laboratories, Japan)的培养液 200 μl,继续培养 1.5 h,然后用酶标仪(Tecan, Switzerland)与波长 450 nm 处测定每孔的吸光度值,相应测算细胞存活率,并计算各待测样品的半数抑制肿瘤生长浓度(IC<sub>50</sub> 值)。

#### 2.1.3 细胞光毒性

于 96 孔板上每孔接种 5×10<sup>3</sup> 个 B16-F10 细

胞,按“2.1.1”项条件培养,加入已知浓度的待测样品,培养24 h。然后用678 nm波长的光照射,光剂量10 J/cm<sup>2</sup>,继续培养24 h。再按“2.1.2”项所述CCK-8法测定细胞存活率,并计算各待测样品的IC<sub>50</sub>值。

## 2.2 活性测试结果

以临床光敏药物维替泊芬和他拉泊芬为阳性对照药,受试化合物对小鼠黑色素B16-F10细胞的PDT抗癌活性结果见表1。

表1 目标化合物对B16-F10细胞的PDT抗癌活性

化合物	IC <sub>50</sub> (μmol/L)		暗毒/光毒比
	暗毒性	光毒性	
<b>1a</b>	45.15	0.34	132.8
<b>1b</b>	35.91	0.27	133.0
<b>1c</b>	18.51	0.26	71.2
<b>1d</b>	45.61	0.24	190.0
<b>1e</b>	23.80	0.21	113.3
<b>1f</b>	16.84	0.20	84.2
维替泊芬	26.83	1.43	18.8
他拉泊芬	215.40	9.95	21.7

## 3 结果与讨论

以蚕沙叶绿素a粗提物(糊状叶绿素)酸碱氧化降解产物紫红素-18(**4**)为先导物,经氢溴酸加成和烷氧醇取代反应成功合成得到了二氢卟吩p<sub>6</sub>醚类光敏剂**1a-1f**(图1),但两步反应总收率偏低,仅为22.2%~30.2%,需要开展后续合成工艺优化研究。

目标化合物**1a-1f**的结构经ESI-MS、<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR及ESI-HRMS确证。由表1结果可见,所有目标化合物对小鼠黑色素B16-F10细胞的光毒性随醚键碳链增长而增强(**1f**≥**1e**>**1d**>**1c**≥**1b**>**1a**),相比临床同类光敏药物维替泊芬和他拉泊芬分别强4.2~7.2倍和29.3~49.8倍,且均具有更高的暗毒/光毒比,提示二氢卟吩p<sub>6</sub>醚类光敏剂具有光动力抗癌活性强、治疗指数(暗毒/光毒比)高等

优点,值得开发研究。

## 【参考文献】

- [1] AGOSTINIS P, BERG K, CENGEL K A, et al. Photodynamic therapy of cancer: an update[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(4): 250-281.
- [2] ABRAHAMSE H, HAMBLIN M R. New photosensitizers for photodynamic therapy[J]. *Biochem J*, 2016, 473(4): 347-364.
- [3] DOUGHERTY T J. An update on photodynamic therapy applications[J]. *J Clin Laser Med Surg*, 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 near-infrared absorption[J]. *Dye Pigment*, 2013, 98(3): 609-614.
- [5] OLIVEIRA K, MOMO P, ASSIS F, 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 Y, et al. Chlorin p<sub>6</sub>-based water-soluble amino acid derivatives as potent photosensitizers for photodynamic therapy[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(10): 4999-5010.
- [7] ZHANG X J, MENG Z, MA Z Q, et al. Design and synthesis of novel water-soluble amino acid derivatives of chlorin p<sub>6</sub> ethers as photosensitizer[J]. *Chin Chem Lett*, 2019, 30(1): 247-249.
- [8] GAO Y H, LOVREKOVIĆ V, KUSSAYEVA A, et al. The photodynamic activities of dimethyl 13<sup>1</sup>-[2-(guanidinyl)ethyl-amino] chlorin e<sub>6</sub> photosensitizers in A549 tumor[J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 177: 144-152.
- [9] 张丹萍, 陈志龙, 杨晓霞, 等. 光动力药物的研究与开发[J]. *药学进展*, 2007, 31(12): 529-535.
- [10] 闵祥燕, 曹宁, 严懿嘉, 等. 光动力新药帕利泊芬研究进展[J]. *药学进展*, 2019, 43(3): 231-237.
- [11] 沈卫镒, 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.
- [12] 姚建忠, 陈文晖, 贺祥, 等. 二氢卟吩F甲醚的合成及其光敏化力和肿瘤光生物活性[J]. *药学学报*, 2000, 35(1): 63-66.
- [13] 姚建忠, 刘建飞, 张万年, 等. 2-(1-羟基)乙基二氢卟吩及其醚衍生物的合成和肿瘤光生物活性[J]. *中国药物化学杂志*, 2001, 11(1): 1-4.
- [14] 姚建忠, 许德余, 陈文晖, 等. 蚕沙叶绿素的降解及二氢卟吩P6酰胺衍生物的合成[J]. *中国医药工业杂志*, 1999, 30(9): 403-406.

[收稿日期] 2019-07-04 [修回日期] 2019-09-24  
[本文编辑] 李睿旻