



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101200468 B

(45) 授权公告日 2012.06.13

(21) 申请号 200710186678.3

A61K 31/409 (2006.01)

(22) 申请日 2003.12.23

A61P 31/04 (2006.01)

(30) 优先权数据

0229742.2 2002.12.23 GB

(56) 对比文件

CN 100360536 C, 2006.03.29, 权利要求 1-58.

(62) 分案原申请数据

200380109937.2 2003.12.23

Drexler, C. 等. design, synthesis and cleaving activity of an abiotic nuclease based on a manganese(III) porphyrin complex bearing two acridine moieties. Chemical Communications. 1998, 1343-1344.

(73) 专利权人 命运之神药品有限公司

地址 英国布赖顿

专利权人 索尔维亚斯股份公司

审查员 刘杰

(72) 发明人 D·布伦迪什 X·D·冯 W·洛夫

W·里斯-威廉斯 B·皮然

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 梁谋

(51) Int. Cl.

C07D 487/22 (2006.01)

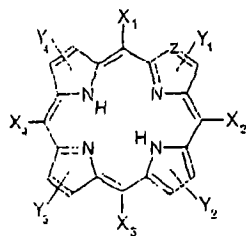
权利要求书 4 页 说明书 61 页 附图 28 页

(54) 发明名称

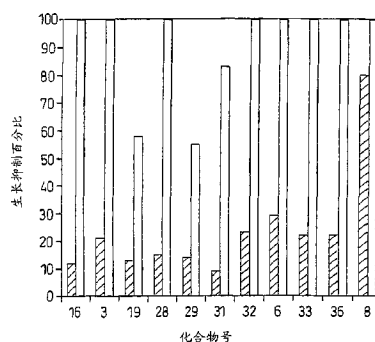
新型化合物和其用途

(57) 摘要

式(I)的化合物:其中 $X_1, X_2, X_3, X_4, Y_1, Y_2, Y_3, Y_4$ 和 Z 的定义如说明书所述,和这种化合物的金属化形式,其可用于需要光动力学化合物的医学状况的治疗中。还公开了药物制剂和治疗那些需要光动力学试剂的医学状况的方法。还公开了包含本发明化合物的消毒液,和其用途。

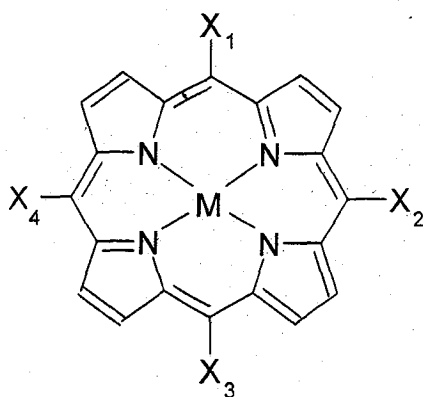


(I)



■ 没有照射下的生长抑制百分比
□ 照射30分钟后的生长抑制百分比

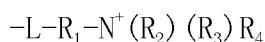
1. 式 I 的化合物：



I

其中：

X_1, X_2, X_3 和 X_4 独立地代表氢原子, 亲脂性片断, 苯基, 低级烷基或芳烷基, 或下式的阳离子基团：



其中：

L 是不存在或者是选自苯氧基、亚苯基、磺酰胺基、氨基磺酰基、磺酰亚氨基、苯基磺酰胺基、苯基氨基磺酰基、脲、尿烷和氨基甲酸酯连接片断的连接片断；

R_1 代表低级亚烷基、低级亚烯基或低级亚炔基, 其任选被一个或多个选自低级烷基、低级亚烷基、氟、 OR_5 、 $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_7$ 、 $C(O)NR_8R_9$ 、 $NR_{10}R_{11}$ 和 $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ 的取代基取代；和

R_2, R_3 和 R_4 独立地代表 H, 芳基, 低级烷基, 低级烯基或低级炔基, 后三者任选被一个或多个选自低级烷基、低级亚烷基、芳基、 OR_5 、 $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_7$ 、 $C(O)NR_8R_9$ 、 $NR_{10}R_{11}$ 和 $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ 的取代基取代；

$R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, R_{13}$ 和 R_{14} 独立地代表 H 或低级烷基,

M 是选自 Cu(II), Fe(III), Ru, Ni(II) 和 Mn(III) 的金属元素, 和

其中

所述亲脂性片断是式 $-(CH_2)_pCH_3$ 的饱和的直链烷基, 其中 "p" 是 1-22 的整数；

所述低级烷基独立选自直链或支链、环状或非环状 C_1-C_{20} 烷基；

所述低级亚烷基独立选自直链或支链、环状或非环状 C_1-C_{20} 亚烷基；

所述低级烯基独立选自直链或支链、环状或非环状 C_2-C_{20} 烯基；

所述低级亚烯基独立选自直链或支链、环状或非环状 C_2-C_{20} 亚烯基；

所述低级炔基独立选自直链或支链、环状或非环状 C_2-C_{20} 炔基；

所述低级亚炔基独立选自直链或支链、环状或非环状 C_2-C_{20} 亚炔基；

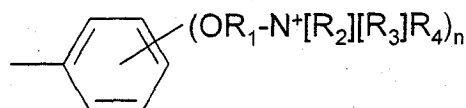
所述芳基独立选自包括 6-10 元碳环芳族基团；

所述芳烷基独立选自包括通过如上述所定义的低级烷基连接到卟啉环上的如上述所定义的芳基基团；

条件是 X_1, X_2, X_3 和 X_4 中的至少一个是如上定义的阳离子基团, 且 X_1, X_2, X_3 和 X_4 中的

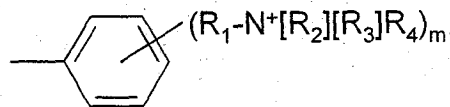
至少一个是氢原子。

2. 根据权利要求 1 的化合物,其中 M 是 Fe(III) 或 Cu(II)。
3. 根据权利要求 1 或 2 的化合物,其中 M 为 Fe(III)。
4. 根据权利要求 1 的化合物,其中 M 是 Cu(II)。
5. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 R_1 是未取代的低级亚烷基,低级亚烯基或低级亚炔基基团,所述低级亚烷基,低级亚烯基或低级亚炔基基团如权利要求 1 定义。
6. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 R_1 是 $-(CH_2)_m-$,且 "m" 是 1-20 的整数。
7. 根据权利要求 6 的化合物,其中 "m" 是 1-3 的整数。
8. 根据权利要求 7 的化合物,其中 "m" 是 3。
9. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 R_2 、 R_3 和 / 或 R_4 是如权利要求 1 定义的低级烷基,低级烯基或低级炔基基团。
10. 根据权利要求 9 的化合物,其中 R_2 、 R_3 和 / 或 R_4 是未取代的低级烷基,所述低级烷基如权利要求 1 定义。
11. 根据权利要求 9 的化合物,其中 R_2 、 R_3 和 R_4 中的至少一个是被伯、仲或叔胺基团或季铵基团取代的烷基。
12. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 R_1 是 $-(CH_2)_3-$, R_2 和 R_3 是 CH_3 , R_4 是 $-(CH_2)_3-N(CH_3)_2$ 。
13. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 R_1 是 $-(CH_2)_3-$,且 R_2 、 R_3 和 R_4 均为 CH_3 。
14. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 R_1 是 $-(CH_2)_3-$,且 R_2 、 R_3 和 R_4 均为 C_2H_5 。
15. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 L 选自苯氧基和亚苯基连接片断。
16. 根据权利要求 15 的化合物,其中 X_1 、 X_2 、 X_3 和 / 或 X_4 是:



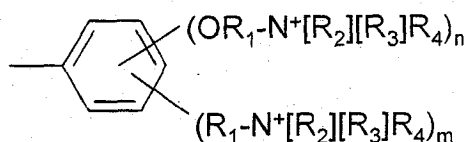
其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如权利要求 1 定义并且 "n" 是 1-3 的整数。

17. 根据权利要求 15 的化合物,其中 X_1 、 X_2 、 X_3 和 / 或 X_4 是:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如权利要求 1 定义, "m" 是 1-3 的整数。

18. 根据权利要求 15 的化合物,其中 X_1 、 X_2 、 X_3 和 / 或 X_4 是:



其中, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如权利要求 1 定义, "n" 和 "m" 是 1-3 的整数,且其中 "n" 和 "m" 的和是 1-3 的整数。

19. 根据权利要求 16-18 任一项的化合物,其中 "n" 或 "m" 是 3。
20. 根据权利要求 16-18 任一项的化合物,其中 "n" 或 "m" 是 2。

21. 根据权利要求 16-18 任一项或 20 的化合物,其中" n" 和 / 或" m" 是 1。
22. 根据权利要求 1-4 的化合物,其中所述化合物包括两个如权利要求 1 定义的阳离子基团,在卟啉环的相对侧,即在环位 5 和 15 上,或者在环位 10 和 20 上。
23. 根据权利要求 22 的化合物,其中, X_1 和 X_3 是氢原子,如权利要求 1 定义的亲脂性片断,苯基,如权利要求 1 定义的低级烷基或芳烷基, X_2 和 X_4 是如权利要求 1 定义的阳离子基团,或反之亦然。
24. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中所述化合物包括两个如权利要求 1 定义的阳离子基团,在卟啉环的相邻位置上,即,在环位 5 和 10 上,或在环位 10 和 15 上,或在环位 15 和 20 上,或在环位 20 和 5 上。
25. 根据权利要求 24 的化合物,其中 X_1 和 X_2 是氢, X_3 和 X_4 是如权利要求 1 定义的阳离子基团,或者 X_2 和 X_3 是氢, X_4 和 X_1 是如权利要求 1 定义的阳离子基团。
26. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 中的至少一个是如权利要求 1 定义的亲脂性片断。
27. 根据权利要求 26 的化合物,其中所述亲脂性片断是式 $-(CH_2)_pCH_3$ 的饱和的直链烷基,其中" p" 是 2-16 的整数。
28. 根据权利要求 27 的化合物,其中" p" 是 4-12。
29. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 中没有一个如权利要求 1 定义的亲脂性片断。
30. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中 X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 中没有一个如权利要求 1 定义的亲脂性片断。
31. 根据权利要求 1-4 任一项的化合物,其中所述化合物是水溶性的。
32. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5,15-双-(4-{3-[(3-二甲氨基-丙基)-二甲基铵基]-丙氧基}-苯基)-卟啉二氯化物的金属化形式。
33. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5,15-双[4-(3-三乙铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉二氯化物的金属化形式。
34. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5,15-双-[3-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉二氯化物的金属化形式。
35. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5,15-双-[4-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉二氯化物的金属化形式。
36. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5-[3,5-双-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-15-十一烷基-卟啉二氯化物的金属化形式。
37. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5-{4-[3-二甲基-(3-二甲基氨基丙基)-铵基-丙氧基]苯基}-15-(4-十二烷氧基-苯基)-卟啉氯化物的金属化形式。
38. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 3-[(3-[(3-{4-[15-(4-十二烷氧基-苯基)-卟啉-5-基]-苯氧基}-丙基)-二甲基-铵基]-丙基)-二甲基-铵基)-丙基]-三甲基-铵三氯化物的金属化形式。
39. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5,15-双-[3-(3-三甲基-铵基-丙氧基)-苯基]-10-十一烷基-卟啉二氯化物的金属化形式。
40. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5-{4-[3-二甲基-(3-三甲铵基-丙基)-铵基-丙氧基]-苯基}-15-(4-十二烷氧基-苯基)-卟啉二氯化物的金属化形式。

41. 根据权利要求 1 的化合物,其中所述化合物是 5-[4-(3- 二甲基癸基 - 铵基丙氧基)- 苯基]-15-{4-[3- 二甲基-(3- 二甲基氨丙基)- 铵基丙氧基]- 苯基} 卟啉二氯化物的金属化形式。

42. 一种药物制剂,其包括与药学上或兽医学上可接受的助剂、稀释剂或载体混合的根据权利要求 1-41 任一项的化合物。

43. 根据权利要求 1-41 任一项的化合物在制备用于治疗 and / 或预防性治疗微生物感染的药物方面的用途。

44. 根据权利要求 1-41 任一项的化合物在制备用于消灭微生物的药物方面的用途。

45. 根据权利要求 43 或 44 的用途,其中所述微生物选自细菌、支原体、酵母菌、真菌和病毒。

46. 根据权利要求 43 或 44 的用途,其中所述微生物是对一种或多种常规的抗生素有耐药性的细菌。

47. 根据权利要求 1-41 任一项的化合物在制备用于预防和 / 或治疗皮肤感染的药物方面的用途。

48. 根据权利要求 1-41 任一项的化合物在制备用于预防和 / 或治疗肺感染的药物方面的用途。

49. 根据权利要求 1-41 任一项的化合物在制备用于预防和 / 或治疗伤口感染和 / 或溃疡的药物方面的用途。

50. 一种消毒液,其包括根据权利要求 1-41 任一项的化合物。

51. 根据权利要求 50 的消毒液,还包括表面活性试剂。

新型化合物和其用途

[0001] 本申请是以下申请的分案申请：申请日：2003 年 12 月 23 日；申请号：200380109937.2(PCT/GB2003/005649)；发明名称：同上。

[0002] 领域

[0003] 本发明涉及化合物和其在需要光动力学化合物的医学病症的治疗中的用途，特别是，在治疗或预防性治疗微生物集群和感染中的用途。

[0004] 背景

[0005] 有越来越多的微生物演生出对于抗生素的抗药性，这已经被认为是世界范围内的健康问题 (Tunger 等人, 2000, *Int. J. Microb. Agents*, 15 :131-135 ;Jorgensen 等人, 2000, *Clin. Infect. Dis.*, 30 :799-808)。因此，迫切需要研制出用于消灭微生物的非抗生素手段，来控制不能用抗生素治疗的感染，和限制演变出另外的耐抗生素的菌株。

[0006] 通过光动力学疗法 (PDT) 治疗微生物感染代表着一种有价值的用于根除细菌的可供选择的方法，因为它涉及到一种与大多数抗生素的典型机理明显不同的机理。因此，PDT 的作用基础是使用光敏分子，它们一旦被光活化，就能生成反应性氧物种，这种物种对于大量原核和真核细胞，包括细菌、支原体和酵母菌是有毒的 (Malik 等人, 1990, *J. Photochem. Photobiol. BBiol.*, 5 :281-293 ;Bertoloni 等 人, 1992, *Microbios*, 71 :33-46)。重要的是，许多光动力学试剂对于细菌的光敏活性不会被对抗生素的抗药性削弱，而是主要取决于它们的化学结构 (Malik 等人, 1992, *J. Photochem. Photobiol. BBiol.*, 14 :262-266)。

[0007] 各种类型的中性和阴离子型光敏试剂显示出突出的对革兰氏阳性细菌的光毒活性。但是，这种光敏试剂不会对革兰氏阴性细菌产生明显的细胞毒素活性，除非用乙二胺四乙酸 (EDTA) 或多聚阳离子处理而改变外膜的渗透性 (Bertoloni 等人, 1990, *FEMS Microbiol. Lett.*, 71 :149-156 ;Nitzan 等 人, 1992, *Photochem. Photobiol.*, 55 :89-97)。人们相信，革兰氏阴性细菌的细胞外膜，比革兰氏阳性细菌的更复杂，更厚，它们能阻碍光敏试剂的有效结合，或阻断并钝化由光敏试剂通过光产生的细胞毒素活性组分 (Ehrenberg 等 人, 1985, *Photochem. Photobiol.*, 41 :429-435 ;Valduga 等 人, 1993, *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.*, 21 :81-86)。

[0008] 相反，带正电的（阳离子的）光敏试剂，包括卟啉和酞菁，会促进革兰氏阴性细菌的有效钝化而不需要对细胞外膜的自然结构进行改性 (Merchat 等人, 1996, *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.*, 32 :153-157 ;Minnock 等人, 1996, *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.*, 32 :159-164)。看来，正电荷有利于光敏试剂在关键细胞位点上的结合，它们一旦被曝光损害，就会造成细胞生存能力丧失 (Merchat 等人, 1996, *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.*, 35 :149-157)。

[0009] 因此，已经有人报道说，在用阳离子的 5,10,15,20-四-(4-N-甲基吡啶基)-卟吩 (T_4MPyP) 培养之后，大肠杆菌能有效地被可见光灭活 (Valduga 等人, 1999, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 256 :84-88)。这种卟啉的光毒活性主要通过损伤酶和外膜及细胞质膜的传输功能，而不是由与 DNA 的结合介导。

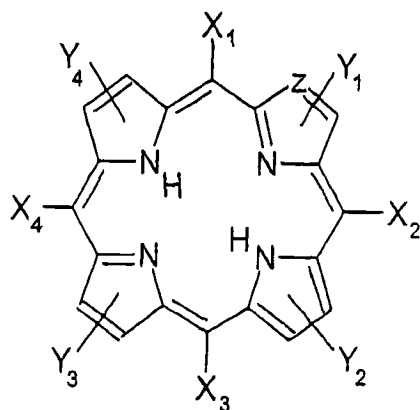
[0010] 但是, 由于对哺乳动物宿主组织细胞的毒性, 即, 化合物没有能力把靶标微生物细胞和寄主细胞区分开来, 已知的卟啉基光动力学疗法试剂的应用受到一定的限制。另外, 使用已知的卟啉基光动力学疗法试剂由于它们对于靶标微生物细胞的相对低效能而受到进一步的限制。

[0011] 因此, 需要具有提高的毒性分布、具有高效能、并可用于 PDT 中以优先消灭微生物细胞的卟啉基化合物。

[0012] 概述

[0013] 根据本发明的第一方面, 提供具有下式 I 的化合物:

[0014]



I

[0015] 其中:

[0016] X_1, X_2, X_3 和 X_4 独立地代表 (即, 是相同或不同的) 氢原子, 亲脂性片断, 苯基, 低级烷基, 烷芳基或芳烷基, 或下式的阳离子基团:

[0017] $-L-R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$

[0018] 其中:

[0019] L 是连接片断或者不存在;

[0020] R_1 代表低级亚烷基、低级亚烯基或低级亚炔基, 其任选被一个或多个选自低级烷基、低级亚烷基 (任选被氧间隔)、氟、 OR_5 、 $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_7$ 、 $C(O)NR_8R_9$ 、 $NR_{10}R_{11}$ 和 $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ 的取代基取代; 和

[0021] R_2, R_3 和 R_4 独立地代表 (即是相同或不同的) H, 芳基, 低级烷基, 低级烯基或低级炔基, 后三者任选被一个或多个选自低级烷基、低级亚烷基 (任选被氧间隔)、芳基、 OR_5 、 $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_7$ 、 $C(O)NR_8R_9$ 、 $NR_{10}R_{11}$ 和 $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ 的取代基取代;

[0022] Z 是 $-CH$ 或 N;

[0023] Y_1, Y_2, Y_3 和 Y_4 不存在或者独立地代表芳基, 低级烷基, 低级烯基或低级炔基, 后三者任选被一个或多个选自低级烷基、低级亚烷基 (任选被氧间隔)、芳基、 OR_5 、 $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_7$ 、 $C(O)NR_8R_9$ 、 $NR_{10}R_{11}$ 和 $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ 的取代基取代; 和

[0024] $R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, R_{13}$ 和 R_{14} 独立地代表 H 或低级烷基,

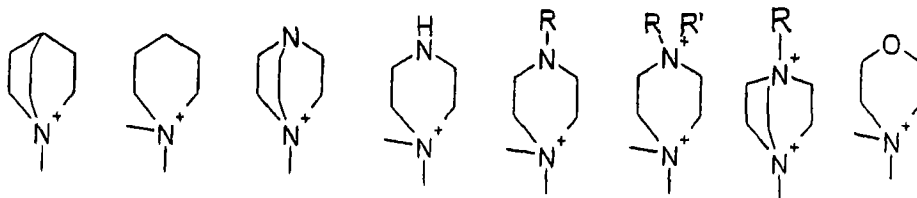
[0025] 条件是 X_1, X_2, X_3 和 X_4 中的至少一个是如上定义的阳离子基团, 和 X_1, X_2, X_3 和 X_4 中的至少一个是氢原子、苯基、亲脂性片断、或低级烷基、烷芳基或芳烷基。

[0026] 术语“低级烷基”用来包括直链或支链、环状或非环状 C_1-C_{20} 烷基, 其可以被氧间

隔（优选在每一烷基链中存在不超过 5 个氧原子）。 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 可以代表的低级烷基包括 C_1 - C_{18} 烷基， C_1 - C_{16} 烷基， C_1 - C_{14} 烷基， C_1 - C_{12} 烷基， C_1 - C_{10} 烷基， C_1 - C_9 烷基， C_1 - C_8 烷基， C_1 - C_7 烷基， C_1 - C_6 烷基， C_1 - C_5 烷基， C_1 - C_4 烷基， C_1 - C_3 烷基，和 C_1 - C_2 烷基。 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 和 R_{11} 可以代表的优选的低级烷基包括 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、 C_8 、 C_9 、 C_{10} 、 C_{11} 、 C_{12} 、 C_{13} 、 C_{14} 、 C_{15} 和 C_{16} 烷基。

[0027] 因此， R_1 - R_{14} （或 X_1 - X_4 ）中的任何一个或多个可以代表环胺 / 铵基团，例如：

[0028]



[0029] 应当理解，所述环胺 / 铵基团也可以包括比 6 个少或多于 6 个的成员，例如这种基团可以包括 4-、5-、7-、8-、9- 或 10- 元环。

[0030] 术语“低级亚烷基”也被相应地解释。

[0031] 术语“低级烯基”和“低级炔基”分别用来包括直链或支链、环状或非环的 C_2 - C_{20} 烯基和炔基，每一个都可以被氧间隔（优选每一个烯基或炔基链中存在不超过 5 个氧原子）。

[0032] 术语“低级烯基”还包括顺和反式几何异构体。 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 可以代表的低级烯基包括 C_2 - C_{18} 烯基， C_2 - C_{17} 烯基， C_2 - C_{16} 烯基， C_2 - C_{14} 烯基， C_2 - C_{12} 烯基， C_2 - C_{10} 烯基， C_2 - C_8 烯基， C_2 - C_7 烯基， C_2 - C_6 烯基， C_2 - C_5 烯基， C_2 - C_4 烯基， C_2 - C_3 烯基，和 C_3 - C_4 烯基。 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 和 R_{11} 可以代表的优选的低级烯基包括 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、 C_8 、 C_9 、 C_{10} 、 C_{11} 、 C_{12} 、 C_{13} ，和 C_{14} 烯基。

[0033] 术语“低级亚烯基”也被相应地解释。

[0034] R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 可以代表的低级炔基包括 C_2 - C_{18} 炔基， C_2 - C_{16} 炔基， C_2 - C_{14} 炔基， C_2 - C_{12} 炔基， C_2 - C_{10} 炔基， C_2 - C_9 炔基， C_2 - C_8 炔基， C_2 - C_7 炔基， C_2 - C_6 炔基， C_2 - C_5 炔基， C_2 - C_4 炔基， C_2 - C_3 炔基，和 C_3 - C_4 炔基。 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 和 R_{11} 可以代表的优选的低级炔基包括 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、 C_8 、 C_9 、 C_{10} 、 C_{11} 、 C_{12} 、 C_{13} ，和 C_{14} 炔基。

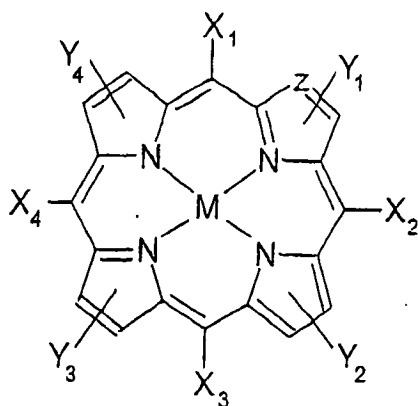
[0035] 术语“低级亚炔基”也被相应地解释。

[0036] 术语“芳基”包括 6-10 元碳环芳族基团，如苯基和萘基，这些基团任选被一个或多个选自氟、氰基、硝基、低级烷基（即烷芳基）、 OR_5 、 $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_7$ 、 $C(O)NR_8R_9$ 和 $NR_{10}R_{11}$ 的取代基取代。

[0037] 术语“芳烷基”包括通过低级烷基连接到吡啶环上的芳基基团。

[0038] 本发明的第二方面，提供具有下式 II 的化合物：

[0039]



II

[0040] 其中 M 是金属元素或准金属元素, $X_1, X_2, X_3, X_4, Y_1, Y_2, Y_3, Y_4$ 和 Z 定义如上。

[0041] 术语“金属元素”用来包括二价或三价金属元素。优选, 所述金属元素是抗磁的。更优选, 所述金属元素选自 Zn(II), Cu(II), La(III), Lu(III), Y(III), In(III), Cd(II), Mg(II), Al(III), Ru, Ni(II), Mn(III), Fe(III) 和 Pd(II)。最优选, 所述金属元素是 Ni(II), Mn(III), Fe(III) 或 Pd(II)。

[0042] 术语“准金属”用来包括具有处于金属和非金属之间的物理和化学性质, 如导电能力的元素。术语准金属元素包括硅(Si)和锗(Ge)原子, 其任选被一个或多个配体取代。

[0043] 应当理解, 术语金属元素和准金属元素包括具有正氧化态的金属元素或准金属元素, 所有这些均被一个或多个选自氟、OH、OR₁₅ 的配体取代, 其中 R₁₅ 是低级烷基, 低级烯基, 低级炔基, 芳烷基, 芳基或烷芳基, 这些基团的定义如上(其中芳基和烷芳基是单取代的)。

[0044] 式 I 和 II 的化合物包括至少一个阳离子基团。因此, 本发明的化合物可以带有净的正电荷, 例如 +1, +2, +3, +4, +5, +6 或更多电荷。在优选实施方案中, 化合物带有低于 +4 的净电荷, 例如 +1, +2 或 +3。在特别优选的实施方案中, 化合物带有净电荷 +2。

[0045] 本领域的技术人员应当理解, 式 I 和 II 的化合物可以用抗衡阴离子平衡。示范性的抗衡阴离子包括, 但是不局限于, 卤化物(如氟化物, 氯化物和溴化物), 硫酸盐(如癸基硫酸盐), 硝酸盐, 高氯酸盐, 磺酸盐(如甲烷磺酸盐)和三氟醋酸盐。其他适当的抗衡阴离子是本领域技术人员公知的。因此, 式 I 和 II 化合物的药物学和/或兽医学可接受的衍生物, 如盐和溶剂化物, 也包括在本发明的范围内。可以提及的盐包括: 酸加成盐, 例如, 与无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸和磷酸形成的盐, 与羧酸或有机磺酸形成的盐; 碱加成盐; 与碱形成的金属盐, 例如钠和钾盐。

[0046] 本领域技术人员另外也将理解, 式 I 的化合物可以显示互变异构现象。所有的互变异构形式和其混合物包括在本发明的范围内。

[0047] 式 I 和 II 的化合物也可以包含一个或多个不对称碳原子, 因此可以显示光学和/或非对映异构现象。非对映异构体可以使用传统方法, 如色谱法或分步结晶法分离。各种不同的立体异构体可以通过用通用的方法, 如分步结晶或 HPLC, 分离所述化合物的外消旋或其他混合物来分离。或者, 希望的光学异构体可以通过使适当的光学活性原料在不会产生消旋或差向异构的条件下反应, 或者例如用同手性酸衍生, 随后通过传统方法(如 HPLC, 硅胶色谱)分离非对映的酯来制备。所有的立体异构体都包括在本发明的范围内。

[0048] 在本发明第一和第二方面化合物的优选实施方案中, Z 是 -CH。

[0049] 本发明第一和第二方面化合物的特征在于,取代基 X_1, X_2, X_3 和 X_4 中至少一个是如上定义的式 $-L-R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$ 的季铵阳离子基团。优选, X_1, X_2, X_3 和 X_4 中没有一个是苯胺或吡啶盐阳离子基团。

[0050] 在优选实施方案中, R_1 是未取代的低级亚烷基,低级亚烯基或低级亚炔基基团。

[0051] 有利的是, R_1 是式 $-(CH_2)_m-$ 的直链低级亚烷基基团。

[0052] 优选, "m" 是 1-20 的整数,更优选, "m" 是 1-10 的整数,例如 1-6, 1-5, 1-4 或 1-3。 R_1 可以代表的优选的直链低级亚烷基基团包括上述化学式的基团,其中 m 是 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 或 10。最优选, "m" 是 2 或 3。

[0053] 季铵片断上的其余 3 个取代基,即, R_2, R_3 和 R_4 , 可以相同或不同,选自 H, 低级烷基, 低级烯基或低级炔基, 后三者任选被一个或多个选自低级烷基、 OR_5 、 $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_7$ 、 $C(O)NR_8R_9$ 、 $NR_{10}R_{11}$ 和 $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ 的取代基取代。

[0054] 在优选实施方案中, R_2, R_3 和 / 或 R_4 是低级烷基,低级烯基或低级炔基基团。

[0055] 优选, R_2, R_3 和 / 或 R_4 是未取代的低级烷基。

[0056] 任选, R_2, R_3 和 R_4 中的至少一个是被伯、仲或叔胺基团或季铵基团取代的烷基。

[0057] 在本发明第一和第二方面化合物的优选实施方案中, R_1 是 $-(CH_2)_3-$, R_2 和 R_3 是 CH_3 , R_4 是 $-(CH_2)_3-N(CH_3)_2$ 。

[0058] 在本发明第一和第二方面化合物的供选择的优选实施方案中, R_1 是 $-(CH_2)_3-$, R_2, R_3 和 R_4 均为 CH_3 。

[0059] 在本发明第一和第二方面化合物的另外供选择的优选实施方案中, R_1 是 $-(CH_2)_3-$, R_2, R_3 和 R_4 都是 C_2H_5 。

[0060] 有利的是, X_1, X_2, X_3 和 X_4 中的至少一个是如上定义的阳离子基团,和 X_1, X_2, X_3 和 X_4 中的至少一个是氢原子。

[0061] 优选, X_1, X_2, X_3 和 X_4 中的每一个都是氢原子或如上定义的阳离子基团。

[0062] 方便地,如果存在于本发明的化合物中的话,任何伯、仲或叔胺基团的 pK 值都大于 8,以确保当处于生理环境中时该基团被质子化。

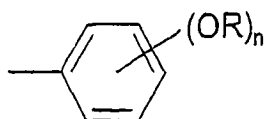
[0063] 季铵阳离子基团任选通过连接片断 L 连接到卟啉环上。

[0064] 优选的连接片断 L 包括苯氧基、亚苯基、磺酰胺基、氨基磺酰基、磺酰亚氨基、苯基磺酰胺基、苯基氨基磺酰基、脲、尿烷和氨基甲酸酯连接片断。

[0065] 在优选实施方案中,季铵阳离子基团通过苯氧基连接基连接到卟啉环上。

[0066] 因此, X_1, X_2, X_3 和 / 或 X_4 可以具有以下化学式:

[0067]

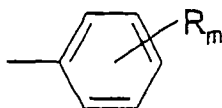


[0068] 其中 R 是如上定义的 $R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$, "n" 是 1-3 的整数。

[0069] 在供选择的优选实施方案中,季铵阳离子基团通过亚苯基连接基连接到卟啉环上。

[0070] 因此, X_1, X_2, X_3 和 / 或 X_4 可以具有以下化学式:

[0071]

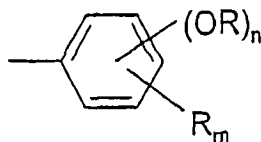


[0072] 其中 R 是如上定义的 $R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$, "m" 是 1-3 的整数。

[0073] 优选, "m" 是 2, 最优选 1。

[0074] 在供选择的优选实施方案中, X_1 、 X_2 、 X_3 和 / 或 X_4 可以具有以下化学式:

[0075]



[0076] 其中 R 是 $R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$, "n" 和 "m" 定义如上, 且 "n+m" 在 1-3 之间。

[0077] 有利的是, L 包含在对位单取代的苯环 (如苯氧基, 亚苯基, 苯基磺酰胺基或苯氨基磺酰基)。或者, L 可以是在间或邻位单或二取代的。L 也可以是同时在对和邻位取代的。

[0078] 在供选择的优选实施方案中, 季铵阳离子基团直接连接到卟啉环上, 即 L 不存在。

[0079] 在本发明第一和第二方面的优选实施方案中, 化合物包括两个如上定义的阳离子基团, 在卟啉环的相对侧, 即在环位 5 和 15 上, 或者在环位 10 和 20 上。例如, X_1 和 X_3 可以是氢原子, 亲脂性片断, 苯基, 低级烷基, 烷芳基或芳烷基, X_2 和 X_4 可以是阳离子基团, 或反之亦然。

[0080] 优选, X_1 和 X_3 两个都是氢原子, X_2 和 X_4 两个都是阳离子基团, 或反之亦然。

[0081] 或者, 本发明的化合物可以包括两个如上定义的阳离子基团, 在卟啉环的相邻位置上, 即, 在环位 5 和 10 上, 或在环位 10 和 15 上, 或在环位 15 和 20 上, 或在环位 20 和 5 上。例如, X_1 和 X_2 可以是氢, X_3 和 X_4 可以是阳离子基团, 或者 X_2 和 X_3 可以是氢, X_4 和 X_1 可以是阳离子基团, 等。

[0082] 本领域的技术人员应当理解, 当 Z 代表氮时可能产生另外的异构结构。这种可能性包括在本发明的范围内。

[0083] 在本发明第一和第二方面化合物的进一步优选的实施方案中, 所述化合物在一个或多个其组成部分吡咯环上被取代。因此, Y_1 、 Y_2 、 Y_3 和 Y_4 可以不存在或者独立地代表芳基, 低级烷基, 低级烯基或低级炔基, 后三者任选被一个或多个选自低级烷基、低级亚烷基 (任选被氧间隔)、芳基、 OR_5 、 $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_7$ 、 $C(O)NR_8R_9$ 、 $NR_{10}R_{11}$ 和 $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ 的取代基取代; 本领域技术人员应当理解, Y_1 、 Y_2 、 Y_3 和 / 或 Y_4 可以包括环基, 其可以是饱和的或者芳族的。例如, 一个或多个吡咯环可以被取代形成异吲哚基团, 即, Y_1 、 Y_2 、 Y_3 和 / 或 Y_4 和它们所连接的吡咯环一起, 可以是环状的。

[0084] 在本发明第一和第二方面化合物的供选择的优选实施方案中, Y_1 、 Y_2 、 Y_3 和 Y_4 不存在。因此, 所述卟啉环优选只在位置 5、10、15 或 20 中的一个或多个上被取代。

[0085] 在本发明第一和第二方面化合物进一步优选的实施方案中, X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 中的至少一个是或者包括亲脂性片断。

[0086] 我们用 "亲脂性片断" 来包括在生理学的 pH 值和 25°C 下, 在 1-正辛醇和水之间的分配系数, 用 logP 表示, 大于 1.0 的片断。

[0087] 通常, 所述亲脂性片断是式 $-(CH_2)_pCH_3$ 的饱和的直链烷基, 或者是等价的式 $-(CH_2)_p$ 的亚烷基基团, 其中 "p" 是 1-22 的整数, 例如为 1-18。优选, "p" 在 1-18 之间, 更优

选 2-16, 4-16, 6-18, 8-16, 或 4-12。最优选, "p" 在 10-12 之间。

[0088] 应当理解, X_1 、 X_2 、 X_3 和 / 或 X_4 可以是如上定义的阳离子基团, 其也包括亲脂性片断。

[0089] 在本发明第一和第二方面的供选择的优选实施方案中, X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 中没有一个是亲脂性片断。

[0090] 有利的是, 本发明的化合物可溶于水。优选, 化合物可以溶于水, 使得在水中的浓度为至少 $5 \mu\text{g}/\text{升}$, 例如至少 $10 \mu\text{g}/\text{升}$, $15 \mu\text{g}/\text{升}$, 或 $20 \mu\text{g}/\text{升}$ 。更优选, 化合物溶于水中的浓度为至少 $100 \mu\text{g}/\text{升}$, 例如, $200 \mu\text{g}/\text{升}$, $300 \mu\text{g}/\text{升}$, $400 \mu\text{g}/\text{升}$, $500 \mu\text{g}/\text{升}$, $1\text{mg}/\text{mL}$, $5\text{mg}/\text{mL}$, $10\text{mg}/\text{mL}$, $20\text{mg}/\text{mL}$, $50\text{mg}/\text{mL}$, 或 $100\text{mg}/\text{mL}$ 。

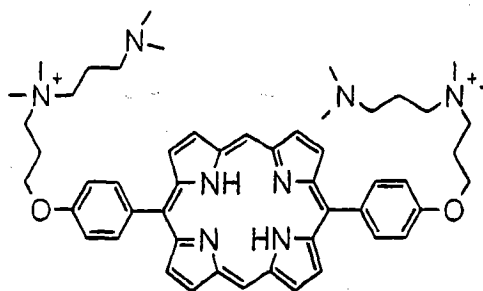
[0091] 合适地, 与没有活化光照 / 辐射的情况相比, 本发明的化合物在光照 / 辐射条件下能显示对靶标微生物 (如细菌) 更大的毒性, 即, 它们显示比黑暗毒性 (参见下文) 更强的光动力学活性 (光毒性)。应当理解, 这种毒性可以用细胞培养物测定。优选, 化合物的光动力学活性至少比化合物的黑暗毒性大两倍, 更优选大至少 3 倍, 至少 4 倍, 至少 5 倍, 至少 6 倍, 至少 8 倍, 至少 10 倍, 至少 15 倍, 或至少 20 倍。最优选, 本发明的化合物在没有光照 / 辐射的情况下基本上无毒。

[0092] 在优选实施方案中, 本发明的化合物在低剂量下对靶标微生物 (如细菌细胞) 有毒。优选, 所述化合物在浓度低于 $10 \mu\text{M}$, 例如在低于 $1 \mu\text{M}$, 低于 $0.1 \mu\text{M}$, 低于 $0.01 \mu\text{M}$, 低于 $0.005 \mu\text{M}$ 或低于 $0.001 \mu\text{M}$ 下对靶标微生物有毒 (参见实施例 B)。

[0093] 本发明的优选化合物包括以下所述:

[0094] (a) 5, 15- 双 (4- {3- [(3- 二甲氨基 - 丙基) - 二甲基铵基] - 丙氧基} - 苯基) - 卟啉二氯化物 (" 化合物 8")

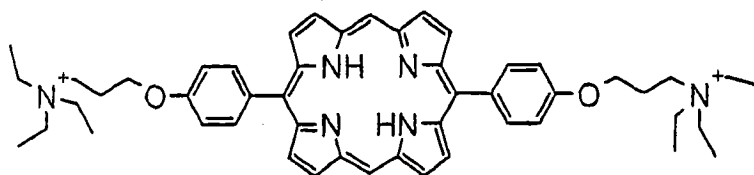
[0095]



[0096] 优选, 该化合物以二氯化物或四氯化物盐的形式提供。

[0097] (b) 5, 15- 双 [4- (3- 三乙铵基 - 丙基氧) - 苯基] - 卟啉二氯化物 (" 化合物 9");

[0098]

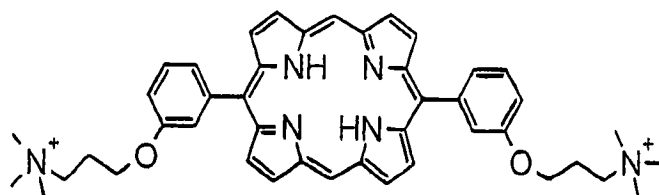


[0099] 优选, 该化合物以二氯化物盐的形式提供。

[0100] (c) 5, 15- 双 [3- (3- 三甲铵基 - 丙基氧) - 苯基] - 卟啉二氯化物 (" 化合物

12'') ;

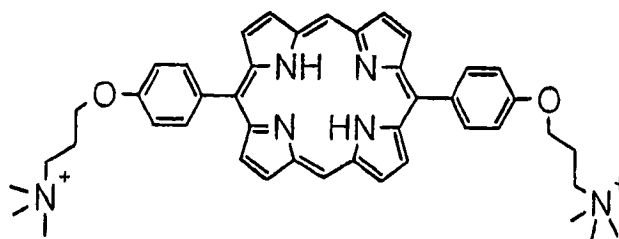
[0101]



[0102] 优选, 该化合物以二氯化物盐的形式提供。

[0103] (d) 5,15-双-[4-(3-三甲铵基-丙基氧)-苯基]-卟啉二氯化物(化合物 10'') ;

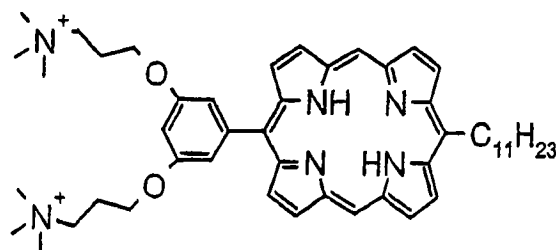
[0104]



[0105] 优选, 该化合物以二氯化物盐的形式提供。

[0106] (e) 5-[3,5-双-3-三甲铵基-丙基氧)-苯基]-15-十一烷基-卟啉二氯化物(化合物 6'') ;

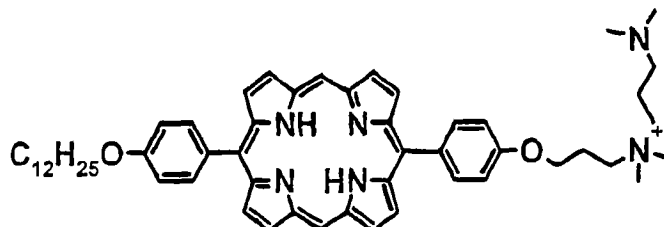
[0107]



[0108] 优选, 该化合物以二氯化物盐的形式提供。

[0109] (f) 5-{4-[3-二甲基-(3-二甲基氨基丙基)-铵基-丙基氧]苯基}-15-(4-十二烷氧基-苯基)-卟啉氯化物(化合物 23'') ;

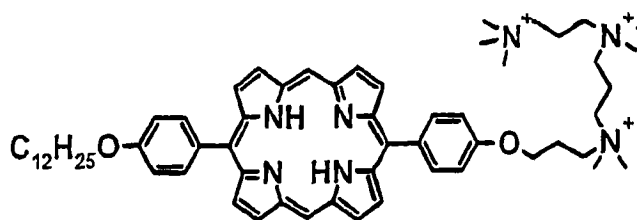
[0110]



[0111] 优选, 该化合物以氯化物或二氯化物盐的形式提供。

[0112] (g) 3-[(3-[(3-[(4-[15-(4-十二烷氧基-苯基)-卟啉-5-基]-苯氧基)-丙基]-二甲基铵基]-丙基]-二甲基铵基)-丙基]-三甲基-铵三氯化物(化合物 25'') ;

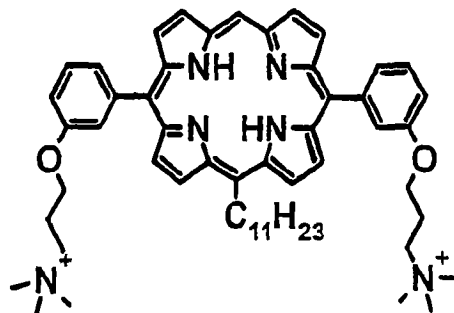
[0113]



[0114] 优选, 该化合物以三氯化物盐的形式提供。

[0115] (h) 5, 15- 双-[3-(3- 三甲基铵基- 丙氧基)- 苯基]-10- 十一烷基- 卟啉二氯化物 (" 化合物 28");

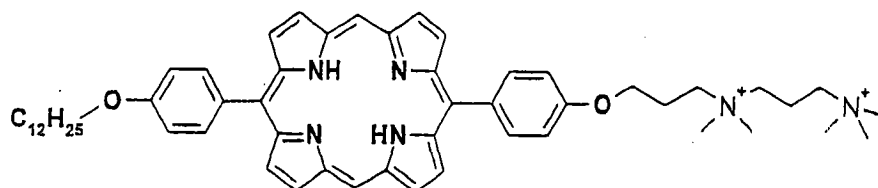
[0116]



[0117] 优选, 该化合物以二氯化物盐的形式提供。

[0118] (i) 5-{4-[3- 二甲基-(3- 三甲铵基- 丙基)- 铵基- 丙氧基]- 苯基}-15-(4- 十二烷氧基- 苯基)- 卟啉二氯化物 (" 化合物 31"); 和

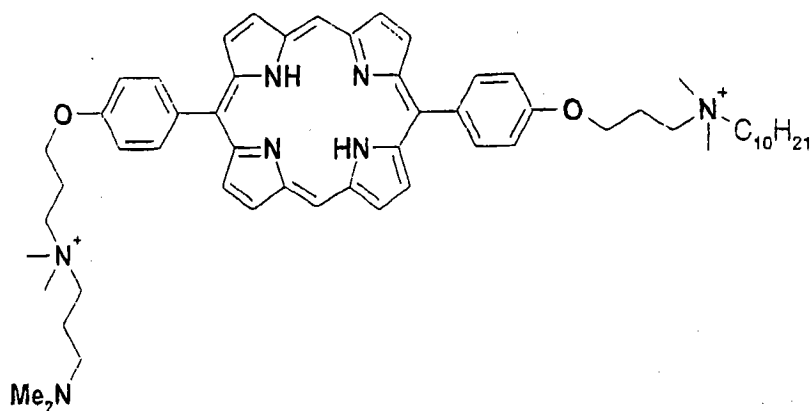
[0119]



[0120] 优选, 该化合物以二氯化物盐的形式提供。

[0121] (j) 5-[4-(3- 二甲基癸基- 铵基丙氧基)- 苯基]-15-{4-[3- 二甲基-(3- 二甲基氨丙基)- 铵基丙氧基]- 苯基} 卟啉二氯化物 (" 化合物 32")。

[0122]



[0123] 优选, 该化合物以二氯化物盐的形式提供。

[0124] 应当理解, 上述化合物可以选择性地呈金属化的形式, 即它们可以在卟啉环内包括整合的金属元素或准金属元素。

[0125] 本发明的第三方面,提供用作选择性光动力学疗法试剂,即用于有选择性地消灭微生物的化合物,其中所述化合物是根据本发明第一或第二方面的化合物。

[0126] 我们用“选择性的”来表示光动力学疗法试剂,与哺乳动物,如人的寄主细胞相比,优先对一种或多种微生物(如细菌、支原体、酵母菌、真菌和/或病毒)有毒。优选,化合物对靶标微生物的毒性比化合物对哺乳动物细胞(如人的皮肤细胞)的毒性大至少两倍,更优选大至少3倍,至少4倍,至少5倍,至少6倍,至少8倍,至少10倍,至少15倍,或至少20倍。最优选,本发明的化合物对哺乳动物细胞基本上无毒。

[0127] 因此,当本发明的化合物用来处理细菌感染时,例如,剂量疗法的选择可以使得细菌细胞被破坏,而对于健康的宿主组织(如皮肤细胞)的损害则降到最小程度。因此,光动力学疗法试剂优选显示“治疗窗”。

[0128] 本发明的第四方面,提供药物制剂,其包括与药学上或兽医学上可接受的助剂、稀释剂或载体混合的根据本发明的第一或第二方面的化合物。

[0129] 根据将要使用的化合物的效能/毒性以及它所使用的适应症,本发明的化合物可以配制成各种浓度。优选,所述制剂包括以下浓度的本发明的化合物,即 $0.1 \mu\text{M}$ – 1mM ,更优选 $1 \mu\text{M}$ – $100 \mu\text{M}$, $5 \mu\text{M}$ – $50 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{M}$ – $50 \mu\text{M}$, $20 \mu\text{M}$ – $40 \mu\text{M}$,最优选约 $30 \mu\text{M}$ 。对于体外应用来说,制剂可以包括较低浓度的本发明的化合物,例如 $0.0025 \mu\text{M}$ – $1 \mu\text{M}$ 。

[0130] 本领域的技术人员应当理解,本发明的化合物将通常以与适当的药物赋形剂、稀释剂或载体的混合物形式施用,所述药物赋形剂、稀释剂或载体的选择是针对预定的施用途径和标准的药物实践进行的(例如,参见 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第19版,1995,Alfonso Gennaro 编, Mack Publishing Company, Pennsylvania, USA)。

[0131] 例如,对于局部应用,如局部用于皮肤或伤口位点来说,本发明的化合物可以以洗液、溶液、乳膏、凝胶、软膏或扑粉的形式施用(例如,参见 Remington 的上述文章, 1586–1597 页)。因此,本发明的化合物可以配制成适当的软膏形式,其中包含悬浮或溶于,例如,一种或多种以下所述的混合物中的活性化合物:矿物油,液体矿脂,白矿脂,丙二醇,聚氧乙烯聚氧化丙烯化合物,乳化蜡和水。或者,它们可以配制成适当的洗液或乳膏,其中活性化合物悬浮或溶于,例如,一种或多种以下所述物质的混合物中:矿物油,单硬脂酸山梨糖醇酐酯,聚乙二醇,液体石蜡,聚山梨糖醇酯 60,鲸蜡基酯蜡, α -月桂基硫酸酯,醇(如乙醇,鲸蜡硬脂醇,2-十八醇,苯甲醇)和水。

[0132] 在优选实施方案中,所述制剂(如洗液,溶液,乳膏,凝胶或软膏)是水基的。

[0133] 适合于口中局部施用的制剂进一步包括在香味基质中的活性成分的糖锭剂,所述香味基质通常是蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶;在惰性基质如明胶和甘油、或者蔗糖和阿拉伯胶中包含活性成分的锭剂;和在适当的液体载体中包含活性成分的漱口剂。

[0134] 本发明的化合物也可以经鼻或者通过吸入施用,并且能很方便地借助于适当的推进剂,如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、氢氟烷烃如 1,1,1,2-四氟乙烷(HFA 134A³ 或 1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷(HFA 227EA³)、二氧化碳或其他适当的气体,从加压容器、泵、喷雾器或者雾化器中以干燥粉末吸入剂或气溶胶喷雾的形式施用。在加压气雾剂的情况下,剂量单元可以通过提供用于递送计量量的阀来确定。加压容器、泵、喷雾器或雾化器可以包含活性化合物的溶液或悬浮液,如使用乙醇和推进剂的混合物作为溶剂,其可以

另外包含润滑剂,如去水山梨糖醇三油酸酯。用于吸入器或吹入器的胶囊和药筒(例如由明胶制备)可以配制得使其包含有本发明化合物和适当的粉末基质,如乳糖或淀粉的粉末混合物。

[0135] 对于气雾剂或干燥粉末制剂来说,优选将其设计得使每一次计量的剂量或“吹喷”包含至少 1mg 本发明的化合物以递送给患者。应当理解,气雾剂的整个剂量将随患者及适应症不同而各异,并且可以以单一剂量或,更通常的是,在一天中以等分的几个剂量施用。

[0136] 或者,也可以使用本领域已知的其他通用的施用途径;例如,本发明的化合物可以以片剂、胶囊、小泡、酏剂、溶液或悬浮液的形式口服、经口腔或舌下施用,上述剂型还可以包含矫味剂或着色剂用于快速、延迟或受控释放的应用场合。本发明的化合物也可以经眼(参见下文)、经耳或通过腔内施用注射施用。

[0137] 本发明的化合物也可以胃肠外,例如,通过静脉内、动脉内、腹膜内、鞘内、心室内、胸骨内、颅内、肌内或皮下(包括通过一系列细针或使用无针粉末注射技术)施用,或者可以通过输注方法施用。它们最适合以无菌水溶液的形式使用,这种无菌水溶液可以包含其他的物质,例如,用于制备与血液等渗溶液的盐或葡萄糖。如果必要的话,应该对水溶液进行适当缓冲(优选缓冲到 pH 值为 3-9)。在无菌条件下来制备适当的胃肠外制剂可很容易地通过本领域技术人员公知的标准药物方法实现。

[0138] 适合于肠胃外施用的制剂包括水性和非水无菌注射液,其可以包含抗氧化剂,缓冲剂,抑菌剂和使制剂与目标接受者的血液等渗的溶质;水和非水的无菌悬浮液形式,其可以包括助悬剂和增稠剂。制剂可以以单元剂量或多剂量容器,例如密封的安瓿和管瓶的形式存在,并且可以保存在冻结干燥的(冷冻干燥)条件下,它只需要在使用之前立即加入无菌液体载体,例如注射用水即可。临时的注射溶液和悬浮液可以由先前所述类型的无菌粉末、颗粒和片剂制备。

[0139] 本发明的化合物也可以通过眼睛施用,特别是用于治疗眼睛疾病时。对于眼睛方面的应用来说,本发明的化合物可以配制为处于等渗的、pH 值经过调节的无菌生理盐水中的微粒化的悬浮液形式,或者优选,配制成处于等渗的、pH 值经过调节的无菌生理盐水中的溶液形式,其任选与防腐剂如苄基烷基氯化铵结合。或者,它们可以配制在软膏如石蜡油中。

[0140] 对于兽用用途来说,本发明的化合物以适当的依照正常的兽医实践可接受的制剂形式施用,并且兽医将决定最适合于特定动物的剂量疗法和施用途径。

[0141] 本发明的化合物和/或制剂可以保存在任何适当的容器或者本领域已知的设备中。本领域的技术人员应当理解,所述容器或设备应该优选是不透气的和/或经过消毒的。有利的是,所述容器或设备用塑料物质如聚乙烯制成。

[0142] 本发明的第五方面,提供根据本发明第一或第二方面的化合物在医药,特别是,在微生物感染的治疗和/或预防性治疗方面的用途。

[0143] 本发明的化合物是光敏的(光动力学的),因为它们在氧气的存在下,在用适当波长(通常是 400nm-800nm;参见下文)的光进行光照/辐射后,会放出反应性的氧物种,如单线态氧或氧自由基。因此,本发明的化合物适合于在需要光动力学试剂的医学病症的治疗和/或预防性治疗中用作光动力学疗法试剂(例如,参见 Smith, 2002, Curr Probl Cancer. ,

26(2):67-108;Hopper,2000,Lancet Oncol.,1:212-9;Dougherty,2002,J Clin Laser Med Surg.,20(1):3-7;Ceburkov&Gollnick,2000,Eur J Dermatol.,10(7):568-75)。

[0144] 优选,本发明的化合物用于细菌感染的治疗性和/或预防性治疗中,如革兰氏阳性球菌(如链球菌)、革兰氏阴性球菌(如奈瑟氏球菌)、革兰氏阳性杆菌(如棒状杆菌)、革兰氏阴性杆菌(如大肠杆菌)、耐酸杆菌(如典型的分枝杆菌),并且包括导致脓肿、囊肿、皮肤感染、创伤感染、关节炎、尿路感染、胰腺炎、盆腔炎、腹膜炎、前列腺炎、阴道感染、口腔感染(包括牙齿感染)、眼睛感染和/或耳感染、溃疡及其他局部感染的感染;放线菌感染;真菌感染例如白色念珠菌、曲霉和芽生菌感染;病毒感染如 HIV、脑炎、胃肠炎、出血热、汉坦病毒感染、病毒性肝炎、疱疹病毒(如巨细胞病毒、Epstein-Barr、疱疹病毒 simiae、单纯性疱疹和水痘-带状疱疹);原虫感染如阿米巴病、巴贝西虫病、球虫病、隐孢子虫病、贾第鞭毛虫病、利什曼病、滴虫病、弓形体病和疟疾;肠虫感染如由线虫、绦虫和吸虫所引起的感染,如蛔虫病、十二指肠虫病、淋巴管丝虫病、盘尾丝虫病、血吸虫病和弓蛔虫病;和炎症性疾病如软组织风湿病、骨关节炎、类风湿性关节炎和脊椎关节病。

[0145] 更优选,本发明的化合物用于治疗性和/或预防性治疗由革兰氏阳性细菌和/或革兰氏阴性细菌引起的感染。最优选,本发明的化合物用于治疗性和/或预防性治疗由革兰氏阳性细菌引起的感染。

[0146] 本发明的化合物优选用于消灭微生物,如细菌,支原体,酵母菌,真菌和病毒。本发明的化合物特别适合于消灭已经对常规的抗生素处理产生了抗药性的细菌,如耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA)。

[0147] 本领域的技术人员应当理解,本发明的化合物适合于治疗在光可到达表面或光可达到的区域(如表皮,口腔,鼻腔,鼻窦,耳,眼睛,肺,尿-生殖道,和胃肠道)可能存在目标微生物的所有感染。另外,本发明的化合物适合于治疗光可暂时达到的表面或区域上的感染,如在外科操作过程中暂时暴露的骨骼感染。腹膜腔的感染,如由于阑尾破裂产生的感染,是光至少可通过腹腔镜设备达到的。

[0148] 本发明化合物的剂量将取决于若干因素;包括使用的具体化合物,制剂,施用途径和化合物所用于的适应症。但是,典型地,剂量将在每公斤体重 0.01-20mg 化合物范围内,优选 0.1-15mg/kg 体重,例如 1-10mg/kg 体重。

[0149] 在优选实施方案中,本发明的化合物与通用的抗微生物剂结合使用。例如,所述化合物可以与一种或多种以下通用的抗生素结合使用:杀菌剂,例如天然和合成的青霉素和头孢菌素,磺胺类,红霉素,卡诺霉素(Kanamycin),四环素,氯霉素,利福平,并包括庆大霉素,氨苄青霉素,苄青霉素(benzypenicillin),苯胺青霉素,苄星青霉素,苯氧乙基青霉素,苯氧基甲基青霉素,普鲁卡因青霉素,邻氯青霉素,氟氨青霉素,甲氧苄青霉素钠,阿莫西林,巴氨西林盐酸盐,环己西林,美洛西林,匹氨西林,酞氨青霉素盐酸盐,羧苄青霉素苯酯钠,哌拉西林,替卡西林,美西林,pirmecillinan,头孢克洛,头孢羟氨苄,头孢氨噻,头孢西丁,头孢磺啉钠,头孢他定,头孢唑肟,头孢呋辛,头孢氨苄,头孢噻吩,头孢孟多,头孢唑林,头孢拉定,拉氧头孢二钠,氨曲南,金霉素盐酸盐,氯莫环素钠,demeclocycline 盐酸盐,强力霉素,赖甲环素,美满霉素,土霉素,阿米卡星,新霉素 B 硫酸盐,新霉素硫酸盐,奈替米星,妥布霉素,粘菌素,夫西地酸钠,多粘菌素 B 硫酸盐,大观霉素,万古霉素,磺胺酞酸钙,磺胺甲氧吡嗪,磺胺嘧啶,磺胺二甲嘧啶,磺胺脒,磺胺酰脲,卷曲霉素,甲硝哒唑,替硝唑, _

噻星,环丙沙星,呋喃妥因,乌洛托品,链霉素,羧苄青霉素,多粘菌素 E 甲磺酸盐,多粘菌素 B,呋喃唑酮,萘啶酸,甲氧苄氨嘧啶-磺胺异噁唑,氯洁霉素,林可霉素,环丝氨酸,雷米封,乙胺丁醇,乙硫异烟胺,吡嗪酰胺等;抗真菌剂,例如咪康唑,酮康唑,伊曲康唑,氟康唑,两性霉素,氟胞嘧啶,灰黄霉素,那他霉素,制霉菌素,等;以及抗病毒剂,如无环鸟苷, AZT, 双脱氧肌苷 (ddI), 盐酸金刚烷胺, 肌苷 pranobex, 阿糖腺苷, 等。

[0150] 在进一步的优选实施方案中,本发明的化合物与渗透增强剂如聚(乙亚胺),或与显示这种渗透增强能力的抗生素(如多粘菌素或粘菌素)共同施用。

[0151] 本发明的化合物特别适合用于一种或多种以下适应症的治疗或预防性治疗中:

[0152] 脓疱病,

[0153] 脓疱病是一种高度传染性的感染。它是孩子中最常见的感染。

[0154] 脓疱病具有两种典型的形式,非大疱形式和大疱形式。非大疱形式的脓疱病,也称触染性脓疱病,大约占病例的 70%。在不进行处理的情况下,损伤通常 2-3 周内消退。脓疱病也可能并发其他的皮肤病,如疥疮、水痘、特异性皮炎、和毛囊角化病。

[0155] (a) 非大疱脓疱病

[0156] 细菌类型

[0157] 非大疱是主要由 A 组 β -溶血链球菌(致脓链球菌)、金黄色葡萄球菌、或这两种生物体的组合引起的感染(参见 Andrews' diseases of the skin: clinical dermatology, 第 9 版, (2000), Odom RB 编著, Saunders, 312-4 页)。非 A 组 (B、C、和 G 组) 链球菌可能是造成罕见脓疱病例的原因, B 组链球菌与新生儿的脓疱病有关。

[0158] 创伤类型

[0159] 非大疱是表面的、表皮内的、单房性的水疱脓疱感染。

[0160] 非大疱脓疱病的病变首先从脸部皮肤或在受到外伤后从肢端开始。一般说来,完整的皮肤是抗脓疱疮的。

[0161] 脓疱病的临床表现是以有序的方式从小疱或脓疱开始发展,一直进展到形成蜂蜜色痂皮斑点。伤痕的直径通常低于 2 厘米。伤痕倾向于干燥,不进行结痂的情况下,留下细小的痂皮。病变通常有最低限度的症状。很少,但是有可能会与轻微疼痛或轻微瘙痒有关的红斑。感染通过由抓挠接种其他的伤处而波及到邻近的和远侧的区域。

[0162] 细菌位点

[0163] 非大疱脓疱病是表面的链球菌或葡萄球菌感染,局限于皮肤的角质层(刚好在角质层)之下(参见图 1)。更具体地讲,脓疱病的感染在病理组织方面限于高度分化的上表皮角质化细胞。一旦细菌侵入皮肤破裂处,它们就开始繁殖。

[0164] 组织病理学上的表现是,在毛囊皮脂腺滤泡的漏斗状上部附近产生极其浅的炎症。形成角质层下的水疱,其包含一些扩散的球菌,以及多形核白细胞和表皮细胞碎屑。在真皮中,存在轻微的炎症反应-脉管扩张,水肿,多形核白细胞浸入 (Andrews' diseases of the skin, 如上所述, 312-4 页)。

[0165] (b) 大疱脓疱病

[0166] 细菌类型

[0167] 大疱脓疱病主要是由生成剥脱性毒素的金黄色葡萄球菌菌株引起的 (Sadick 等人, 1997, Dermatologic Clinics, 15(2) :341-9)。

[0168] 创伤类型

[0169] 大疱脓疱病的病理组织特征在于,角膜下的解离和与多形核白细胞一起通过表皮渗透迁移并聚集在颗粒和角质层皮层之间。在躯干和肢端上出现小或大的、表层的易碎的泡。

[0170] 松弛的泡和围绕红斑的潮湿的糜烂是这种角膜下感染的特征。往往,在有症状的时候,只能看见破裂的泡的残余物。表皮的分离是由于金黄色葡萄球菌生成了外毒素的缘故。

[0171] 细菌位点

[0172] 大疱脓疱病是在角质层以及刚好在角质层之下存在的表层葡萄球菌感染(参见图1)。大疱脓疱病被认为是由于某些附着于角质层细胞上的金黄色葡萄球菌生成了剥脱性毒素的缘故。

[0173] 特异性皮炎(AD)

[0174] 特异性皮炎,也称特应性湿疹,是一种产生发痒性皮疹,特别是在褶皱处,即膝盖后面、肘前面、手腕、颈、和眼睑处出现皮疹的皮肤慢性炎症。皮疹的感染是常见的,并且会进一步导致发炎和瘙痒。

[0175] 在1-6个月的小孩中,通常表现为湿疹。大约60%的患者最初暴发是在1岁,到5岁为止暴发的有90%。青春期或青春期之后,发生特异性皮炎比较罕见,并且将会提醒作出另一种诊断考虑。疾病的表现随着年龄而变化。

[0176] 细菌类型

[0177] 细菌和其超级抗原会促进AD的发病。

[0178] 在AD患者中有90%的皮肤被金黄色葡萄球菌形成集落(慢性湿疹病损伤),在非特异性患者中只有5%。在具有AD的患者中,在没有临床感染症状的情况下,金黄色葡萄球菌的集群密度可以达到高达 10^7 菌落数 cm^{-2} 。另外,特异性患者的正常非病变皮肤也明显包含增加数量的金黄色葡萄球菌。

[0179] 特异性皮炎中金黄色葡萄球菌生长过度的理由,尽管在诸如牛皮癣的疾病中这种生长过度很多不太严重或者完全没有,但现在还不清楚。比起在正常人或者牛皮癣患者中,蛋白质A在特异性患者中会引起猛烈程度小得多的应答,但是这可能是结果而不是集群现象的原因。近来,人们的注意力转向了皮肤脂质,有一些证据表明,在特异性患者中缺乏脂肪酸,它们有可能会控制葡萄球菌的集落形成。

[0180] 超级抗原是一种独特的由细菌和病毒生成的蛋白质,它们省略了通用的抗原介导的免疫序列中的某些单元。鉴于通用的抗原活化大约0.01%-0.1%的身体T细胞,超级抗原能够刺激5%-30%的T细胞种群。金黄色葡萄球菌可以通过分泌一组发挥超级抗原作用的外毒素而使AD中皮肤发炎加剧或者保持皮肤发炎程度。AD患者具有改变的皮肤屏障,比角质层内神经酰胺的不足要次要一些。已经有人认为,这些外毒素穿透皮肤可能会引起T细胞、巨噬细胞、LCs、和肥大细胞的活化,从而导致释放出细胞活素和肥大细胞介质。可以设想,这些情况可能会成为慢性AD中发炎的基础。不论AD中金黄色葡萄球菌集群和局部超级抗原分泌是主要的或者是次要的现象,都会有这样的推测(Andrews' diseases of skin,第5章,Atopic Dermatitis, Eczema, and non-infectious immuno deficiency disorders, 69-76页)。

[0181] 皮肤病毒、真菌、和细菌感染在 AD 患者中更为常见。病毒感染和 T 细胞缺陷一致，并包括单纯性疱疹（局部或全身性，即，疱疹性湿疹）、触染性软疣、和人乳头状瘤病毒。带有红色毛癣菌和卵形糠秕孢子菌的表层真菌感染也经常存在。细菌感染，具体地说指金黄色葡萄球菌的那些细菌感染，极其常见。超级感染会导致产生蜂蜜色痂皮、大范围的严重泌水或毛囊炎。

[0182] 创伤类型

[0183] 急性病变表现为红斑状丘疹，小囊泡，和糜烂；慢性疾病包括纤维化丘疹和变厚的成苔藓状的皮肤。

[0184] 查觉到有增加数目的病原性葡萄球菌往往与泌水、痂皮、毛囊炎和腺病有关。二次葡萄球菌感染是很常见的，在特异性皮炎期间通常存在局部水肿和局部腺病。脓疱病可能是一种特异性皮炎的二次感染。

[0185] 根据皮肤损害活组织检查的形态，特异性皮炎的组织结构从急性棘细胞层水肿性皮炎一直延伸到慢性单纯性苔癣。

[0186] 细菌位点

[0187] 金黄色葡萄球菌细胞壁显示出用于表皮和皮肤粘连蛋白以及纤维蛋白原的受体，所谓的粘附素。已经表明，AD 患者中，金黄色葡萄球菌的结合是由纤维蛋白原和粘连蛋白介导的。由于 AD 患者的皮肤缺乏完整的角质层，因此皮肤的粘连蛋白可能未被覆盖，因此增加了金黄色葡萄球菌的依附。在金黄色葡萄球菌细胞和角质细胞之间已经被记录到有纤丝状和无定形结构的痕迹，并且可能会导致形成细菌生物薄膜。已经注意到，金黄色葡萄球菌穿透到细胞间隙中，这说明 AD 患者的皮肤表面脂质受到损坏（参见 Breuer K 等人，2002，British Journal of Dermatology, 147 :55-61）。

[0188] 溃疡

[0189] 皮肤溃疡，比如糖尿病患者脚溃疡，压迫性溃疡，和慢性静脉性溃疡，是具有组织损毁特征的裂口疮或皮肤损伤，有时伴随着形成脓。

[0190] 皮肤溃疡可能具有不同的原因，并且影响不同的人群，但是它们都倾向于痊愈极慢，即使可能痊愈的话，而且治疗起来可能十分困难并且昂贵。

[0191] 细菌类型

[0192] 表层压迫性溃疡与主要的感染问题无关。好气性微生物在很低的水平下就将沾污压迫性溃疡，但是不会阻碍及时痊愈。但是，深度的全厚度压迫性溃疡可能会被二次感染，并且可能发生骨髓炎。同未坏死的溃疡相比，那些带有坏死组织的压迫性溃疡包含大量的需氧和厌氧微生物；当厌氧菌侵入组织时，通常会出现恶臭。因此，处理策略是从伤口处清除坏死组织，减少厌氧菌的存在。

[0193] 压迫性溃疡的感染通常是多微生物感染，并且可能包含酿脓链球菌，肠道球菌，厌氧链球菌，Enterobacteriaceae，铜绿假单胞菌，脆弱拟杆菌和金黄色葡萄球菌。

[0194] 创伤类型

[0195] 阶段 I 压迫性溃疡：完整皮肤的不可漂白的红斑被认为预示着皮肤溃疡的病变。

[0196] 阶段 II 压迫性溃疡：发生局部皮肤厚度损伤，包括表皮和 / 或真皮。溃疡是表层的，在临床上表现为擦破、水泡、或浅的溃疡窝。因为表皮可能会被擦破、水泡、浅溃疡窝遮断，所以溃疡应该被认为是二次感染的征兆。

[0197] 阶段 III :全厚度皮肤的损伤,包括皮下组织损害或坏死,其可能会向下扩展到,但不通过下层筋膜。溃疡在临床上表现为深的溃疡龛,其中存在或者不存在相邻组织的破坏。

[0198] 阶段 IV :全厚度皮肤损伤,大范围的破裂,组织坏死,或肌肉、骨骼、或下部结构,如腱或关节囊的损害。

[0199] 细菌位点

[0200] 在创伤中可能会存在 3 种微生物状态 :玷污、集群和感染。玷污的特征是微生物只单纯地存在于伤口中而没有增殖。人们通常认为,所有的创伤,不管其病原学如何都是被玷污的。集群的特征是在伤口中存在微生物并且微生物有增殖,但是没有寄主反应。集群是慢性创伤如静脉曲张性溃疡和压迫性溃疡中常见的状况,不一定会延误痊愈的过程。当细菌侵入健康组织并且继续增殖到它们的存在和副产物会引起或控制宿主免疫应答的程度时,这种微生物状态被称为感染。感染典型的体征和症状包括局部红色,疼痛和发胀,发烧以及伤口渗出液的量和特性发生变化。

[0201] 肺部感染

[0202] 本发明的化合物也适用于治疗具有肺部传染性疾病的患者,它是通过给予患者本发明的化合物并用其波长能导致该化合物产生抗微生物作用的光来照射(即光照)肺来实现的。肺部感染可能由许多细菌属和种引起,其包括结核分枝杆菌(肺结核),假单胞菌属(囊性纤维化患者死亡的主要原因),链球菌,肺炎葡萄球菌,克雷白菌属,弓型体属,等。肺部感染也可能由许多病毒株和机会病原体(真菌,寄生虫)引起。由于肺部病原体越来越耐典型的抗生素疗法,因此光动力学疗法提供了一种选择性的用于消除这些有害生物的方法。

[0203] 本发明的化合物可以通过多种方式施用到肺部。例如,所述化合物可以通过呼吸道施用(即气管内、支气管内、或肺泡内)或通过胸部体壁施用。光源可以同样借助于例如可弯曲的纤维光学制品通过这些途径施加。光照/辐射可以对着肺的基部,肺的顶端或同时对着它们。

[0204] 其他的适应症

[0205] 本发明的化合物也适用于以下适应症的治疗性和/或预防性治疗:烧伤点和皮肤移植处的感染;耳炎(耳感染),细菌性结膜炎及其他眼睛感染,牙周炎及其他牙齿感染,以及在外科操作过程中暴露的骨骼感染。

[0206] 因此,本发明的另一方面,提供以下内容:

[0207] (i) 本发明化合物在制备用于光动力学疗法的药物方面的用途;

[0208] (ii) 本发明的化合物在制备用于消灭和/或防止微生物,如细菌、酵母菌、真菌和病毒生长的药物方面的用途(例如,所述药物可以用来防止或降低病原体扩展或转移到其他对象,比如患者,护工,等身上);

[0209] (iii) 本发明的化合物在制备用于治疗性和/或预防性治疗皮肤感染的药物方面的用途;

[0210] (iv) 本发明的化合物在制备用于治疗性和/或预防性治疗肺感染的药物方面的用途;

[0211] (v) 本发明的化合物在制备用于治疗性和/或预防性治疗伤口感染和/或溃疡的药

物方面的用途；

[0212] (vi) 一种治疗需要用光动力学疗法试剂治疗的患者的方法，其包括给予患者本发明的化合物并辐射 / 照射该化合物；和

[0213] (vii) 一种用于防止伤口感染的方法，其包括使伤口与本发明的化合物接触，并照射 / 辐射该化合物（以便生成反应活性氧物种）。

[0214] 使用中，本发明的光敏化合物被用光动力学疗法领域已知的传统方法照射 / 辐射，即活化。优选，该化合物在 400nm-800nm 的波长下照射 / 辐射。更优选，对化合物的照射 / 辐照波长相当于卟啉的一个或多个吸收窗，即在约 417nm（索瑞氏带），485nm，515nm，550nm，590nm 和 650nm 处。最优选，该化合物在约 417nm 的波长下照射 / 辐射。

[0215] 最佳波长将取决于具体的化合物和它将要应用的适应症。例如，对于脓疱病来说，由于创伤处颜色，优选波长为 510-560nm。对于裂口创伤来说，优选波长为 560-700nm，为了将血红蛋白的活化减到最小，优选朝向较高的波长（最低在 690nm）。

[0216] 本领域的技术人员将会理解，在施用本发明的化合物后，光照 / 辐射可以在各种时点进行。通常，在施用后 5 分钟到 24 小时之间照射 / 辐射所述化合物，例如，在 5 分钟-2 小时之间或在 10 分钟-1 小时之间。最佳的光照时间可以通过实验确定。

[0217] 当本发明的化合物施用于皮肤上时，可以选择光的波长以便控制穿透深度。例如，为了深度穿透，优选较长的波长。为了控制穿透深度，光强度和总的光照量也可以变化。

[0218] 优选，光动力学疗法试剂只穿透角质层。

[0219] 同样，化合物暴露于光照 / 辐射下的最佳持续时间将取决于具体的化合物和它要应用的适应症。但是，通常，光照时间在 1-30 分钟之间，更优选 5-20 分钟，例如 10 分钟。

[0220] 光照 / 辐射的总量将根据要治疗组织的治疗和位置不同而变化。通常，光照 / 辐射的量在 10-1000J/cm² 之间，优选 10-350J/cm²。

[0221] 适当的光源包括德国 Waldmann AG 公司的 PDT 450L，PDT 650L 和 PDT 1200 灯。或者，可以使用白光对化合物进行活化。

[0222] 本发明的化合物也可以用来体外消灭微生物。因此，本发明的另一方面，提供包含有根据本发明第一和 / 或第二方面化合物的消毒液。该溶液也可以呈洗手液形式或在使用前要稀释的浓缩液形式。

[0223] 优选，本发明的化合物在溶液中的存在浓度为 1-100 μg/ml。

[0224] 优选，该溶液另外包括表面活性试剂或表面活性剂。适当的表面活性剂包括阴离子表面活性剂（如脂肪族的磺酸盐），两性和 / 或两性离子表面活性剂（如脂肪族季铵、磷_和磺_化合物的衍生物）和非离子型表面活性剂（如含有环氧烷的脂族醇，酸，酰胺或烷基酚）。通常，表面活性剂的存在浓度为 0.5-5 重量%。

[0225] 本发明的消毒液特别适合用于医院环境。例如，消毒液可以用来对手术器械和外科手术室表面，以及手术室工作人员的手和手套消毒。另外，所述消毒液可以在手术过程中使用，例如对暴露的骨骼进行消毒。在所有情况下，所述溶液都将施用于要消毒的表面上，然后照射 / 辐照以便产生反应性氧物种（参见上文）。

[0226] 因此，本发明的另一方面，提供一种体外消灭微生物的方法，其包括使将要被消灭的微生物与本发明的化合物接触，并照射 / 辐照该化合物。

[0227] 现在将通过实施例，并参考附图来描述本发明优选的非限定性实施方案，其中：

[0228] 图 1 示出皮肤结构简图。

[0229] 图 2 示出 (A) 金黄色葡萄球菌 BAA-44 细胞和 (B) 大肠杆菌 ATCC25922 细胞的生长抑制率(%),这两种细胞用白光($150\text{mW}/\text{cm}^2$)照射 0 或 30 分钟,随后预温孵 5 分钟,含有的试验化合物浓度为 $3\mu\text{M}$ 。

[0230] 图 3 示出在用浓度为 $0.1\mu\text{M}$ 的试验化合物培养并用光(光毒性,即光动力学活性)照射或在没有光照(黑暗毒性)条件下,(A) 金黄色葡萄球菌 BAA-44 和 (B) 大肠杆菌 ATCC 25922 细胞的细菌存活率(细胞数)。

[0231] 图 4 示出在不同剂量下,(A) “化合物 8”和 (B) “化合物 10”对于金黄色葡萄球菌 BAA-44 的光动力学活性(空棒)和黑暗毒性(有阴影的棒)。

[0232] 图 5 示出在有和没有用光源(236, Waldmann)光照的条件下,叠氮化钠(50mM)和 D2O 在用化合物 10 培养的人体皮肤成纤维细胞(NHDF)上的作用。

[0233] 三角形/实线:化合物 10+PBS 缓冲剂+光;

[0234] 正方形/实线:化合物 10+D₂O+光;

[0235] 圆形/实线:化合物 10+叠氮化钠+光;

[0236] 三角形/虚线:化合物 10+PBS 缓冲剂 w/o 光;

[0237] 正方形/虚线:化合物 10+D₂O w/o 光;

[0238] 圆形/虚线:化合物 10+叠氮化钠 w/o 光($n = 3$, 平均值 $\pm$ 标准)。

[0239] 图 6 示出在用化合物 10 重复处理后没有对金黄色葡萄球菌 BAA-44 产生抗药性积累。所示数据为平均值,具有 95%的置信区间误差线。

[0240] 图 7 示出 9 次暴露于用化合物 10 进行的 PDT 处理的细胞株和首次用于实验的未处理的细胞株的存活率比较。

[0241] 图 8 示出在不同剂量下,化合物 8 对于人体成纤维细胞(有阴影的棒)和金黄色葡萄球菌 BAA-44(空棒)的毒性。

[0242] 图 9 示出 236 光源(Waldmann)的尺寸图。

[0243] 图 10 示出用蓝光在 (A) $15\text{mW}/\text{cm}^2$ 和 (B) $150\text{mW}/\text{cm}^2$ 下照射各种不同的时间后 $10\mu\text{M}$ 化合物 10 的光致退色情况。

[0244] 图 11 示出化合物 10 配制成 (A) 固体, (B) 在水中和 (C) 在 PBS 中的化学稳定性。

[0245] 图 12 示出化合物 10 在 PBS 缓冲剂中 21 天后的稳定性(通过 HPLC 测定)的 3D 图。

[0246] 图 13 示出 (A) 化合物 1, (B) 化合物 8, (C) 化合物 12 和 (D) 化合物 10 的各种制剂在 8 周后的稳定性。

[0247] 图 14 示出 (A) 化合物 10 和 (B) 化合物 8 的各种制剂在 17 周后的延长稳定性。

[0248] 图 15 示出在用 (A) 溶酶体-特异性染料 LysoTracker Green(绿色)和 (B) 线粒体-特异性染料-若丹明 G6(红色)共染后,培养的 NHDF 细胞的细胞内光动力学分布。

[0249] 图 16 示出在用 (A) 线粒体-特异性若丹明 G6 和 (B) 溶酶体-特异性染料 LysoTracker Green 共染后,用 $1\mu\text{M}$ 化合物 10 培养 1 小时后的 NHDF 的细胞内光动力学分布。化合物 10 的光动力学局限在核外,而且,用线粒体-特异性若丹明 G6 进行共染导致化合物 10 和线粒体光动力学的共定位。共定位消失在黄光动力学作用中。用溶酶体-特异性染料 LysoTracker Green 进行共染导致化合物 10(红色)和溶酶体光动力学(green)的

不同定位 (图 16B)。共定位由黄色光动力学表示。

[0250] 实施例

[0251] 实施例 A : 示例化合物的合成

[0252] 物质和方法

[0253] 核磁共振 (NMR) 测定

[0254] 在 Bruker B-ACS60 (300MHz) 仪器上, 使用 TMS 作为内标记录质子核磁共振谱。在指明的溶剂中, 给出的化学位移以 ppm 为单位, 偶合常数的单位是 Hz。用于 NMR 的一些缩写: 单峰 (s), 宽单峰 (bs), 双峰 (d), 三重峰 (t), 四重峰 (q), 五重峰 (quint), 多重峰 (m)。

[0255] 化学试剂

[0256] 所有的溶剂和试剂都从 Aldrich, Fluka, Merck 和 Lancaster 公司购买, 使用时不进行进一步的纯化。

[0257] 根据 C. Brucker 等人在 J. Porphyrins Phthalocyanines, 2, 455 (1998) 中所述制备二吡咯甲烷。

[0258] 色谱

[0259] 柱色谱是使用硅胶 (Merck Silicagel 60, Fluka 60, 0.040-0.063mm) 和 Sephadex LH-20 (Pharmacia) 进行的。用于色谱的所有溶剂 (Synopharm) 都是工艺纯的 (technical pure)。

[0260] 缩写

[0261] DDQ : 2,3- 二氯 -5,6- 二氰 - 对苯醌

[0262] DMF : N, N- 二甲基甲酰胺

[0263] TFA : 三氟乙酸

[0264] 试验化合物的合成路线

[0265] 合成以下试验化合物:

[0266] 本发明的示例化合物

[0267] 化合物 6, 8-10, 12, 23, 25, 28, 31 和 32。

[0268] 参考化合物 (用作对照)

[0269] 化合物 1, 3, 16, 19, 26, 29, 33, 36, 37, 39, 41 和 46-51。

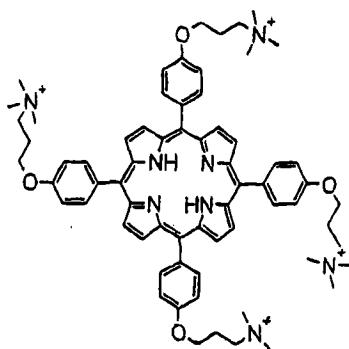
[0270] 化学中间体

[0271] 化合物 2, 4, 5, 7, 11, 13-15, 17, 18, 20-22, 24, 27, 30, 34, 35, 38, 40 和 42-45。

[0272] 化合物 1

[0273] 5,10,15,20- 四 -[4-(3- 三甲胺基 - 丙氧基) - 苯基] - 卟啉四氯化物

[0274]



[0275] 在 50℃ 下, 在 30 分钟内, 向剧烈搅拌的 5,10,15,20-四-(4-羟基苯基)-卟啉 (50mg, 0.07mmol) 和 K_2CO_3 (230mg, 1.7mmol) 的 DMF (20mL) 悬浮液中滴加 (1-溴丙基)-三甲胺基溴化物 (0.27g, 1.05mmol) 的 DMF (5mL) 溶液。混合物在 50℃ 搅拌 15 小时。减压脱除 DMF 之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5 厘米) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (1 升) 洗涤之后, 所述垫用乙酸洗脱。将洗脱液蒸发溶剂之后, 得到的残余物通过色谱法在 Sephadex LH20 柱 (2.5X40 厘米) 上, 用正丁醇: 水: 乙酸 (4: 5: 1, 体积比, 上面的相) 洗脱纯化。将回收的物质溶于最小体积的甲醇中并使溶液通过短 (3.5X20 厘米) 的阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 柱。回收的四氯化物盐在高真空下干燥, 得到紫色晶体。

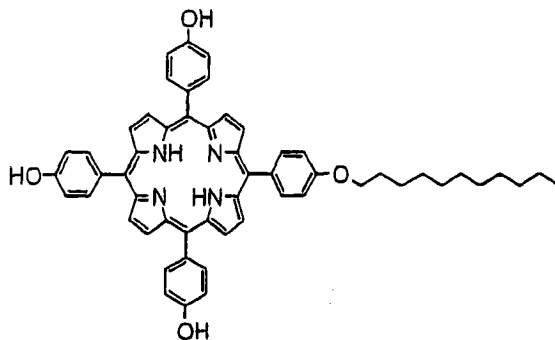
[0276] 1H -NMR:

[0277] δ_H (300MHz, CD_3OD): 2.35-2.50 (bs, 8H), 3.25-3.35 (bs, 36H), 3.65-3.75 (bs, 8H), 4.35 (m, 8H), 7.30, 8.10 (2 x d, 3J 8.5Hz, 16H), 8.80-9.00 (bs, 8H).

[0278] 化合物 2

[0279] 5,10,15-三-(4-羟基苯基)-20-(4-十一烷氧基-苯基)-卟啉

[0280]



[0281] 在 50℃ 下, 在 30 分钟内, 向剧烈搅拌的 5,10,15,20-四-(4-羟基苯基)-卟啉 (400mg, 0.59mmol) 和 K_2CO_3 (1.0g, 7.1mmol) 的 DMF (75mL) 悬浮液中滴加 1-溴十一烷 (0.1mL, 0.45mmol) 的 DMF (10mL) 溶液, 并将混合物在相同的温度下搅拌 1.5 小时。滤除 K_2CO_3 并减压脱除 DMF 之后, 将得到的残余物溶于二氯甲烷 (200mL) 中, 用水 (3X150mL) 洗涤, 并将溶液干燥 (Na_2SO_4)。减压蒸发溶剂, 得到的残余物溶于甲苯: 乙醇 (体积比 5: 1, 大约 10mL) 中, 并通过使用硅胶 (Merck 60) 柱 (5X50 厘米) 的色谱纯化。该柱先用甲苯洗脱, 随后用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 2: 1) 洗脱, 通过从适当的馏份中蒸发溶剂回收所需的物质, 并在高真空下干燥。得到产物, 为紫色晶体。

[0282] 1H -NMR:

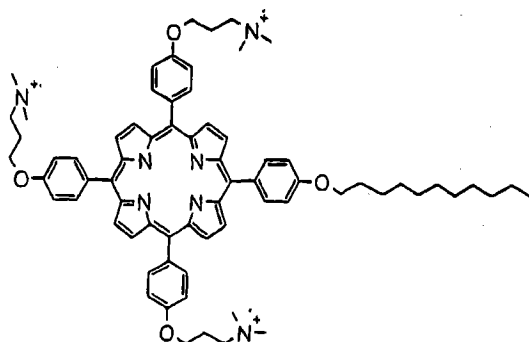
[0283] δ_H (300Mz, d_6 -丙酮): 0.95 (t, 3J 7.5Hz, 3H), 1.25-1.55 (m, 14H),

[0284] 1.58 (quint, 3J 7.5Hz, 2H), 1.85 (quint, 3J 7.5Hz, 2H), 4.16 (t, 3J 7.5Hz, 2H), 7.20 (d, 3J 8.1Hz, 2H), 7.25 (d, 3J 8.2 Hz, 6H), 8.00-8.15 (m, 8H), 8.80-9.10 (m, 8H).

[0285] 化合物 3

[0286] 5,10,15-三-[4-(3-三甲胺基-丙氧基)-苯基]-20-(4-十一烷氧基苯基)-卟啉三氯化物

[0287]



[0288] 在 50℃下,向剧烈搅拌的化合物 2 (100mg, 0.12mmol) 和 K_2CO_3 (230mg, 1.7mmol) 的 DMF (30mL) 悬浮液中加入 (1-溴丙基)-三甲基铵基溴化物 (0.3g, 16.6mmol) 的 DMF (10mL) 溶液,并将混合物在此温度下搅拌 12 小时。减压脱除 DMF 之后,将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5 厘米) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (大约 1 升) 洗涤后,该垫用乙酸:甲醇:水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。从洗脱液中减压蒸发溶剂之后,得到的残余物通过色谱法在 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 上,用正丁醇:水:乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比, 上面的相) 洗脱纯化。从洗脱液的适当馏份中减压脱除溶剂后,将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米)。脱除溶剂并在高真空下干燥之后,得到最终产物,为三氯化物盐,紫色晶体。

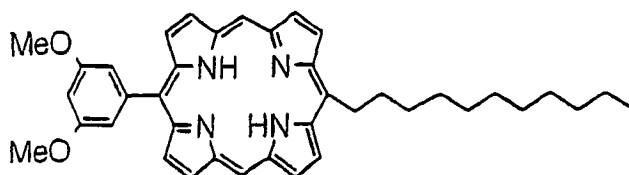
[0289] 1H -NMR :

[0290] δ_H (300MHz, CD_3OD) : 0.80 (t, 3J 7.5Hz, 3H), 1.15-1.45 (m, 16H), 1.50-1.60 (bs, 2H), 2.25-2.45 (bs, 6H), 3.25-3.35 (bs, 27H), 3.75-3.85 (bs, 6H), 4.18 (t, 3J 7.5Hz, 2H), 4.40-4.45 (bs, 6H), 7.20-7.40, 7.95-8.15 (2xm, 16H), 8.60-9.00 (bs, 8H).

[0291] 化合物 4

[0292] 5-(3,5-二甲氧基苯基)-15-十一烷基-卟啉

[0293]



[0294] 向搅拌着的二吡咯甲烷 (0.62g, 4.2mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 溶液中加入处于脱气的二氯甲烷 (1 升) 中的 3,5-二甲氧基苯甲醛 (0.35g, 2.1mmol) 和月桂醛 (0.464g, 2.52mmol)。滴加 TFA (0.07mL, 3.0mmol)。溶液在室温下、在黑暗中、在氩气下搅拌 17 小时。加入 DDQ (2.7g, 12mmol) 之后,混合物在室温下再搅拌 1 小时。减压脱除溶剂后,通过用甲苯洗脱的硅胶 (Merck 60) 柱 (400g) 色谱对回收的物质进行纯化,得到产物,紫色晶体。

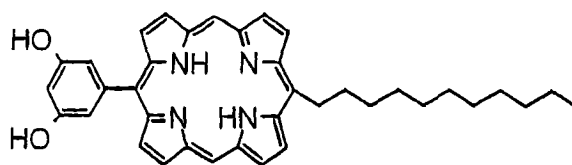
[0295] 1H -NMR :

[0296] δ_H (300Mz, $CDCl_3$) : 0.80 (t, 3J 7.5Hz, 3H), 1.10-1.25 (m, 12H), 1.40 (m, 2H), 1.75 (quint, 3J 7.5Hz, 2H), 2.45 (quint, 3J 7.5Hz, 2H), 3.90 (s, 6H), 4.90 (t, 3J 7.5Hz, 2H), 6.80 (m, 1H), 7.35 (m, 2H), 9.00, 9.25, 9.30, 9.50 (4xd, 3J 4.7Hz, 4x2H), 10.15 (s, 2H).

[0297] 化合物 5

[0298] 5-(15-十一烷基-卟啉-5-基)-苯-1,3-二醇

[0299]



[0300] 在 -70°C 下,在氩气气氛中,向化合物4(80mg,0.133mmol)的无水二氯甲烷(80mL)溶液中滴加 BBr_3 (5mL,1M的二氯甲烷溶液),混合物在此温度下搅拌1小时,然后升温到室温并搅拌过夜。将混合物冷却到 -10°C ,并通过加入水(2mL)水解,并搅拌1小时。直接加入 NaHCO_3 (3g)进行中和。混合物进一步搅拌12小时,过滤掉 NaHCO_3 并真空脱除二氯甲烷后,得到的残余物通过用二氯甲烷洗脱的硅胶柱色谱纯化。从适当的合并馏份中蒸发溶剂并将得到的残余物高真空干燥之后,得到产物,紫色晶体。

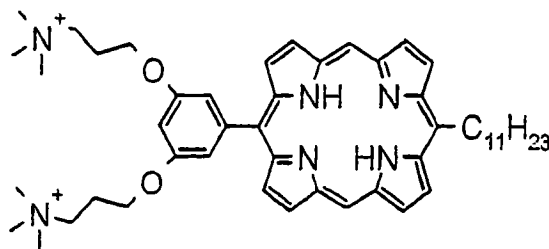
[0301] $^1\text{H-NMR}$:

[0302] δ_{H} (300Mz, d_6 -丙酮): 0.75(t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.05-1.25(m, 12H), 1.30-1.40(m, 2H), 1.45-1.50(m, 2H), 2.40(quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.90(t, ^3J 7.5Hz, 2H), 6.65(m, 1H), 7.18(m, 2H), 8.60-8.65, 9.00-9.05, 9.35-9.40, 9.55-9.60(4xm, 8H), 10.25(s, 2H).

[0303] 化合物6

[0304] 5-[3,5-双-(3-三甲铵基丙氧基)-苯基]-15-十一烷基-卟啉二氯化物

[0305]



[0306] 在 50°C 下,向剧烈搅拌的化合物5(80mg,0.14mmol)和 K_2CO_3 (230mg,1.7mmol)的DMF(30mL)悬浮液中加入(1-溴丙基)-三甲基铵基溴化物(0.3g,16.6mmol)。混合物在此温度下搅拌18小时。减压脱除DMF之后,将得到的残余物溶于甲醇(5mL)中并通过载于烧结钢(直径3.5厘米)上的硅胶垫(深2厘米)过滤。用甲醇(大约1升)洗涤该垫之后,粗产物用乙酸:甲醇:水(体积比3:2:1)洗脱。收集适当的馏份,并在减压蒸发溶剂之后,将得到的残余物通过用正丁醇:水:乙酸(5:4:1,体积比,上面的相)洗脱的Sephadex LH-20柱(2.5X40厘米)色谱纯化。从适当馏份中减压脱除溶剂后,将得到的残余物溶于甲醇(5mL)中并通过阴离子交换树脂(Amberlite IRA 400,氯化物形式)短柱(3.5X20厘米)。收集洗脱液后,减压脱除溶剂,并将得到的残余物在高真空下干燥,得到二氯化物盐,紫色晶体。

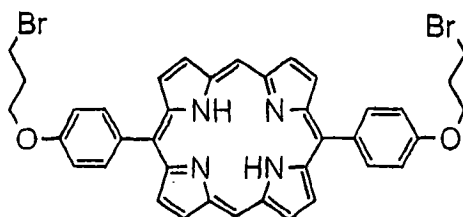
[0307] $^1\text{H-NMR}$:

[0308] δ_{H} (300Mz, CD_3OD): 0.75(t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.05-1.20(m, 14H), 1.45-1.50(m, 2H), 2.05-2.15(m, 4H), 2.15-2.20(m, 2H), 2.95(s, 18H), 3.35-3.45(m, 4H), 3.95(t, ^3J 7.5Hz, 4H), 4.55(t, ^3J 7.5Hz, 2H), 6.85(m, 1H), 7.35(m, 2H), 8.85-8.90, 9.15-9.20, (3xm, 8H), 10.10(s, 2H).

[0309] 化合物 7

[0310] 5,15-双[4-(3-溴丙氧基)-苯基]-卟啉

[0311]



[0312] 向搅拌的二吡咯甲烷 (0.61g, 4.1mmol) 和 4-(3-溴丙氧基)-苯甲醛 (1.03g, 4.2mmol) 在脱气二氯甲烷 (1 升) 中的溶液中滴加 TFA (0.07mL, 1.5mmol)。溶液在室温下、在黑暗中、在氩气下搅拌 17 小时。加入 DDQ (2.76g, 0.012 摩尔) 之后, 混合物在室温下再搅拌 1 小时。通过使用二氯甲烷为洗脱剂的硅胶 (Fluka 60, 100g) 过滤后, 得到粗产物, 用二氯甲烷: 正己烷重结晶, 得到纯产物, 紫色晶体。

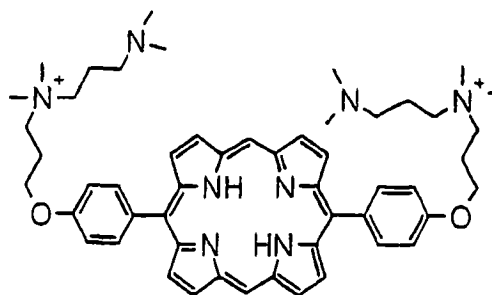
[0313] $^1\text{H-NMR}$:

[0314] δ_{H} (300Mz, C_6D_6) : -3.15 (2H, s), 2.00 (quint, ^3J 7.5Hz, 4H), 3.30 (t, ^3J 7.5Hz, 4H), 3.90 (t, ^3J 7.5Hz, 4H), 7.15-7.18, 7.95-8.15 (2xm, 2x4H), 9.15-9.20, (m, 8H), 10.05 (s, 2H).

[0315] 化合物 8

[0316] 5,15-双-(4-{3-[(3-二甲氨基丙基)-二甲基铵基]-丙氧基}-苯基)-卟啉二氯化物

[0317]



[0318] 将化合物 7 (200mg, 0.27mmol) 溶于含 N, N, N', N' - 四甲基 -1,3-丙二胺 (5mL, 13,9mmol) 的无水 DMF (40mL) 中, 并将溶液在 50°C 在氩气下搅拌过夜。减压蒸发溶剂之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并使溶液通过载于烧结钢 (直径 3.5cm) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。该垫先用甲醇 (约 1 升) 洗脱, 随后用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3:2:1) 洗脱。从适当的馏份中蒸发溶剂后, 将得到的粗产物溶于甲醇 (5mL) 中, 并进一步通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4:5:1, 体积比, 上面的相) 作为洗脱剂的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱纯化。洗脱的初馏分是所需的产物。减压脱除溶剂后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米)。从洗脱液中减压脱除溶剂后, 残余物用二乙醚结晶, 并在高真空下干燥, 得到产物, 紫色晶体。

[0319] $^1\text{H-NMR}$:

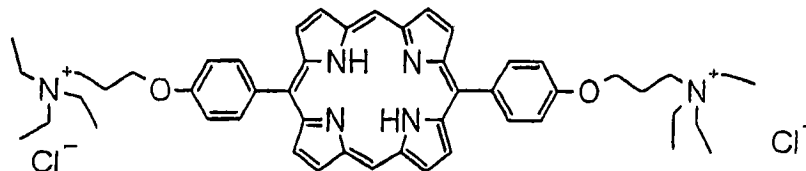
[0320] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 2.20-2.35 (m, 4H), 2.40-2.50 (m, 4H), 2.80 (s, 12H), 3.05 (4H,

t, 3J 7.8, 2H), 3.25 (s, 12H), 3.45–3.55 (bs, 4H), 3.65–3.75 (m, 4H), 4.30 (t, 3J 4.2Hz, 4H), 7.40, 8, 10 (2xd, 3J 7.5Hz, 2x4H), 8.95, 9.45 (2xd, 3J 4.2Hz, 8H), 10.40 (s, 2H).

[0321] 化合物 9

[0322] 5,15-双-[4-(3-三乙铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉二氯化物

[0323]



[0324] 向化合物 7 (50mg, 0.068mmol) 的无水 DMF (20mL) 溶液中加入三乙胺 (4.7mL, 0.034 摩尔, 500 当量)。混合物在 60℃ 搅拌 2–4 小时。减压脱除溶剂之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5cm) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (约 1 升) 洗涤后, 该垫用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3: 2: 1) 洗脱。从洗脱的馏份中减压蒸发溶剂之后, 将得到的粗产物溶于甲醇 (5mL) 中并通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4: 5: 1, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱纯化。从适当的馏份中减压脱除溶剂后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并使溶液通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米), 蒸发溶剂后, 得到产物, 紫色固体。

[0325] $^1\text{H-NMR}$:

[0326] δ_{H} (300Mz, CD_3OD): 1.25 (m, 18H), 2.13 (m, 4H),

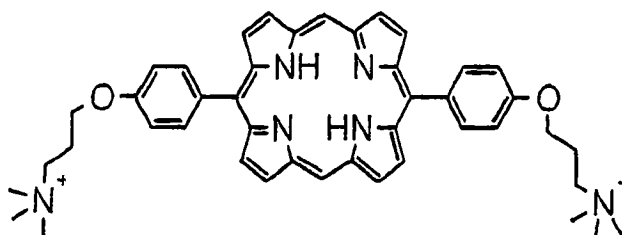
[0327] CH_2NCH_2 (16H) 的信号处于 3.00–3.40 区域, 是被溶剂性后覆盖的

[0328] 多重峰的部分, 4.15 (t, 4H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 7.36 (d, 4H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 8.15 (d, 4H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 9.05 (d, 4H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 9.54 (d, 4H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 10.45 (s, 2H)

[0329] 化合物 10

[0330] 5,15-双[4-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉二氯化物

[0331]



[0332] 将化合物 7 (300mg, 0.41mmol) 的无水 DMF (50mL) 溶液转移到 100mL 高压釜中。加入三甲胺 (4.5g) 后, 混合物在 50℃ 下搅拌 16 小时。减压蒸发溶剂之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并使溶液通过载于烧结钢 (直径 3.5cm) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (约 1 升) 洗涤后, 该垫用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3: 2: 1) 洗脱。从适当的馏份中蒸发溶剂之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4: 5: 1, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱纯化。得到两个馏份, 其中第一洗脱液是所需的产物。减压脱除溶剂后, 将得到的残余物再溶解于甲醇 (5mL) 中并使溶液通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20cm)。减压蒸发溶剂后, 残余物用甲醇: 二乙醚结晶, 并在高真空下干燥, 得到产物, 紫色晶体。

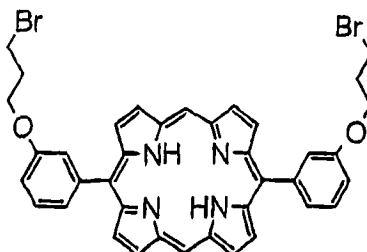
[0333] $^1\text{H-NMR}$:

[0334] δ_{H} (300Mz, CD_3OD) : 2.40–2.60 (m, 4H), 3.30–3.25 (bs, 18H), 3.75–3.80 (m, 4H), 4.40 (t, ^3J 7.5Hz, 4H), 7.40, 8.20 (2xd, ^3J 8.5Hz, 8H), 9.05, 9.50 (2xd, ^3J 4.5Hz, 8H), 10.45 (s, 2H).

[0335] 化合物 11

[0336] 5,15-双-[3-(3-溴丙氧基)-苯基]-卟啉

[0337]



[0338] 向搅拌的二吡咯甲烷 (1.22g, 8.2mmol) 和 3-(3-溴丙氧基)-苯甲醛 (2.06g, 8.2mmol) 在脱气二氯甲烷 (2 升) 中的溶液中滴加 TFA (0.14mL, 3mmol)。溶液在室温下、在黑暗中、在氩气下搅拌 17 小时。加入 DDQ (5.4g, 0.024 摩尔) 之后, 混合物在室温下再搅拌 1 小时。减压脱除溶剂后, 将得到的残余物溶于二氯甲烷 (5mL) 中并通过用二氯甲烷作为洗脱剂的硅胶 (Fluka 60) 柱 (300g), 得到粗产物, 用二氯甲烷: 甲醇结晶, 得到纯物质, 紫色晶体。

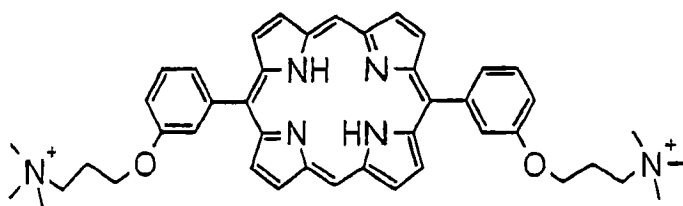
[0339] $^1\text{H-NMR}$:

[0340] δ_{H} (300Mz, CDCl_3) : -3.20 (2H, s), 2.40 (quint, ^3J 7.5Hz, 4H), 3.65 (t, ^3J 7.5Hz, 4H), 4.25 (t, ^3J 7.5Hz, 4H), 7.20–7.25, 7.60–7.65, 7.75–7.80 (3xm, 8H), 9.05, 9.25, (2xd, ^3J 4.2Hz, 8H), 10.25 (s, 2H).

[0341] 化合物 12

[0342] 5,15-双-[3-(3-三甲铵基丙氧基)-苯基]-卟啉二氯化物

[0343]



[0344] 将化合物 11 (400mg, 0.543mmol) 的无水 DMF (50mL) 溶液转移到 100mL 高压釜中。加入三甲胺 (6.3g) 后, 混合物在 50°C 下搅拌 8 小时。减压蒸发溶剂之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并使溶液通过载于烧结钢 (直径 3.5 厘米) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。该垫用甲醇 (约 1 升) 洗涤后, 用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱, 得到馏份, 其在减压蒸发溶剂后, 形成固体残余物。将其溶于甲醇 (5mL) 中并通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱纯化。从该柱得到两个馏份, 其第一馏份是所需的产物。减压脱除溶剂之后, 把得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中。使溶液通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米), 减压脱除溶剂, 粗产物用甲醇: 二乙醚结晶, 得到紫色晶体, 将其在高真空

下干燥。

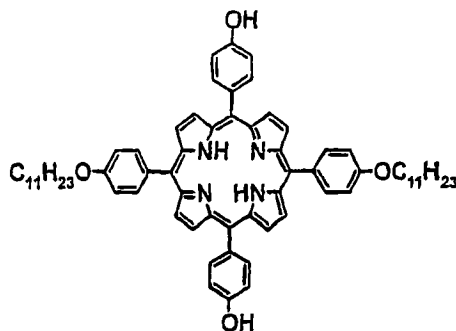
[0345] $^1\text{H-NMR}$:

[0346] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 2.30-2.35 (m, 4H), 3.15 (s, 18H), 3.95-4.05 (m, 4H), 4.20-4.25 (m, 4H), 7.40-7.45, 7.65-7.70, 7.80-7.85 (3xm, 8H), 9.00-9.05, 9.40-9.45, (2xm, 8H), 10.40 (m, 2H).

[0347] 化合物 13

[0348] 5,15-双-(4-羟基苯基)-10,20-双-(4-十一烷氧基-苯基)-卟啉

[0349]



[0350] 在用于合成化合物 2 的色谱分离过程中,从柱子中洗脱的第三馏份,其特征在于为 5,15-双-(4-羟基苯基)-10,20-双-(4-十一烷氧基-苯基)-卟啉

[0351] $^1\text{H-NMR}$:

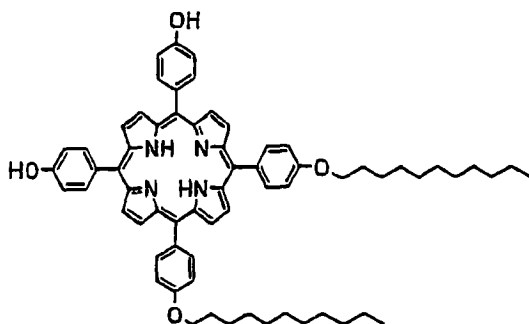
[0352] δ_{H} (300MHz, CDCl_3) : -2.88 (2H, s), 0.85 (t, ^3J 7.5Hz, 6H), 1.20-1.40 (m, 28H), 1.55 (br m, 4H), 1.80 (quint, ^3J 7.5Hz, 4H), 4.15 (t, ^3J 7.5Hz, 4H), 6.65, 7.15 (d, ^3J 8.1Hz, 8H), 7.80, 8.00 (d, ^3J 8.1Hz, 8H), 8.75-8.80 (m, 8H).

[0353] 在 d-乙酸中通过 $^1\text{H-}^{13}\text{C-2D-NMR}$ 确认其为反式区域异构体几何结构。

[0354] 化合物 14

[0355] 5,10-双-(4-羟基苯基)-15,20-双-(4-十一烷氧基-苯基)-卟啉

[0356]



[0357] 在用于合成化合物 2 的色谱分离过程中,从柱子中洗脱的第四馏份,其特征在于为 5,10-双-(4-羟基苯基)-15,20-双-(4-十一烷氧基-苯基)-卟啉。

[0358] $^1\text{H-NMR}$:

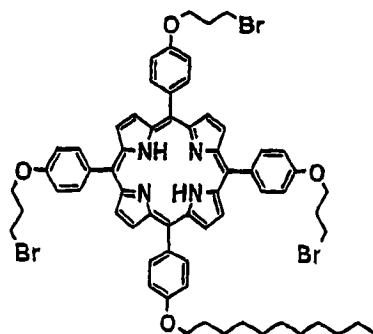
[0359] δ_{H} (300MHz, CDCl_3) : -2.80 (2H, s), 0.90 (t, ^3J 7.5Hz, 6H), 1.20-1.60 (m, 28H), 1.65 (quint, ^3J 7.5Hz, 4H), 2.00 (quint, ^3J 7.5Hz, 4H), 4.22 (t, ^3J 7.5Hz, 4H), 7.15 (d, ^3J 8.1Hz, 4H), 7.25 (d, ^3J 8.2Hz, 4H), 8.10 (d, ^3J 8.2Hz, 4H), 8.15 (d, ^3J 8.2Hz, 4H), 8.80-8.90 (m, 8H).

[0360] 在 d- 乙酸中通过 ^1H - ^{13}C -2D-NMR 确认其为顺式区位异构体几何结构。

[0361] 化合物 15

[0362] 5,10,15- 三-[4-(3- 溴- 丙氧基)- 苯基]-20-(4- 十一烷氧基苯基)- 卟啉

[0363]



[0364] 在氩气气氛下,在 K_2CO_3 (500mg) 和 1,3- 二溴丙烷 (1.02mL, 10mmol) 的存在下,将化合物 2 (200mg, 0.24mmol) 溶于绝对无水 DMF (40mL) 中。混合物在 80°C 下加热过夜,根据上述化合物 2 中所给出的步骤进行后处理。产物通过用己烷: 乙酸乙酯 (体积比 5 : 1) 洗脱的硅胶 (Merck 60) 柱色谱纯化。

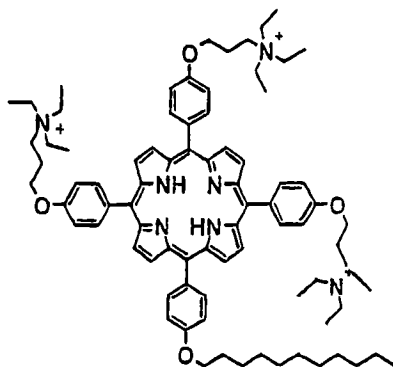
[0365] ^1H -NMR :

[0366] δ_{H} (300MHz, CDCl_3) : -2.75 (2H, s), 0.85 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.45 (m, 14H), 1.50 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 1.90 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 2.40 (quint, ^3J 7.4Hz, 6H), 3.65 (t, ^3J 7.4Hz, 6H), 4.16 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.25 (t, ^3J 7.5Hz, 6H), 7.18-7.20 (m, 8H), 8.00-8.05 (m, 8H), 8.75-8.85 (m, 8H).

[0367] 化合物 16

[0368] 5,10,15- 三-[4-(3- 三乙铵基- 丙氧基)- 苯基]-20-(4- 十一烷氧基苯基)- 卟啉三氯化物

[0369]



[0370] 将化合物 15 (200mg, 0.17mmol) 溶于含三乙胺 (5mL, 34.5mmol, 208 当量) 的无水 DMF (40mL) 中。混合物加热到 50°C , 加热 48 小时。真空脱除 DMF 后,将得到的残余物溶于甲醇中并通过硅胶 (Merck 60) 柱色谱纯化,先用甲醇: 水: 乙酸 (体积比 2 : 1 : 3) 洗脱,然后用乙酸: 吡啶 (体积比 1 : 1)。从适当的馏份中真空脱除溶剂后,得到粗产物,将其溶于甲醇: NaCl 水溶液 (1M) (5mL, 体积比 1 : 1) 中。将混合物搅拌 30 分钟并通过载于烧结钢 (直径 3.5 厘米) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (200mL) 洗涤该垫之后,将其用甲醇: 水: 乙酸 (体积比 2 : 1 : 3) 洗脱。从适当的合并馏份中蒸发溶剂后,将得

到的残余物溶于甲醇 (2mL) 中并滴加二氯甲烷 (5mL)。通过过滤收集沉淀出来的白色凝胶, 高真空脱除溶剂。

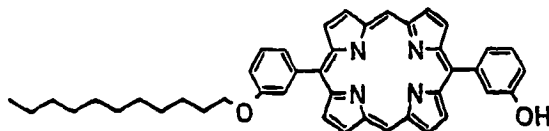
[0371] $^1\text{H-NMR}$:

[0372] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.90 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.45 (m, 43H), 1.45-1.65 (bs, 2H), 2.25-2.40 (bs, 6H), 3.35-3.45 (bs, 24H), 3.50-3.60 (bs, 6H), 4.25 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.40-4.45 (bs, 6H), 7.25-7.40, 8.10-8.20 (m, 16H), 8.80-9.10 (bs, 8H).

[0373] 化合物 17

[0374] 5-[4-(3-羟基苯基)]-15-(3-十一烷氧基苯基)-卟啉

[0375]



[0376] 溶解 5,15-双-(3-羟基苯基)-卟啉 (Wiehe, A., Simonenko, E. J., Senge, M. O. 和 Roeder, B., Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, 5, 758-761 (2001)) (86mg, 0.17mmol), 并将 K_2CO_3 (250mg, 7.1mmol) 悬浮在 DMF (40mL) 中。在 50°C 下, 在 30 分钟内, 向剧烈搅拌的混合物中滴加 1-溴代十一烷 (0.04mL, 0.17mmol) 的 DMF (5mL) 溶液, 将混合物在此温度下加热 1 小时。通过过滤脱除 K_2CO_3 后, 高真空脱除 DMF。得到的残余物得到通过用正己烷: 乙酸乙酯 (体积比 10 : 1) 洗脱的硅胶 (Merck 60) 柱色谱纯化。收集第二个馏份, 高真空干燥得到产物。

[0377] $^1\text{H-NMR}$:

[0378] δ_{H} (300Mz, CDCl_3) : -3.15 (2H, s), 0.75 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.10-1.30 (m, 14H), 1.35 (m, 2H), 1.80 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.05 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 6.85-6.90, 7.20-7.25, 7.35-7.45, 7.50-7.65, 7.75-7.80 (5xm, 8H), 8.85, 8.95, 9.10, 9.20 (4xd, ^3J 4.9Hz, 4x2H), 10.15 (s, 2H).

[0379] 化合物 18

[0380] 5,10,15-三-(3-羟基苯基)-20-(3-十二烷氧基苯基)-卟啉

[0381] 将 3-羟基苯甲醛 (1.8g, 14.8mmol, 3 当量) 和 3-十二烷氧基苯甲醛 (1.35g, 4.9mmol, 1 当量) 溶于乙酸 (145mL) 和硝基苯 (98mL, 960mmol) 的混合物中并加热到 120°C 。一次性加入吡咯 (1.35mL, 19.6mmol, 4 当量), 并将混合物在 120°C 搅拌 1 小时。冷却到室温后, 在 50°C 下真空脱除溶剂。通过用甲苯作为洗脱剂的硅胶柱 (500g) 色谱分离产物。从该柱得到的第五个馏份是所需的产物, 并将其用甲苯洗脱的用较少量 (200g) 硅胶的色谱再进行分离。蒸发溶剂后得到产物, 紫色固体。

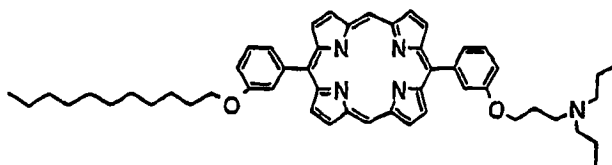
[0382] $^1\text{H-NMR}$:

[0383] δ_{H} (300MHz, CDCl_3) : 0.64 (t, 3H, ^3J 6.8Hz), 0.94-1.15 (m, 16H), 1.25 (bs, 2H), 1.62 (bs, 2H), 3.90 (bs, 2H), 6.33-6.95 (m, 8H), 7.08-7.60 (m, 8H), 8.20-8.47 (m, 4H), 8.51-8.70 (m, 4H)

[0384] 化合物 19

[0385] 5-{3-[双-(2-二乙基氨基乙基)-氨基丙氧基]-苯基}-15-(3-十一烷氧基-苯基)-卟啉

[0386]



[0387] 将化合物 17 (50mg, 0.065mmol) 溶于含有 N, N, N', N' 四乙基二乙三胺 (1mL, 39mmol) 的 THF (10mL) 中并将混合物在室温下搅拌 4 天。蒸发溶剂后, 把残余物溶于乙醚 (20mL) 中并用水 (5X30mL) 洗涤溶液。将有机相干燥 (Na_2SO_4), 并在高真空下浓缩。混合物通过柱色谱 (硅胶, Merck60) 纯化, 先用正己烷: 乙酸乙酯 (体积比 5 : 1) 洗脱, 随后用正己烷: 乙酸乙酯: 三乙胺 (体积比 10 : 10 : 1) 洗脱。收集适当的馏份后, 减压脱除溶剂, 残余物通过用乙醚: 甲醇结晶, 得到纯产物。

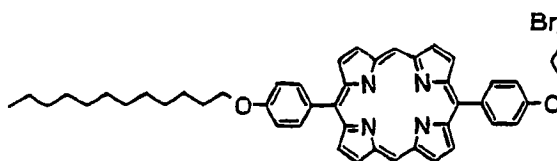
[0388] $^1\text{H-NMR}$:

[0389] δ_{H} (300Mz, CDCl_3) : 0.80 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 0.9 (t, ^3J 7.5Hz, 12H), 1.20-1.40 (m, 14H), 1.45 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 1.80 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 1.95 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 2.40-2.60 (m, 16H), 2.65 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.10 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.20 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 7.30-7.40, 7.55-7.65, 7.75-7.80 (3xm, 8H), 9.10-9.15, 9.20-9.25 (2xm, 2x4H), 10.15 (s, 2H).

[0390] 化合物 20

[0391] 5-[4-(3-溴-丙氧基)-苯基]-15-(4-十二烷氧基苯基)-卟啉

[0392]



[0393] 向搅拌的二吡咯甲烷 (0.31g, 2.1mmol)、4-(3-溴丙氧基)-苯甲醛 (0.27g, 1.1mmol) 和 4-十二烷氧基苯甲醛 (0.32g, 1.1mmol) 在脱气二氯甲烷 (2 升) 中的溶液中滴加 TFA (0.035mL, 1.5mmol)。溶液在室温下、在黑暗中、在氩气下搅拌 17 小时。加入 DDQ (1.38g, 6mmol) 之后, 混合物在室温下再搅拌 1 小时。通过用甲苯作为洗脱剂的硅胶 (Merck60, 400g) 柱色谱纯化, 得到和化合物 7 (第三馏份) 在一起的产物 (第二馏份)。

[0394] $^1\text{H-NMR}$:

[0395] δ_{H} (300Mz, CDCl_3) : -3.15 (2H, s), 0.90 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.40 (m, 16H), 1.55 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 1.90 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 2.40 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 3.75 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.20 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.35 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 7.20-7.30, 8.10-8.15 (2xm, 8H), 9.10-9.15, 9.25-9.30 (2xm, 2x4H), 10.20 (s, 2H).

[0396] 化合物 21

[0397] 5,10,15,20-四-(3-羟基苯基)-卟啉

[0398] 将 3-羟基苯甲醛 (0.910g, 7.45mmol) 溶于丙酸 (50mL) 中并加热到 140°C。一次性加入吡咯 (0.52mL, 7.45mmol), 并将混合物回流加热 2 小时。在室温下继续搅拌 12 小时。真空脱除丙酸, 将残余物溶于丙酮中, 并通过硅胶柱 (250g) 色谱纯化, 用包含有连续不断增加的乙酸乙酯比例的甲苯洗脱。产物用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 6 : 1) 洗脱。真空脱

除溶剂,得到产物,紫色固体。

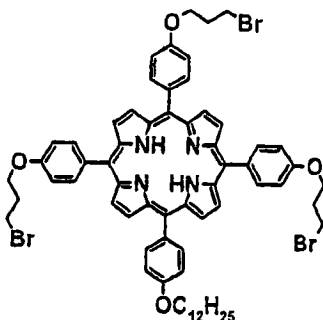
[0399] $^1\text{H-NMR}$:

[0400] δ_{H} (300MHz, d6-丙酮) : 7.18(d, 4H, $^3J = 8.25\text{Hz}$), 7.49(t, 4H, $^3J = 8.25\text{Hz}$), 7.56-7.62(m, 8H), 8.81(M, 8H)

[0401] 化合物 22

[0402] 5,10,15-三-[4-(3-溴-丙氧基)-苯基]-20-(4-十二烷氧基苯基)-卟啉

[0403]



[0404] 向搅拌的吡咯 (0.7g, 10mmol)、4-(3-溴丙氧基)-苯甲醛 (1.8g, 7.5mmol) 和 4-正十二烷氧基苯甲醛 (0.725g, 2.5mmol) 在脱气二氯甲烷 (1 升) 中的溶液中滴加 TFA (0.085mL, 10mmol)。反应溶液在氩气下、在室温下、在黑暗中搅拌 17 小时。加入 DDQ (6.9g, 30mmol) 后,反应混合物在室温下再搅拌 1 小时。减压除去溶剂,并将残余物再溶于甲苯中。在使用甲苯:正己烷 (体积比 1:4) 作为洗脱剂的硅胶 (Merck 60) 柱 (3.5×30cm) 色谱上纯化,得到粗产物,用甲醇:二氯甲烷重结晶,得到紫色晶体。

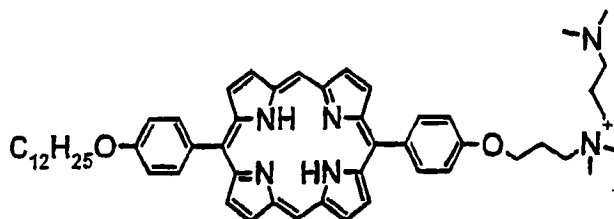
[0405] $^1\text{H-NMR}$:

[0406] δ_{H} (300MHz, CDCl_3) : 0.90(t, 3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.45(m, 16H), 1.60(quint, 3J 7.5Hz, 2H), 1.90(quint, 3J 7.5Hz, 2H), 2.50(quint, 3J 7.4Hz, 6H), 3.75(t, 3J 7.4Hz, 6H), 4.20(t, 3J 7.5Hz, 2H), 4.35(t, 3J 7.5Hz, 6H), 7.25-7.30(m, 8H), 8.15-8.30(m, 8H), 8.80-8.85(m, 8H).

[0407] 化合物 23

[0408] 5-{4-[3-二甲基-(3-二甲基氨基丙基)-铵基-丙氧基]苯基}-15-(4-十二烷氧基-苯基)-卟啉氯化物

[0409]



[0410] 将化合物 20 (30mg, 0.038mmol) 溶于含有 N, N, N', N' - 四甲基-1,3-丙二胺 (156mg, 1.2mmol) 的 THF : DMF (体积比 1:1, 20mL) 中并在 50℃ 搅拌 18 小时。减压蒸发溶剂后,将残余物溶于二氯甲烷中并通过用乙酸:甲醇:水 (体积比 3:2:1) 洗脱的柱色谱 (硅胶:Merck 60) 纯化。合并适当的馏份并减压脱除溶剂后,残余物用二氯甲烷:己烷结晶,得到产物,紫色晶体。

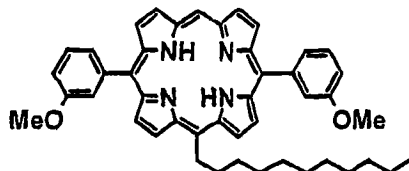
[0411] $^1\text{H-NMR}$:

[0412] δ_{H} (300Mz, CDCl_3 +1 % 乙酸) : 0.85 (m, 3H), 1.20-1.40 (m, 18H), 1.55-1.60 (m, 2H), 1.60-1.65 (m, 4H), 2.10-2.20 (bs, 8H), 3.15-3.25 (m, 8H), 3.75 (bs, 2H), 4.20 (bs, 2H), 4.35 (bs, 2H), 7.15-7.20, 8.10-8.15 (2xm, 8H), 8.95-9.00, 9.10-9.15, 9.25-9.30 (3x bs, 8H), 10.20 (s, 2H).

[0413] 化合物 24

[0414] 5,15-双-(3-甲氧基苯基)-10-十一烷基卟啉

[0415]



[0416] 在氩气气氛下,向含锂 (500mg,71mmol) 的 50mL 烧瓶中加入新近蒸馏的乙醚 (15mL)。悬浮液回流 1 小时,冷却到 15℃,并用通过注射器滴加的正十一烷基溴化物 (6.58g71mmol) 的乙醚 (6mL) 溶液处理。混合物冷却到 7-10℃,5 分钟后,当悬浮液变得稍微浑浊并在金属锂上出现亮点后,在 30 分钟内匀速加入其余的正十一烷基溴化物溶液,同时将内部温度维持在 10℃ 以下。加料结束时,混合物在 10℃ 进一步搅拌 1 小时。将悬浮液在氩气下过滤脱除过量的锂和溴化锂。

[0417] 把 5,15-双-(3-甲氧基苯基)-卟啉 (100mg,0.19mmol) 在 -50℃ 在氩气气氛下溶于无水 THF (30mL) 中。把上述有机锂试剂 (5mL) 滴加到混合物中。5 分钟后,除去冷浴,将混合物升温到室温。在室温下搅拌 15 分钟后,通过缓慢加入水 (2mL) 猝灭反应。15 分钟后,通过加入 DDQ (4mL,0.4mmol,0.1M 的 THF 溶液) 将混合物氧化,并进一步搅拌 15 分钟。混合物通过氧化铝 (中性, Brockman 级+) 过滤,并通过用己烷:二氯甲烷 (体积比 4 : 1) 洗脱的硅胶柱色谱纯化。收集初馏分,用甲醇:二氯甲烷结晶。

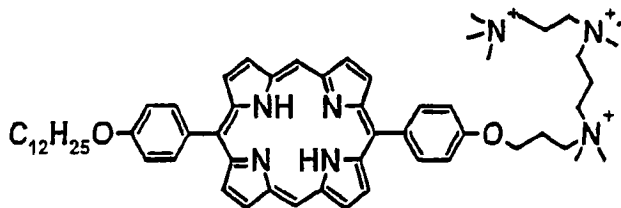
[0418] $^1\text{H-NMR}$:

[0419] δ_{H} (300Mz, CDCl_3) : -3.05 (bs, 2H, s), 0.80 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.10-1.20 (m, 12H), 1.25 (m, 2H), 1.70 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 2.40 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 3.85 (s, 6H), 4.95 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 7.20-7.23, 7.50-7.60, 7.65-7.75 (3x m, 8H), 8.85-8.90, 9.10-9.15, 9.35-9.40 (3xm, 8H), 9.95 (s, 1H).

[0420] 化合物 25

[0421] 3-[(3-[(3-{4-[15-(4-十二烷氧基-苯基)-卟啉-5-基]-苯氧基-丙基)-二甲基铵基]-丙基]-二甲基铵基)-丙基]三甲基铵三氯化物

[0422]



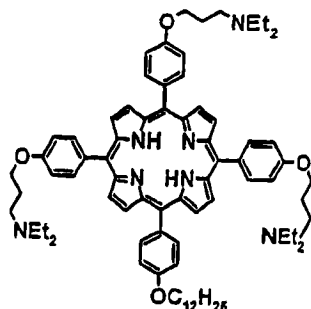
[0423] 将化合物 23 (20mg,0.022mmol) 和 (1-溴丙基)-三甲基-溴化铵 (26mg,0.1mmol) 溶于 DMF (15mL) 中并在 50℃ 下搅拌过夜。减压蒸发溶剂后,将残余物溶于甲醇 (5mL) 并施加到硅胶垫 (深 3 厘米) 上,先用甲醇 (500mL) 洗涤,随后用乙酸:甲醇:水 (体积比

3 : 2 : 1) 洗涤。蒸发溶剂后,残余物通过柱色谱纯化(硅胶:Merck 60),先用乙酸:甲醇:水(体积比 3 : 2 : 1)洗脱,然后用吡啶:乙酸(体积比 1 : 1)洗脱。收集洗脱出来的第二个馏份,并真空干燥。将残余物溶于甲醇(2mL)中并通过用正丁醇:乙酸:水(5 : 1 : 4,体积比,上面的相)洗脱的 Sephadex LH-20 柱(2.5X40 厘米)色谱纯化。减压脱除溶剂后,残余物在 80°C 下真空干燥。核磁共振表明,产物中含有小比例的消除产物。

[0424] 化合物 26

[0425] 5,10,15-三-[4-(3-二乙基氨基-丙氧基)-苯基]-20-(4-十二烷氧基苯基)-卟啉

[0426]



[0427] 将化合物 22(50mg, 0.06mmol) 和新近蒸馏的二乙胺(5mL) 在氩气下溶于无水 DMF(30mL) 中。反应混合物在室温下搅拌 20 小时,然后倾入到乙酸乙酯(50mL) 中。混合物用水(4x50mL) 洗涤,合并的有机相经干燥(Na_2SO_4) 后,蒸发溶剂得到残余物,该残余物通过用乙酸乙酯:正己烷:三乙胺(体积比 10 : 10 : 1) 洗脱的硅胶(Merck 60) 柱(2.5X30 厘米) 色谱纯化。酌情合并馏份,减压蒸发溶剂,残余物在高真空下干燥。用二氯甲烷:正己烷重结晶得到纯产物。

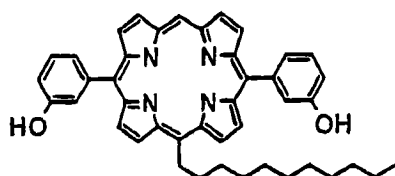
[0428] $^1\text{H-NMR}$:

[0429] δ_{H} (300MHz, CDCl_3) : 0.85 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.05 (m, 18H), 1.20-1.45 (m, 18H), 1.55 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 2.15 (quint, ^3J 7.5Hz, 6H), 2.75 (quint, ^3J 7.4Hz, 6H), 3.15-3.25 (m, 12H), 4.15 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.25 (t, ^3J 7.5Hz, 6H), 7.15-7.20 (m, 8H), 8.00-8.05 (m, 8H), 7.95-8.05 (m, 8H).

[0430] 化合物 27

[0431] 5,15-双-(3-羟基苯基)-10-十一烷基卟啉

[0432]



[0433] 在氩气气氛和 -70°C 下,向化合物 24(95mg, 0.14mmol) 的无水二氯甲烷(80mL) 溶液中滴加 BBr_3 (6mL, 1M 的二氯甲烷溶液),并将混合物搅拌 1 小时。将混合物升温到室温,搅拌过夜,然后冷却到 -10°C ,通过在 1 小时内加入 2mL 水进行水解。直接加入 NaHCO_3 (3g) 进行中和。混合物进一步搅拌 12 小时,过滤掉 NaHCO_3 并真空脱除二氯甲烷后,得到的残余物通过用二氯甲烷洗脱的硅胶柱色谱纯化。从适当的合并馏份中脱除溶剂并在高真空下干燥之后,得到产物,紫色晶体。

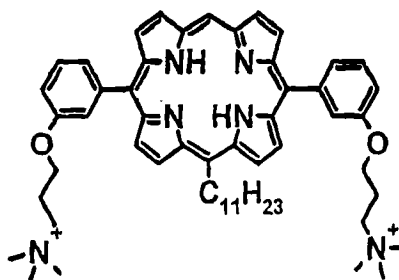
[0434] $^1\text{H-NMR}$:

[0435] δ_{H} (300Mz, CDCl_3) : -3.05 (bs, 2H, s), 0.85 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.40 (m, 12H), 1.50 (m, 2H), 1.80 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 2.55 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 5.00 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 7.15-7.25, 7.50-7.60, 7.80-7.90 (3xm, 8H), 8.95-9.00, 9.20-9.25, 9.50-9.60 (3xm, 8H), 10.15 (s, 1H).

[0436] 化合物 28

[0437] 5,15-双-[3-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-10-十一烷基-卟啉二氯化物

[0438]



[0439] 在氩气气氛下,向化合物 27 (50mg, 0.08mmol) 的 DMF (20mL) 溶液中加入 K_2CO_3 (100mg, 0.72mmol) 和 (3-溴丙基)-三甲基铵基溴化物 (300mg, 1.2mmol), 并将混合物在 50°C 下搅拌 18 小时。高真空脱除溶剂之后,将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5 厘米) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (500mL) 洗涤该垫之后,对其用乙酸:甲醇:水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。将适当的合并馏份在高真空中干燥后,把残余物溶于甲醇中并通过用正丁醇:乙酸:水 (5 : 1 : 4, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱色谱纯化。蒸发溶剂后,把由洗脱的第一个馏份得到的残余物溶于甲醇中并通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱,蒸发溶剂后得到纯产物。

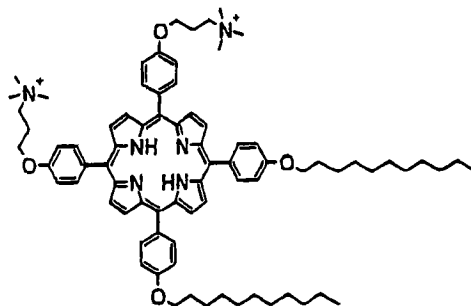
[0440] $^1\text{H-NMR}$:

[0441] δ_{H} (300Mz, CD_3OD) : 0.85 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.40 (m, 12H), 1.50 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.40 (bs, 4H), 2.55 (m, 2H), 3.20 (bs, 18H), 3.65 (bs, 4H), 4.35 (bs, 4H), 5.10 (m, 2H), 7.50-7.55, 7.70-7.85 (2xm, 8H), 8.95-9.00, 9.25-9.24, 9.50-9.70 (3xbs, 8H), 10.15 (bs, 1H).

[0442] 化合物 29

[0443] 5,10-双-[4-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-15,20-双-(4-十一烷氧基苯基)-卟啉二氯化物

[0444]



[0445] 将化合物 14 (50mg, 0.05mmol) 溶解, 并把 K_2CO_3 (150mg, 1.1mmol) 悬浮在 DMF (30mL)

中。在 50℃ 下向剧烈搅拌的混合物中滴加 (1- 溴丙基)- 三甲基铵基溴化物 (0.3g, 16.6mmol) 的 DMF (10mL) 溶液, 并将混合物加热 18 小时。高真空脱除 DMF 之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5cm) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (大约 500mL) 洗涤该垫之后, 再用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3: 2: 1) 洗脱。从适当合并的馏份中蒸发溶剂之后, 将得到的残余物通过用正丁醇: 水: 乙酸 (5: 4: 1, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱纯化, 以进一步与过量的铵盐及其他副产物分离。减压脱除溶剂后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米)。减压蒸发溶剂后, 产物在高真空中干燥。

[0446] $^1\text{H-NMR}$:

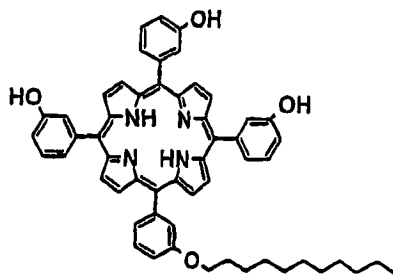
[0447] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.80 (t, ^3J 7.5Hz, 6H), 1.15-1.35 (m, 28H),

[0448] 1.35-1.45 (bs, 4H), 1.70-1.80 (bs, 4H), 2.30-2.40 (bs, 4H), 3.15-3.30 (bs, 18H), 3.65-3.75 (bs, 4H), 4.00-4.05 (m, 4H), 4.30-4.40 (bs, 4H), 7.00-7.15, 7.20-7.30, 7.80-95, 7.95-8.15 (4 xm, 4x4H), 8.60-9.00 (bs, 8H).

[0449] 化合物 30

[0450] 5,10,15- 三-(3- 羟基苯基)-20-(3- 十一烷氧基苯基)-卟啉

[0451]



[0452] 将吡咯 (1.31g, 19.6mmol) 一次性加入到 3- 羟基苯甲醛 (1.8g, 14.8mmol)、3- 十一烷氧基苯甲醛 (1.36g, 4.9mmol) 在预热到 130℃ 的乙酸 (145mL) 和硝基苯 (118g, 960mmol) 中的混合物中, 并把混合物在 120℃ 下搅拌 1 小时。将混合物冷却并高真空脱除溶剂。将残余物溶于二氯甲烷 (5mL) 中并通过用己烷: 甲苯 (体积比 4: 1) 洗脱的硅胶 (Merck 60) 柱色谱纯化。从洗脱液中减压脱除溶剂后, 得到产物, 并将得到的残余物真空干燥。

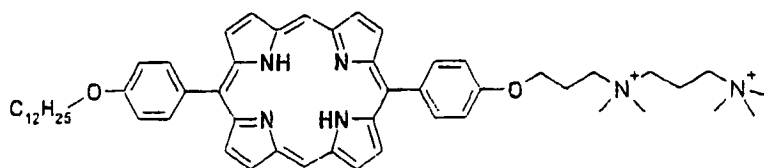
[0453] $^1\text{H-NMR}$:

[0454] δ_{H} (300Mz, CDCl_3) : 0.75-0.80 (m, 3H), 1.05-1.35 (m, 14H), 1.40-1.50 (m, 2H), 1.75-1.85 (m, 2H), 3.90-4.10 (m, 2H), 6.90-7.70 (m, 16H), 8.45-8.80 (m, 8H).

[0455] 化合物 31

[0456] 5-{4-[3- 二甲基-(3- 三甲铵基丙基)- 铵基- 丙氧基] 苯基}-15-(4- 十二烷氧基- 苯基)-卟啉二氯化物

[0457]

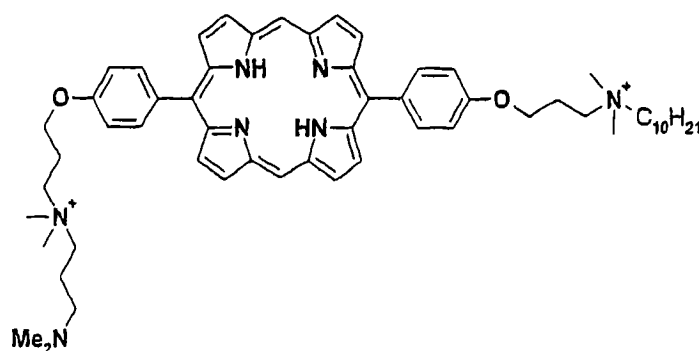


[0458] 将化合物 23 (50mg, 0.055mmol) 用处于无水 DMF (30mL) 中的碘甲烷 (5mL, 80mmol) 溶解, 混合物在 40℃ 下搅拌 3 小时。蒸发溶剂之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5cm) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。该垫用甲醇 (大约 1 升) 洗涤后, 先用二氯甲烷: 甲醇 (体积比 2 : 3, 500mL) 洗脱, 然后用乙酸: 水: 甲醇 (体积比 3 : 1 : 2) 洗脱。从适当的合并馏份中脱除溶剂后, 将得到的残余物溶于乙酸中并通过用乙酸洗脱的 Sephadex LH-20 柱色谱纯化。从适当合并的馏份中蒸发溶剂并将得到的残余物在高真空下干燥后, 将残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过阴离子交换树脂 (AmberLite IRA 400, 氯化物形式) 小的柱 (3.5X20 厘米)。从洗脱液中蒸发溶剂后, 产物在高真空下干燥。

[0459] 化合物 32

[0460] 5-[4-(3-二甲基癸基-铵基丙氧基)-苯基]-15-{4-[3-二甲基-(3-二甲基氨丙基)-铵基丙氧基]-苯基}-卟啉二氯化物

[0461]



[0462] 将化合物 23 (50mg, 0.068mmol) 溶于含有 N, N, N', N' - 四甲基 -1,3- 丙二胺 (354mg, 1.36mmol) 和 N,N- 二甲基癸胺 (1g, 2.72mmol) 的 DMF : THF (30mL, 体积比 1 : 1) 中, 混合物在 50℃ 搅拌过夜。减压蒸发溶剂之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (10mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5 厘米) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (大约 500mL) 洗涤该垫之后, 用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。合并洗脱的头两个馏份, 并在减压蒸发溶剂之后, 将得到的残余物溶于甲醇中, 并通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱纯化。从洗脱的第二个馏份中减压脱除溶剂后, 将残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米)。把洗脱液蒸干, 将得到的残余物高真空干燥, 得到产物。

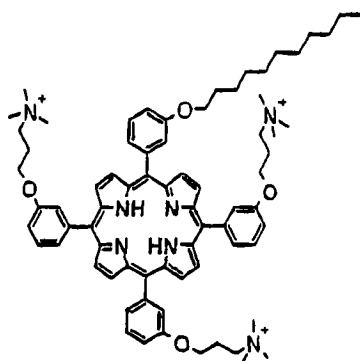
[0463] $^1\text{H-NMR}$:

[0464] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.80 (m, 3H), 1.05-1.25 (m, 10H), 1.25-1.40 (bs, 2H), 1.80-1.90 (bs, 4H), 2.15-2.30 (bs, 2H), 2.80-3.60 (m, 20H), 3.80-3.95 (bs, 4H), 7.05-7.15, 7.85-8.00 (2xm, 2x4H), 8.75-8.90, 9.20-9.35 (2xbs, 2x4H), 10.15 (bs, 2H).

[0465] 化合物 33

[0466] 5,10,15- 三-[3-(3-三甲基-铵基丙氧基)-苯基]-20-(3-十一烷氧基-苯基)-卟啉三氯化物

[0467]



[0468] 将化合物 30 (100mg, 0.12mmol) 溶解, 并把 K_2CO_3 (230mg, 1.7mmol) 悬浮在 DMF (30mL) 中。在 50℃ 下, 在 30 分钟内, 向剧烈搅拌的混合物中滴加 (1-溴丙基)-三甲基铵基溴化物 (0.3g, 16.6mmol) 的 DMF (10mL) 溶液, 并将混合物加热 18 小时。减压脱除 DMF 之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5cm) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (大约 500mL) 洗涤该垫之后, 用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。从适当的合并馏份中减压蒸发溶剂之后, 残余物通过用正丁醇: 水: 乙酸 (5 : 4 : 1, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40cm) 柱色谱纯化。从洗脱液中减压脱除溶剂后, 将得到的残余物溶于甲醇中并使该溶液通过阴离子交换树脂 (AmberLite IRA400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米)。从洗脱液中蒸发溶剂, 得到产物, 将其在高真空中干燥。

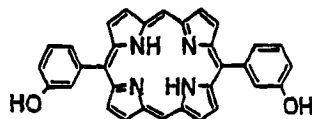
[0469] 1H -NMR :

[0470] δ_H (300MHz, CD_3OD) : 0.75-0.80 (m, 3H), 1.00-1.40 (m, 18H), 1.60-1.80 (bs, 2H), 2.25-2.40 (bs, 6H), 3.29 (bs, 27H), 3.40-3.60 (m, 6H), 3.90-4.00 (m, 2H), 4.05-4.25 (m, 6H), 7.10-7.20, 7.25-7.40, 7.60-7.80, 7.80-7.90 (4xm, 16H), 8.70-9.00 (bs, 8H).

[0471] 化合物 34

[0472] 5,15-双-(3-羟基苯基)-卟啉

[0473]

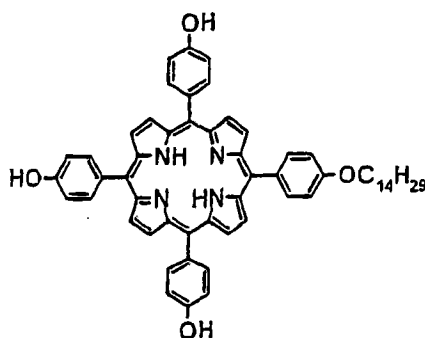


[0474] 该化合物是根据以下文献制备的: Wiehe, A., Simonenko, E. J., Senge, M. O. 和 Roeder, B., Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, 5, 758-761 (2001)。

[0475] 化合物 35

[0476] 5,10,15-三-(4-羟基苯基)-20-(4-十四烷氧基-苯基)-卟啉

[0477]



[0478] 溶解 5,10,15,20-四-(4-羟基苯基)-卟啉 (170mg, 0.25mmol), 并将 K_2CO_3 (0.65g, mmol) 悬浮在 DMF (30mL) 中。在 50℃ 下, 在 30 分钟内, 向剧烈搅拌的混合物中滴加 1-溴十四烷烃 (0.1mL, 0.45mmol) 的 DMF (10mL) 溶液, 并将混合物加热 1.5 小时。蒸发溶剂后, 将残余物溶于甲苯: 乙醇 (体积比 1 : 1, 大约 5mL), 并通过用甲苯洗涤的硅胶 (Merck60) 柱 (5X25 厘米) 色谱纯化。洗脱最初的 3 个馏份, 之后用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 2 : 1) 继续洗脱。收集洗脱的第五个化合物, 蒸发溶剂, 将残余物高真空干燥, 得到产物, 紫色晶体。

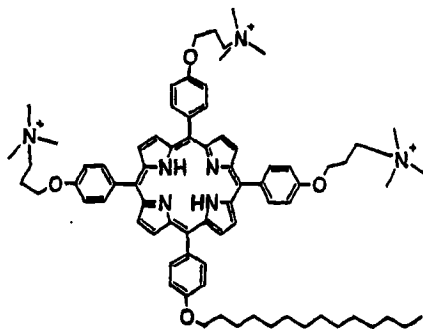
[0479] 1H -NMR :

[0480] δ_H (300MHz, d_6 -丙酮) : 0.85 (t, 3J 7.5Hz, 3H), 1.15-1.55 (m, 20H), 1.45 (quint, 3J 7.5Hz, 2H), 1.75 (quint, 3J 7.5Hz, 2H), 4.10 (t, 3J 7.5Hz, 2H), 7.20 (d, 3J 8.5Hz, 2H), 7.25 (d, 3J 8.5Hz, 6H), 8.00-8.15 (m, 8H), 8.80-9.10 (m, 8H).

[0481] 化合物 36

[0482] 5,10,15-三-[4-(3-三甲基-铵基丙氧基)-苯基]-20-(4-十四烷氧基苯基)-卟啉三氯化物

[0483]



[0484] 化合物 2 的正十四烷氧基同系物, 类似于上述化合物 2 那样制备, 但是使用 1-溴代十四烷烃代替 1-溴代十一烷烃 (50mg, 0.057mmol), 溶解 (1-溴丙基)-三甲基铵基溴化物 (210mg, 0.8mmol), 并将 K_2CO_3 (230mg, 1.7mmol) 悬浮在 DMF (20mL) 中。混合物在此温度下剧烈搅拌 18 小时。减压脱除 DMF 之后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过载于烧结钢 (直径 3.5 厘米) 上的硅胶垫 (深 2 厘米) 过滤。用甲醇 (大约 500mL) 洗涤该垫之后, 粗产物用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。从适当合并的馏份中蒸发溶剂之后, 将得到的残余物通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱纯化, 以便与过量的铵盐及其他杂质分离。洗脱并从适当的馏份中脱除溶剂后, 将得到的残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米)。减压脱除溶剂, 并将得到的残余物在高真空下干燥, 得到产物, 紫色晶体。

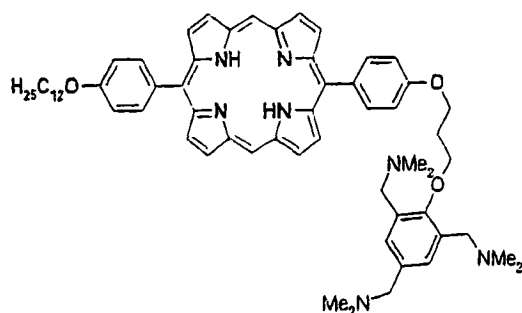
[0485] $^1\text{H-NMR}$:

[0486] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.75 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 0.95-1.25 (m, 22H), 1.50-1.65 (bs, 2H), 2.20-2.40 (bs, 6H), 3.05-3.15 (bs, 27H), 3.45-3.60 (bs, 6H), 3.60-3.80 (bs, 2H), 4.05-4.25 (bs, 6H), 6.80-7.25, 7.65-8.05, (2xm, 16H), 8.45-8.95 (bs, 8H).

[0487] 化合物 37

[0488] 5-(4-{3-[2,4,6-三-(二甲基氨基甲基)-苯氧基]-丙氧基}-苯基)-15-(4-十二烷氧基-苯基)-卟啉

[0489]



[0490] 在 2,4,6-三-(二甲基氨基甲基)-苯酚 (1mL, 3.7mmol) 存在下, 将化合物 20 (50mg, 0.063mmol) 溶于 DMF (20mL) 中, 并在 50℃ 下搅拌过夜。蒸发溶剂后, 残余物用二氯甲烷: 甲醇结晶, 以脱除过量的胺。过滤后, 把卟啉再溶于二氯甲烷中并通过用二氯甲烷洗涤的硅胶 (Merck 60) 柱色谱纯化。减压蒸发溶剂, 残余物用二氯甲烷: 甲醇重结晶, 得到产物, 紫色晶体。

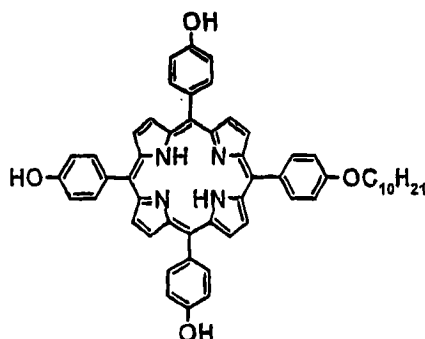
[0491] $^1\text{H-NMR}$:

[0492] δ_{H} (300Mz, CDCl_3) : -3.15 (2H, s), 0.85 (t, ^3J 4.5Hz, 3H), 1.20-1.40 (m, 18H), 1.55 (quint, ^3J 4.5Hz, 2H), 1.90 (quint, ^3J 4.5Hz, 2H), 2.20 (s, 18H), 2.55 (t, ^3J 5.2Hz, 2H), 3.45 (s, 6H), 4.15 (t, ^3J 5.5Hz, 2H), 4.20 (t, ^3J 5.5Hz, 2H), 4.35 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 6.85 (2xs, 2H), 7.20-7.30, 8.10-8.15 (2xm, 8H), 9.00-9.05, 9.25-9.30 (2xm, 2x4H), 10.20 (s, 2H).

[0493] 化合物 38

[0494] 5,10,15-三-(4-羟基苯基)-20-(4-癸氧基-苯基)-卟啉

[0495]



[0496] 溶解 5,10,15,20-四-(4-羟基苯基)-卟啉 (100mg, 0.15mmol), 并将 K_2CO_3 (230mg) 悬浮在 DMF (30mL) 中。在 70℃ 下, 在 30 分钟内, 向剧烈搅拌的混合物中滴加 1-溴癸烷 (0.016mL, 0.11mmol) 的 DMF (10mL) 溶液, 并将混合物搅拌 1.5 小时。蒸发溶剂后, 将残余物

溶于甲苯：乙醇（体积比 1 : 1, 大约 3mL），并通过使用甲苯作为洗脱剂的硅胶（Merck 60）柱（150g）色谱纯化。洗脱最初的 3 个馏份后，再用甲苯：乙酸乙酯（体积 2 : 1）洗脱所述柱，并收集洗脱的第 5 个馏份，脱除溶剂，残余物经高真空干燥，得到产物，紫色晶体。

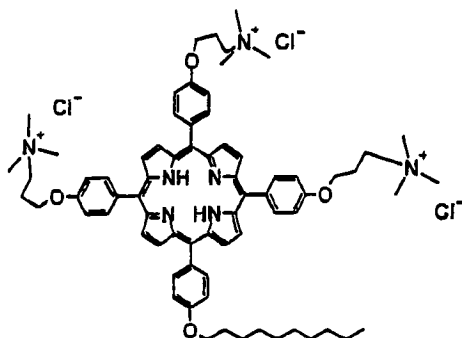
[0497] $^1\text{H-NMR}$:

[0498] δ_{H} (300MHz, d6-丙酮) : 0.95 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.25-1.55 (m, 12H), 1.55 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 1.85 (quint, ^3J 7.5Hz, 2H), 4.15 (t, ^3J 7.5Hz, 2H), 7.20 (d, ^3J 8.5Hz, 2H), 7.25 (d, ^3J 8.5Hz, 6H), 8.00-8.15 (m, 8H), 8.80-9.10 (m, 8H).

[0499] 化合物 39

[0500] 5,10,15-三-[4-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-20-(4-癸氧基苯基)-卟啉三氯化物

[0501]



[0502] 溶解化合物 38 (50mg, 0.061mmol) 和 (1-溴丙基)-三甲基铵基溴化物 (210mg, 0.8mmol) 并把 K_2CO_3 (230mg, 1.7mmol) 悬浮在 DMF (20mL) 中。剧烈搅拌的反应混合物在 50°C 下加热 18 小时。蒸发溶剂之后，将粗产物溶于甲醇中并通过用正丁醇：水：乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱纯化。脱除溶剂后，将残余物溶于甲醇中并使该溶液通过 Amberlite IRA 400, (氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米)。蒸发溶剂，产物在高真空下干燥，得到紫色晶体。

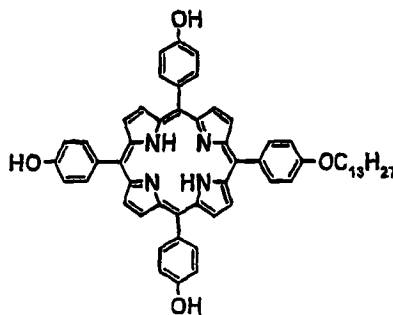
[0503] $^1\text{H-NMR}$:

[0504] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.90 (t, ^3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.40 (m, 12H), 1.45-1.60 (bs, 2H), 1.80-1.90 (bs, 2H), 2.45-2.55 (bs, 6H), 3.25-3.35 (bs, 27 H), 3.75-3.85 (bs, 6H), 4.05-4.25 (m, 2H), 4.35-4.40 (bs, 6H), 7.10-7.40, 7.95-8.15 (2xm, 16H), 8.60-9.00 (bs, 8H).

[0505] 化合物 40

[0506] 5,10,15-三-(4-羟基苯基)-20-(4-十三烷氧基-苯基)-卟啉

[0507]



[0508] 溶解 5, 10, 15, 20-四-(4-羟基苯基)-卟啉 (400mg, 0.59mmol), 并将 K_2CO_3 (1.0g, 7.1mmol) 悬浮在 DMF (75mL) 中。在 50℃ 下, 在 30 分钟内, 向剧烈搅拌的反应混合物中滴加 1-溴十三烷烃 (0.1mL, 0.45mmol) 的 DMF (10mL) 溶液, 并将混合物加热 1.5 小时。把反应混合物冷却到室温, 倾入到水 (150mL) 中。用乙酸乙酯 (100mL) 萃取卟啉, 萃取液用盐水 (3x50mL) 洗涤并干燥 (Na_2SO_4)。蒸发溶剂后, 将残余物溶于甲苯: 乙醇 (体积比 1 : 1, 大约 10mL), 并通过用甲苯作为洗脱剂的硅胶 (Merck 60) 柱 (200g) 色谱纯化。洗脱最初的 3 个馏份, 之后将洗脱剂转变为甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 2 : 1)。收集洗脱的第五个化合物, 并高真空干燥, 得到产物, 紫色晶体。

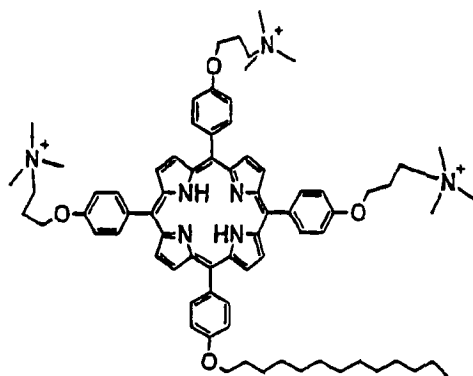
[0509] 1H -NMR :

[0510] δ_H (300Mz, d_6 -丙酮) : 0.85 (t, 3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.60 (m, 18H), 1.50 (quint, 3J 7.5Hz, 2H), 1.80 (quint, 3J 7.5Hz, 2H), 4.14 (t, 3J 7.5Hz, 2H), 7.20 (d, 3J 8.5Hz, 2H), 7.25 (d, 3J 8.5Hz, 6H), 8.00-8.15 (m, 8H), 8.80-9.10 (m, 8H).

[0511] 化合物 41

[0512] 5-(4-十三烷氧基-苯基)-10, 15, 20-三-[4-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉三氯化物

[0513]



[0514] 溶解化合物 40 (50mg, 0.057mmol) 和 (1-溴丙基)-三甲基铵基溴化物 (210mg, 0.8mmol) 并把 K_2CO_3 (230mg, 1.7mmol) 悬浮在 DMF (20mL) 中。剧烈搅拌的反应混合物在 50℃ 下加热 18 小时。脱除 DMF 后, 将残余物溶于甲醇 (5mL) 中并施加到硅胶垫 (2 厘米厚) 上, 对其先用甲醇 (大约 1000mL) 洗涤, 然后用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。蒸发溶剂之后, 将残余物溶于甲醇 (5mL) 中并通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比, 上面的相) 洗脱的 Sephadex LH-20 柱 (2.5X40 厘米) 色谱进一步纯化。脱除溶剂后, 将残余物溶于甲醇中并使其通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRC 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5X20 厘米)。蒸发溶剂, 产物在高真空下干燥, 得到紫色晶体。

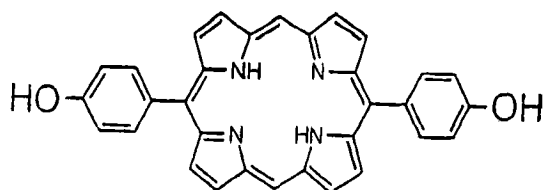
[0515] 1H -NMR :

[0516] δ_H (300MHz, CD_3OD) : 0.90 (t, 3J 7.5Hz, 3H), 1.20-1.40 (m, 18H), 1.45-1.60 (m, 2H), 1.80-1.90 (bs, 2H), 2.40-2.55 (bs, 6H), 3.25-3.35 (bs, 27H), 3.75-3.85 (bs, 6H), 4.05-4.25 (m, 2H), 4.35-4.40 (bs, 6H), 7.10-7.40, 7.90-8.15 (2xm, 16H), 8.60-9.00 (bs, 8H).

[0517] 化合物 42

[0518] 5, 15-双-(4-羟基苯基)-卟啉

[0519]

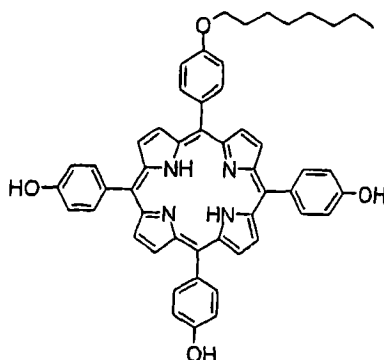


[0520] 该化合物是根据以下文献制备的:Mehta, Goverdhan ;Muthusamy, Sengodagounder ;Maiya, BhaskarG. ;Arounaguiri, S., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 ; 2177-2182(1999)。

[0521] 化合物 43

[0522] 5,10,15-三-(4-羟基苯基)-20-(4-辛氧基-苯基)-卟啉

[0523]



[0524] 溶解 5,10,15,20-四-(4-羟基苯基)-卟啉 (200mg, 0.294mmol), 并在氩气下将碳酸钾 (487mg, 3.53mmol, 12 当量) 悬浮在无水 DMF (50mL) 中, 将混合物加热到 55℃。在 30 分钟内滴加溴代辛烷 (35.8 μL, 0.206mmol, 0.7 当量) 的无水 DMF (10mL) 溶液, 将混合物在 55℃ 搅拌 2 小时。在 50℃ 下真空脱除溶剂, 加入水 (80mL), 并用乙酸乙酯 (3X40mL) 萃取混合物。合并的有机馏份经干燥 (Na₂SO₄) 后蒸发溶剂。残余物通过硅胶柱 (300g) 色谱纯化。用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 30 : 1) 洗脱四烷基化的和三烷基化的化合物。用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 15 : 1) 洗脱第三个馏份 (二取代的化合物, 反式异构体)。第四个馏份 (二取代的化合物, 顺式异构体) 用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 10 : 1) 洗脱, 所需的产物 (单烷基化的化合物) 用甲苯: 醋酸乙酯 (体积比 5 : 1) 洗脱。减压脱除溶剂, 残余物经高真空干燥, 得到产物, 紫色固体。

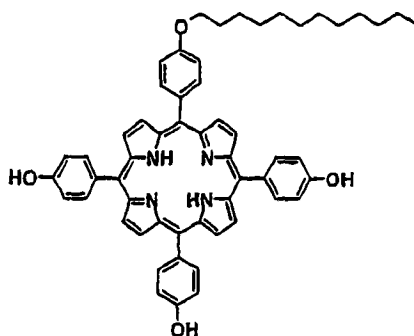
[0525] ¹H-NMR :

[0526] δ_H (300MHz, d6-丙酮) : 0.75 (t, 3H, ³J = 6.8Hz), 1.13-1.25 (m, 8H), 1.43 (quint, 2H, ³J = 7.5Hz), 1.73 (quint, 2H, ³J = 7.5Hz), 3.50 (t, 2H, ³J = 8Hz), 7.11 (d, 2H, ³J = 7.5Hz), 7.16 (d, 6H, ³J = 7.5Hz), 7.90-7.94 (m, 8H), 8.80-8.90 (m, 8H)

[0527] 化合物 44

[0528] 5-(4-十二烷氧基苯基)-10,15,20-三-(4-羟基-苯基)-卟啉

[0529]



[0530] 溶解 5,10,15,20-四-(4-羟基苯基)-卟啉 (200mg, 0.294mmol), 并将碳酸钾 (487mg, 3.53mmol, 12 当量) 在氩气下悬浮在无水 DMF (50mL) 中, 将混合物加热到 55℃。在 30 分钟内滴加十二烷基溴 (49.4 μg, 0.206mmol, 0.7 当量) 的无水 DMF (10mL) 溶液。混合物在 55℃下搅拌 2 小时。在 50℃下真空脱除溶剂, 加入水 (80mL), 并用乙酸乙酯 (3X40mL) 萃取混合物。合并的有机馏份经干燥 (Na₂SO₄) 后蒸发溶剂。产物通过硅胶柱 (300g) 色谱分离。用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 30 : 1) 洗脱四烷基化的和三烷基化的化合物, 二取代的化合物 (反式异构体) 用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 15 : 1) 洗脱, 二取代的化合物 (顺式异构体) 用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 10 : 1) 洗脱, 所需的产物 (单烷基化的化合物) 用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 5 : 1) 洗脱。真空脱除溶剂, 残余物在高真空下干燥, 得到产物, 紫色固体。

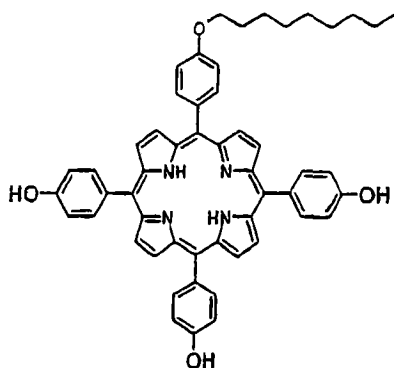
[0531] ¹H-NMR :

[0532] δ_H (300MHz, d6-丙酮) : 0.75 (t, 3H, ³J = 6.8Hz), 1.13-1.25 (m, 16H), 1.41 (quint, 2H, ³J = 7.5Hz), 1.63 (quint, 2H, ³J = 7.5Hz), 3.89 (t, 2H, ³J = 6Hz), 7.11 (d, 2H, ³J = 7.5Hz), 7.16 (d, 6H, ³J = 7.5Hz), 7.9-7.94 (m, 8H), 8.78-8.83 (m, 8H)

[0533] 化合物 45

[0534] 5,10,15-三-(4-羟基苯基)-20-(4-壬氧基-苯基)-卟啉

[0535]



[0536] 溶解 5,10,15,20-四-(4-羟基苯基)-卟啉 (200mg, 0.294mmol), 并将碳酸钾 (487mg, 3.53mmol, 12 当量) 在氩气下悬浮在无水 DMF (50mL) 中, 将混合物加热到 55℃。在 30 分钟内滴加壬基溴 (49.4 μg, 0.206mmol, 0.7 当量) 的无水 DMF (10mL) 溶液。混合物在 55℃下搅拌 2 小时。在 50℃下真空脱除溶剂, 加入水 (80mL), 并用乙酸乙酯 (3X40mL) 萃取混合物。合并有机萃取液经过干燥 (MgSO₄), 在减压下脱除溶剂。产物通过硅胶柱 (300g) 色谱分离。用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 30 : 1) 洗脱四烷基化的和三烷基化的化合物, 二取代的化合物 (反式异构体) 用甲苯: 乙酸乙酯 (体积比 15 : 1) 洗脱, 二取代的化合物

(顺式异构体)用甲苯:乙酸乙酯(体积比 10 : 1)洗脱,所需的产物(单烷基化的化合物)用甲苯:乙酸乙酯(体积比 5 : 1)洗脱。减压脱除溶剂,残余物在高真空下干燥,得到产物,紫色固体。

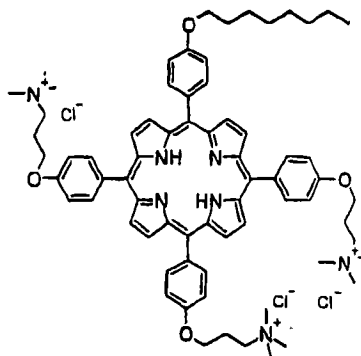
[0537] $^1\text{H-NMR}$:

[0538] δ_{H} (300MHz, d_6 -丙酮) : 0.87 (t, 3H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 1.14-1.26 (m, 10H), 1.41 (quint, 2H), 1.70 (quint, 2H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 3.92 (t, 2H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 7.02 (d, 2H, $^3\text{J} = 8.25\text{Hz}$), 7.15 (d, 6H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 7.85 (d, 2H, $^3\text{J} = 8.25\text{Hz}$), 7.91 (d, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 8.76-8.84 (m, 8H)

[0539] 化合物 46

[0540] 5-(4-辛氧基-苯基)-10,15,20-三-[4-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉三氯化物

[0541]



[0542] 溶解化合物 43 (50mg, 0.063mmol) 和 (3-溴丙基)-三甲基铵基溴化物 (164mg, 0.63mmol, 10 当量), 并将碳酸钾 (130mg, 0.95mmol, 15 当量) 在氩气下悬浮在无水 DMF (30mL) 中, 将混合物在 55℃ 搅拌 12 小时。在 50℃ 真空脱除溶剂, 把残余物施加到硅胶垫 (2 厘米深) 上。用甲醇 (1000mL) 洗掉未反应的铵盐, 所述产物用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。减压蒸发溶剂之后, 将残余物通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比, 上面的相) 作为洗脱剂的 Sephadex LH-20 柱 (100g) 色谱进一步纯化。减压脱除溶剂, 将得到的残余物溶于甲醇中并通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRA 400, 氯化物形式) 短柱 (3.5x20 厘米), 用甲醇作为洗脱剂。蒸发溶剂后, 把粗产物溶于最少量的甲醇中, 加入二乙醚 (50mL)。该溶液离心 15 分钟。把清液层蒸干, 残余物高真空干燥, 得到产物, 紫色固体。

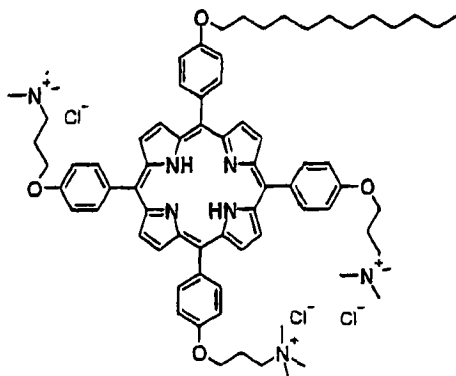
[0543] $^1\text{H-NMR}$:

[0544] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.90 (t, 3H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 1.25-1.41 (m, 8H), 1.45 (bs, 2H), 1.87 (bs, 2H), 2.38 (bs, 6H), 3.29 (bs, 27H), 3.67 (t, 6H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 4.01 (t, 2H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 4.30 (t, 6H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 7.11 (d, 2H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 7.38 (d, 6H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 7.95 (d, 2H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 8.11 (d, 6H, $^3\text{J} = 7.5\text{Hz}$), 8.93 (bs, 8H)

[0545] 化合物 47

[0546] 5-(4-十二烷氧基-苯基)-10,15,20-三-[4-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉三氯化物

[0547]



[0548] 溶解化合物 44 (50mg, 0.059mmol) 和 (3-溴丙基)-三甲基铵基溴化物 (154mg, 0.59mmol, 10 当量), 并将碳酸钾 (122mg, 0.885mmol, 15 当量) 在氩气下悬浮在无水 DMF (30mL) 中, 将混合物在 55℃ 搅拌 12 小时。在 50℃ 真空脱除溶剂, 将残余物再溶于少许甲醇中并施加到硅胶 (2 厘米深) 垫上。用甲醇 (1000mL) 洗掉未反应的铵盐。产物用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。减压蒸发溶剂之后, 将粗产物通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比, 上面的相) 作为洗脱剂的 Sephadex LH-20 柱 (100g) 色谱进一步纯化。减压脱除溶剂, 将残余物再溶于少许甲醇中, 并使该溶液通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRC400, 氯化物形式) 短柱, 用甲醇作为洗脱剂。脱除溶剂后, 把粗产物再溶于最低量的甲醇中, 加入乙醚 (50mL)。该溶液离心 15 分钟。把清液层蒸干, 产物高真空干燥, 得到紫色固体。

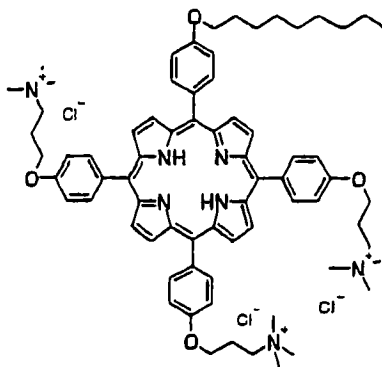
[0549] $^1\text{H-NMR}$:

[0550] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.88 (t, 3H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 1.25-1.37 (m, 16H), 1.48 (bs, 2H), 1.93 (bs, 2H), 2.42 (bs, 6H), 3.28 (bs, 27H), 3.68-3.75 (m, 6H), 4.05 (t, 2H), 4.33 (t, 6H), 7.17 (d, 2H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 7.33 (d, 6H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 7.99 (d, 2H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 8.08 (d, 6H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 8.85 (bs, 8H)

[0551] 化合物 48

[0552] 5-(4-壬氧基-苯基)-10,15,20-三-[4-(3-三甲铵基-丙氧基)-苯基]-卟啉三氯化物

[0553]



[0554] 溶解化合物 45 (50mg, 0.062mmol) 和 (3-溴丙基)-三甲铵基溴化物 (162mg, 0.62mmol, 10 当量), 并将碳酸钾 (128mg, 0.93mmol, 15 当量) 在氩气下悬浮在无水 DMF (30mL) 中, 将混合物在 55℃ 搅拌 12 小时。在 50℃ 真空脱除溶剂, 将残余物再溶于少许甲醇中并施加到硅胶 (2 厘米深) 垫上。用甲醇 (1000mL) 洗掉未反应的铵盐。产物用乙

酸：甲醇：水（体积比 3：2：1）洗脱。减压蒸发溶剂之后，通过用正丁醇：水：乙酸（4：5：1，体积比，上面的相）作为洗脱剂的 Sephadex LH-20 柱（100g）色谱进一步纯化。减压脱除溶剂，将残余物再溶于少许甲醇中，并使该溶液通过阴离子交换树脂（Amberlite IRC 400，氯化物形式）短柱，用甲醇作为洗脱剂。脱除溶剂后，将残余物高真空干燥，得到产物，紫色固体。

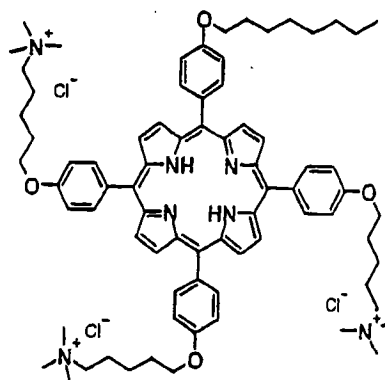
[0555] $^1\text{H-NMR}$ ：

[0556] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.89 (t, 3H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 1.18-1.34 (m, 10H), 1.41 (bs, 2H), 1.73 (quint, 2H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 2.30-2.44 (m, 6H), 3.31 (bs, 27H), 3.65-3.73 (m, 6H), 3.93 (t, 2H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 4.25-4.42 (m, 6H), 7.08 (d, 2H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 7.30 (d, 6H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 7.93 (d, 2H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 8.05 (d, 6H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 8.94 (bs, 8H)

[0557] 化合物 49

[0558] 5-(4-辛氧基-苯基)-10,15,20-三-[4-(5-三甲铵基-戊氧基)-苯基]-卟啉三氯化物

[0559]



[0560] 溶解化合物 43 (23mg, 0.03mmol) 和 (5-溴戊基)-三甲基铵基溴化物 (84mg, 0.3mmol, 10 当量)，并将碳酸钾 (62mg, 0.45mmol, 15 当量) 在氩气下悬浮在无水 DMF (15mL) 中，将混合物在 55°C 搅拌 12 小时。在 50°C 真空脱除溶剂，将残余物再溶于少许甲醇中并施加到硅胶（2 厘米深）垫上。用甲醇（1000mL）洗掉未反应的铵盐。产物用乙酸：甲醇：水（体积比 3：2：1）洗脱。减压蒸发溶剂之后，将 J 粗产物通过用正丁醇：水：乙酸（4：5：1，体积比，上面的相）作为洗脱剂的 Sephadex LH-20 柱（100g）色谱进一步纯化。减压脱除溶剂，将残余物再溶于少许甲醇中，并使该溶液通过阴离子交换树脂（Amberlite IRC 400，氯化物形式）短柱，用甲醇作为洗脱剂。如果产物中残留有杂质，重复全部的纯化过程。脱除溶剂后，将残余物高真空干燥，得到产物，紫色固体。

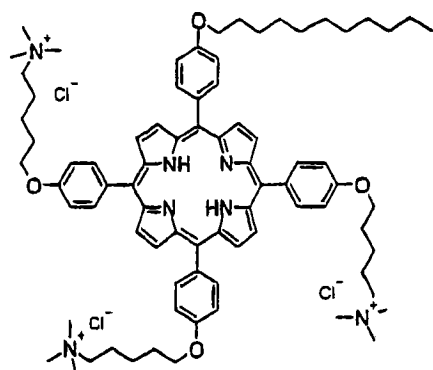
[0561] $^1\text{H-NMR}$ ：

[0562] δ_{H} (300MHz, CD_3OD) : 0.78 (bs, 3H), 1.08-1.35 (m, 10H), 1.45-1.59 (m, 6H), 1.63-1.93 (m, 14H), 3.17-3.32 (m, 6H), 3.31 (bs, 33H), 3.84 (bs, 2H), 4.07 (bs, 6H), 6.93 (bs, 2H), 7.09 (d, 2H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 7.74 (bs, 2H), 7.88 (d, 2H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 8.71 (bs, 8H)

[0563] 化合物 50

[0564] 5,10,15-三-[4-(5-三甲铵基-戊氧基)-苯基]-20-(4-十一烷氧基苯基)-卟啉三氯化物

[0565]



[0566] 溶解化合物 2 (50mg, 0.06mmol) 和 (5-溴戊基)-三甲基铵基溴化物 (174mg, 0.6mmol, 10 当量), 并将碳酸钾 (124mg, 0.9mmol, 15 当量) 在氩气下悬浮在无水 DMF (30mL) 中, 将混合物在 55℃ 搅拌 12 小时。在 50℃ 真空脱除溶剂, 将残余物再溶于少许甲醇中并施加到硅胶 (2 厘米深) 垫上。用甲醇 (1000mL) 洗掉未反应的铵盐。产物用乙酸: 甲醇: 水 (体积比 3 : 2 : 1) 洗脱。减压蒸发溶剂之后, 将产物通过用正丁醇: 水: 乙酸 (4 : 5 : 1, 体积比, 上面的相) 作为洗脱剂的 Sephadex LH-20 柱 (100g) 色谱进一步纯化。减压脱除溶剂, 将残余物再溶于最少量的甲醇中, 并使该溶液通过阴离子交换树脂 (Amberlite IRC400, 氯化物形式) 短柱, 用甲醇作为洗脱剂。如果产物中残留有杂质, 重复全部的纯化过程。脱除溶剂后, 将残余物高真空干燥, 得到产物, 紫色固体。

[0567] $^1\text{H-NMR}$:

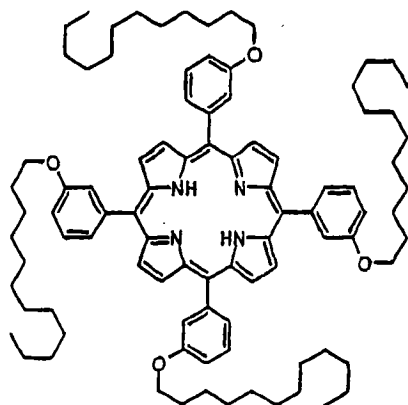
[0568] δ_{H} (300MHz, MeOD) : 0.71-0.88 (m, 13H), 0.91-1.38 (m, 14H), 1.48-1.81 (m, 12H), $-\text{CH}_2\text{NCH}_2$ 和 OCH_2- 长链烷基的信号是在 2.8-3.3 区域与溶剂信号在一起的多重峰,

[0569] 3.91 (bs, 6H), 6.33 (bs, 2H), 6.86 (bs, 6H), 7.35 (bs, 2H), 7.70 (bs, 6H), 8.65 (bs, 8H)

[0570] 化合物 51

[0571] 5,10,15,20-四-(3-十二烷氧基苯基)-卟啉

[0572]



[0573] 将吡咯 (0.7mL, 10mmol) 和 3-十二烷氧基苯甲醛 (2.91g, 10mmol) 溶于脱气的二氯甲烷 (1000mL) 中, 滴加 TFA (0.77mL, 10mmol)。混合物在室温下在黑暗中搅拌 17 小时。一次性加入 DDQ (6.81g, 30mmol), 并将混合物在室温下再搅拌 1 小时。混合物通过硅胶柱 (400g) 过滤, 先用二氯甲烷作为洗脱剂, 随后用在二氯甲烷中加入三乙胺以将 pH 值调节到 8 的洗脱剂。如果产物中残留有杂质, 重复这一纯化过程, 直到得到纯产物。

[0574] $^1\text{H-NMR}$:

[0575] δ_{H} (300MHz, d6-丙酮) : 0.80 (bs, 12H), 1.03-1.45 (m, 80H), 1.78 (quint., 8H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 4.05 (t, 8H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 7.24 (d, 4H, $^3J = 7.5\text{Hz}$), 7.49-7.55 (m, 4H), 7.68-7.71 (m, 8H), 8.80 (m, 8H)

[0576] 实施例 B: 示例化合物在细菌细胞上的非特异 (黑暗毒性) 分布和光动力学活性 (光毒性) 分布

[0577] 实验方法

[0578] 通过测定在黑暗中和在光曝晒下生长抑制 (抑菌力) 和生长抑制 (杀细胞作用) 的程度, 评价本发明的示例化合物对于两种菌株, 革兰氏阴性细菌大肠杆菌 (菌株 ATCC 25922) 和革兰氏阳性细菌金黄色葡萄球菌 (耐甲氧西林的菌株 ATCC BAA-44) 的毒性。起始化合物的筛选使用各个不同时间点的白光进行 [390-740nm] ($150\text{mw}/\text{cm}^2$), 浓度为 $3\text{ }\mu\text{M}$ (参见表 1)。另外的实验在那些用在 417-420nm 波长, $15.2\text{mW}/\text{cm}^2$, $13.68\text{J}/\text{cm}^2$ 下发光的光源 (Waldmann Eclairage SA, France) 进行了初步筛选而确定的化合物上进行 (参见表 2)。

[0579] 以下规程用于示例化合物 (表 1) 的初步筛选 (参见 Reddi 等人, 2002, Photochem. Photobiol., 75(5):462-470):

[0580] (i) 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌细胞在脑心浸液琼脂上生长过夜, 再悬浮在脑心浸液发酵液中, 通过离心法采集 (3000g 下离心 15 分钟) 并用 pH 值为 7.4、包含 2.7mM KCl 和 0.14M NaCl 的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 洗涤一次。

[0581] (ii) 然后将细胞再悬浮在 PBS 中, 直到在 650nm 下的光密度为 0.7, 这相当于密度为 10^8 - 10^9 个细胞/mL。

[0582] (iii) 接下来, 将细胞在黑暗中的 PBS 中培养 5 分钟, 其中待试验的化合物为 $3.0\text{ }\mu\text{M}$ 。

[0583] (iv) 黑暗培养后, 用白光 (波长: 390-740nm) ($150\text{mw}/\text{cm}^2$) 照射细胞最高达 30 分钟。在光照过程中, 细胞保持在 37°C , 并用磁力进行搅拌。

[0584] (v) 最后, 将处理过的和未处理的 (对照) 细胞稀释在脑心浸液发酵液中并保持在 37°C , 与此同时在预定时间点监测悬浮液在 650nm 处的吸光率, 以测定生长曲线。

[0585] 通过以下方程计算处理过的细胞中生长抑制的百分比:

$$[0586] \quad [1 - (A_x - A_0) / (A_c - A_0)] \times 100$$

[0587] 其中, A_x 和 A_c 是培养 3 小时后测定的吸光率, 分别对应于处理过的和对照细胞的悬浮液, A_0 代表起始吸光率。

[0588] 为了进一步研究示例化合物 (表 2), 采用以下方法:

[0589] (i) 细菌 (金黄色葡萄球菌 BAA-44 和大肠杆菌 25922) 在脑心浸液 (BHI) 发酵液中生长直到它们达到生长停滞期。

[0590] (ii) 用台式离心机通过离心法 (3000g, 离心 15 分钟) 采集细胞, 用 pH 值为 7.4、包含有 2.7mM KCl 和 0.14M NaCl 的 10mM PBS 洗涤, 并悬浮在 PBS 中, 在 650nm 下的光密度为 0.7, 这相当于 10^8 - 10^9 个细胞/mL。

[0591] (iii) 用各种不同浓度的示例化合物, 在黑暗中将处于所需细胞密度 (约 10^8 细胞/mL) 的细菌培养 5 分钟。

[0592] (iv) 在培养期结束时, 将细胞用 PBS 洗涤 3 次, 悬浮在 PBS 中, 转移到 96 孔微滴定盘中 ($200\text{ }\mu\text{L}$ /孔) 并用 Waldmann 光源 ($15.2\text{mW}/\text{cm}^2$; $13.7\text{J}/\text{cm}^2$) 照射 15 分钟。细胞从放

在灯的玻璃罩上面的盘的底部照射。

[0593] (v) 光照后,通过将逐次稀释的等分量的经过处理和未经处理的(即没有示例化合物或没有光存在)的细胞放到脑心琼脂(BHA)上并在 37℃ 培养 18-24 小时,之后对菌群数目计数来测定细胞的存活率。

[0594] 表 1:在用选择的浓度为 3 μM 的试验化合物培养 5 分钟后,用白光辐照的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌细胞的生长抑制(%)

[0595] (A)

光照时间 (分钟)	大肠杆菌				金黄色葡萄球菌			
	Cpd 16	Cpd 3	Cpd 19	Cpd 28	Cpd 16	Cpd 3	Cpd 19	Cpd 28
0	8	5	3	4	12	21	13	15
1	34	68	5	21	97	83	33	91
5	92	99	6	60	100	100	42	100
10	99	100	5	73	100	100	48	100
15	100	99	10	81	100	100	54	100
30	100	99	12	92	100	100	58	100

[0597] (B)

光照时间 (分钟)	大肠杆菌					金黄色葡萄球菌				
	Cpd 29	Cpd 31	Cpd 32	Cpd 6	Cpd 33	Cpd 29	Cpd 31	Cpd 32	Cpd 6	Cpd 33
0	ND	ND	3	9	6	14	9	23	29	22
1	ND	ND	10	17	10	43	28	100	100	57
5	ND	ND	16	30	25	49	38	100	100	99
10	ND	ND	22	54	53	53	78	100	100	100
15	ND	ND	22	69	67	55	82	100	100	100
30	ND	ND	38	93	78	55	83	100	100	100

[0599] (C)

光照时间 (分钟)	大肠杆菌		金黄色葡萄球菌	
	Cpd 36	Cpd 8	Cpd 36	Cpd 8
0	6	23	22	80
1	56	69	96	99
5	84	100	100	100
10	90	100	100	100
15	92	100	100	100
30	95	100	100	100

[0601] 结果

[0602] 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的毒性研究结果示于表 1 和 2,以及图 2 和 3(化合物“Cpd”的结构参见实施例 A)

[0603] 表 2:在用选择的试验化合物培养并用白光照射(光‘动力学’活性或‘光毒性’)或没有光照(‘黑暗毒性’)条件下,大肠杆菌和金黄色葡萄球菌细胞的存活率

[0604] (A)

[0605]

光动力学活性								
(a) 金黄色葡萄球菌								
化合物3			化合物6			化合物8		
浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数
10 μ M	15min	>6 ($>10^{-6}$)	1 μ M	15 min	6 (10^{-6})	1 μ M	15 min	6 (10^{-6})
1 μ M	15min	>3 ($>10^{-3}$)	0.1 μ M	15 min	3 (10^{-3})	0.1 μ M	15 min	3 (10^{-3})
(b) 大肠杆菌								
化合物3			化合物6			化合物8		
浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数
		ND			ND	10 μ M	15min	>6 ($>10^{-6}$)
		ND			ND	0.01 μ M	15min	<1 ($<10^{-1}$)
黑暗毒性								
(a) 金黄色葡萄球菌								
化合物3			化合物6			化合物8		
浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数
10 μ M	N/A	>3 ($>10^{-3}$)	10 μ M	15min	2 (10^{-2})	1 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)
1 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)	1 μ M	15min	1 ($<10^{-1}$)	10 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)
(b) 大肠杆菌								
化合物3			化合物6			化合物8		
浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数
		ND			ND	10 μ M	N/A	2 (10^{-2})
		ND			ND	0.01 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)

[0606] 表2-续

[0607]

光动力学活性								
(a) 金黄色葡萄球菌								
化合物1			化合物12			化合物10		
浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数
1 μ M	15 min	>6 ($>10^{-6}$)	1 μ M	15 min	>6 ($>10^{-6}$)	0.01 μ M	15min	>4 ($>10^{-4}$)
0.1 μ M	15min	<1 ($<10^{-1}$)	0.1 μ M	15 min	>3 ($>10^{-3}$)	0.005 μ M	15 min	>3 ($>10^{-3}$)
			0.005 μ M	15 min	<2 ($<10^{-2}$)			
(b) 大肠杆菌								
化合物1			化合物12			化合物10		
浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数
		ND	1 μ M	15 min	>6 ($>10^{-6}$)	1 μ M	15 min	>6 ($>10^{-6}$)
		ND	0.5 μ M	15 min	<1 ($<10^{-1}$)	0.5 μ M	15 min	<3 ($<10^{-1}$)
黑暗毒性								
(a)金黄色葡萄球菌								
化合物1			化合物12			化合物10		
浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数
10 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)	1 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)	0.01 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)
(b) 大肠杆菌								
化合物1			化合物12			化合物10		
浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数	浓度	光照	减少的log数
		ND	1 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)	1 μ M	N/A	<1 ($<10^{-1}$)

[0608] 结论

[0609] 结果表明,本发明的化合物,当用光照射时,在研究的低浓度下,能够消灭革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌细胞。

[0610] 化合物 10 在低剂量下的活性

[0611] 上述菌落形成单位 (CFU) 规程也用于研究极低浓度的本发明化合物的光动力学活性。例如,图 4 表明了光的存在下(光动力学性质)和没有光的情况下(固有有毒性性质),使用 (A) 化合物 8 和 (B) 化合物 10 得到的结果。

[0612] 结果

[0613] (i) 在试验浓度下,化合物 8 和 10 都显示对于 BAA-44 的可忽略的黑暗毒性。

[0614] (ii) 在浓度低到 0.01 μ M 下,此时在 BAA-44 中达到了 3 个 log 的降低,化合物 8 显示出有效的抗菌作用。

[0615] (iii) 化合物 10 显示出甚至更有效的抗菌作用, 导致在浓度为 $0.005 \mu\text{M}$ 下, 在 BAA-44 有 3 个 log 的降低, 并且在 $0.0025 \mu\text{M}$ 浓度下能够消灭 90% 的细菌。

[0616] 结论

[0617] 甚至在非常低的剂量下, 化合物 8 和 10 也能对细菌细胞显示出依赖于剂量和依赖于光的毒性。

[0618] 抗菌活性的范围

[0619] 试验化合物 10 对于一些菌株的抗菌活性:

[0620] - 金黄色葡萄球菌 ATCC BAA-44 (一种耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌)

[0621] - 铜绿假单胞菌 ATCC 25668

[0622] - 表皮葡萄球菌 ATCC 700565

[0623] - 酿脓链球菌 ATCC 49117

[0624] - 大肠杆菌 ATCC 25922

[0625] 表 3

菌株	在细胞中达到3个log的降低 所需化合物10的浓度 (μM)
金黄色葡萄球菌 ATCC BAA-44	0.005
[0626] 铜绿假单胞菌 ATCC 25668	5.0
表皮葡萄球菌 ATCC 700565	0.0025
酿脓链球菌 ATCC 49117	0.01
大肠杆菌 ATCC 25922	0.1

[0627] 结论

[0628] 化合物 10 对于宽范围的革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌显示光动力学活性 (即光毒性)。

[0629] 在猪皮上, 化合物 10 对 MRSA 的体外光动力学活性

[0630] 将切开的猪皮在无菌条件下切成 $3(4) \times 3(4)$ 厘米的小片, 并在 70% 的乙醇中培养 5 分钟以减少移植细菌的基底。在 PBS 中洗涤 3 次后, 将所述皮片固定在含有 N-2- 羟乙基哌嗪 -N'-2- 乙烷磺酸 (Hepes) - 琼脂的陪替 (petri) 培养皿中。此时, 在表皮 (角质层) 上接种金黄色葡萄球菌 ATCC BAA-44 ($\sim 10^8$, 体积: $100 \mu\text{L}$), 并将皮片表面在层流柜中干燥直到目测已经无水。使用 "乳头状" 笔 (直径 1cm^2) 划定感兴趣区。把化合物 10 ($10 \mu\text{M}$) 的消毒液施加到该皮上 10 分钟。施加后, 将体外猪皮置于 Waldmann 光源 236 下照射 15 分钟 ($15.2\text{mW}/\text{cm}^2$, $13.7\text{J}/\text{cm}^2$)。使用无菌棉棍从角质层上除去细菌, 进行菌落形成单位试验以确定刚刚辐射后生存的细菌细胞的数目。把无菌的棉棍在样品溶液 (0.1% 的 Tween 80 在 pH 值为 7.9 的 0.0075M 磷酸盐缓冲液中的溶液) 浸湿, 之后擦洗该皮表面 (3 次), 并在样品溶液中旋转, 之后进行系列稀释以确定细菌的采收量。

[0631] 用化合物 10 培养 ($10 \mu\text{M}$), 随后辐射 15 分钟, 导致生长降低 3.2 个 $\log_{10}$ (3 个目标区的平均值)。相反, 对照实验 (对施加的没有用化合物 10 培养的细菌进行辐射) 没有显示细菌细胞数目的减少。

[0632] 因此,这些数据表明,甚至在皮脂和酶的存在下,在猪皮表面上,化合物 10 仍然对于 MRSA 具有光动力学活性。

[0633] 使用叠氮化钠和 D_2O 来证实光动力学性质

[0634] 使用 D_2O 和叠氮化物的猝灭研究是用化合物 10 和光相对于体外角质化细胞进行的。为了研究试验化合物对于 NHDF、NHEK 和细菌的光毒性是否遵循光氧化类型 II,使用叠氮化钠——单线态氧的物理猝灭剂,和 D_2O ——反应性氧物种增强剂 (Lin 等人,1991,Cancer Res.,51:1109-1116;Moan 等人,1979,Brit. J. Cancer,39:398-407)。

[0635] 图 5 示出了在照射后,用化合物 10 和猝灭剂培养或者用化合物 10 和 D_2O 培养的效果。正如细胞存活率增加所表明的,在叠氮化钠的存在下,化合物 10 的杀细胞能力降低,而加入 D_2O ,则显示细胞生存能力显著降低。

[0636] 因此,照射时,化合物 10 对 NHDF 的消灭看起来主要由单线态氧而不是由化合物本身介导的。

[0637] 化合物 10 的急性毒性试验

[0638] 在标准急性毒性试验中,在局部制剂中使用百万倍抗菌剂剂量 (3.2mM) 的化合物 10,以确定是否能检测到该化合物任何的临床或组织毒性。把化合物同时施用于完整的和擦破的大鼠皮肤上 24 小时。

[0639] 急性毒性规程的基准是,用于化学品试验的 OECD 指导方针 / 第 4 部分 - 健康影响试验 402:急性皮肤毒性。

[0640] 结果和结论

[0641] 临床、肉眼检查和显微镜观察后,都没有观察到临床毒性。没有观察到任何主要器官 (包括皮肤) 的组织毒性。没有注意到有细胞渗透,包括肥大细胞,也没有刺激。

[0642] 总之,化合物 10 不会导致任何的急性毒性或过敏效果;事实上,没有观察到明显的与该物质及其赋形剂施加有关的临床或病理征状。

[0643] 化合物 10 的光毒性试验

[0644] 光毒性规程的基准是,用于化学品试验的 OECD 指导方针 / 第 4 部分 - 健康影响试验 406:皮肤敏感性。

[0645] 初步试验表明,30 分钟的曝光不会产生任何由光源引起的对皮肤表面的损害。类似地,对照实验表明,在没有光的情况下,当化合物 10 的施加浓度为 $32 \mu M$ 时,不会产生任何对皮肤表面的损害。通过施加到 14 只豚鼠的皮肤上 (完整的和擦破的) 24 小时,随后曝光 30 分钟,研究局部制剂中化合物 10 的光毒性。化合物 10 在两种不同的浓度, $32 \mu M$ 和 $0.32 \mu M$, 下进行试验。在照射后 24 小时和 72 小时,通过典型的光毒性试验方式进行皮试点的临床和组织学检查。不从邻近点进行活体检查,以避免接合带处任何的相互作用。在活体检查时评价总的发现。在对每一终点 (红斑,水肿和发炎) 给出一个分值之前,将每一对象的数据与从其他动物得到的数据以及对照数据进行对比。对于每一个点和每一终点,根据 Draize 尺度给出 0-4 的分值 (对于发炎来说,在用显微镜观察所有的皮肤部分后,通过与正常的皮肤和步骤 1 中的发现相对比,形成类似于 Draize 尺度的尺度)。然后,对每一动物和每一样点计算平均分。

[0646] 通过分析结果并将试验数据与对照动物的数据进行比较,得出的结论是,没有临床征状或症状或组织检查发现能说明化合物 10 可能有任何的光毒性可能。

[0647] 实施例 C: 本发明的示例化合物与细菌细胞的结合

[0648] 化合物 8, 10 和 12 与大肠杆菌的结合

[0649] 用各种不同浓度 (1-7.5 μM) 的化合物 8、10 或 12 将大肠杆菌细胞培养 5 分钟。在培养期结束时, 通过离心使细胞沉淀出来, 除去未结合的试验化合物部分, 将细胞团粒再悬浮在 2mL 2% 的 SDS 中, 得到细胞溶菌产物。用 SDS 培养过夜后, 通过细胞溶菌产物的分光光度动力学分析估算与细胞结合的试验化合物的量。细胞溶菌产物中化合物的浓度是通过测定发射光动力学光谱的峰值强度并将数据插入到校准曲线中计算出来的。与细胞结合的试验化合物的量表示为化合物的 nmoles 数 / 每 mg 细胞蛋白质。蛋白质浓度通过 Lowry 的方法测定 (Lowry 等人, 1951, J. Biol. Chem., 193:265-275)。

[0650] 所有的实验均运行 3 次, 结果表示为在标准偏差范围内 3 次测定值的平均值。

[0651] 从细胞中回收的卟啉的量示于表 4。

[0652] 表 4

[0653]

化合物浓度 (μM)	结合的化合物 (nmoles/mg细胞蛋白质)		
(a) <u>洗涤0次</u>			
	化合物8	化合物12	化合物10
0.01	0.024 ± 0.01	0.041 ± 0.02	0.026 ± 0.005
0.1	0.056 ± 0.02	0.151 ± 0.02	0.274 ± 0.05
0.5	0.522 ± 0.2	0.806 ± 0.14	1.542 ± 0.350
1	3.670 ± 0.7	2.70 ± 0.30	2.70 ± 0.354
(b) <u>洗涤3次</u>			
	化合物8	化合物12	化合物10
0.01	0.009 ± 0.001	0.021 ± 0.005	0.015 ± 0.0004
0.1	0.030 ± 0.02	0.089 ± 0.02	0.078 ± 0.02
0.5	0.274 ± 0.15	0.622 ± 0.10	0.334 ± 0.092
1	2.230 ± 0.8	1.930 ± 0.20	1.278 ± 0.102

[0654] 表 4 所示结果表明, 三个试验化合物在结合到大肠杆菌上时具有类似的效率, 并且在培养期结束 (5 分钟) 时, 缔合到细胞上的化合物有约 50% 的通过用 PBS 洗涤 3 次而除

去。

[0655] 实施例 D :示例化合物对 PDT 产生细菌抗药性的试验

[0656] 在耐多种药（包括甲氧西林）的革兰氏阳性细菌金黄色葡萄球菌 BAA-44 中，使用化合物 10 作为光动力学试剂试验细菌细胞对本发明示例化合物产生耐药性的可能性。在第二次处理后再一次将金黄色葡萄球菌 BAA-44 的存活率与没有用 PDT 处理的金黄色葡萄球菌 BAA-44 细胞的存活率进行对比。

[0657] 为了评价金黄色葡萄球菌 BAA-44 细胞对 PDT 的敏感是否保持恒定或者在重复处理后是否会观察到产生出某种程度的耐药性，相同的处理总共重复 10 次。在另外的实验中，对于已经有 9 次暴露于通过上述规程进行的 PDT 处理的细胞株进行第 10 次处理，并将结果与其中对首次用于实验的培养物（即，从来没有暴露于 PDT 下）在完全相同的条件下进行 PDT 处理的平行试验中观察到的细胞消灭情况相对比。在连续 10 次的 PDT 处理后得到的结果示于图 6。

[0658] 将已经连续 10 次暴露于 PDT 处理下的培养物与首次用于实验的培养物（即从来没有暴露于 PDT 下）的细胞消灭情况进行比较，得到的结果示于图 7。存活率表示为 $\log N_0/N$ ，其中 N_0 和 N 表示每 mL 未处理的和已经处理的细胞悬浮液中 CFU 的数目。T 试验的统计分析表明，两值之间的差异不明显 ($P > 10\%$)。

[0659] 结论

[0660] 化合物 10 对金黄色葡萄球菌 ATCC BAA-44 的光敏作用不会明显诱发演变出耐药性。事实上，虽然在上述处理中暴露的细菌细胞，被培养并二次暴露于化合物 10 和光下，但化合物 10 的光动力学活性效率在 10 次连续的光动力学序列期间保持不变。因此，不象其中存在明显多耐药性问题的抗生素疗法那样，由于明显缺少诱发出细菌抗药性的情况，所以以光动力学方式使用化合物 10 对细菌进行处理得到进一步的加强。

[0661] 实施例 E :毒性分布 - 示例化合物对于细菌的选择性

[0662] 研究方法

[0663] 使用正常的人体表皮角质化细胞 (NHEK) 和正常的人体皮肤成纤维细胞 (NHDF)（从 Cell Systems Biotechnologie GmbH, Germany 购买），筛选试验化合物对培养的人体皮肤细胞的毒性。

[0664] NHEK 和 NHDF 细胞在通道 3 和 10 之间使用。以 7.5 和 / 或 15×10^4 细胞 / 孔（微滴定盘）接种细胞，使其在培养箱中 (37°C , 5% 的 CO_2) 附着过夜。用不同浓度所选定的光敏剂培养后，对细胞照射 15 分钟（光源 236, Waldmann ; $15.2\text{mW}/\text{cm}^2$, $13.7\text{J}/\text{cm}^2$ ），然后在黑暗中培养 24 小时。

[0665] 通过标准的 MTT- 试验测定其光毒性 (Mossman 等人, 1983, Immunological Methods, 65 :55-63)。MTT 是代谢活性细胞的指示剂。根据线粒体中的酶活性，可以目测显色反应，其可以通过酶联免疫吸附测定读数器 (ELISA) (540nm) 测量。对细胞的生存能力数据进行归一化，即，把在没有光敏剂的情况下进行 PDT 后细胞的 OD 值调节到 1。每个实验重复 3 次。

[0666] 结果

[0667] 角质化细胞和成纤维细胞中的毒性研究结果示于表 5。

[0668] 表 5 用选择的试验化合物培养并照射（光动力活性）或者不进行光照（黑暗毒

性) 条件下角质化细胞和成纤维细胞的存活率

[0669] (A)

<u>光动力学活性</u>					
(a) 成纤维细胞					
化合物8			化合物1		
浓度	照射	存活率	浓度	照射	存活率
0.01 μ M	15 min	100%	0.01 μ M	15 min	100%
0.1 μ M	15 min	12%	0.1 μ M	15 min	39%
1 μ M	15 min	3%	1 μ M	15 min	2%
(b) 角质化细胞					
化合物8			化合物1		
浓度	照射	存活率	浓度	照射	存活率
0.01 μ M	15 min	98%	0.01 μ M	15 min	94%
0.1 μ M	15 min	33%	0.1 μ M	15 min	52%
1 μ M	15 min	0.5%	1 μ M	15 min	0.4%
<u>黑暗毒性</u>					
(a) 成纤维细胞					
化合物8			化合物1		
浓度	照射	存活率	浓度	照射	存活率
10 μ M	N/A	68%	10 μ M	N/A	92%
1 μ M	N/A	100%	1 μ M	N/A	100%
(b) 角质化细胞					
化合物8			化合物1		
浓度	照射	存活率			
10 μ M	N/A	97%	10 μ M	N/A	83%
			1 μ M	N/A	100%

[0671] 表 5- 续

光毒性					
(a) 成纤维细胞					
化合物12			化合物10		
浓度	照射	存活率	浓度	照射	存活率
0.01 μ M	15 min	100%	0.01 μ M	15 min	80%
0.1 μ M	15 min	85%	0.1 μ M	15 min	8%
1 μ M	15 min	1.0%	1 μ M	15 min	0.5%
(b) 角质化细胞					
化合物12			化合物10		
浓度	照射	存活率	浓度	照射	存活率
0.01 μ M	15 min	97%	0.01 μ M	15 min	62%
0.1 μ M	15 min	75%	0.1 μ M	15 min	1.0%
1 μ M	15 min	0.5%			
黑暗毒性					
(a) 成纤维细胞					
化合物12			化合物10		
浓度	照射	存活率	浓度	照射	存活率
10 μ M	N/A	95%	10 μ M	N/A	91%
1 μ M	N/A	100%	1 μ M	N/A	100%
(b) 角质化细胞					
化合物12			化合物10		
浓度	照射	存活率	浓度	照射	存活率
10 μ M	N/A	92%	10 μ M	N/A	51%
1 μ M	N/A	100%	1 μ M	N/A	100%

[0673] 图8示出在不同剂量下,化合物8对于人体成纤维细胞和金黄色葡萄球菌 BAA-44 的毒性

[0674] 结论

[0675] 上述数据表明,本发明的化合物,例如化合物8(在剂量为0.01 μ M时),化合物12(在剂量为0.1 μ M时)和化合物10(在剂量为0.01 μ M时),与人体皮肤细胞相比,都优先对细菌细胞有毒。

[0676] 相反,参比化合物1显示对细菌和人细胞同等的毒性。

[0677] 实施例F:稳定性研究

[0678] 研究方法

[0679] 为了活化试验化合物,研制能够输送适当波长(417nm)光的预定光源(Waldmann光源236)。在室温下(25 $^{\circ}$ C),3分钟后,该光源光强度为15mW/cm²,产生的光剂量为14J/cm²。它由光箱(493mm长x278mm宽x93.3mm高)组成,其中要试验的样品位于光箱的上表面上并从下面照射。

[0680] 化合物10的光稳定性

[0681] 使用标准的光动力学方法研究示例化合物的光稳定性。如上所述,在磷酸缓冲盐水/乙醇中制备10 μ M的化合物10的溶液,使用吸光率最高为417nm的光源用蓝光(15mW/cm²)对其进行照射。溶液被照射不同的时段:10、20和30分钟。在每一预定的照射时段后,

都测定 404nm 下相应于化合物最大吸收峰值的吸光度。进行平行试验,其中测定将化合物 10 的溶液在黑暗中保存与所述照射周期相同时间时,化合物 10 的吸光度。在 30 分钟的照射时段内,观察到在 404nm 处吸光度值有较小的损失(参见图 10A)。

[0682] 当将光调节到较高的流量率($150\text{mW}/\text{cm}^2$;即通常使用流量率的 10 倍)时,研究化合物 10 对于光致退色的敏感性。用这一照明系统,在照明期间将溶液保存在石英比色杯中,同时将相等量的溶液保存在黑暗中。发现,在照明 30 分钟后,由光致退色引起的吸光度的降低在浓度为 $10\mu\text{M}$ 时大约为 15-20% (参见图 10B)。

[0683] 上述结果表明,化合物 10 经受的光致退色比在文献中已知的其他卟啉要少得多(例如,参见 Reddi 等人,2002,Photochem. Photobiol., 75 :462-470)。

[0684] 化学稳定性

[0685] 建立以下 HPLC 研究方法来分析本发明的示例化合物。

[0686] 该方法包括在波长 420nm 下进行紫外检测,这对于这些化合物来说是非常特异性的。为了监测与卟啉结构无关的杂质(因此在 420nm 下不产生吸收),在某些实验中,还在 200nm-700nm 之间通过 DAD(二极管阵列检测器)记录整个色谱的紫外线吸收光谱。

[0687] 柱:Zorbax Phenyl, 250x4.6mm, $5\mu\text{M}$

[0688] 洗脱剂 A :1.5g 十二烷基磺酸钠 + 在 1000mL 水中的 1mL 甲酸

[0689] 洗脱剂 B :1.5g 十二烷基磺酸钠 + 在 200mL 水中的 1mL 甲酸 +800mL 四氢呋喃

[0690] 梯度:

时间 [min]	洗脱剂 [%]
0	50
31	65
32	90
33	50
43	50

[0691]

[0692] 流速:0.4mL/分钟

[0693] 检测:420nm

[0694] 柱温:25°C

[0695] 注入体积:10 μL

[0696] 溶液:将卟啉衍生物溶于洗脱剂 A 中,使最后浓度大约为 0.3mg/mL。

[0697] 示例化合物典型的保留时间是大约 8 分钟(运行时间为 18 分钟)。

[0698] 在本发明的示例化合物上进行定性应力试验。通过 HPLC&LC-MS 进行分析。化合物的应力试验在固态、水溶液、以及在磷酸盐缓冲盐水中制成的溶液中进行。样品最初在 50°C 下培养 7 天,之后将样品移去进行试验。之后将样品在 70°C 再培养 7 天,如前所述将其移去,并在 90°C 下再培养 7 天。对新近制备的溶液进行 HPLC 分析,并与培养 7、14 和 21 天后的样品进行对比。然后进行色谱的视觉比较,按面积百分比值测定主要产物和副产物的

含量（参见图 11）。

[0699] 色谱的 3D 曲线图表明，没有另外形成片段的迹象（在较低的波长下没有迹象）。

[0700] 图 12 中的曲线图表明，在 PBS 缓冲剂中 21 天后的样品，表现出最大的降解效果。结果表明，对固体药物和处于加热到 80℃ 若干周的溶液中的药物进行分析时，降解程度最小。

[0701] 结论

[0702] 化合物 10 和 12，两者都被发现能显示良好的稳定性，并且甚至在试验规程的应力条件下也很稳定。尽管化合物 8 不如化合物 10 和 12 稳定，但发现其显示出的稳定性足以满足实际的应用。

[0703] 示例化合物在制剂中的稳定性

[0704] 按如下所述评价本发明的三个示例化合物（化合物 8, 10 和 12）和一个参考化合物（化合物 1）的稳定性，它们处于各种不同的水基制剂中，在聚乙烯药水瓶中、在黑暗中、在 40℃ 下储存 8 周以上：

[0705] - 月桂基硫酸钠 (SLES) + 水

[0706] - 9 : 1 的水 : 乙醇

[0707] - SLES + 9 : 1 的水 : 乙醇

[0708] 在 7 周时间内，在 350–700nm 范围内记录紫外线吸收光谱，并在 8 周时对样品进行视觉评价。

[0709] 结果表明，所有的试验化合物都在 8 周以上的期间显示优良的稳定性（参见图 13）。

[0710] 对于化合物 8 和 10 来说，稳定性研究延至 17 周（参见图 14）。

[0711] 实施例 G : 分布研究

[0712] 人体皮肤分布

[0713] 使用 Franz 细胞系中的人体皮肤（完整的）来检测高浓度培养 22 小时后，化合物 10 和 12 在皮肤区的分布。对每一制剂进行三个单独的实验，每一个实验都使用一块皮肤样品（来自相同的捐献者）。将 250 μ L 的各个制剂在封闭下施用，22 小时后移开。将皮肤分离，并使用 HPLC 测定角质层、表皮和真皮、以及收集器溶液中化合物的含量。

[0714] 建立以下 HPLC 研究方法来分析本发明的示例化合物 : HPLC 系统的具体条件：

[0715] TSP SCM1000 膜脱气仪，P4000 四元泵，AS3000 自动取样器，UV6000LP UV/Vis PDA 检测器，SN4000 控制器，PC1000（版本 3.5.1）软件。Zorbax SB-Phenyl, 5 μ M, 250x4.6 毫米柱加上 Phenyl 安全防护筒（Phenomenex）。

[0716] 流动相 : 550mL 水 ; 450mL 四氢呋喃 ; 1.5g 十二烷基硫酸钠和 1mL 甲酸，流速为 0.8mL/分钟。注入体积为 50 μ L（全回路注入），操作温度为 25℃。检测器设定在波长 409nm，加上 UV/Vis 扫描（240–752nm，步长 4nm）。示例化合物典型的保留时间是大约 8 分钟（运行时间为 18 分钟）。

[0717] 与皮肤相关连的大部分化合物被发现存在于角质层中。在表皮中检测到的浓度低（约 0.01 μ M），即，为潜在的抗细菌浓度。在真皮中检测到的浓度更低（约 0.002 μ M）。在收集器溶液中没有检测到化合物。

[0718] 表 6

[0719] 实验 1: 在 9 : 1 的水 : 乙醇中, 化合物 10 的浓度为 $32 \mu\text{M}$

[0720] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

制剂	剂量 (ml)	总回收率 (%)	洗涤	擦拭	条 1	条 2-3	条 4-6	条 7-10	表皮	真皮	接收器相
在 9:1 的水:乙醇中的 $32 \mu\text{M}$ 化合物 10	0.25	63.00	0.618	1.880	0.146	0.079	0.051	0.032	0.054	0.035	0.0000

[0722] $\text{nmoles}/\text{cm}^2$

制剂	剂量 (ml)	总回收率 (%)	洗涤	擦拭	条 1	条 2-3	条 4-6	条 7-10	表皮	真皮	接收器相
在 9:1 的水:乙醇中的 $32 \mu\text{M}$ 化合物 10	0.25	63.00	0.807	2.455	0.191	0.103	0.066	0.042	0.070	0.045	0.0000

[0724] 组织浓度 (μM)

制剂	剂量 (ml)	总回收率 (%)	假定的组织 厚度 (μM) 计算体积 (cm^3)			各条总计	表皮	真皮
						15	85	4000
						0.0015	0.0085	0.400
在 9:1 的水:乙醇中的 $32 \mu\text{M}$ 化合物 10	0.25	63.00				268	8.27	0.113

[0726] 表 7

[0727] 实验 2: 含 $16 \mu\text{M}$ 化合物 10 的三种制剂的直接比较

[0728] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

制剂	剂量 (ml)	总回收率 (%)	洗涤	擦拭	条 1	条 2-3	条 4-6	条 7-10	表皮	真皮	接收器相
$16 \mu\text{M}$ 化合物 10 + $32 \mu\text{M}$ SLES, 在水中	0.25	50.53	0.454	0.741	0.0031	0.0015	0.0018	0.0007	0.0028	0.0059	0.0028
$16 \mu\text{M}$ 化合物 10, 在 9:1 的水:乙醇中	0.25	53.01	0.564	0.544	0.0024	0.0023	0.0030	0.0007	0.0163	0.0088	0.0000
$16 \mu\text{M}$ 化合物 10 + $32 \mu\text{M}$ SLES, 在 9:1 的水:乙醇中	0.25	58.94	0.478	0.430	0.0051	0.0026	0.0026	0.0014	0.0151	0.0028	0.0000

[0730] $\text{nmoles}/\text{cm}^2$

制剂	剂量 (ml)	总回收率 (%)	洗涤	擦拭	条 1	条 2-3	条 4-6	条 7-10	表皮	真皮	接收器相
$16 \mu\text{M}$ 化合物 10 + $32 \mu\text{M}$ SLES, 在水中	0.25	50.53	0.593	0.968	0.0041	0.0020	0.0024	0.0009	0.0037	0.0077	0.0037
$16 \mu\text{M}$ 化合物 10, 在 9:1 的水:乙醇中	0.25	53.01	0.736	0.710	0.0031	0.0031	0.0039	0.0010	0.0212	0.0115	0.0000
$16 \mu\text{M}$ 化合物 10 + $32 \mu\text{M}$ SLES, 在 9:1 的水:乙醇中	0.25	58.94	0.625	0.562	0.0066	0.0034	0.0034	0.0019	0.0198	0.0037	0.0000

[0732] 组织浓度 (μM)

[0733]	制剂	剂量 (ml)	总回收率 (%)	假定的组织厚度 (μM) 计算体积 (cm^3)	各条总计	表皮	真皮	接收器相
					15	85	4000	
	16 μM 化合物 10+32 μM SLES, 在水中	0.25	50.53		0.0015	0.0085	0.400	3.32
	16 μM 化合物 10, 在 9:1 的水:乙醇中	0.25	53.01		6.24	0.4373	0.019	0.0011
	16 μM 化合物 10+32 μM SLES, 在 9:1 的水:乙醇中	0.25	58.94		7.37	2.4977	0.029	
					10.21	2.3257	0.009	

[0734] 结果和结论

[0735] 人体皮肤分布研究的结果参见上表 6 和 7。

[0736] 重要的发现如下：

[0737] (i) 从角质层的表面回收到大多数的化合物 10。

[0738] (ii) 在角质层内回收到浓度低得多的，但依然有抗菌潜能的化合物 10。

[0739] (iii) 在没有乙醇的情况下，在表皮和真皮中发现亚治疗浓度的化合物 10。

[0740] (iv) 在有乙醇的情况下，在表皮中发现较高治疗浓度的化合物 10。

[0741] (v) 没有制剂导致有潜在抗菌浓度的化合物 10 到达真皮。

[0742] (vi) 所述包含 SLES 的制剂是唯一在极低浓度下在受体相中检测到化合物 10 的制剂。

[0743] (vii) 在某种程度上，皮肤中化合物 10 的分布可以通过使用的制剂进行控制。

[0744] 人的皮肤细胞分布：成像研究

[0745] 已经研究了染料在人的皮肤成纤维细胞 (NHDF) 和人的皮肤角质化细胞 (NHEK) 中的亚细胞分布。NHDF 在显微镜载片上生长过夜，然后所述细胞用化合物 10 单独培养 5 分钟、1 小时和 4 小时，或者将培养的细胞用对细胞器特异性染料共染。为了标记溶酶体和线粒体，分别使用 LysoTrackerGreen (分子探针) 和若丹明 G6 (Sigma)。在培养后紧接着，使用适当的用于激发和发射的二元带滤波装置 (Omega Optical)，通过光动力学显微术 (Zeiss Vario AxioTech, Germany) 检测亚细胞定位情况。使用适当的应用软件，可以透明地将数字照相 (光动力学) 压在光学显微术照相上面。因此，染料的分布可以通过一次成像定位。此外，还可以使用不同颜色的成像重叠若干个数字照相。

[0746] NHDF 细胞在显微镜载片上生长过夜。然后，用 1 μM 的化合物 10 将细胞 (绿色光动力学) 培养 1 小时并用以下 (A) 或 (B) 对其进行共染：(A) 用于线粒体 (若丹明 G6；50ng/ml, 5；红色光动力学) 和原子核 (Hoechst33342；蓝色光动力学) 的细胞器特异性染料；或 (B) 用于溶酶体 (LysoTrackerGreen；10 μM , 2 小时；绿色光动力学) 和原子核 (Hoechst33342；蓝色光动力学) 的细胞器特异性染料。使用适当的用于激发和发射的二元带滤波装置 (Omega Optical)，通过光动力学显微术 (Zeiss Vario AxioTech, Germany) 检测亚细胞定位情况。共定位没入黄色光动力学中。

[0747] 在没有共染时，(A) 溶酶体和 (B) 线粒体的染色情况示于图 15。

[0748] 图 16 表明了用 1 μM 化合物 10 对 NHDF 细胞培养 1 小时后 NHDF 细胞的细胞内光动力学分布。

[0749] 化合物 10 的光动力学色谱图局限在原子核外,用对线粒体有特异性的若丹明 G6 进行共染导致化合物 10 的共定位(绿色)和线粒体的光动力学性(红色)。共定位没入黄色光动力学中(图 16)。

[0750] 用对溶酶体有特异性的染料(LysoTrackerGreen)进行共染导致产生化合物 10 的不同定位(红色)和溶酶体的光动力学性(绿色)(图 16)。

[0751] 结论

[0752] 在这些研究中,在核物质中没有观察到化合物 10 的核缔合,这表明,化合物对于 DNA 的活性可能性很低。

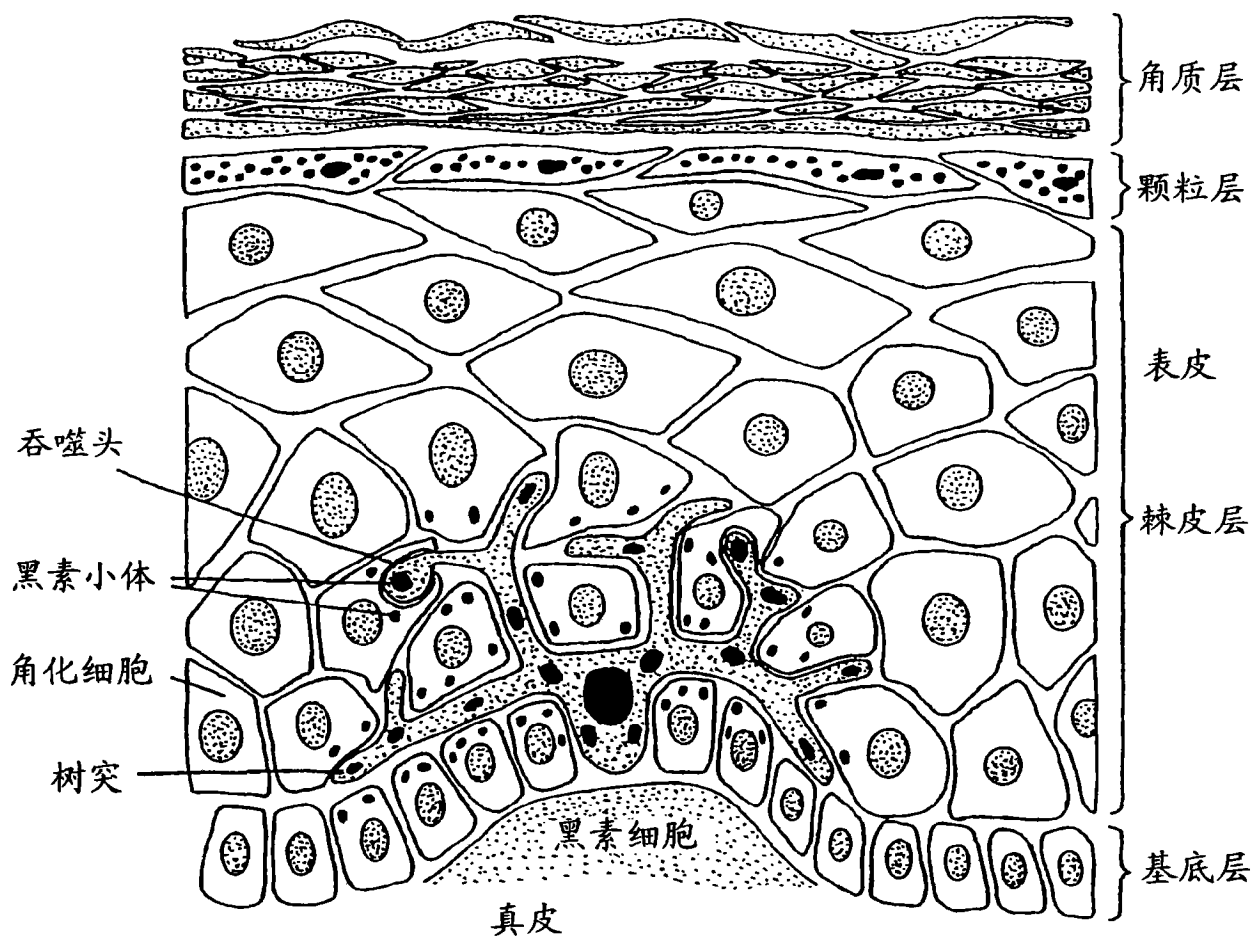


图 1

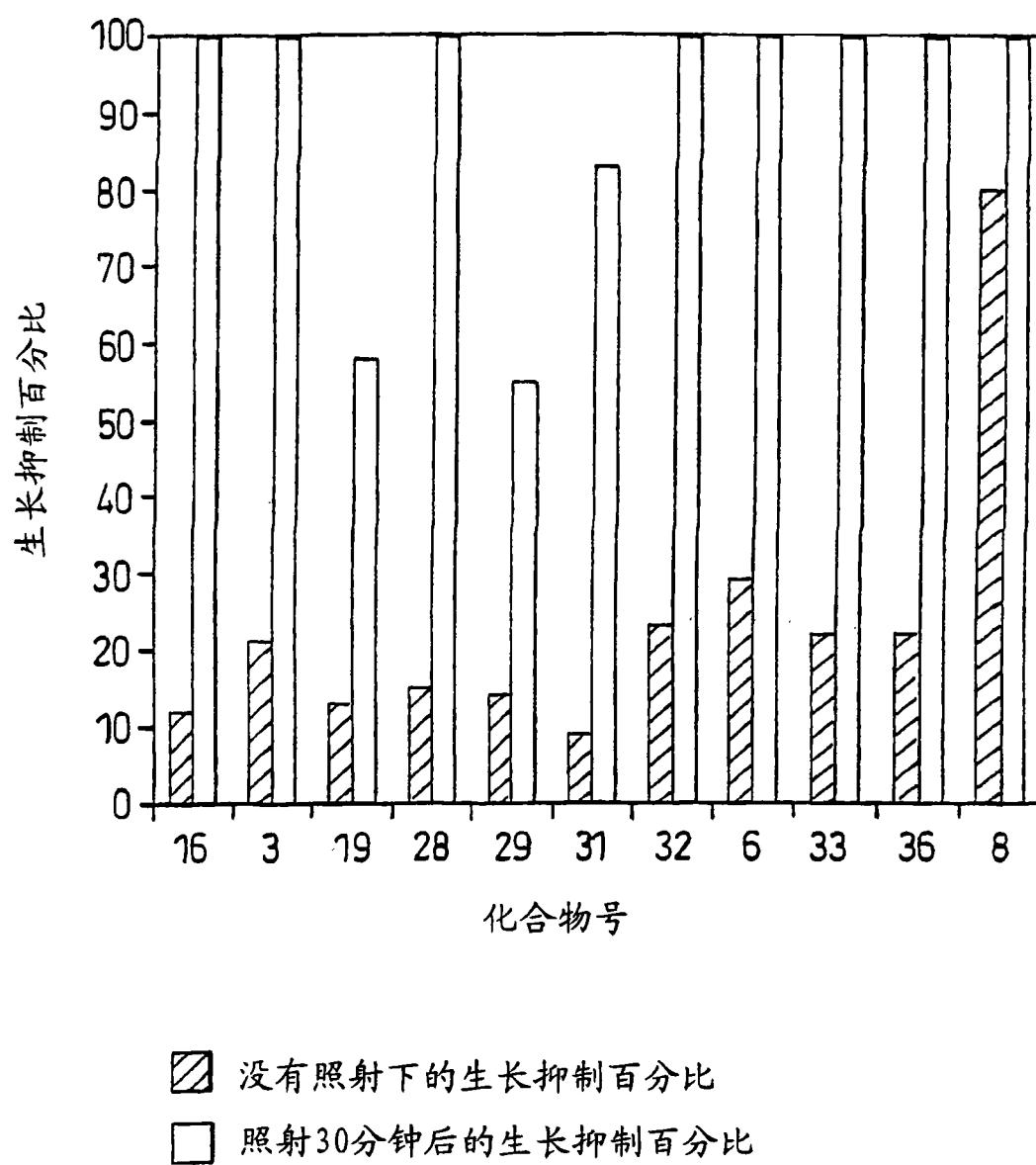
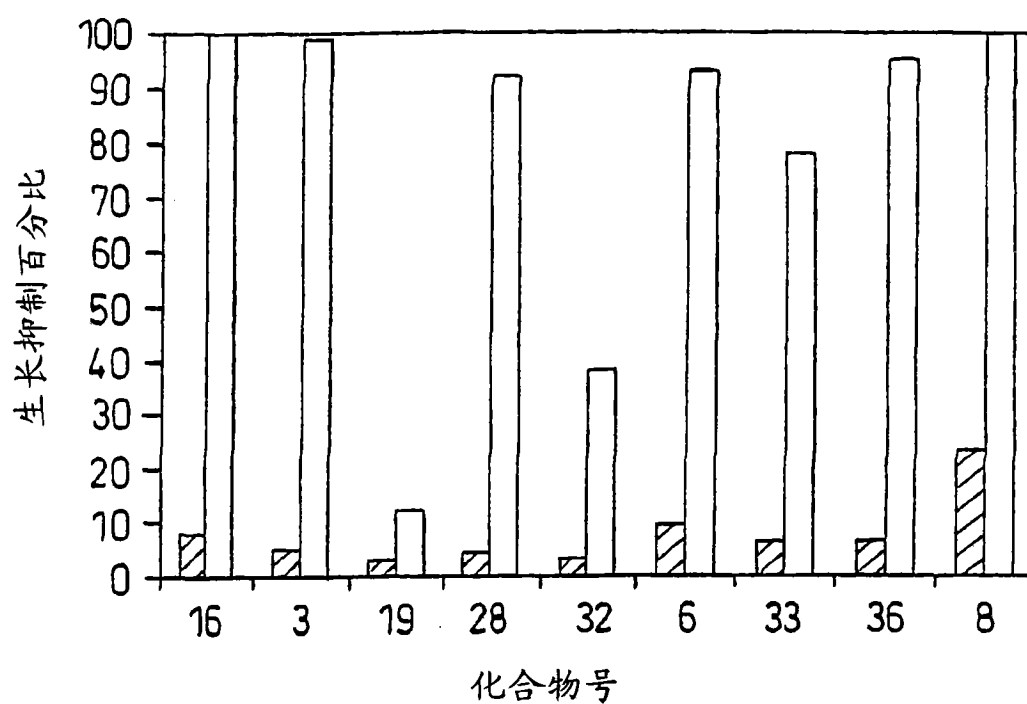
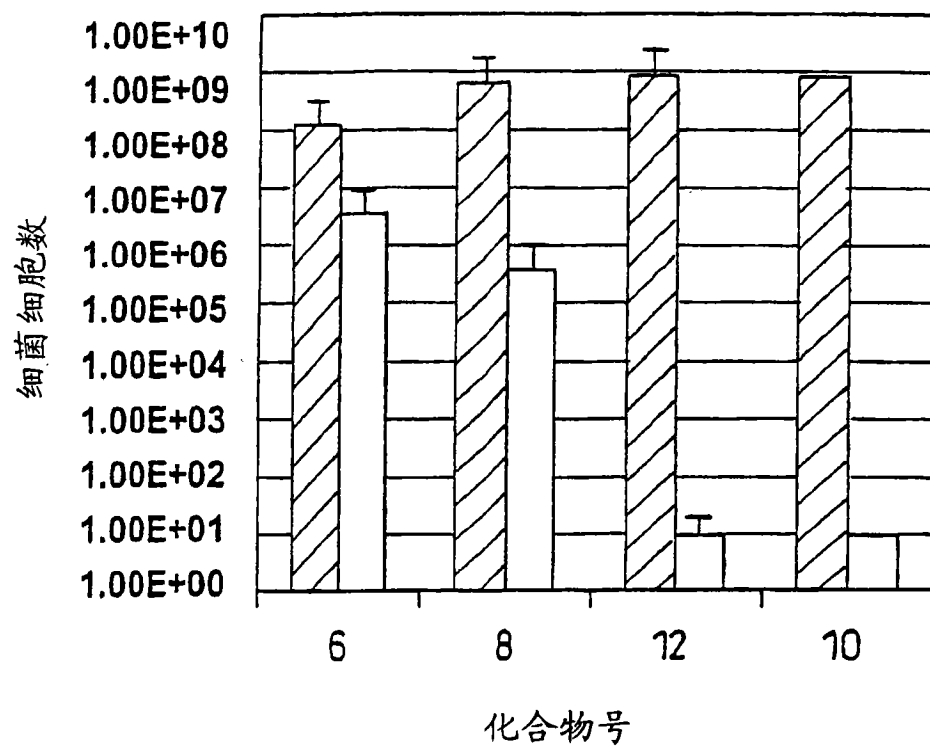


图 2(A)



-  没有照射下的生长抑制百分比
-  照射30分钟后的生长抑制百分比

图 2(B)



- ☒ 黑暗毒性(无光)
- ☐ 光动力活性(有光存在)

图 3(A)

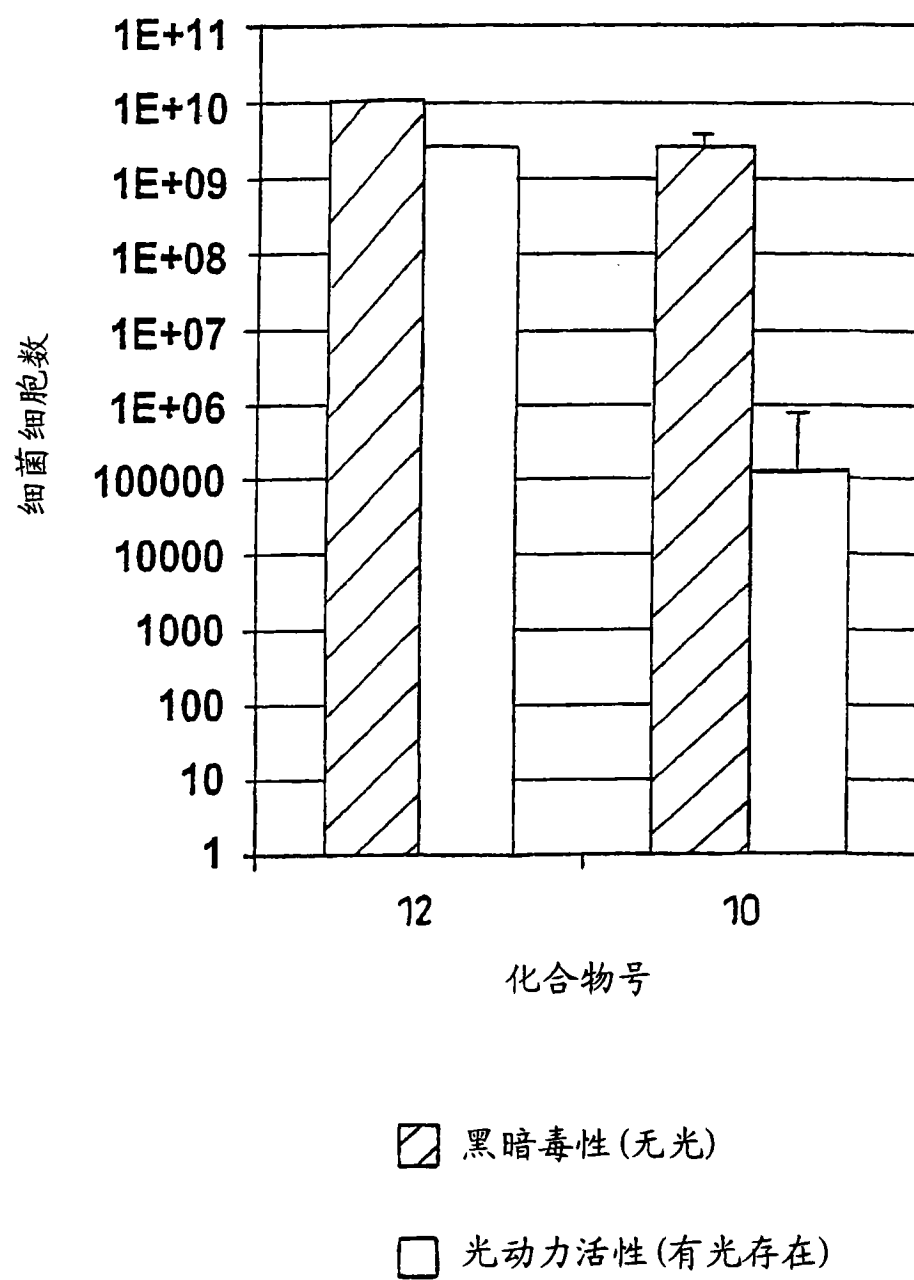


图 3(B)

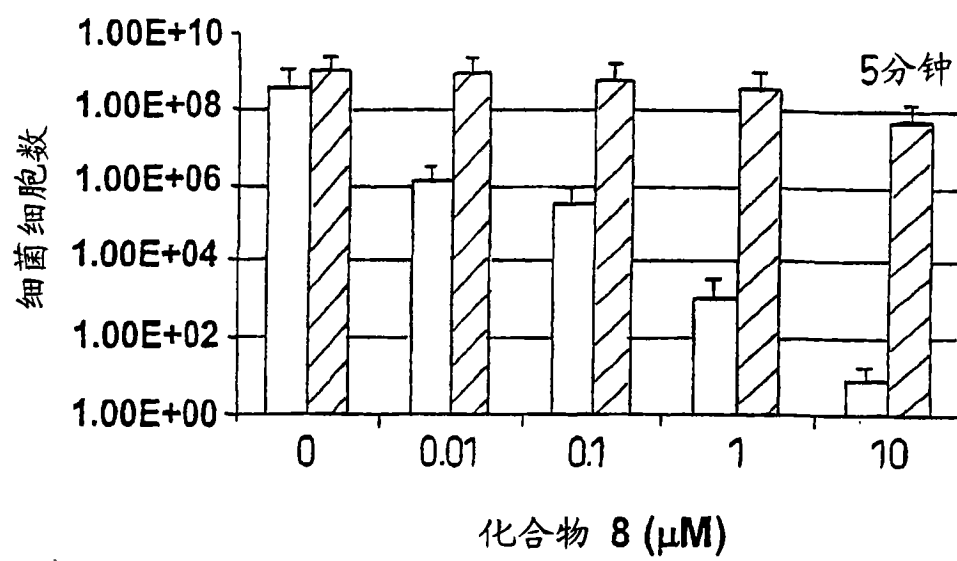


图 4(A)

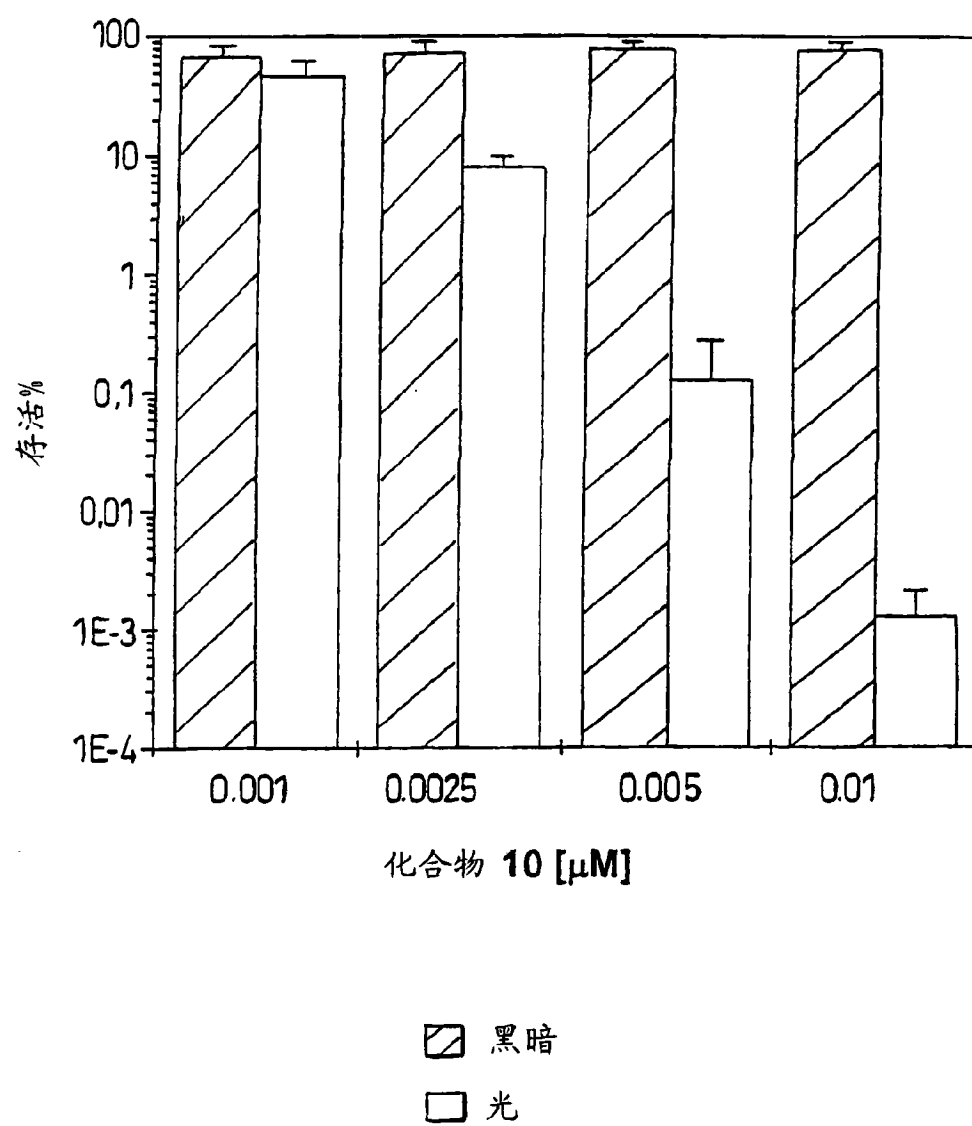


图 4(B)

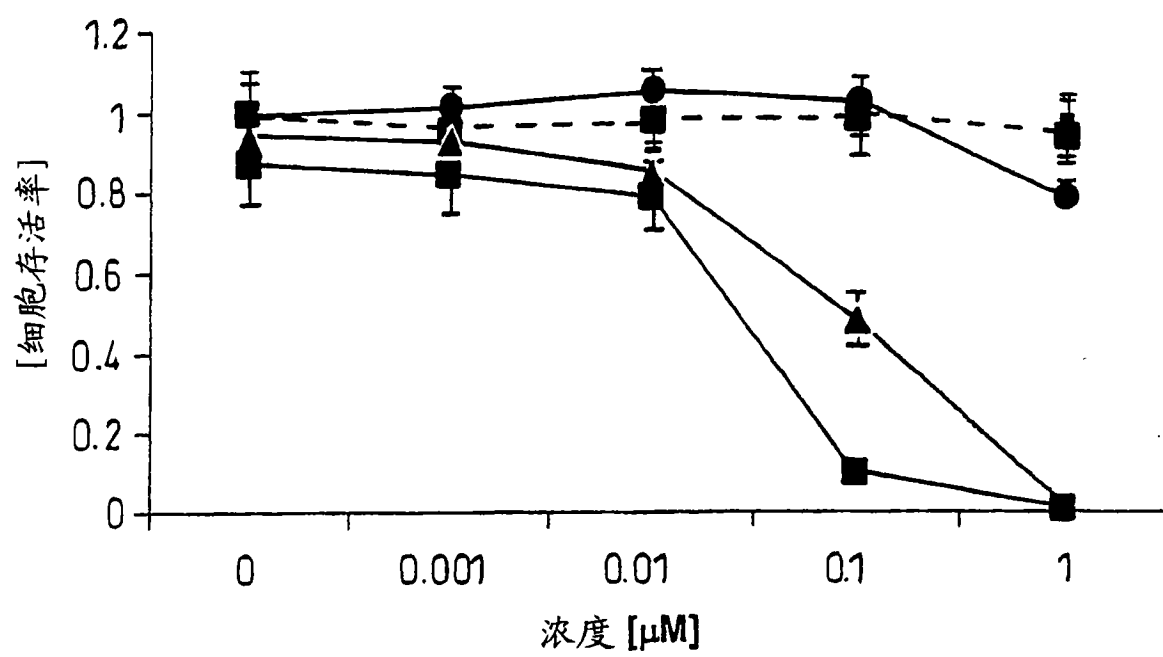


图 5

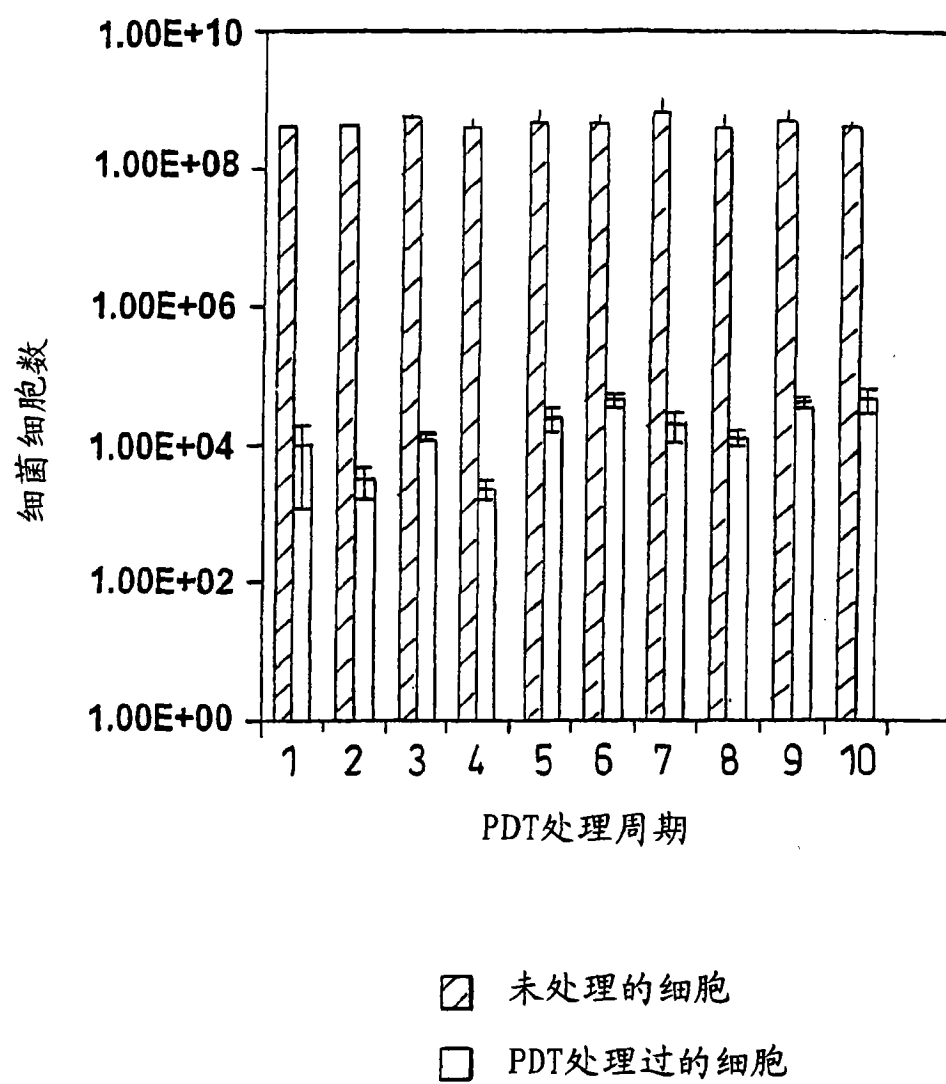


图 6

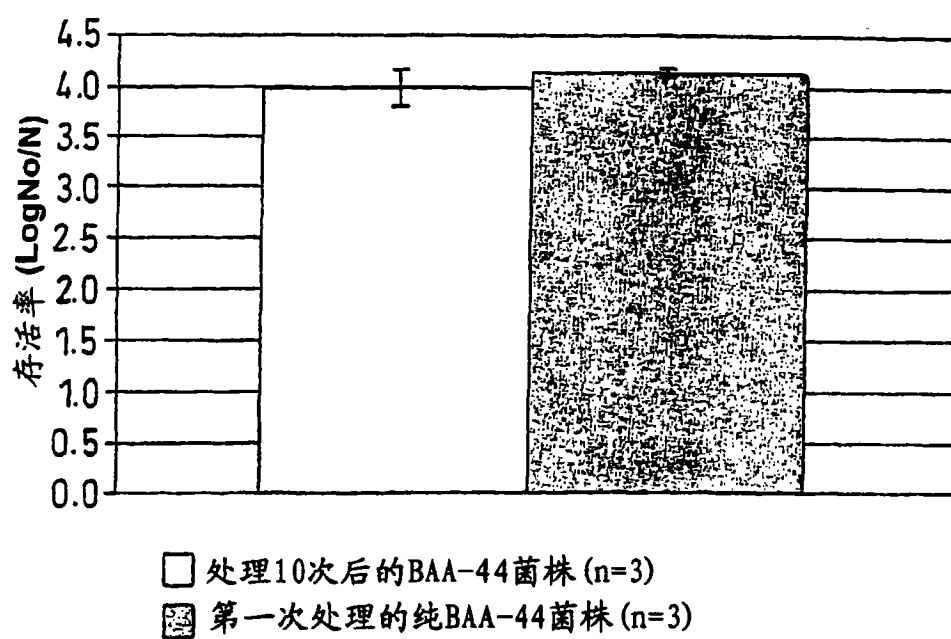


图 7

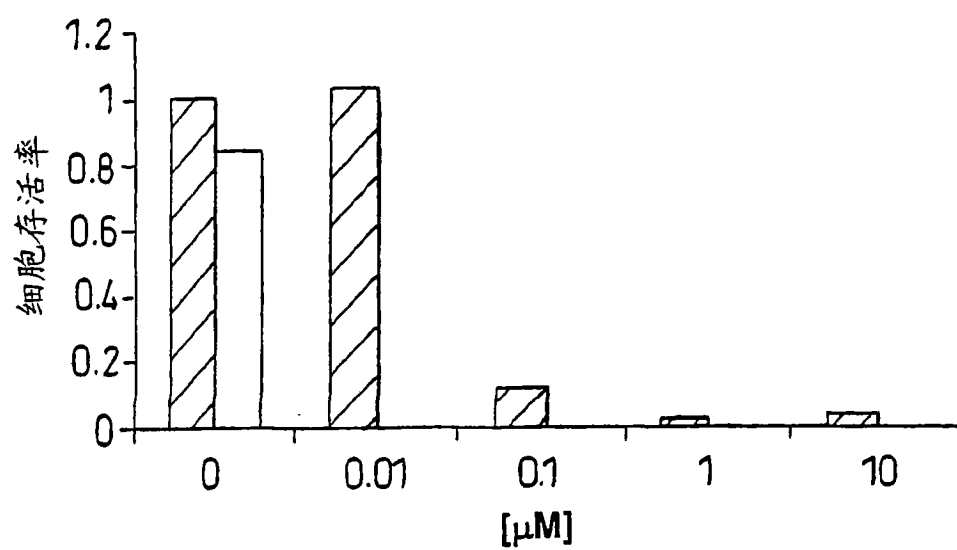


图 8

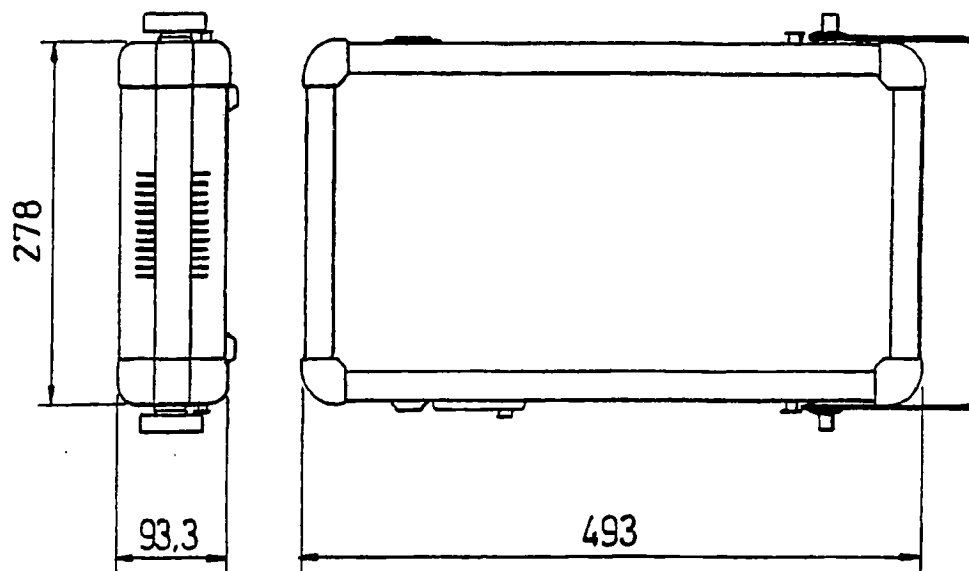


图 9

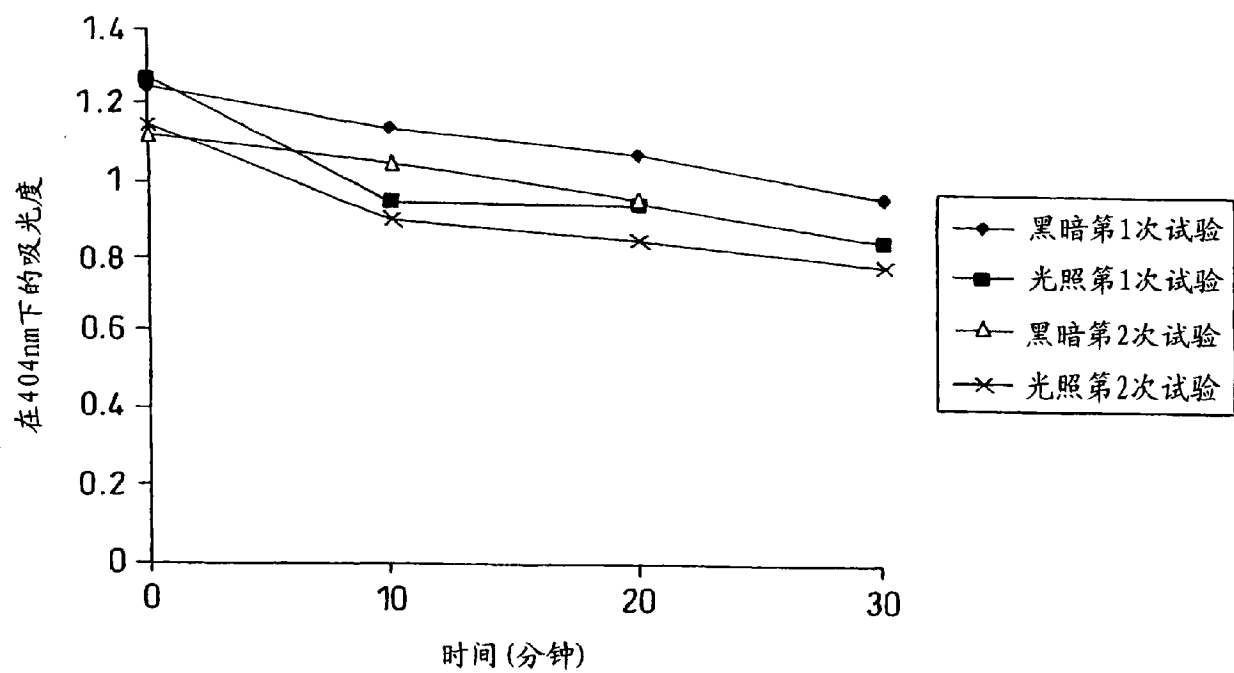


图 10(A)

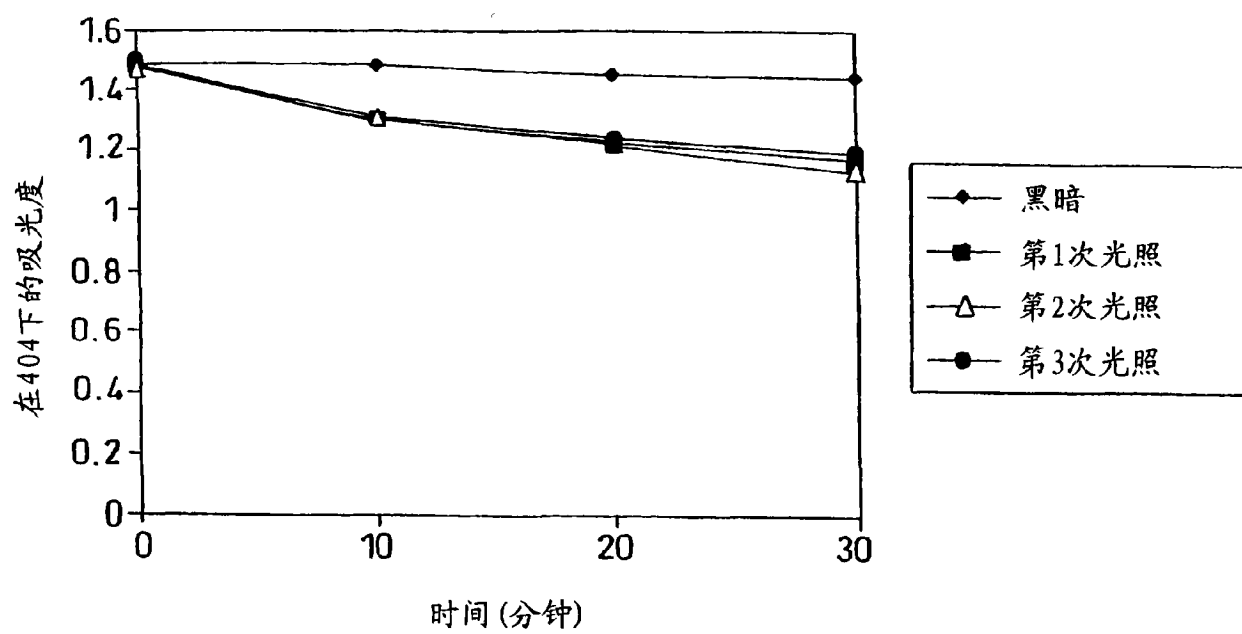


图 10(B)

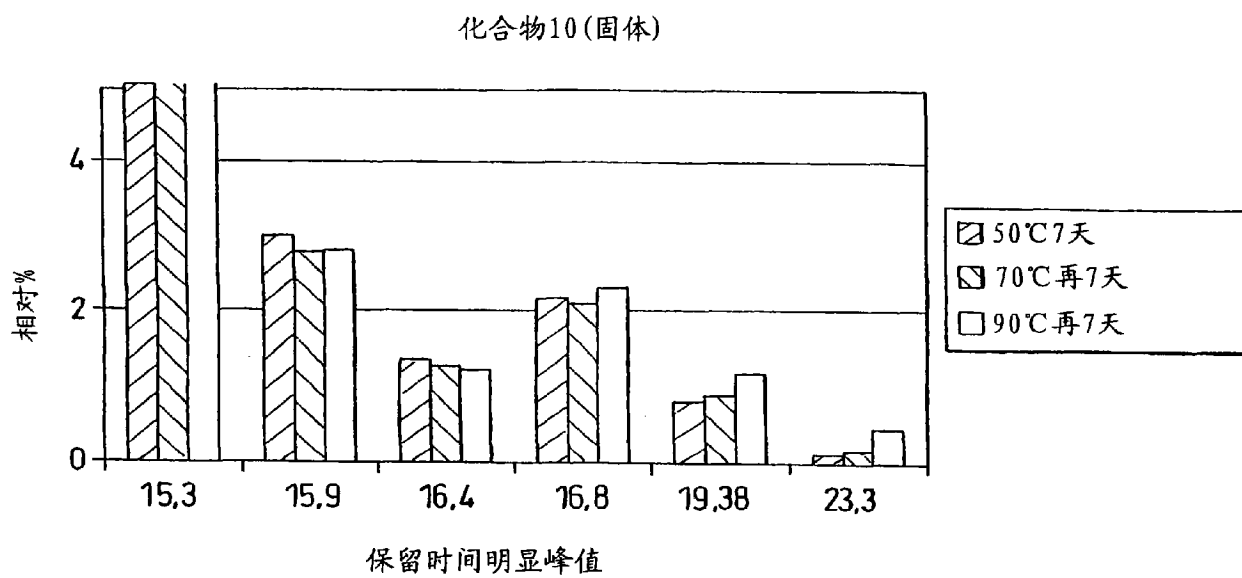


图 11(A)

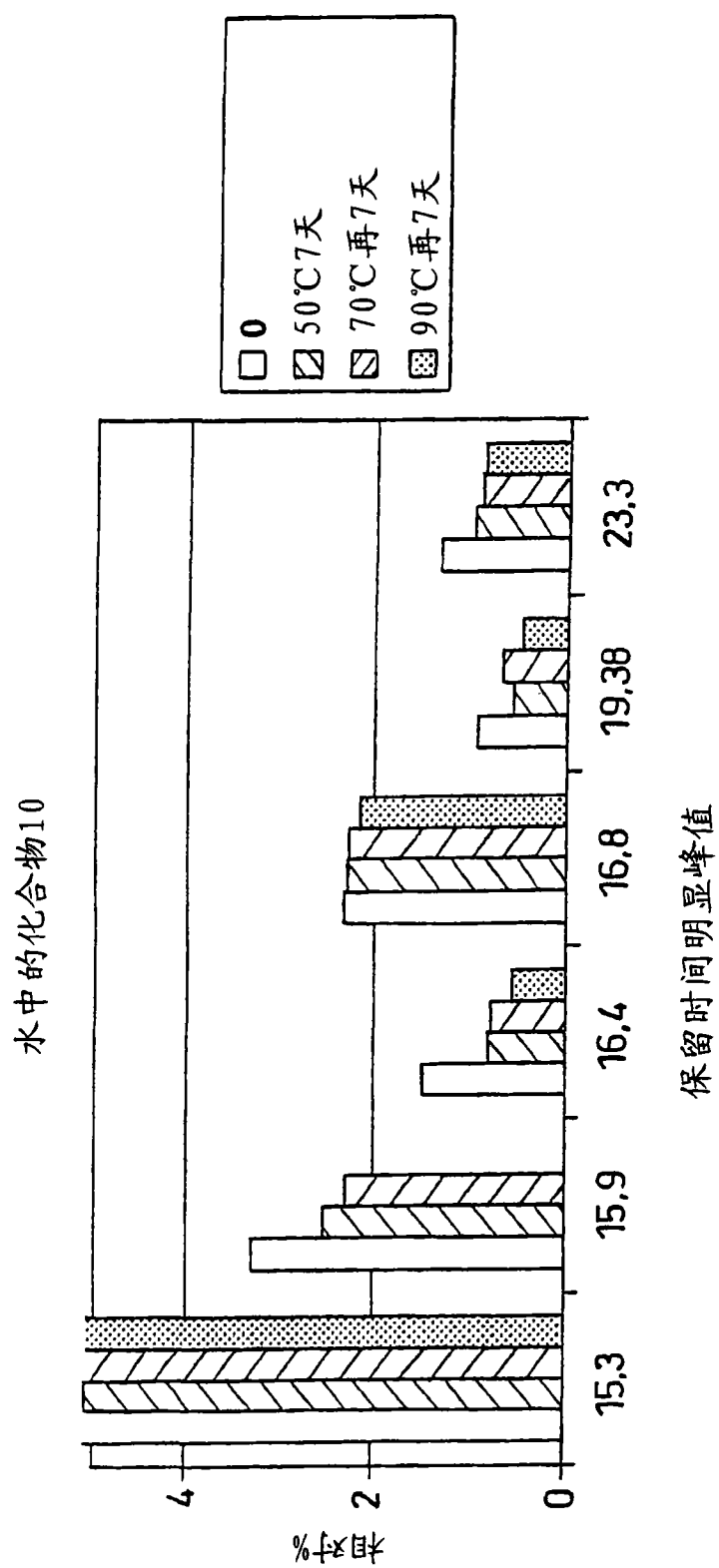
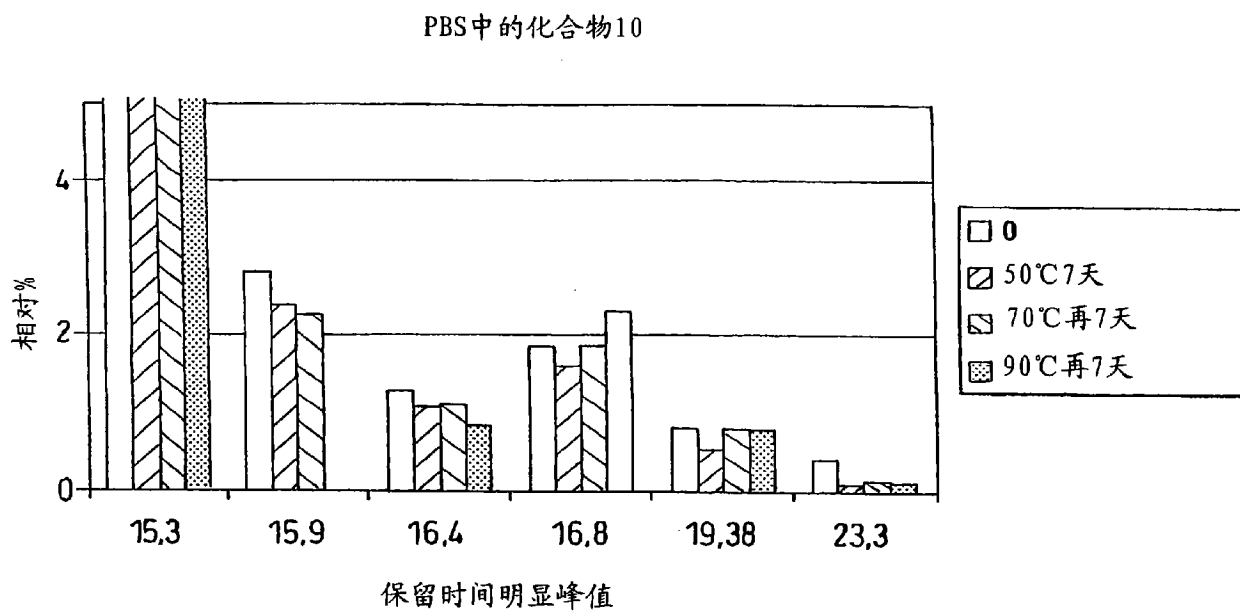


图 11 (B)



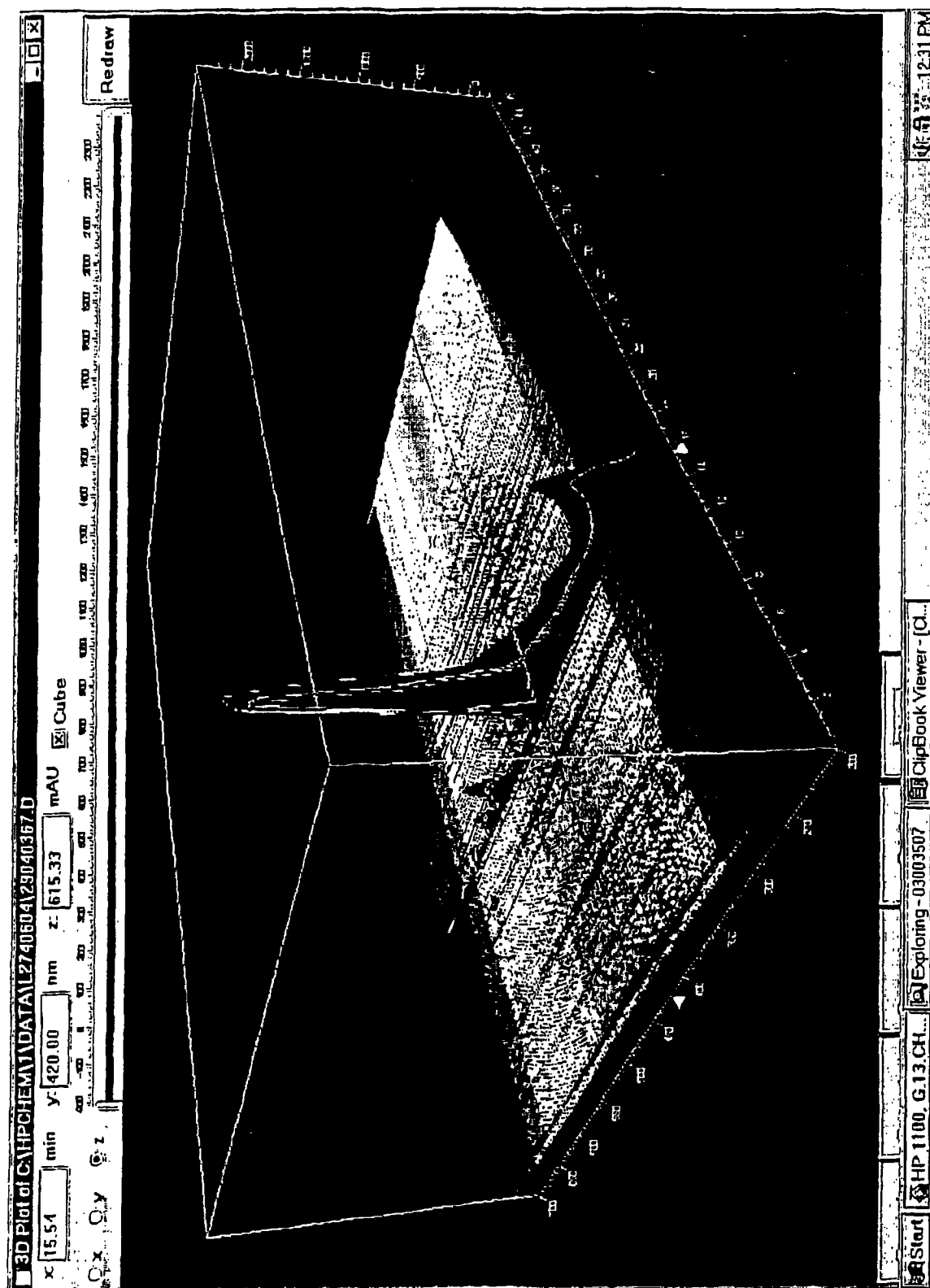


图 12

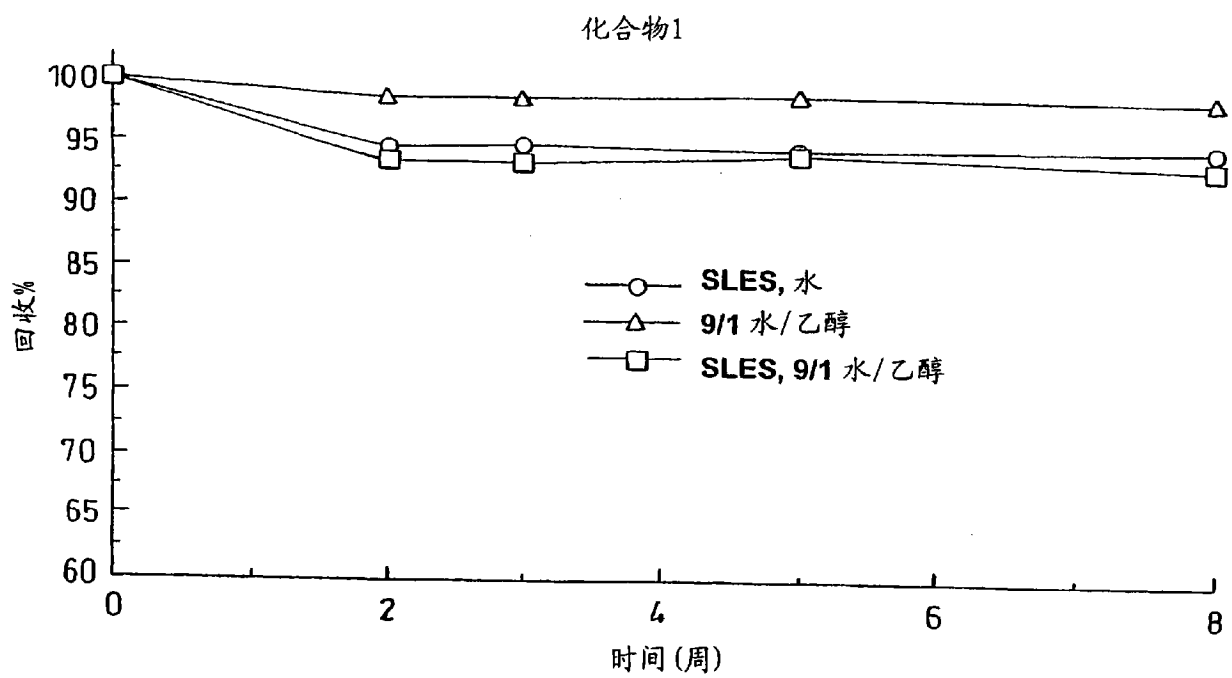


图 13(A)

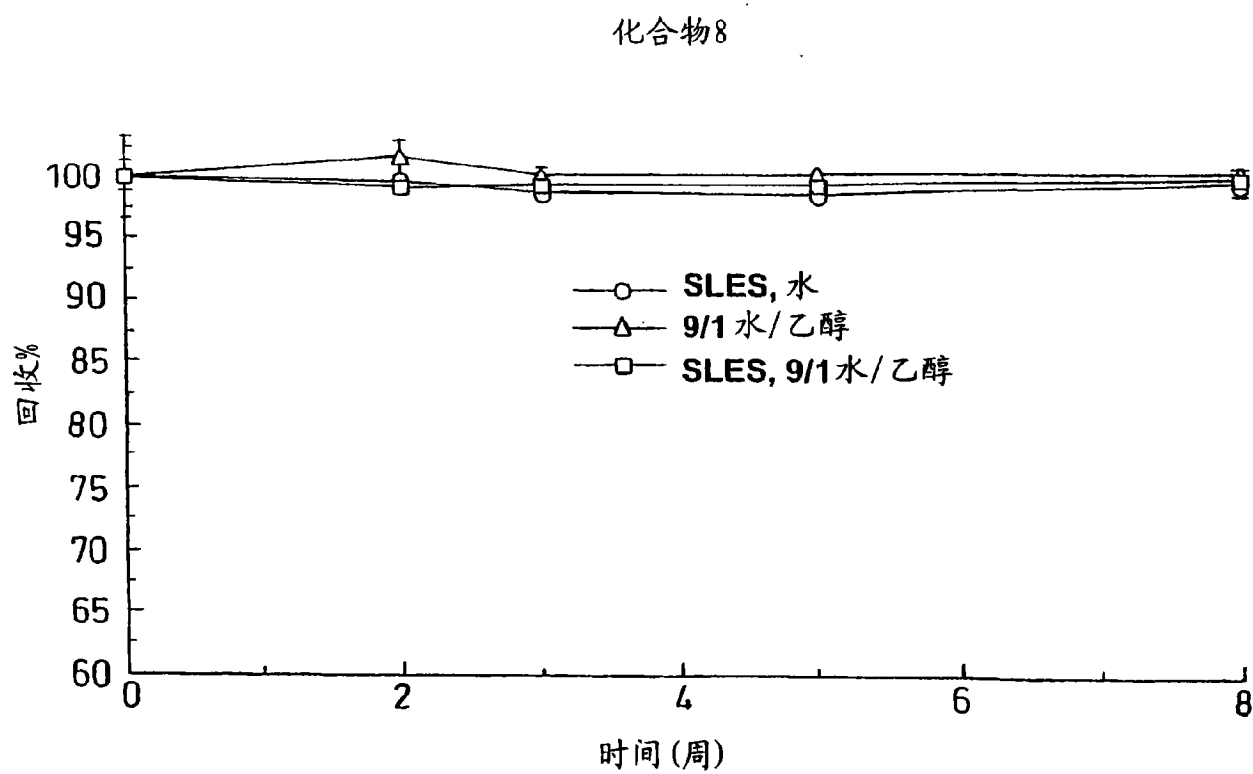


图 13(B)

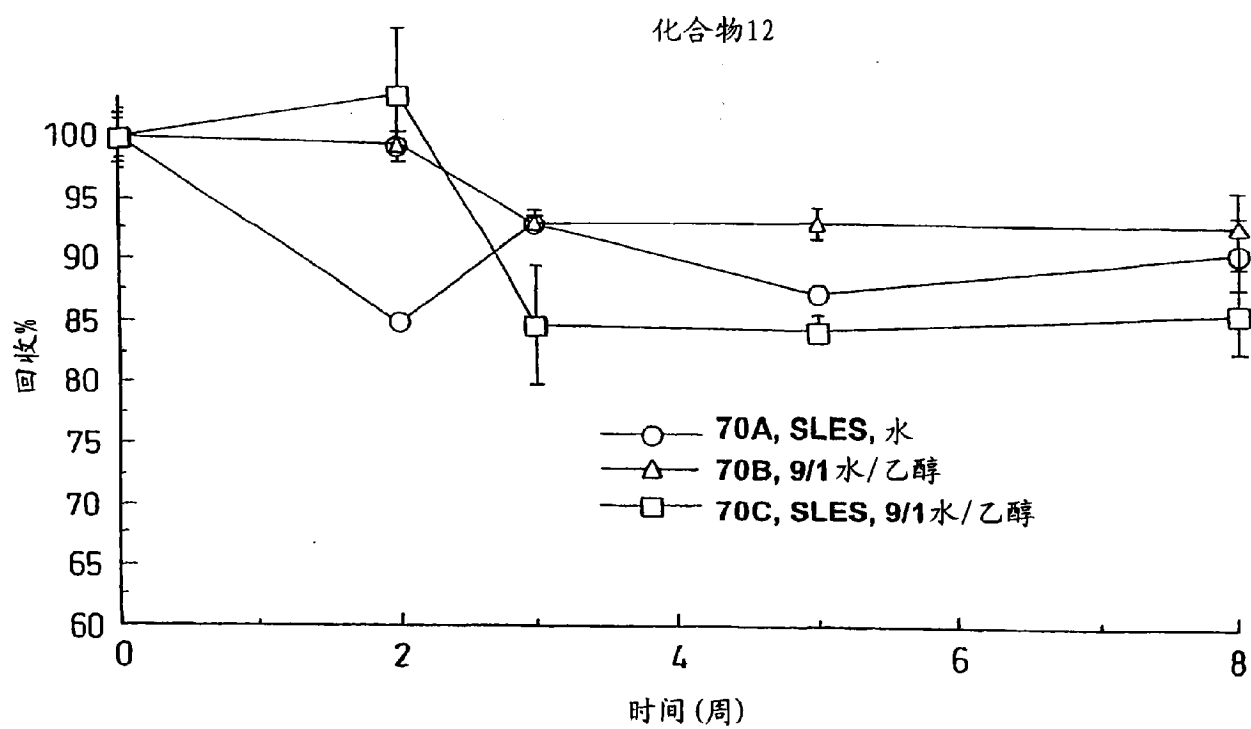


图 13(C)

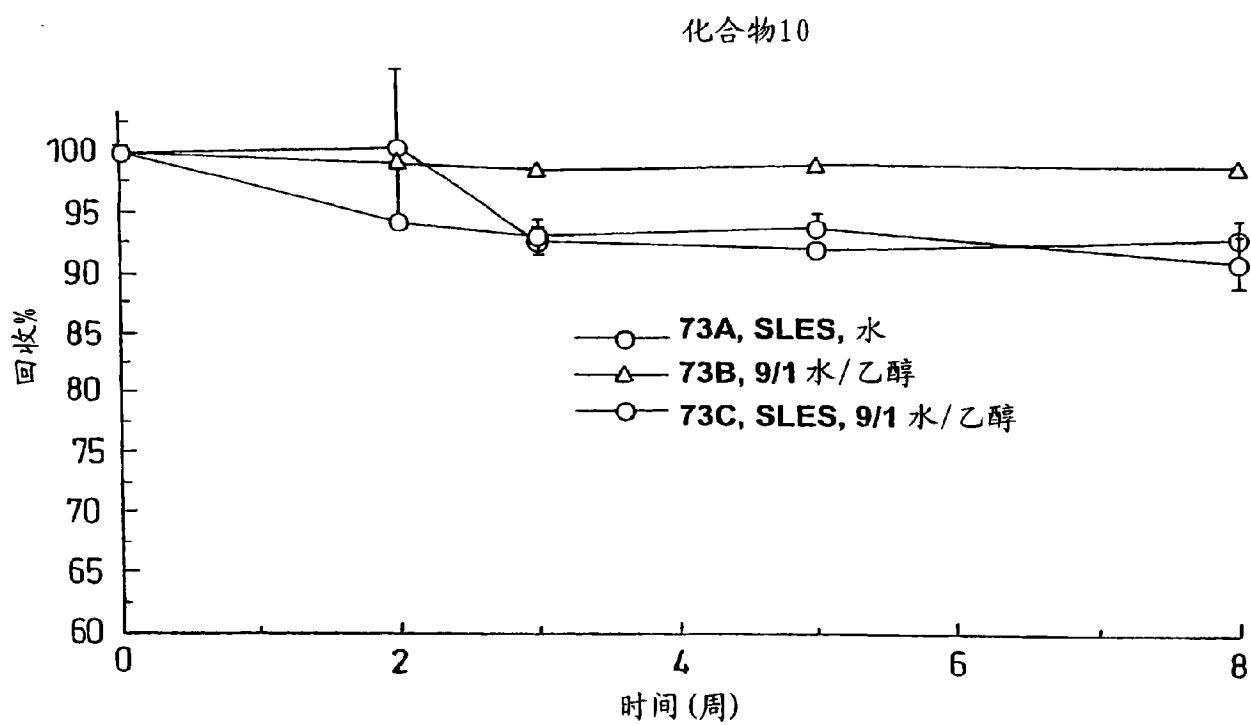


图 13(D)

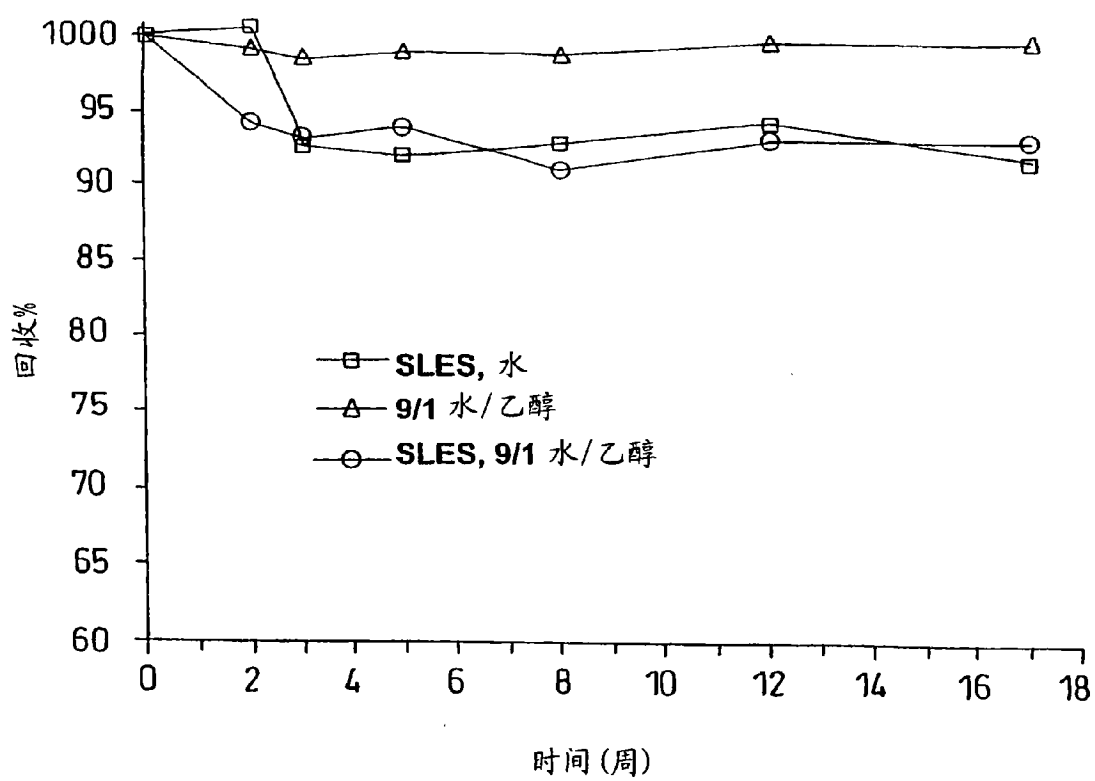


图 14(A)

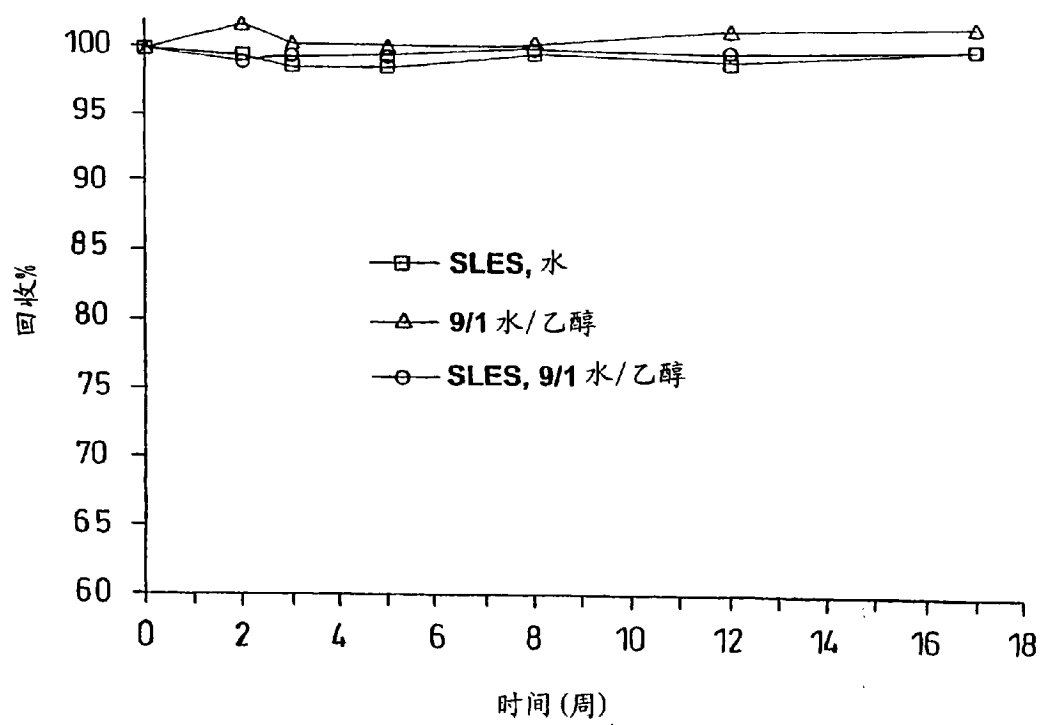


图 14(B)

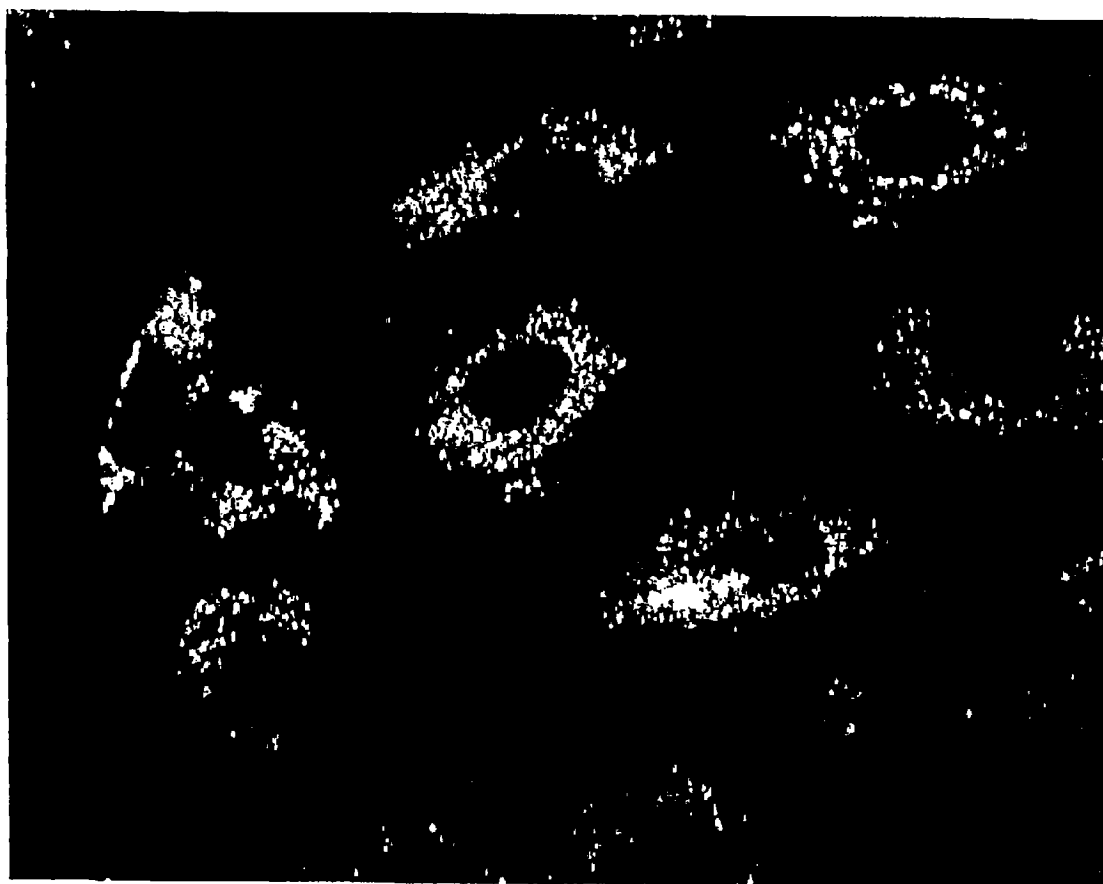


图 15(A)

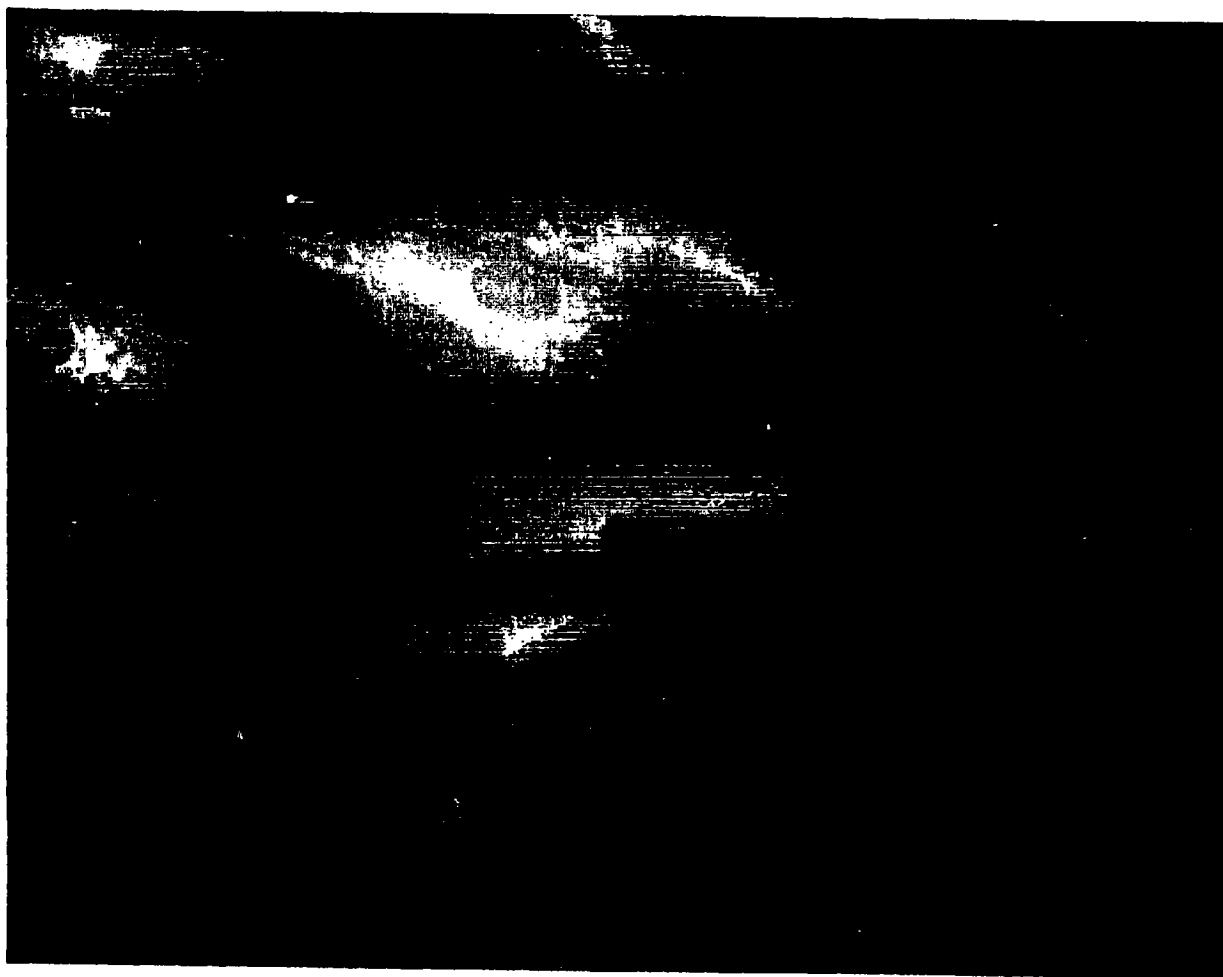


图 15(B)

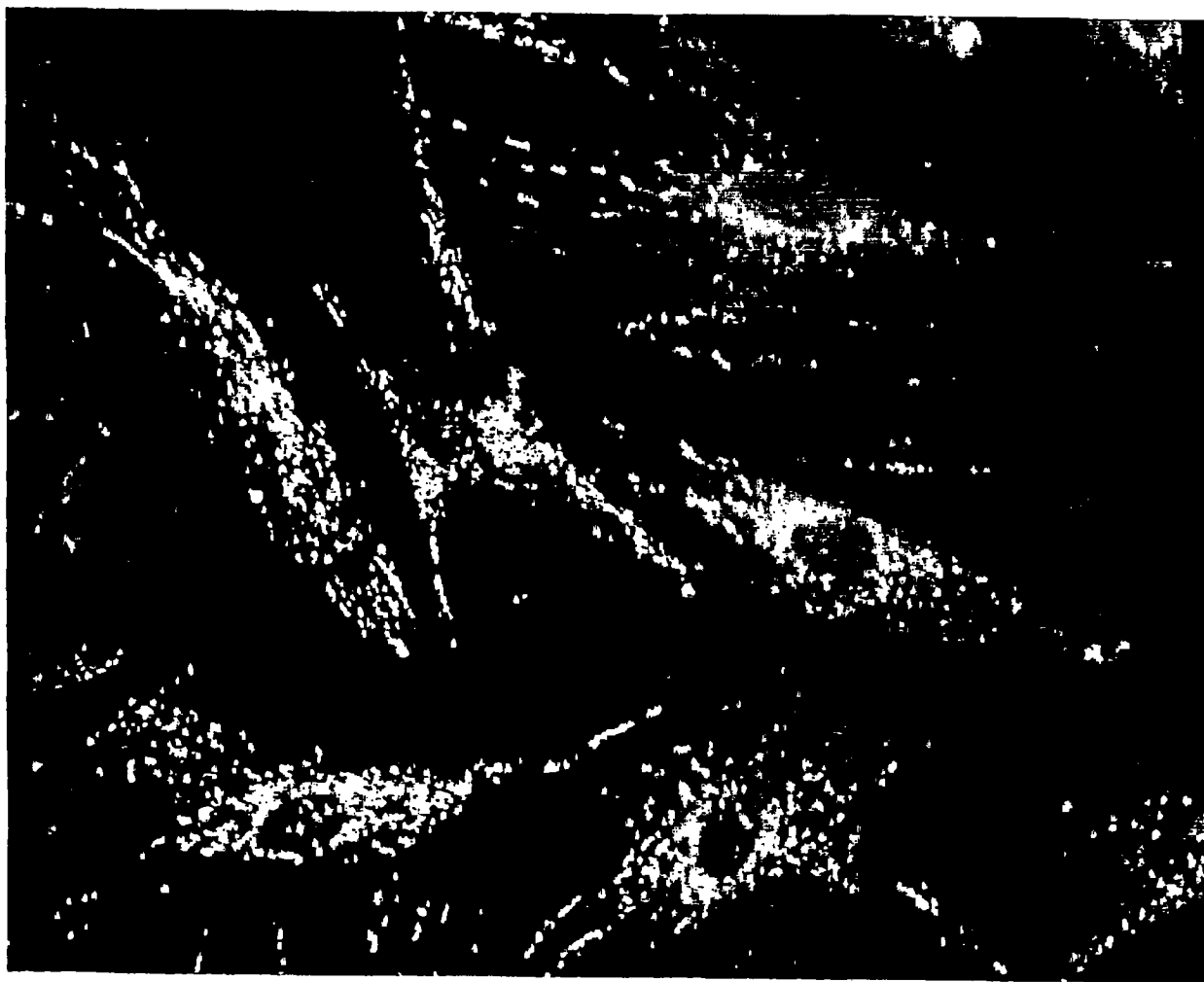


图 16(A)

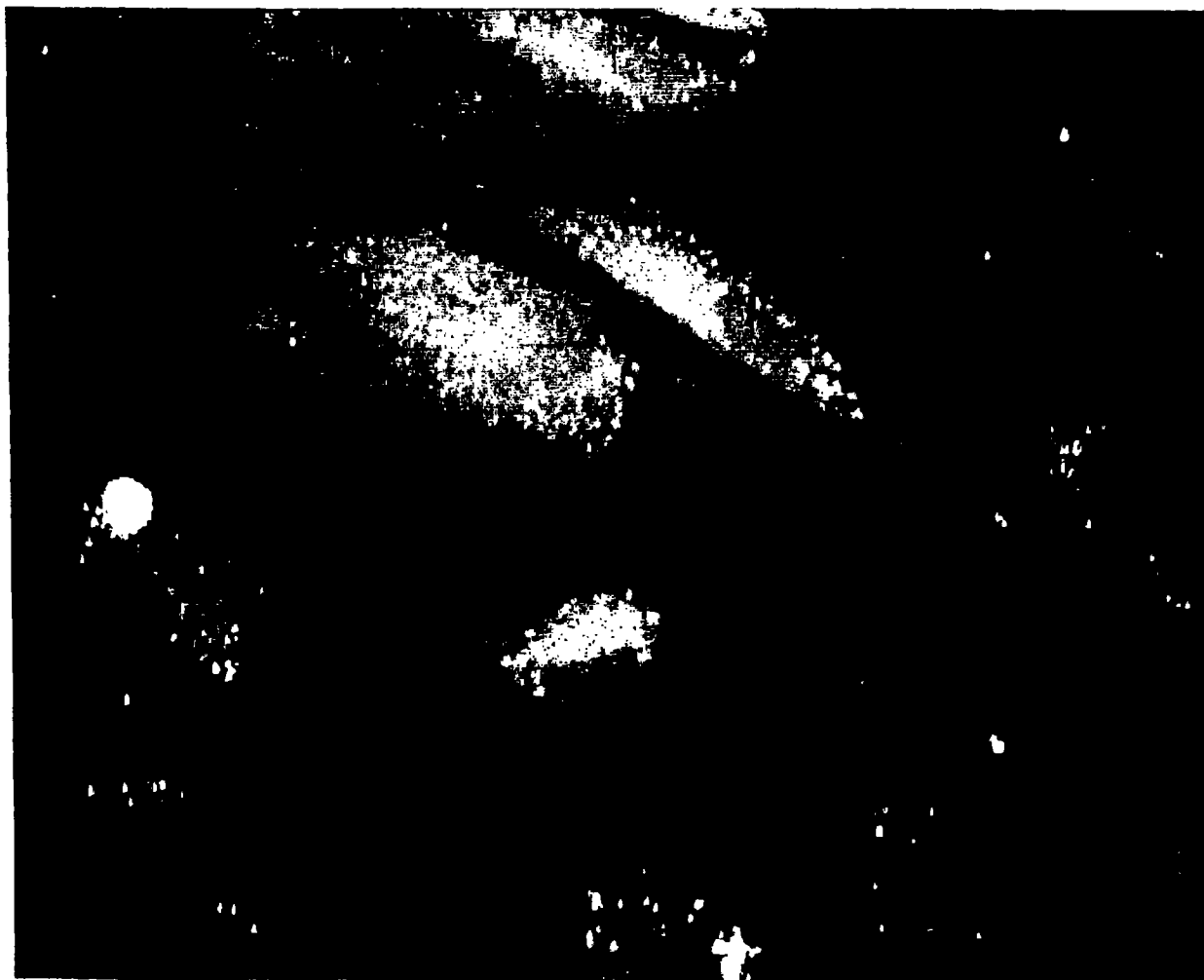


图 16(B)