

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580020341.4

[51] Int. Cl.

A61K 31/69 (2006.01)

C07F 5/05 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 5 月 23 日

[11] 公开号 CN 1968705A

[22] 申请日 2005.5.17

[21] 申请号 200580020341.4

[30] 优先权

[32] 2004.5.20 [33] US [31] 10/848,741

[86] 国际申请 PCT/US2005/017358 2005.5.17

[87] 国际公布 WO2006/088476 英 2006.8.24

[85] 进入国家阶段日期 2006.12.20

[71] 申请人 布鲁克哈文科学协会

地址 美国纽约州

[72] 发明人 吴海涛 米希科·缪拉

[74] 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限责任
公司

代理人 章社杲

权利要求书 5 页 说明书 33 页

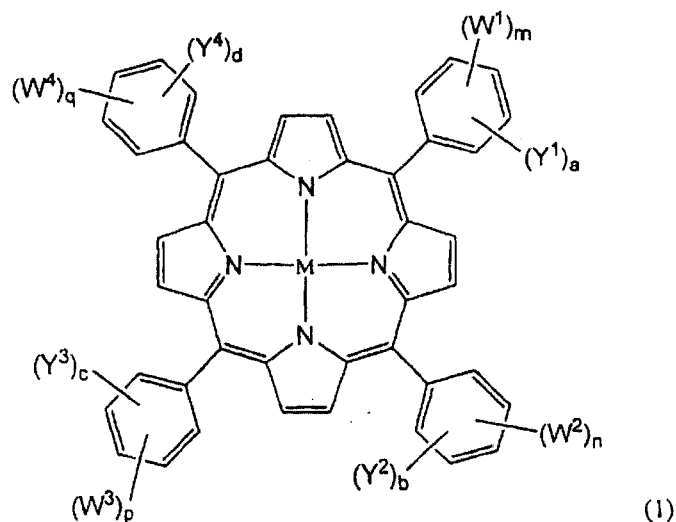
[54] 发明名称

碳硼烷基卟啉及其应用

[57] 摘要

本发明涉及低毒性的含硼化合物及其在肿瘤的治疗、观察和诊断中的使用方法。更具体地说,本发明涉及到低毒性含碳硼烷 5, 10, 15, 20 - 四苯基卟啉化合物, 特别是其在硼中子俘获治疗 (BNCT) 和光动力疗法 (PDT) 用于治疗大脑、头部和颈部及其周围组织中的肿瘤时的应用方法。本发明还涉及这些含硼四苯基卟啉化合物在肿瘤成像和/或治疗方法如 MRI、SPECT 或 PET 中的应用。

1. 一种化合物，其化学式为



其中：

Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 独立地位于苯环上的邻位、间位、或对位，并且独立地为氢、烷基、环烷基、芳基、烷基芳基、芳基烷基、杂芳基，或者用 1 至 4 个亲水基团取代的烷基、环烷基、芳基、烷基芳基、芳基烷基、或杂芳基基团，其中所述亲水基团选自羟基、烷氧基、 $-C(O)OR^5$ 、 $-SOR^6$ 、 $-SO_2R^6$ 、硝基、酰氨基、脲基、氨基甲酸基、 $-SR^7$ 、 $-NR^8R^9$ 或聚环氧烷；或者由以下化学式表示的取代基：



条件是 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 至少一个表示化学式 (2)；

X 为氧或硫；

R^1 、 R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 独立地选自氢和 C_1 至 C_4 的烷基；

Z 为碳硼烷簇合物, 其在笼状结构中包含至少两个碳原子和至少三个硼原子、或至少一个碳原子和至少五个硼原子;

r 为 0 或 1 至 20 的整数;

W^1 、 W^2 、 W^3 和 W^4 为独立地选自羟基、烷氧基、 $-C(O)OR^5$ 、 $-SOR^6$ 、 $-SO_2R^6$ 、硝基、酰氨基、脲基、氨基甲酰基、 $-SR^7$ 、 $-NR^8R^9$ 或聚环氧烷的亲水性基团;

a、b、c 和 d 独立地表示 1 至 4 的整数;

m、n、p 和 q 独立地是 0 或 1 至 4 的整数;

条件是 m、n、p 和 q 中的至少一个不是零, 并且总和 a + m、b + n、c + p、以及 d + q 各自独立地是 1 至 5 的整数; 以及

M 为: 两个氢离子; 一个单价金属离子; 两个单价金属离子; 二价金属离子; 三价金属离子; 四价金属离子; 五价金属离子; 六价金属离子; 放射性金属离子, 用于放射性同位素介导的放射治疗或者可以通过单光子发射计算机断层显像 (SPECT) 或正电子发射断层显像 (PET) 可成像; 通过磁共振成像 (MRI) 可检测到的顺磁性金属离子; 适用于硼中子俘获治疗 (BNCT) 或光动力疗法 (PDT) 的金属离子; 或者其组合; 其中衍生自一个单价金属离子的卟啉金属络合物是由抗衡阳离子来平衡电荷, 而衍生自三价、四价、五价、六价金属离子的卟啉金属络合物是由适当数目的抗衡阴离子、抗衡二价阴离子或抗衡三价阴离子来平衡电荷。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中, Z 选自碳硼烷- $C_2HB_9H_{10}$ 或 $-C_2HB_{10}H_{10}$, 其中 $-C_2HB_9H_{10}$ 为巢式邻碳硼烷、间碳硼烷、或对碳硼烷, 而 $-C_2HB_{10}H_{10}$ 为笼式邻碳硼烷、间碳硼烷、或对碳硼烷。

3. 根据权利要求1所述的化合物, 其中, M为钒、锰、铁、钆、铈、铬、铂、钴、镍、铜、锌、锆、铟、锡、钇、金、钡、钨、或钼。
4. 根据权利要求1所述的化合物, 其中, a、b、c、以及d为1, 而 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 、以及 Y^4 由 $-X-(CR^1R^2)_r-Z(2)$ 表示。
5. 根据权利要求4所述的化合物, 其中, Z选自碳硼烷- $C_2HB_9H_{10}$ 或 $-C_2HB_{10}H_{10}$, 其中 $-C_2HB_9H_{10}$ 为巢式邻碳硼烷、间碳硼烷、或对碳硼烷, 而 $-C_2HB_{10}H_{10}$ 为笼式邻碳硼烷、间碳硼烷、或对碳硼烷。
6. 根据权利要求5所述的化合物, 其中, M为钒、锰、铁、钆、铈、铬、铂、钴、镍、铜、锌、锆、铟、锡、钇、金、钡、钨、或钼。
7. 根据权利要求6所述的化合物, 其中, X为O; R^1 和 R^2 为H; r为1; 而m、n、p和q分别为1。
8. 根据权利要求7所述的化合物, 其中, Y^1 、 Y^2 、 Y^3 、以及 Y^4 处于苯环的对位, 而 W^1 、 W^2 、 W^3 、以及 W^4 独立地为羟基或烷氧基基团。
9. 根据权利要求8所述的化合物, 其中, W^1 、 W^2 、 W^3 、以及 W^4 为烷氧基基团。
10. 根据权利要求9所述的化合物, 其中, 所述烷氧基基团为甲氧基基团。
11. 根据权利要求10所述的化合物, 其中, 所述甲氧基基团处于所述苯环的间位。

12. 根据权利要求 8 所述的化合物, 其中, W^1 、 W^2 、 W^3 、以及 W^4 为羟基基团。
13. 根据权利要求 10 所述的化合物, 其中, 所述羟基基团是位于所述苯环的间位。
14. 对在主体中的肿瘤和周围组织进行成像的方法, 包括: 将包含根据权利要求 1 所述的化合物的组合物给药至所述主体; 以及对所述主体进行成像。
15. 对在主体中的肿瘤和周围组织进行成像的方法, 包括: 将包含根据权利要求 11 所述的化合物的组合物给药至所述主体; 以及对所述主体进行成像。
16. 对在主体中的肿瘤和周围组织进行成像的方法, 包括: 将包含根据权利要求 13 所述的化合物的组合物给药至所述主体; 以及对所述主体进行成像。
17. 根据权利要求 14、15、或 16 中任一项所述的方法, 其中, 所述成像是借助于选自磁共振成像法 (MRI)、单光子发射计算机断层显像法 (SPECT)、或正电子发射断层显像法 (PET) 的方法。
18. 用于主体的双模癌症治疗方法, 包括: 将包含根据权利要求 1 所述的化合物的组合物给药至所述主体; 以及照射所述主体。
19. 用于主体的双模癌症治疗方法, 包括: 将包含根据权利要求 11 所述的化合物的组合物给药至所述主体; 以及照射所述主体。

-
20. 用于主体的双模癌症治疗方法，包括：将包含根据权利要求 13 所述的化合物的组合物给药至所述主体；以及照射所述主体。
 21. 根据权利要求 18、19、或 20 中任一项所述的方法，其中，所述照射是借助于采用热中子或超热中子、或者红色激光的方法。
 22. 根据权利要求 18、19、或 20 中任一项所述的方法，其中，所述双模癌症治疗包括硼中子俘获治疗（BNCT）。
 23. 根据权利要求 18、19、或 20 中任一项所述的方法，其中，所述双模癌症治疗包括光动力疗法（PDT）。
 24. 根据权利要求 18、19、或 20 中任一项所述的方法，其中，所述双模癌症治疗使用单光子发射计算机断层显像（SPECT）或正电子发射断层显像（PET），其中，M 为 SPECT 和/或 PET 可成像放射性金属离子。
 25. 根据权利要求 18、19、或 20 中任一项所述的方法，其中，所述双模癌症治疗使用磁共振成像（MRI），其中，M 为顺磁性金属离子。
 26. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中，所述抗衡阴离子为包含负二价电荷的卟啉化合物。
 27. 根据权利要求 26 所述的化合物，其中，所述包含负二价电荷的卟啉化合物为权利要求 1 所述的化合物，但必须没有 M。

碳硼烷基卟啉及其应用

本发明在政府支持下作出，资助号 DE-AC02-98CH10886，由美国能源部给予。美国政府享有本发明的某些权利。

背景技术

在治疗癌症的放射方法和化学方法中，由于缺少肿瘤细胞的选择性靶向性治疗剂，这些方法的效率一直受到限制。为了尽量不损伤正常组织，当前肿瘤治疗方法因而已将放射和/或化学治疗剂量限制于远低于理想或临床足够的水平。因此，设计单独或作为部分治疗方法能够选择性地靶向和摧毁肿瘤细胞的化合物，仍是研究的热门领域。

由于已知卟啉对形成肿瘤组织具有亲合力，因此在使用卟啉作为治疗大脑、头部和颈部肿瘤组织及与之相关的肿瘤的输送试剂方面，一直有着大量的研究。通常而言，卟啉属于有色的、芳香族四吡咯化合物，其中部分可以在自然界的植物和动物体内找到，如分别在叶绿素和血红素中。

卟啉和其他四吡咯化合物具有相对较长的单线态寿命 (singlet lifetime)，已在采用光动力疗法 (PDT) 的恶性肿瘤治疗中得到应用。在 PDT 中，首先为患者注入光敏药物，通常是卟啉。光敏化的肿瘤细胞在强烈的红色激光束照射下很容易消除。PDT 中细胞损伤的生化机制据信是主要由单重态氧介导，光激发的卟啉分子将能量传递给氧分子时产生单重态氧。然而，PDT 受光敏化合物支配性限

制，其对肿瘤细胞的选择性仍不够，并且对正常组织的毒性也大于理想值。

一种有前途的新型癌症治疗法为硼中子俘获治疗 (BNCT)。BNCT 是一种双模癌症治疗 (双峰癌症治疗, bimodal cancer therapy) 方法, 其基于硼的稳定核素 (称为硼-10 或 ^{10}B) 在肿瘤中会选择性富集, 然后使用热能化中子照射肿瘤。热能化中子撞击硼-10, 促使核裂变 (衰变反应)。核裂变反应会引起以线性能量转移 (传能线密度, LET) 辐射的方式高度局部释放出大量能量, 相比低 LET 辐射如 X-射线, 其可以更有效地杀死细胞 (相对生物效应更高)。

在 BNCT 中, 含硼的化合物在以有效治疗量给予时, 必须为无毒或低毒性, 并且能够选择性地富集在癌组织内。例如, 在布鲁克海文国家实验室医疗部 (Brookhaven National Laboratory Medical Department) 已经使用对硼苯基丙氨酸 (BPA) 作为硼载体 (Chanana et al., *Neurosurgery*, 44, 1182-1192, 1999) 进行了恶性脑瘤的临床 BNCT。虽然 BPA 具有低化学毒性的优点, 但其在关键正常组织中的富集仍高于所希望的水平。特别是, 肿瘤与正常脑和肿瘤与血液中的硼浓度比约 3:1。如此低的特异性限制了 BPA 在肿瘤中的最大剂量, 因为正常组织的允许剂量将称为限制性因素。

一种特定类型的合成卟啉 (称为四苯基卟啉) 在设计用于 BNCT 的新型硼载体化合物时吸引了大量的注意。四苯基卟啉 (TPP) 包含四个苯基, 通常在卟啉环的 5、10、15、以及 20 位上。TPP 的优点之一是易于合成。

TPP 的溶解性可以通过取代基 (通常在苯基位置上) 来控制。那些包含磺酸盐或羧酸盐的 TPP 是水溶性的。然而, 一些包含碳硼烷的 TPP 具有高度的亲脂性, 因此给予动物之前需要使用大量的非

水性赋形剂。大量的赋形剂会减少卟啉的生物效应，如通过改变其在肿瘤细胞内微定位，以致可能使其结合于膜上而不是均匀地分布在细胞内。此外，使用亲水性更强的键如酰胺、酯或脲键，虽然其亲水性远大于碳-碳键，但已知在多种条件下会发生水解。此类水解在使用上述亲水键来将碳硼烷基基团连接于卟啉分子时尤其成为问题，因为水解会导致在抵达靶之前损失羰基基团。

因此，在不影响化学稳定性的前提下，一直在尝试降低 TPP 的亲脂性。例如，Vicente 等人的国际专利申请 No. WO 01/85736 描述了包含亲水基团的四苯基卟啉化合物的合成和应用。Vicente 提及的化合物的显著特征是碳硼烷基基团和苯基基团的连接只通过碳-碳键。尽管此碳-碳键不易水解或遭受其他化学进攻，但这样的键连具有很强的疏水性。

卟啉还具有可在其内部螯合金属离子的优点。此类螯合的卟啉可提供额外的功能，如能够作为可视化工具用于实时监测卟啉浓度和/或诊断试剂。例如，当与顺磁性金属离子螯合时，卟啉可用作磁共振成像（MRI）的造影剂，以及当与放射性金属离子螯合时，卟啉可用作单光子发射计算机断层显像（SPECT）或正电子发射断层显像（PET）的成像剂。

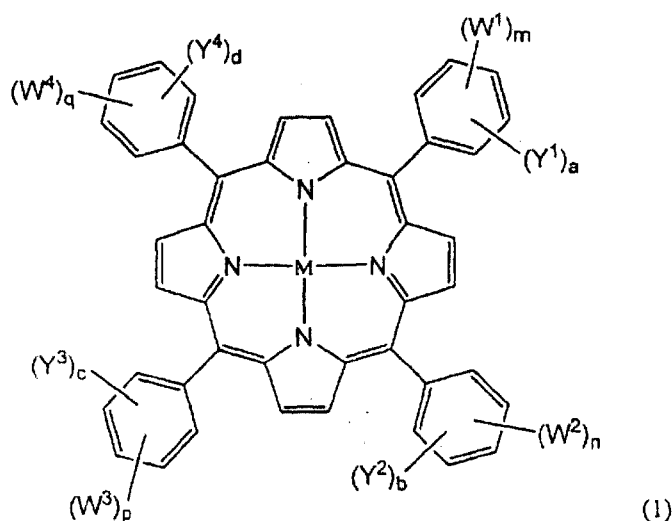
此外，通过在 BNCT 中使用螯合的含硼卟啉，在照射前和照射期间，可以准确快速地无创测定在照射治疗体积内在肿瘤及所有组织中和周围的硼浓度和分布。通过在已知含高浓度硼的组织区域减少超热中子的暴露，此类诊断信息有助于更快、更准确和更安全地进行 BNCT 治疗。短的照射时间可以消除患者头部需长时间并且通常并不舒适地置于反应仓内的不便和不适感觉。然而，使用加速器产生的中子预计将可能产生显著较低的通量，因此需要较长的照射时间，所以具有较长的肿瘤滞留时间的化合物就成为了关键。

相应地，就需要在肿瘤中滞留时间长，并在对正常组织损害最小的情况下选择性地靶向并摧毁肿瘤细胞的新型化合物、特别是含硼卟啉。此外，需要更有效的手段来治疗大脑、头部和颈部及其相关肿瘤，特别是更有效的 BNCT 治疗以及其中使用的递送硼的化合物。

发明内容

本发明涉及低毒性硼化合物及其在肿瘤的治疗、观察和诊断中的使用方法。更具体地，本发明涉及低毒性硼化 5, 10, 15, 20-四苯基卟啉化合物，以及特别是其在硼中子俘获治疗 (BNCT) 或光动力疗法 (PDT) 治疗大脑、头部和颈部及其周围组织的肿瘤时的应用方法。

特别是，本发明涉及如下分子式的含硼 5, 10, 15, 20-四苯基卟啉



其中：

Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 独立地是在苯环上的邻位、间位、或对位，并且独立地为氢、烷基、环烷基、芳基、烷基芳基、芳基烷基、杂

芳基，或者用 1 至 4 个亲水基团取代的烷基、环烷基、芳基、烷基芳基、芳基烷基、或杂芳基基团，其中所述亲水基团选自羟基、烷氧基、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^5$ 、 $-\text{SOR}^6$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^6$ 、硝基、酰氨基、脲基、氨基甲酸基（carbamato）、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{NR}^8\text{R}^9$ 、或聚环氧烷；或者由以下化学式表示的取代基：



条件是 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 中的至少一种为化学式 (2)；

X 为氧或硫；

R^1 、 R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 独立地选自氢以及 C_1 至 C_4 的烷基；

Z 为碳硼烷簇合物，其在笼状结构中包含至少两个碳原子和至少三个硼原子，或至少一个碳原子和至少五个硼原子；

r 为 0 或 1 至 20 的整数；

W^1 、 W^2 、 W^3 和 W^4 为亲水性基团，其独立地选自羟基、烷氧基、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^5$ 、 $-\text{SOR}^6$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^6$ 、硝基、酰氨基、脲基、氨基甲酸基、 $-\text{SR}^7$ 、 $-\text{NR}^8\text{R}^9$ 或聚环氧烷；

a、b、c 和 d 独立地是 1 至 4 的整数；

m、n、p 和 q 独立地是 0 或 1 至 4 的整数；

条件是至少 m、n、p 和 q 中的至少一个不是零，并且每个总和 $a+m$ 、 $b+n$ 、 $c+p$ 、和 $d+q$ 独立地是 1 至 5 的整数；以及

M 可以为：两个氢离子；一个单价金属离子；两个单价金属离子；二价金属离子；三价金属离子；四价金属离子；五价金属离子；六价金属离子；放射性金属离子，其可用于放射性同位素介导的放射治疗或通过单光子发射计算机断层显像（SPECT）或正电子发射断层显像（PET）可成像；可通过磁共振成像（MRI）检测的顺磁金属离子；适合于硼中子俘获治疗（BNCT）或光动力疗法（PDT）的金属离子；或者其组合；其中衍生自一个单价金属离子的卟啉金属络合物由抗衡阳离子（counter cation）来平衡电荷，衍生自三价、四价、五价、六价金属离子的卟啉金属络合物由适当数目的抗衡阴离子（counter anion）、抗衡二价阴离子、或抗衡三价阴离子来平衡电荷。

Z 优选选自碳硼烷- $\text{C}_2\text{HB}_9\text{H}_{10}$ 或 $\text{C}_2\text{HB}_{10}\text{H}_{10}$ ，其中 $\text{C}_2\text{HB}_9\text{H}_{10}$ 为巢式邻碳硼烷、间碳硼烷、或对碳硼烷，而 $\text{C}_2\text{HB}_{10}\text{H}_{10}$ 为笼式邻碳硼烷、间碳硼烷、或对碳硼烷。

M 优选为钒（V）、锰（Mn）、铁（Fe）、钌（Ru）、铼（Tc）、铬（Cr）、铂（Pt）、钴（Co）、镍（Ni）、铜（Cu）、锌（Zn）、锗（Ge）、镧（In）、锡（Sn）、钇（Y）、金（Au）、钡（Ba）、钨（W）、或钆（Gd）。在更优选的具体实施方式中，M 为铜（Cu）或镍（Ni）。

在优选的具体实施方式中，a、b、c 和 d 为 1，而 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 由 $-\text{X}-(\text{CR}^1\text{R}^2)_r-\text{Z}_{(2)}$ 表示。

在进一步优选的具体实施方式中，X 为 O； R^1 和 R^2 为 H；r 为 1；以及 m、n、p 和 q 分别为 1。

在一种具体实施方式中， Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 处于苯环的对位，而 W^1 、 W^2 、 W^3 和 W^4 独立地为羟基或烷氧基基团。更优选地，羟基或烷氧基基团处于苯环的间位。

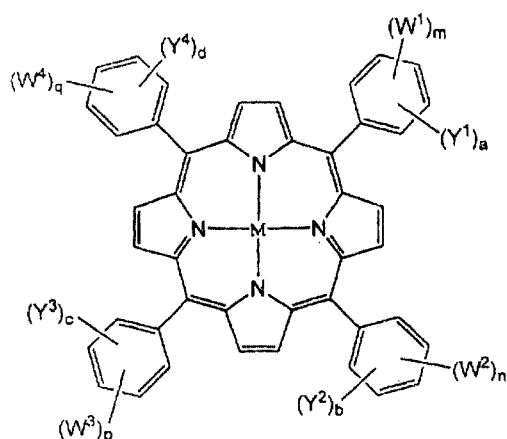
优选地, W^1 、 W^2 、 W^3 和 W^4 为甲氧基。更优选地, 甲氧基基团处于苯环的间位。

在另一种具体实施方式中, Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 由 $-X-(CR^1R^2)_r-Z(2)$ 表示, 并处于苯环的对位, X 为 O ; R^1 和 R^2 为 H ; r 为 1; m 、 n 、 p 和 q 均为 1; 以及 W^1 、 W^2 、 W^3 和 W^4 为羟基。在又一种具体实施方式中, 当卟啉化合物需要抗衡二价阴离子时, 抗衡二价阴离子为包含二价负电荷的卟啉化合物。包含二价负电荷的卟啉化合物可以为本发明的含碳硼烷卟啉化合物, 条件是没有 M 。

本发明还包括使用 SPECT、PET 或 MRI 肿瘤成像方法以及双模癌症治疗方法如 BNCT 和 PDT, 其需要给予主体包含上述一种或多种卟啉化合物的组合物。在优选的具体实施方式中, 组合物主要为上述的一种或多种卟啉化合物。

具体实施方式

本发明涉及如下化学式的含硼 5, 10, 15, 20-四苯基卟啉



(1).

Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 独立地处于苯环的邻位、间位或对位上。 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 和 Y^4 独立地为氢、烷基、环烷基、芳基、烷基芳基、芳基烷基、杂芳基、或以 $-X-(CR^1R^2)_r-Z(2)$ 表示的取代基。

当 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 或 Y^4 中的任何一个为烷基时，该烷基是包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链烷基基团，并且可选地包括达三个双键或三键。烷基基团的一些实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、丙烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、3-丁炔基、2-甲基-2-丁烯基、正戊基、十二烷基、十六烷基、十八烷基和二十烷基。

烷基基团可以是未取代的或用 1 至 4 个亲水基团取代的。适合的亲水基团的一些实例包括羟基、烷氧基、 $-C(O)OR^5$ 、 $-SOR^6$ 、 $-SO_2R^6$ 、硝基、酰氨基、脲基、氨基甲酸基、 $-SR^7$ 、 $-NR^8R^9$ 、以及聚环氧烷。 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 独立地选自氢和如上定义的烷基，只是用于 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 的烷基基团包含 1 至 4 个碳原子。

烷基基团的碳原子还可以被 1 至 4 个杂原子取代。在此说明书中，杂原子为 O、N 或 S。杂原子不能相邻，并且由至少一个碳原子隔开。

当 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 或 Y^4 中的任何一个为环烷基时，环烷基环为四元环烷基环、五元环烷基环、六元环烷基环或七元环烷基环。环可以为饱和的，或可以包含 1 至 4 个不饱和键（即，双键或三键）。饱和环烷基环的一些实例包括环丁烷环、环戊烷环、环己烷环和环庚烷环。不饱和环烷基环的一些实例包括环丁烯环、环戊烯环、环己烯环和 1,3-环庚二烯环。

环烷基环可以可选地用 1 至 4 个 O、N 或 S 杂原子取代。用杂原子取代的环烷基环的一些实例包括吡咯烷、哌啶、哌嗪、四氢呋

喃、呋喃、噻吩、1,3-氧氮杂环戊烷、咪唑和吡咯环。环烷基环可以可选地被如上文定义的烷基、或者同样如上文定义的1至4个亲水基团所取代。

环烷基环可以稠合到1至3个额外的四元环烷基环、五元环烷基环、六元环烷基环、七元环烷基环或苯环上。稠合环烷基环的一些实例是双环[3.3.0]辛烷、双环[4.3.0]壬-3-烯、苯并[9,10]菲和1,2,3,4-四氢化萘环。

当 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 或 Y^4 中的任何一个为芳基时，芳基为五元芳香环、六元芳香环或七元芳香环，优选为苯环。芳基环可以可选地被如以上定义的烷基取代，以得到烷基芳基或芳基烷基基团。芳基、烷基芳基和芳基烷基基团可以被如上文定义的1至4个亲水基团取代。

芳基环可以可选地被1至4个O、N或S杂原子取代，其产生杂芳基环。杂芳基环的一些实例包括噻吩、嘧啶、吡啶、噁唑、噻唑、噁嗪和吡嗪环。杂芳基环可以被如上文定义的1至4个亲水基团取代。

芳基环或杂芳基环还可以稠合到1至3个其它五元、六元、或七元芳基环或杂芳基环上。稠合芳基环和杂芳基环的一些实例包括萘、蒽、菲、苯并[9,10]菲、1,2-苯并菲、二氢吡啶、喹啉和四氮杂萘（蝶啶）环。

Y^1 、 Y^2 、 Y^3 或 Y^4 中至少有一个由化学式 $-X-(CR^1R^2)_r-Z$ (2)表示。在化学式(2)中，X为氧或硫，而 R^1 和 R^2 独立地选自氢和如上定义的烷基基团，只是用于 R^1 和 R^2 的烷基基团包含1至4个碳原子。下标r为0或1至20的整数。

Z为碳硼烷簇合物，其笼状结构中包括至少两个碳原子和至少三个硼原子、或至少一个碳原子和至少五个硼原子。碳硼烷簇合物的一些实例包括规则多面体碳硼烷簇合物（也称为笼式结构），以及多面体簇合物的离子化片段（ionized fragment）（也称为巢式结构）。本发明的优选碳硼烷的一些实例包括 $-C_2HB_9H_{10}$ 或 $-C_2HB_{10}H_{10}$ ，其中 $-C_2HB_9H_{10}$ 为巢式邻碳硼烷、间碳硼烷或对碳硼烷，而 $-C_2HB_{10}H_{10}$ 为笼式邻碳硼烷、间碳硼烷或对碳硼烷。

W^1 、 W^2 、 W^3 和 W^4 为亲水性基团，其独立地选自羟基、烷氧基、 $-C(O)OR^5$ 、 $-SOR^6$ 、 $-SO_2R^6$ 、硝基、酰氨基、脲基、氨基甲酸基、 $-SR^7$ 、 $-NR^8R^9$ 或聚环氧烷，其中 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 如前文定义。

在此说明书中，烷氧基基团包含如上文定义的烷基部分。烷氧基基团的一些实例包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基和十二烷氧基。

聚环氧烷是根据以下化学式加以定义： $-(CH_2)_d-O-[(CH_2)_e-O]_x-[(CH_2)_f-O]_y-(CH_2)_g-OR'$ ，其中，独立地，d为0、或1至10的整数；e为0、或1至10的整数；f为1至10；g为1至10；x和y各自独立地为1或0；以及R'为H或如上文定义的烷基基团，条件是e为0时，x为0；f为0时，y为0；e不是0时，x为1；以及f不是0时，y为1。

本发明的优选聚环氧烷为聚环氧乙烷。聚环氧乙烷是根据以下化学式加以定义： $-(CH_2)_d-O-[(CH_2)_e-O]_x-[(CH_2)_f-O]_y-(CH_2)_g-OR'$ ，其中，独立地，d为0或2；e为0或2；f为0或2；g为2；x和y各自独立地为1或0；以及R'为H或乙基基团，条件是e为0时，x为0；f为0时，y为0；e不是0时，x为1；以及f不是0时，y为1。

下标 m 、 n 、 p 和 q 独立地为 0 或 1 至 4 的整数，条件是 m 、 n 、 p 和 q 中至少有一个不为零；以及下标 a 、 b 、 c 和 d 独立地是 1 至 4 的整数；条件是 m 、 n 、 p 和 q 中至少有一个不为零，并且 $a + m$ 、 $b + n$ 、 $c + p$ 、以及 $d + q$ 之和各自独立地是 1 至 5 的整数。

在化学式 (1) 中， M 可以为两个氢离子、一个单价金属离子或两个单价金属离子。合适的单价金属离子的一些实例包括 Li^{+1} 、 Na^{+1} 、 K^{+1} 、 Cu^{+1} 、 Ag^{+1} 、 Au^{+1} 和 Tl^{+1} 。当 M 为一个单价金属离子时，得到的卟啉金属络合阴离子是通过抗衡阳离子来平衡电荷。抗衡阳离子的一些实例包括任何前述的单价金属离子、以及铵和磷阳离子，如四甲基铵、四丁基铵和四苯基铵。抗衡阳离子可以以某种形式与卟啉金属络合物键合或缔合。

M 还可以为二价金属离子。适合的二价金属离子的一些实例包括 V^{+2} 、 Mn^{+2} 、 Fe^{+2} 、 Ru^{+2} 、 Co^{+2} 、 Ni^{+2} 、 Cu^{+2} 、 Pd^{+2} 、 Pt^{+2} 、 Zn^{+2} 、 Ca^{+2} 、 Mg^{+2} 、 Sr^{+2} 和 Ba^{+2} 。

可替换地， M 可以为三价、四价、五价或六价金属离子。适合的三价金属离子的一些实例包括 Gd^{+3} 、 Y^{+3} 、 In^{+3} 、 Cr^{+3} 、 Ga^{+3} 、 Al^{+3} 、 Eu^{+3} 和 Dy^{+3} 。适合的四价金属离子的一些实例包括 Tc^{+4} 、 Ge^{+4} 、 Sn^{+4} 和 Pt^{+4} 。适合的五价金属离子的实例是 Tc^{+5} 。适合的六价金属离子的一些实例包括 W^{+6} 、 Tc^{+6} 和 Mo^{+6} 。得到的卟啉金属络合阳离子是由适当数目的抗衡阴离子、抗衡二价阴离子或抗衡三价阴离子来平衡电荷。例如，由三价金属离子衍生得到的卟啉金属络合阳离子可以由一个抗衡阴离子来平衡电荷，由四价金属离子衍生出的络合物可以例如由一个抗衡二价阴离子或两个抗衡阴离子来平衡电荷，等等。

适合的抗衡阴离子的一些实例包括氯化物、高氯酸盐、硫酸盐、硝酸盐和四氟硼酸盐。适合的抗衡二价阴离子的一些实例包括氧化

物、硫化物或具有负二价电荷的卟啉化合物。具有负二价电荷的卟啉化合物可以为本发明的卟啉化合物，但须没有 M。适合的抗衡三价阴离子的实例包括磷酸盐。

抗衡阴离子、二价阴离子、或三价阴离子可以以某种形式键合或缔合本发明的含碳硼烷的卟啉化合物。含碳硼烷的卟啉化合物也可以键合或缔合中性分子，如溶剂化分子，例如水、乙腈和甲醇等等。

此外，M 可以是通过使用单光子发射计算机断层显像 (SPECT) 或正电子发射断层显像 (PET) 可成像的放射性金属离子。适合于 SPECT 的放射性金属的一些实例是 ^{67}Cu 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In ，而用于 PET 的放射性金属的一些实例包括 ^{64}Cu 、 ^{55}Co 。M 也可以是作为用于治疗的放射性药物的放射性金属。此类治疗适合的放射性金属的一些实例包括 ^{90}Y 、 ^{188}Re 、 ^{67}Cu 。

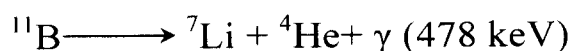
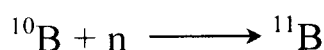
M 也可可为能被磁共振成像 (MRI) 检测到的顺磁性金属离子。此类金属的一些实例包括 Mn、Fe、Co 和 Gd。

此外，M 还可以为适合于硼中子俘获治疗 (BNCT) 或光动力学疗法 (PDT) 的金属离子，或者其组合。适合于 BNCT 的金属离子包括那些到现在为止所描述的金属离子，但那些光活性的金属离子如 Zn 和 Sn 除外。此类光活性金属，尤其是那些具有长寿命三线态的光活性金属，优选用于 PDT。由于 BNCT 的剂量大于 PDT 的剂量 100 至 1000 倍，如果在 BNCT 中使用此类光活性金属，则会在皮肤中出现明显的光活性金属富集现象。此类光活性金属富集可能会导致生物损害。

本发明还涉及治疗肿瘤的方法。在优选的具体实施方式中，治疗恶性肿瘤、特别是脑瘤的方法，是通过 BNCT 进行。BNCT 是一

种双模癌症治疗方法，其基于硼的稳定核素（称为硼-10 或 ^{10}B ）在肿瘤中的选择性富集，然后使用热能化中子照射肿瘤。热能化中子撞击硼-10，促使核裂变反应。核裂变会引起以高线性能量转移（LET）辐射的方式高度局部释放出大量能量，其比低 LET 辐射如 X-射线可以更有效地杀死细胞。

硼-10 在俘获热中子时经受下列核反应：



在此核反应中，硼-10 核俘获了中子而形成亚稳核素 ^{11}B ，其可以自发并几乎立即裂变为 ^4He 和 ^7Li 粒子，其一起具有 2.34MeV 的平均总动能。这两种离子化粒子在软组织中以相反方向分别行程约 $9\mu\text{m}$ 和 $5\mu\text{m}$ ($7 \pm 2\mu\text{m}$)。

^4He 粒子和 ^7Li 粒子的行程与许多肿瘤细胞和肿瘤相关细胞的直径相当。因此，BNCT 功效依赖于在肿瘤内部生成高度局部、高 LET 离子化辐射。因此靶肿瘤可以接收大剂量的辐射，而不损害周边的正常组织。

在脑瘤病例中，在给予硼化合物后，使用超热（0.5eV-10KeV）中子入射光束或场，对患者头部的脑瘤全部区域进行照射。随着中子穿透更深入头部，中子会逐渐变得热能化（平均能量约 0.04eV）。随着中子变得热能化，其可以更容易地由富集在肿瘤细胞和 / 或肿瘤支持组织中的硼-10 俘获，因为俘获截面与中子速度成反比。

遵循本发明的方法在恶性脑瘤 BNCT 中，患者首先被注入化学式（1）所示的含碳硼烷卟啉，其高度富集硼-10。含碳硼烷卟啉随后优先富集在脑瘤中并在有效照射体积以内，其对于脑瘤来说可以是脑部的主要部分（substantial part）。例如，位于大脑的大部分或

全部一个半球的肿瘤以及位于大脑的部分或全部对侧半球的肿瘤均可以富集硼化卟啉。

随后使用热能化中子照射（初次照射）肿瘤区域，其部分被富集在肿瘤中的硼-10俘获。只要肿瘤组织中硼-10的浓度大于30 $\mu\text{g/g}$ ，慢速移动的热中子被硼-10核素俘获的相对概率，相比被哺乳动物组织内正常存在的所有其他核素俘获的概率要高。

由于在肿瘤内和附近的硼-10核只有极少部分在俘获中子后会立即进行核反应，所以 BNCT 需要在靶组织内富集高浓度的硼-10以取得临床疗效。因此，为了最大化靶组织中的硼-10浓度，碳硼烷簇合物中大量富集硼-10。特别是，碳硼烷簇合物中的硼要富集到至少95%原子百分比的硼-10。

本发明优于现有癌症治疗技术的一个优点是，和其它已知含硼化合物相比，本发明的含硼卟啉以更优选的比率选择性地富集在肿瘤中。

此外，本发明的卟啉化合物已在活体内经过测试，在理论有效治疗剂量下无毒性。本发明的含碳硼烷卟啉的高选择性和低毒性使得可以在照射时以在对正常组织和组织功能损害最小的情况下选择性地摧毁肿瘤组织。

本发明的含碳硼烷卟啉的另一个优点是通过苯环上的 W^1 、 W^2 、 W^3 和 W^4 极性基团增强了极性。此类基团的极性越大，则四苯基卟啉化合物的亲脂性越低，这实现了在给药时减少乳化共溶剂的用量。因此，可以改善在肿瘤细胞内的微定位，从而得到更好的相对生物效果。

此外,本发明的含碳硼烷卟啉中的醚键比碳-碳键具有更大的极性,从而进一步降低亲脂性。与此同时,醚键具有与碳-碳键几乎相同的对水解和其他形式的化学攻击的抗性。

更为显著的是,本发明的含碳硼烷卟啉可以包含超过8个碳硼烷簇合物(80个硼原子)。事实上,本发明包括含16个碳硼烷簇合物的含碳硼烷卟啉分子,其高于目前已知的任何含碳硼烷卟啉。由于这种高含量的含碳硼烷卟啉分子可以向靶传递更多的硼,即更有效,它们使得相比现有技术中卟啉化合物的用量,所要求的摩尔剂量更低。含碳硼烷卟啉较低的摩尔剂量可以使在显著增加靶中硼含量的同时保持血液中卟啉含量远低于毒性阈值。

为了在肿瘤中富集必需量的本发明的化合物,通常给予患者系统地注射或注入在药用载体中的、每千克体重约10至50毫克硼-10的剂量。载体可以包括商购的溶剂如聚氧乙烯蓖麻油(Cremophor EL)、丙二醇、吐温80(Tween 80)、聚乙二醇或脂质体。可一次或多次剂量给予化合物,最后一个剂量是在进行超热中子照射前约1小时和一周之间给予。

中子照射的时间取决于血液中卟啉的浓度,其随时间减少的速度快于在肿瘤中卟啉浓度减少的速度。但是,含碳硼烷卟啉的给药时间取决于多种考虑因素,临床BNCT领域的技术人员均熟知这些因素,其包括化合物的药物代谢动力学性能(例如,肿瘤吸收化合物的速度和进入肿瘤脉管系统的速度)以及在肿瘤和其他吸收该化合物的组织中化合物的排泄和/或代谢速度。

在另一个优选的具体实施方式中,本发明治疗恶性肿瘤的方法是通过PDT进行。PDT是一种双模癌症治疗方法,其基于卟啉在肿瘤中的选择性富集,然后使用红光激光照射肿瘤。使用光激活后,卟啉的电子从单线态(单重态)基态激发到单线态激发态。随后电

子可以返回单线态基态，同时发出产生荧光的光线，或通过系间窜越改变其自旋成为三线态（三重态）。在三线态衰变回基态单线态时，它可以将能量传递给基态三线态的双氧，其形成高活性的单线态氧。最容易与单线态氧发生反应的生物分子包括不饱和脂类和 α 氨基酸残基，两者均为生物膜的主要成分。超过特定的可逆或可修复阈值后，对膜的损伤，特别是对内皮细胞膜的损伤，可以导致形成局部血管血栓并抑制血液循环。

本发明中使用 PDT 方法时，首先给患者注射或注入分子式(1)的光敏含碳硼烷卟啉。然后使用光纤探头来照亮肿瘤组织。对于恶性肿瘤，优选 PDG 光敏剂在用于最大化穿透肿瘤深度的足够长的波长上具有光学吸收峰。

在优选具体实施方式中，恶性肿瘤的治疗性治疗是通过使用 SPECT 或 PET 来加强。在 SPECT 中，首先为患者注入或注射分子式(1)的化合物，其中 M 为发射 γ 射线的放射性金属离子。然后无创扫描患者的头部，并对放射性核素浓度、从而间接地对硼的平均浓度加以成像，其中每个像素或体素表示大脑或大脑肿瘤组织。以此可以在大脑的每个图像上描绘表示硼-10 相同浓度区域的等高线。

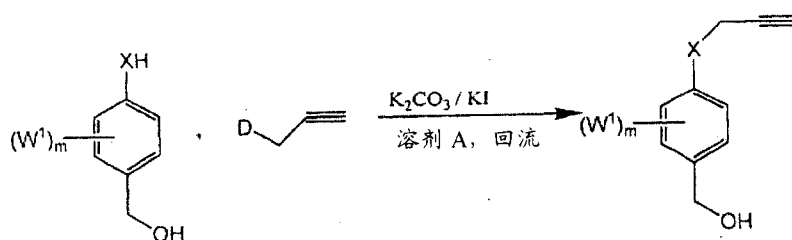
大脑的 SPECT 比常规的放射造影术或计算机断层显像对示踪同位素的灵敏度至少要高一个数量级。此外，与来自常规放射造影术的结果不同，SPECT 得到的结果可加以分析以提供大脑图像的限定容量或体素的定量信息，以及与 BNCT 治疗计划和实施有关的硼浓度的定量信息。SPECT 扫描可以指示患者体内肿瘤的存在及其在大脑或身体别处的位置。SPECT 扫描无创、快速并方便。

然而,正电子发射PET可成像的放射性同位素Cu-64,比SPECT中使用的Cu-67更容易获得。由于Cu-64具有大得多的可获性,所以我们在临床前PET研究中使用了Cu-64标记的卟啉。

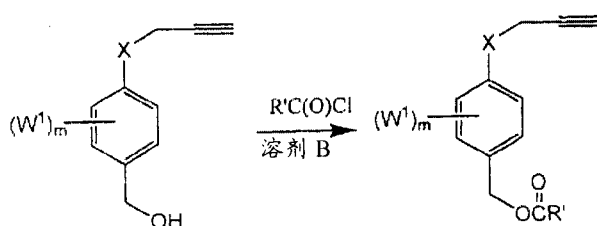
在另一优选具体实施方式中,恶性肿瘤的治疗是通过使用MRI来加强。在MRI中,首先为患者注入或注射包括与合适的顺磁性金属离子螯合的化学式为(1)含碳硼烷卟啉的溶液。对于大脑肿瘤,随后扫描患者的头部,并对大脑中的顺磁性金属离子浓度、由此对硼浓度进行成像和定量。使用本发明化合物的MRI,使得在注入之前、期间和之后,当硼化合物重新分布在血液、肿瘤和健康组织中时,可以在BNCT中快速提高中子照射的靶向和治疗计划性。

本发明的含碳硼烷卟啉是通过一系列独立的步骤来合成。下面首先提供的是用于制备本发明的优选的含碳硼烷卟啉所需要的合成步骤的概要,其中 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 、以及 Y^4 由化学式—X—(CR¹R²)_r—Z₍₂₎来表示。该合成概要提供了合成本发明化合物的一般方法,因此包括若干不同的特定路径以实现任何一种合成。例如,可使用不同的原材料来合成相同的产物,并且每种原材料可能需要不同的反应条件如温度、反应时间、溶剂和萃取及纯化步骤。

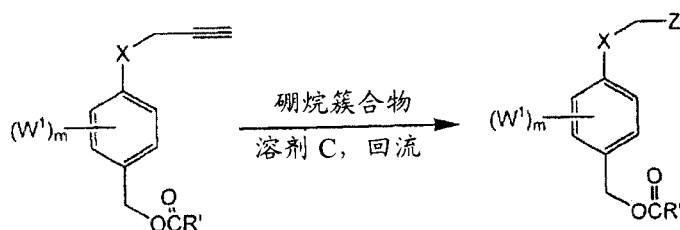
这些特定实施例描述了用于合成本发明化合物的优选方法。本发明的范围不以任何方式受本文所提供实施例的限制。例如,不对称的含碳硼烷四苯基卟啉化合物可以通过使用不同的苯甲醛或二苯甲醛原料的混合物,并使用如反应图解6所示的类似合成反应来合成。

反应图解 1

其中 X 为 O 或 S, D 为卤素, 溶剂 A 优选为极性非质子溶剂如丙酮; W^1 为羟基、烷氧基、 $-C(O)OR^5$ 、 $-SOR^6$ 、 $-SO_2R^6$ 、硝基、酰氨基、脲基、氨基甲酸基、 $-SR^7$ 、 $-NR^8R^9$ 、聚环氧烷, 其中 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 独立地选自氢和 C_1 至 C_4 烷基; 以及 m 为 0 或 1 至 4 的整数。

反应图解 2

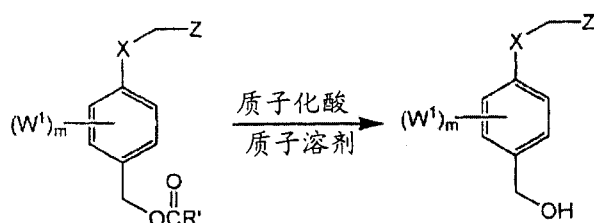
其中 X、 W^1 和 m 是如上述所定义的; 溶剂 B 优选为质子清除剂如吡啶; 而 R 为烷基、环烷基或芳基基团。

反应图解 3

其中 X、 W^1 、m 和 R' 是如前述所定义的, 而溶剂 C 优选为沸点较高的碳氢化合物如甲苯。硼烷簇合物是在笼状结构中包含至少

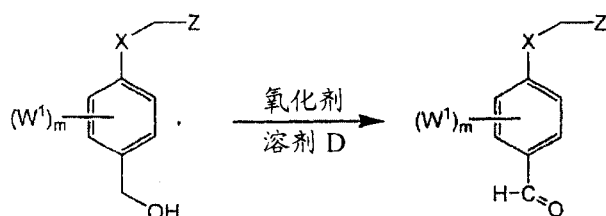
三个硼原子、或者至少一个碳原子和至少五个硼原子的任何簇合物。例如，硼烷簇合物可以为癸硼烷 $B_{10}H_{14}$ 。硼烷簇合物与原料炔丙基的三键反应以形成碳硼烷基产物。因此，在癸硼烷的情况下，Z 表示碳硼烷- $C_2HB_{10}H_{10}$ 。Z 表示在笼状结构中包含至少两个碳原子和至少三个硼原子、或者至少一个碳原子和至少五个硼原子的任何碳硼烷簇合物。例如，碳硼烷簇合物可以为 $-C_2HB_9H_{10}$ 或 $-C_2HB_{10}H_{10}$ ，其中 $-C_2HB_9H_{10}$ 为巢式邻碳硼烷、间碳硼烷或对碳硼烷，而 $-C_2HB_{10}H_{10}$ 为笼式邻碳硼烷、间碳硼烷或对碳硼烷。

反应图解 4



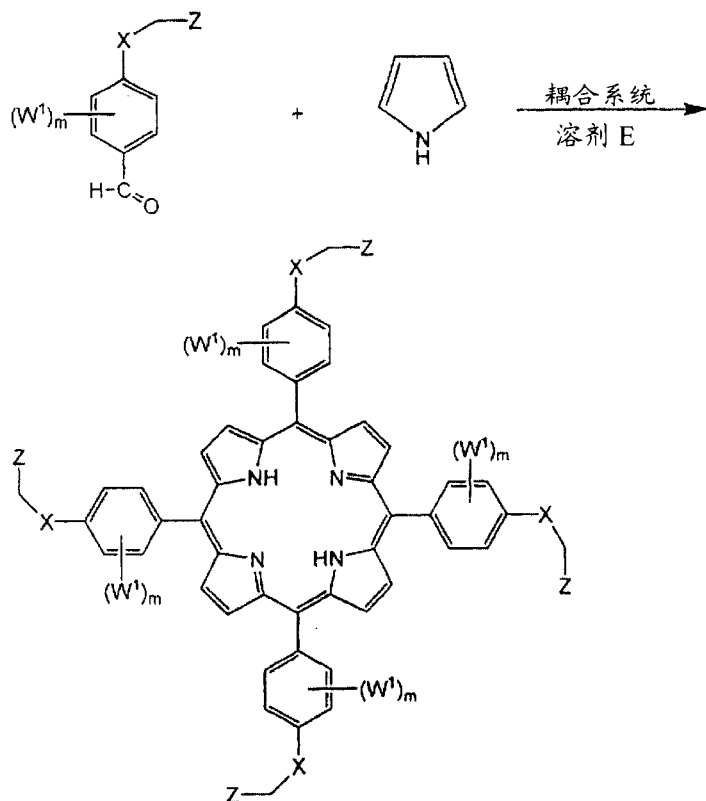
其中 X、 W^1 、m、 R' 和 Z 是如前文所定义的。质子化酸可以是任何酸、酸混合物或可以将酯转化成醇产物的系列酸性添加剂。优选地，质子化酸为浓 HCl。质子溶剂，例如，可以为醇类如甲醇。

反应图解 5



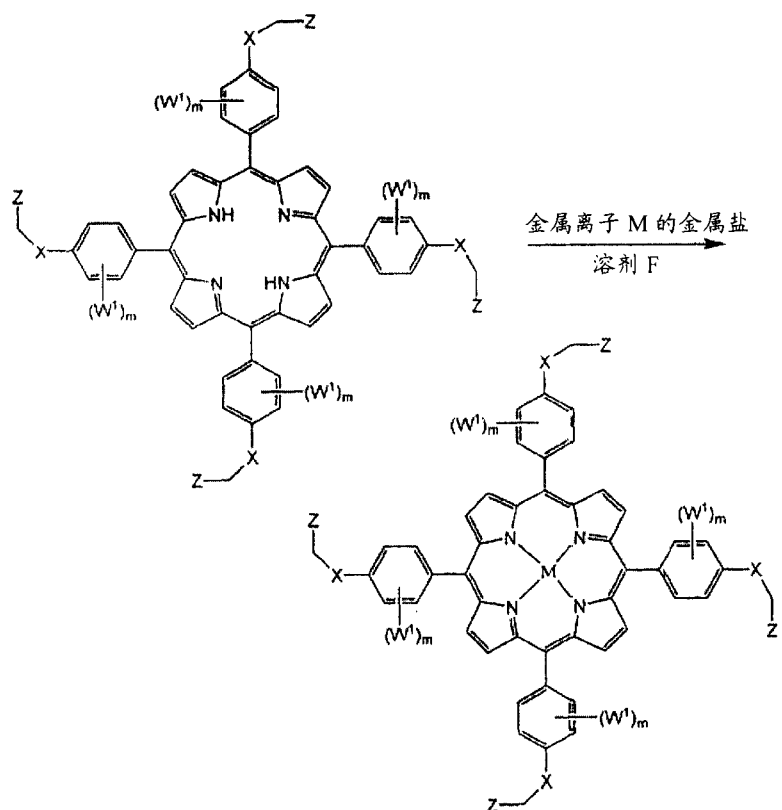
其中 X、 W^1 、m 和 Z 是如前文所定义的，溶剂 D 为极性非质子溶剂，优选为二氯甲烷，而氧化剂为任何能选择性地将伯醇转化为醛的氧化化合物，优选为 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌 (DDQ) 或氯铬酸吡啶盐 (PCC)。

反应图解 6



其中 X、 W^1 、m、和 Z 是如前文所定义的。该偶合系统优选包含路易斯酸（电子受体）如三氟化硼（ BF_3 ）或三氟乙酸（TFA），以通过吡咯和苯甲醛形成中间物卟啉原，以及氧化剂如 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌（DDQ）以将卟啉原氧化成卟啉。溶液 E 为非极性非质子溶剂，优选为二氯甲烷。

反应图解 7



其中 X、W¹、m、和 Z 是如前文所定义的。在优选具体实施方式中，M 选自由钒 (V)、锰 (Mn)、铁 (Fe)、钌 (Ru)、锝 (Tc)、铬 (Cr)、铂 (Pt)、钴 (Co)、镍 (Ni)、铜 (Cu)、锌 (Zn)、锗 (Ge)、镧 (In)、锡 (Sn)、钇 (Y)、金 (Au)、钡 (Ba)、钨 (W) 和钆 (Gd) 组成的组。在更优选的具体实施方式中，M 为铜 (Cu) 或镍 (Ni)。使用的金属盐包含与卟啉螯合的金属离子 M。例如，对于需要铜作为 M 的化合物，醋酸铜即 Cu(OAc)₂ · H₂O 可用作金属盐。溶剂 F 为任意可至少部分溶解卟啉和金属盐的溶剂或溶剂混合物，并且其不能干扰金属与卟啉的结合。

实施例

下文所述的实施例目的仅用于说明和描述本发明当前的最佳模式。本发明的范围不以任何方式受此处所述实施例的限制。

实施例 1

3-甲氧基-4-炔丙氧基苯甲醇 (I) 的合成

将细微粉体 10.4 克 (0.075 摩尔) K_2CO_3 和 9.1 克 (0.060 摩尔) KI 置入 300 mL 装有磁性搅拌棒的圆底烧瓶中, 然后加入 150mL 丙酮。随后加入 7.71 克 (0.050 摩尔) 3-甲氧基-4-羟基苯甲醇和 4.10 克 (0.055 摩尔) 炔丙基氯, 搅拌并回流混合物约 48 小时。薄层色谱法的结果显示原料 (3-甲氧基-4-羟基苯甲醇) 已经消失, 以及出现新的化合物。然后过滤溶液。产生的滤液中的丙酮通过旋转蒸发移除, 留下油性残余物。将油性残余物溶解在 50mL 二氯甲烷中并用水洗涤 (30mL $\times$ 2), 然后用无水碳酸钾干燥。过滤有机相之后, 通过旋转蒸发移除溶剂, 留下液相产物。获得 9 克产物, 其对应于 94% 的产率。

产物具有以下质子核磁共振 (1H NMR) 谱, 单位 ppm (在 $CDCl_3$ 溶剂中): 2.49 (三重峰, 1H, 炔基); 2.57 (单峰, 1H, 羟基); 3.81 (单峰, 3H, 甲基); 4.55 (双峰, 2H, 亚甲基); 6.83 (多重峰, 1H, 芳基); 6.89 (多重峰, 1H, 芳基); 6.94 (多重峰, 1H, 芳基)。产物具有以下质子去偶碳-13 核磁共振 (^{13}C NMR) 谱, 单位 ppm (在 $CDCl_3$ 溶剂中): 55.8 (亚甲基); 56.8 (甲基); 64.8 (亚甲基); 75.8 (炔基); 78.5 (炔基); 110.2 (芳基); 114.3 (芳基); 119.0 (芳基); 135.2 (芳基); 146.0 (芳基); 149.7 (芳基)。质谱 (FAB) 显示的 192.1 母离子峰与化合物分子量匹配。

实施例 2

乙酸 3-甲氧基-4-炔丙氧基苯酯 (II) 的合成

在 100 mL 的圆烧瓶 (在冰浴中冷却) 中, 将 1.38 克 (0.0176 摩尔) 乙酰氯溶解于 10 mL 吡啶内。将 3-甲氧基-4-炔丙氧基苯甲醇

(I) 溶液 (通过将 2.82 克 (0.0146 摩尔) 的 (I) 溶解在 15mL 吡啶中而制得) 滴加至烧瓶中。将混合物搅拌 5 小时, 然后旋转蒸发移除溶剂。得到的残余物冷却至室温, 然后溶解在二氯甲烷 (30mL) 中。先后使用 3N HCl 水溶液和水洗涤有机相, 然后用无水硫酸镁干燥。过滤后, 通过旋转蒸发移除有机相溶剂, 得到黄色油状物, 静置凝固。在甲醇中重结晶得到 2.91 克白色结晶固体, 对应产率为 85%。

产物熔点为 69°C ~ 71°C, 并具有以下 ^1H NMR 谱, 单位 ppm (在 CDCl_3 溶剂中): 2.09 (单峰, 3H, 甲基); 2.50 (三重峰, 1H, 炔基); 3.89 (单峰, 3H, 甲基); 4.76 (双峰, 2H, 亚甲基); 5.05 (单峰, 2H, 亚甲基); 6.92 (单峰, 1H, 芳基); 6.93 (多重峰, 1H, 芳基); 7.01 (双峰, 1H, 芳基)。产物具有以下质子去偶碳-13 核磁共振 (^{13}C NMR) 谱, 单位 ppm (在 CDCl_3 溶剂中): 21.2 (甲基); 56.1 (甲基); 56.9 (亚甲基); 66.6 (亚甲基); 76.0 (炔基); 78.6 (炔基); 112.4 (芳基); 114.3 (芳基); 121.1 (芳基); 130.0 (芳基); 147.0 (芳基); 149.8 (芳基); 171.0 (羰基)。质谱 (FAB) 显示的 234.6 母离子峰与化合物分子量匹配。

实施例 3

乙酸 3-甲氧基-4-邻羟甲基碳硼烷基苄酯 (III) 的合成

在 250 mL 的圆底烧瓶中, 室温条件氩气保护下, 在 100 mL 甲苯中搅拌 2.07 克 (0.017 摩尔) 癸硼烷。通过注射器加入 2.1mL (0.040 摩尔) 乙腈。搅拌混合物 3 小时。随后加入 3.82 克 (0.0163 摩尔) 乙酸 3-甲氧基-4-炔丙氧基苄酯 (II), 并缓慢将混合物加热到 80°C 至 90°C。在氩气气氛下将混合物在 80°C 至 90°C 温度下保持 3 天, 随后薄层色谱法的结果显示原料 (II) 已经消失, 并出现新的化合物。通过旋转蒸发移除混合物中的溶剂。得到的残余物溶解在 50mL

二氯甲烷中，使用 20mL 的 10%碳酸氢钠洗涤，然后水洗两次（每次 20mL），然后使用无水硫酸钠干燥。过滤有机相后，通过旋转蒸发移除溶剂，得到黄色油状物，静置结晶。获得 4.64 克产物，对应产率为 80%。

产物熔点为 84℃至 85℃，并具有以下 ^1H NMR 谱，单位 ppm（在 CDCl_3 溶剂中）：2.00（单峰，3H， CH_3 ）；3.76（单峰，3H， OCH_3 ）；4.29（单峰，1H，CH）；4.54（单峰，2H， $\underline{\text{CH}_2}\text{CCHB}_{10}\text{H}_{10}$ ）；4.95（单峰，2H， ArCH_2 ）；6.74（多重峰，2H，ArH）；7.17（单峰，1H，ArH）。产物具有以下质子去偶 ^{13}C NMR 谱，单位 ppm（在 CDCl_3 溶剂中）：21.1（ OCH_3 ）；56.0（ ArOCH_2 ）；58.0（ OCH_3 ）；66.4（ ArCH_2 ）；71.6（ $-\text{CCHB}_{10}\text{H}_{10}$ ）；72.1（ $-\underline{\text{C}}\text{CHB}_{10}\text{H}_{10}$ ）；112.8（芳基）；116.8（芳基）；121.2（芳基）；132.0（芳基）；146.8（芳基）；150.4（芳基）；171.0（CO）。质谱（FAB）显示的 352.8 母离子峰与化合物分子量匹配。

实施例 4

3-甲氧基-4-邻癸基碳硼烷基苯甲醇（IV）的合成

向由 4 克（11 毫摩尔）乙酸 3-甲氧基-4-癸基碳硼烷基苯酯（III）与 50mL 甲醇组成的溶液中加入 2mL 浓盐酸。回流混合物 3 小时，其后薄层色谱法的结果显示原料(III)已经消失，并且出现新的化合物。然后通过旋转蒸发移除溶剂，得到金色油状物。在室温下静置，油状物凝固为半固体。获得 3.50 克产物，对应产率为 99%。

产物具有以下质子核磁共振（ ^1H NMR）谱，单位 ppm（在 CDCl_3 溶剂中）：3.39（单峰，3H， OCH_3 ）；3.85（单峰，2H， ArCH_2 ）；4.33（单峰，1H，CH）；4.39（单峰，2H， $\underline{\text{CH}_2}\text{CCHB}_{10}\text{H}_{10}$ ）；6.85（多重峰，2H，ArH）；6.92（多重峰，1H，ArH）。产物具有以下

质子去偶 ^{13}C NMR 谱, 单位 ppm(在 CDCl_3 溶剂中): 55.9(ArOCH_3); 58.0(OCH_3); 58.3(ArCH_2); 71.7($-\text{C}\underline{\text{C}}\text{HB}_{10}\text{H}_{10}$); 74.4($-\text{C}\underline{\text{C}}\text{HB}_{10}\text{H}_{10}$); 112.0 (芳基); 117.0 (芳基); 120.3 (芳基); 134.5 (芳基); 146.4 (芳基); 150.5 (芳基)。

实施例 5

3-甲氧基-4-邻羟甲基碳硼烷基苯甲醛 (V) 的合成

方法 1: 将 2.3 克 (11 毫摩尔) 氯铬酸吡啶盐 (PCC) 在浸在冰浴中的烧瓶的 25mL 二氯甲烷中搅拌。将 1.71 克 (5.5 毫摩尔) 3-甲氧基-4-邻羟甲基碳硼烷基苯甲醇 (IV) 溶解在 25mL 二氯甲烷中制得的溶液, 滴加至冷却的 PCC 溶液中。将得到的混合物搅拌 2 小时, 其后薄层色谱法显示原料(IV)已经消失, 并且出现新的化合物。通过具有硅石 (silica) 的烧结玻璃板漏斗 (2cm) 过滤得到的黑色不均匀溶液。用另外的二氯甲烷充分地洗涤硅石以提取产物。通过旋转蒸发移除滤液中的溶剂, 留下油性残余物, 静置凝固。获得 1.6 克产物, 对应产率为 94%。

方法 2: 在二氧杂环己烷中搅拌等摩尔的 (IV) 和 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌 (DDQ) 1 小时。通过旋转蒸发移除溶剂。随后加入二氯甲烷以选择性地提取产物。通过过滤移除不溶的 DDQH_2 副产物。旋转蒸发获得的滤液以得到最终产物。

产物熔点为 146°C 至 147°C , 并具有以下 ^1H NMR 谱, 单位 ppm (在 CDCl_3 溶剂中): 3.92 (单峰, 3H, OCH_3); 4.28 (单峰, 1H, CH); 4.51 (单峰, 2H, $\text{CH}_2\text{C}\underline{\text{C}}\text{HB}_{10}\text{H}_{10}$); 6.92 (单峰, 1H, ArH); 7.44 (多重峰, 2H, ArH); 9.88 (单峰, 1H, CHO)。产物具有以下质子去偶碳-13 核磁共振 (^{13}C NMR) 谱, 单位 ppm (在 CDCl_3 溶剂中): 56.2 (ArOCH_2); 58.1 (OCH_3); 70.6 ($-\text{C}\underline{\text{C}}\text{HB}_{10}\text{H}_{10}$); 71.4

($-\underline{\text{C}}\text{CHB}_{10}\text{H}_{10}$); 110.3 (芳基); 114.4 (芳基); 126.0 (芳基); 132.3 (芳基); 150.6 (芳基); 190.9 (CO)。质谱 (FAB) 显示的 309.7 母离子峰与化合物分子量匹配。

实施例 6

中位-5,10,15,20-四[3-甲氧基-4-邻羟甲基碳硼烷基苯基]卟啉 (VI) 的合成

将 50 毫克 (0.136 毫摩尔) 3-甲氧基-4-邻羟甲基碳硼烷基苯甲醛 (V) 置入干燥的 100mL 圆底烧瓶中并用橡胶隔片塞住。通过注射器将新蒸馏的 9.5 微升 (0.136 毫摩尔) 吡咯在 40mL 二氯甲烷中的溶液转移到含 (V) 的烧瓶中。通过向溶液中直接通入 (鼓泡) 氩气 (在隔片上有排气针) 并同时搅拌 15 到 20 分钟, 已对得到的混合物进行脱氧。使用微升注射器将 5.4 微升 (0.045 毫摩尔) 三氟乙酸 (TFA) 加入到混合物中。在氩气气氛下搅拌混合物过夜。随后加入 34 毫克 (0.149 毫摩尔) DDQ, 其立即使溶液变成深色。回流溶液 1 小时。然后使用具有约 20mL 硅石的 30mL 烧结玻璃板漏斗来提纯溶液。将得到的深色滤液旋转蒸发至干。由薄层色谱法得到的结果确认存在卟啉产物以及部分杂质。将固体重新溶解在二氯甲烷中, 然后使用另一个硅石短柱并用二氯甲烷和己烷的 1:1 溶剂混合物进行洗脱以进一步纯化。由薄层色谱法得到的结果确认杂质已消失。将得到的深色滤液旋转蒸发至干燥, 得到 15 毫克产物, 其对应 31% 的产率。

产物具有以下质子核磁共振 (^1H NMR) 谱, 单位 ppm (在 CDCl_3 溶剂中): -2.77 (单峰, 2H, NH); 3.94 (单峰, 12H, OCH_3); 4.50 (单峰, 4H, CH); 4.74 (单峰, 8H, $\underline{\text{CH}_2}\text{CCHB}_{10}\text{H}_{10}$); 7.21 (双峰, 4H, ArH); 7.72 (双峰, 4H, ArH); 7.77 (单峰, 4H, ArH); 8.85 (单峰, 8H, 吡咯-H)。质谱 (FAB) 显示的 1424.7 母离子峰

与化合物分子量匹配。产物在二氯甲烷中的紫外-可见吸收光谱显示了如下纳米波长吸收峰：423、517、554、593 和 648。

实施例 7

铜中位-5,10,15,20-四[3-甲氧基-4-邻羟甲基碳硼烷基苯基]卟啉 (VII) 的合成

将 $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (20 毫克, 100 毫摩尔) 在 5 mL 甲醇中的溶液加入到卟啉化合物 (VI) (130 毫克, 91 毫摩尔) 在 10mL 二氯甲烷中的溶液中。搅拌溶液 20 分钟。然后通过旋转蒸发移除溶剂。将得到的残余物溶解在二氯甲烷中, 水洗然后用无水硫酸钠干燥。滤出干燥剂。通过旋转蒸发移除滤液中的溶剂, 留下红色固体残余物。将固体重新溶解在二氯甲烷中, 然后采用硅石垫板 (silica pad) 用己烷和二氯甲烷的 1:1 溶剂混合物进行洗脱而加以提纯。通过旋转蒸馏移除溶剂, 得到红色的铜卟啉化合物 132 毫克, 对应产率为 98%。

质谱 (FAB) 显示的 1486.3 母离子峰与化合物分子量匹配。产物的紫外-可见吸收光谱显示了如下纳米波长吸收峰 (在二氯甲烷溶剂中): 418、542。

实施例 8

中位-5,10,15,20-四[3-羟基-4-邻羟甲基碳硼烷基苯基]卟啉 (VIII) 的合成

在氩气气氛下将 44 毫克 (0.03 毫摩尔) 卟啉化合物 (VI) 置入干燥的 50mL 烧瓶中并用橡胶隔片密封烧瓶。通过注射器加入 15mL 干燥二氯甲烷以溶解卟啉化合物 (VI)。通过注射器将 1mL 浓度为 1M 的三溴化硼的二氯甲烷溶液 (1.0 毫摩尔) 转移到包含卟

啉化合物 (VI) 的溶液中。在室温下搅拌反应混合物 30 分钟。加入大约 10mL 稀释的 10% 碳酸氢钠水溶液来破坏过量的三溴化硼。搅拌溶液 30 分钟, 然后使用足够的稀释 HCL 进行中和, 以将 pH 调节到约 6。有机相从水相中分离出来, 用 10% 碳酸氢钠水溶液洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥。使用硅石垫板并用丙酮和甲醇 5:1 的溶剂混合物进行洗脱, 以纯化得到的绿色溶液。通过旋转蒸发移除溶剂, 留下红棕色固体。发现红棕色固体在极性有机溶剂如甲醇和丙酮中比在二氯甲烷和氯仿中更易溶解。获得 38 毫克产物, 对应产率为 91%。

产物具有以下质子核磁共振(^1H NMR)谱, 单位 ppm(在 CDCl_3 溶剂中): -2.88 (单峰, 2H, NH); 4.04 (单峰, 4H, CH); 4.71 (单峰, 8H, $\text{CH}_2\text{CCHB}_{10}\text{H}_{10}$); 5.64 (单峰, 4H, ArOH); 7.10 (单峰, 4H, ArH); 7.63 (单峰, 4H, ArH); 7.77 (单峰, 4H, ArH); 8.82 (单峰, 8H, 吡咯-H)。质谱 (FAB) 显示的 1368.0 母离子峰与化合物分子量匹配。产物的紫外-可见吸收光谱显示了如下纳米波长吸收峰 (在丙酮溶剂中): 420、513、549、591、648。

实施例 9

铜中位-5,10,15,20-四[3-羟基-4-邻羟甲基碳硼烷基苯基]卟啉 (IX) 的合成

卟啉化合物 (VIII) (50 毫克, 36.5 毫摩尔) 与 $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (8 毫克, 40 毫摩尔) 的 1:1.1 摩尔溶液是通过将两种化合物溶解在甲醇中而制得。将得到的紫色溶液搅拌 20 分钟, 在此期间颜色变红。通过旋转蒸发移除溶剂。将得到的残余物溶解在二氯甲烷中以得到有机相, 水洗然后用无水硫酸钠干燥。通过旋转蒸发移除有机相中的溶剂, 留下红色铜卟啉化合物。将上述化合物重新溶解在二氯甲烷中, 然后在硅石垫板上用己烷、二氯甲烷和丙酮的 1:1:1

溶剂混合物进行洗脱，从而进行提纯。通过旋转蒸发移除有机相中的溶剂，得到 36 毫克铜卟啉化合物 (IX) (70%产率)。

质谱 (FAB) 显示的 1428.0 母离子峰与化合物分子量匹配。产物的紫外 - 可见吸收光谱显示了如下纳米波长吸收峰 (在丙酮中): 417、534。

实施例 10

硼化卟啉溶液的制备

在盐水中 (0.9%氯化钠)，将卟啉化合物 (VII) 乳化在 9%聚氧乙烯蓖麻油和 18%丙二醇中。在盐水中，将卟啉化合物 (IX) 乳化在 3%克雷莫福 (Cremophor) 和 6%丙二醇中。

为了制备约 3.3mg/mL 卟啉在 9%聚氧乙烯蓖麻油 (CRM) 和 18%丙二醇 (PRG) 中的溶液，将卟啉溶解在四氢呋喃 (THF) (总容积的 1.5%) 中，然后加热到 40℃保持 15 分钟。随后加入 CRM (总容积的 9%)，并将混合物加热到 60℃保持 2 小时，其移除大部分的 THF。冷却至室温后，加入 PRG (总容积的 18%)，随后在快速搅拌下缓慢滴加盐水 (总容积的 71.5%)。通过在真空条件 (约 30mmHg) 下搅拌 30-60 分钟，使溶液脱气，然后过滤 (微孔, 8μm)。

3% CRM/6% PRG 溶液的制备方案与上文相同，只不过使用 3% CRM (总容积的 3%) 和 6% PRG (总容积的 6%)。

实施例 11

卟啉 VII 在患有 EMT-6 癌小鼠体内的生物分布

对接受了 EMT-6 乳腺癌胸部背面皮下植入的 BALB/c 小鼠, 给予总剂量为每公斤体重 110 毫克或 185 毫克卟啉化合物 (VII) (分别为 32 或 54 mg B/kg)。在最后一次注射的 2 天和 4 天后, 安乐处死小鼠, 并取出肿瘤、血液、大脑和肝脏用于硼分析。在分析硼之前, 首先分析血液的指示毒性的血液学参数。下文表 1 和表 2 显示了 BALB/c 小鼠不同类型组织中的平均硼浓度 (5/时间点)。

表 1

在 8 小时内 3 次腹腔注射给予 110 mg/kg 卟啉 VII (32 mg B/kg) 后, 小鼠 (n = 5) 的不同组织中的平均硼浓度 ($\mu\text{g/g}$ 湿组织)。

最后一次注射后时间	EMT-6 肿瘤 $\mu\text{g/g}$	血液 $\mu\text{g/g}$	大脑 $\mu\text{g/g}$	肝脏 $\mu\text{g/g}$
2 天	80.4 $\pm$ 18.8	5.5 $\pm$ 3.5	0.2 $\pm$ 0.1	301 $\pm$ 19.2
4 天	69.3 $\pm$ 78.5	0.4 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.0	254 $\pm$ 63.8

表 2

在 32 小时内 6 次腹腔注射给予 185 mg/kg 卟啉 VII (54 mg B/kg) 后, 小鼠 (n = 5) 的不同组织中的平均硼浓度 ($\mu\text{g/g}$ 湿组织)。

最后一次注射后时间	EMT-6 肿瘤 $\mu\text{g/g}$	血液 $\mu\text{g/g}$	大脑 $\mu\text{g/g}$	肝脏 $\mu\text{g/g}$
2 天	191 $\pm$ 66.7	0.9 $\pm$ 1.1	0.1 $\pm$ 0.1	592 $\pm$ 153
4 天	167 $\pm$ 51.9	0.1 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.2	433 $\pm$ 492

考虑到相对低较的硼注射剂量, 肿瘤中硼的浓度是极高的。得到的约 12% 的注射剂量 % 是在我们实验室中、在 EMT-6 癌中曾经观察到的结果中最高的。如同其他的亲脂四苯基卟啉一样, 血液和大脑内的硼含量在最后一次注射的两天之后基本可以忽略, 从而得到非常高的肿瘤-血液和肿瘤-大脑硼含量比率。

实施例 12

起因于卟啉 VII 的体重变化和血液学参数

表 3

给予 110 mg/kg 卟啉 VII (32 mg B/kg) 或仅溶剂 (盐水中 9% 克雷莫福和 18%丙二醇) 的小鼠在最后一次注射的 2 或 4 天后的体重变化和血液参数。报告值为中值 (以及范围)。

化合物	最后一次注射后时间	小鼠数量	重量变化%	血小板 (10 ³ /mm ³)	淋巴细胞 (%WBC)	粒细胞 (%WBC)
卟啉 VII	2 天	10	-3.6(-7.8-0.5)	85(48-100)	41(35-65)	55(33-63)
仅溶剂	2 天	4	-1.3(-4.5-1.1)	640(568-730)	68(61-71)	28(26-32)
卟啉 VII	4 天	5	-4.6(-16--0.5)	507(394-652)	48(40-51)	49(45-57)
仅溶剂	4 天	4	-0.7(-2.2-2.1)	527(500-618)	71(70-72)	26(24-26)

表 4

给予 185 mg/kg 卟啉 VII (54 mg B/kg) 或仅溶剂 (盐水中 9% 克雷莫福和 18%丙二醇) 的小鼠在最后一次注射的 2 或 4 天后的体重变化和血液参数。报告值为中值 (以及范围)。

化合物	最后一次注射后时间	小鼠数量	重量变化%	血小板 (10 ³ /mm ³)	淋巴细胞 (%WBC)	粒细胞 (%WBC)
卟啉 VII	2 天	10	-4.7(-9.3-0.9)	181(105-248)	35(30-58)	62(38-67)
仅溶剂	2 天	4	-1.3(-4.5-1.1)	640(568-730)	68(61-71)	28(26-32)
卟啉 VII	4 天	5	5.2(1.5-7.4)	429(346-481)	57(51-62)	40(34-46)
仅溶剂	4 天	4	-0.7(-2.2-2.1)	527(500-618)	71(70-72)	26(24-26)

在给予卟啉期间和以后在小鼠的身体或行为上未观察到明显的毒性效应。在尸体剖检时, 所有组织表现正常。表 3 和表 4 显示了实施例 11 中描述的 BALB/c 小鼠的重量变化和血液学参数, 其中按每公斤体重给予小鼠在 9%克雷莫福和 18%丙二醇 (在盐水中) 中的 110 毫克或 185 毫克卟啉化合物 VII, 并与仅给予溶剂的对照

小鼠进行比较。在两种剂量下，给予卟啉 VII 的小鼠的体重下降均比对照小鼠的体重下降更明显，并且卟啉剂量越高，体重下降越大。在给予卟啉 VII 的小鼠中，血小板计数的减少（血小板减少）也比对照小鼠更显著。在更高卟啉剂量下，计数惊人地更接近对照的计数。在 4 天时间点上重量减少和血小板减少均不太明显，这表明较小、但显著的偏差是可逆的。

实施例 13

卟啉 IX 在患有 EMT-6 癌小鼠体内的生物分布

对接受了 EMT-6 乳腺癌胸部背面皮下植入的 BALB/c 小鼠，给予总剂量为每公斤体重 118 毫克卟啉化合物（IX）（分别为 36 mg B/kg）。在最后一次注射的 2 天和 4 天后，安乐处死小鼠，并取出肿瘤、血液、大脑和肝脏用于硼分析。在分析硼之前，首先分析血液的指示毒性的血液学参数。表 5 显示了 BALB/c 小鼠不同类型组织中的平均硼浓度（5/时间点）。

表 5

在给予 118 mg/kg 卟啉 IX（36 mg B/kg）的小鼠中，在不同组织中的平均硼浓度。

最后一次注射后时间	EMT-6 肿瘤 μg/g	血液 μg/g	大脑 μg/g	肝脏 μg/g
2 天	35.3 ± 4.8	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2	486 ± 50.2
4 天	26.7 ± 7.9	0.2 ± 0.1	0.0 ± 0.1	434 ± 64.6

表 6

给予 118 mg/kg 卟啉(IX) (36 mg B/kg) 或仅溶剂 (盐水中 3% 克雷莫福和 6%丙二醇) 的小鼠的体重变化和血液参数。给出的值均为中值 (以及范围)。

化合物	最后一次注射后时间	小鼠数量	重量变化%	血小板 ($10^3/\text{mm}^3$)	淋巴细胞 (%WBC)	粒细胞 (%WBC)
卟啉 IV	2 天	10	-0.1(-2.0-1.4)	617(441-781)	53(46-56)	43(39-49)
仅溶剂	2 天	4	-1.3(-4.5-1.1)	640(568-730)	68(61-71)	28(26-32)
卟啉 IX	4 天	5	2.4(0.9-3.9)	633(561-824)	54(52-59)	41(37-44)
仅溶剂	4 天	4	-0.7(-2.2-2.1)	527(500-618)	71(70-72)	26(24-26)

初步的生物分布研究结果显示虽然卟啉 IX 的平均肿瘤硼浓度低于卟啉 VII, 但这些值对于治疗研究而言很可能被认为是适当的。卟啉 IX 的微定位性能看来与卟啉 VII 有差别, 这是由于其极性更强。卟啉 IX 的肿瘤与血液和肿瘤与大脑的硼比率在最后一次注射两天以后相当高, 大于 100:1。当与仅给予溶剂的对照相比, 对于甲氧基类似物、卟啉 VII 观察到血液和重量数据并没有显示更大的重量减轻, 也没有更多的血小板减少。因此, 该剂量看来可以逐步提高而不会明显增加毒性。

因此, 虽然已描述了本发明的优选具体实施方式, 但本领域的技术人员将认识到可在不背离本发明的精神的情况下采用其他具体实施方式, 本发明的精神包括在本发明真正范围内的所有进一步修改和变化。