

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07C 49/755

C07C225/32 C07D213/53

A61P 35/00 A61P 31/18

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00130048.2

[43] 公开日 2002 年 5 月 22 日

[11] 公开号 CN 1349965A

[22] 申请日 2000.10.25 [21] 申请号 00130048.2

[71] 申请人 中国科学院感光化学研究所

地址 100101 北京市朝阳区德胜门外北沙滩

[72] 发明人 张曼华 徐尚杰 吴 韬

陈 申 沈 涛

[74] 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司

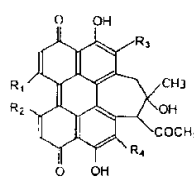
代理人 李 柏

权利要求书 2 页 说明书 8 页 附图页数 0 页

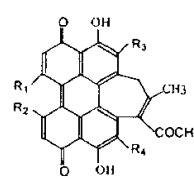
[54] 发明名称 带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素及其合成方法和用途

[57] 摘要

本发明属于具有光动力活性的光敏剂技术领域,特别涉及带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素及其合成方法和用途。将竹红菌素和过量脂肪胺及溶剂加入到反应容器中,搅拌,除去剩余的溶剂,剩余物用氯仿萃取 3-4 次,氯仿液用水洗,减压浓缩,用硅胶板层析分离,经纯化,得到如通式结构为 V、VI 所示的胺基取代去甲氧基竹红菌。本发明能有效产生活性氧,暗毒性低,用于制备治疗癌症和抗艾滋病毒的药物方面的用途。



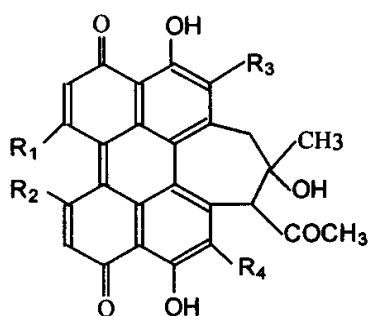
V



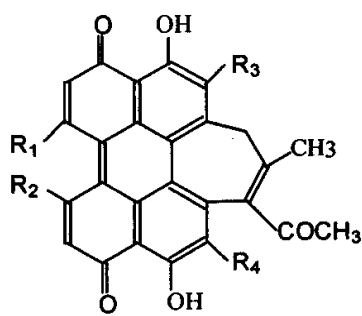
VI

权 利 要 求 书

1.一种带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素,其特征在于分为胺基取代去甲氧基竹红菌甲素和胺基取代去甲氧基竹红菌乙素,其通式分别为结构V、结构VI所示:



V

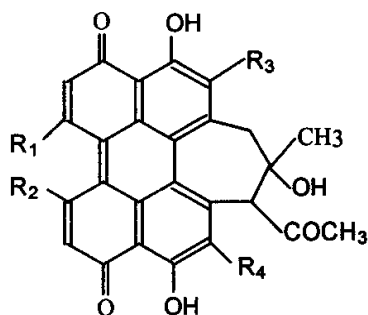


VI

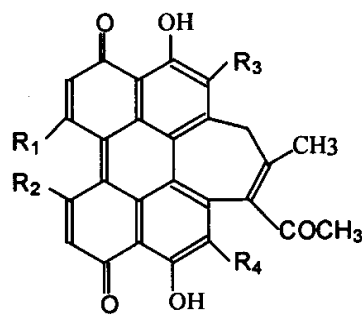
其中: R_1, R_2, R_3, R_4 分别为 OCH_3 、 $NHCH_2Ar$ 或 $NHCH(CH_2)_n$, Ar 为苯环或吡啶环, $-CH(CH_2)_n$ 为脂环基, $n=3, 4, 5, 6$ 。

2.如权利要求1所述的带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素的合成方法,其特征在于按如下步骤进行:

将竹红菌素和与竹红菌素摩尔数比过量的脂肪胺以及溶剂加入到反应容器中,常温下搅拌反应进行6-24小时,除去剩余的溶剂,剩余物用氯仿萃取3-4次,氯仿液用水洗3-4次,减压浓缩氯仿液,用硅胶板层析分离,经纯化,得到胺基取代去甲氧基竹红菌素;通式分别为竹红菌甲素V,竹红菌乙素VI所示:



V



VI

其中: R_1, R_2, R_3, R_4 分别为 OCH_3 、 $NHCH_2Ar$ 或 $NHCH(CH_2)_n$, Ar 为苯环或吡啶环, $-CH(CH_2)_n$ 为脂环基, $n=3, 4, 5, 6$ 。

00:10:25

3.如权利要求 2 所述的带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素的合成方法，其特征在所述的脂肪胺为环戊胺、环己胺、苜胺、3-吡啶甲基胺或 4-吡啶甲基胺。

4.如权利要求 2 所述的带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素的合成方法，其特征在所述的溶剂为苯、吡啶、环己烷或二氧六环。

5.如权利要求 1 所述的带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素的用途，其特征在用于制备治疗癌症和抗艾滋病毒的药物方面的用途。



说明书

带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素及其合成方法和用途

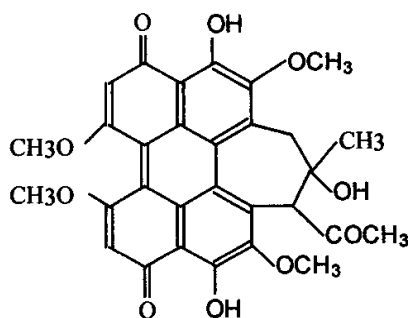
本发明属于具有光动力活性的光敏剂技术领域，特别涉及带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素及其合成方法和用途。

光动力疗法(Photo dynamic therapy 简称 PDT 光疗)是指给人体施用光敏药物——即光敏剂，然后光照激活光敏药物从而达到治疗疾病的目的，其优势在于它的高效性和安全性，在光照射下它可以连续产生成千个高反应性能的活性氧分子，从而杀伤相应数量级的靶体分子，比起传统化学药物只能杀伤一个目标分子具有显著的高效性。另一方面，光化学疗法具有药物定位和光照定位的双向选择性，避免或降低了对正常细胞的伤害，大大降低了毒副作用，增加了安全性。这对治疗癌症和抗艾滋病毒意义尤为突出。

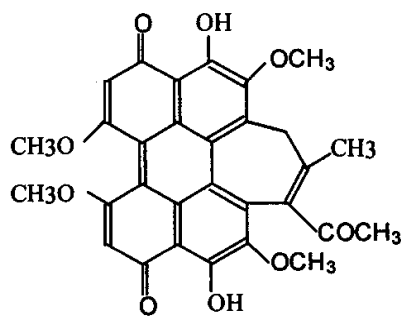
随着激光技术和光纤技术的发展与成熟，光化学疗法中的光源问题和光的传导难题得到很好的解决，使得光敏剂的选择成为光疗领域的最为关键的问题。目前应用最广的光疗药物是卟啉类化合物，它们对治疗早期尿膀胱癌、肺癌、胃癌等癌症取得了明显的疗效。1966 年 Lipson 将血卟啉衍生物(HPD)用于检测和控制癌症，并首次将之用于治疗乳腺癌。1976 年凯利(Kelly)和史耐尔(Snell)在《泌尿学杂志》1976 年 115 期 150 页(J.Urol.,1976,115,150) 中发表了血卟啉醋酸衍生物(HPD)对浅层膀胱癌光动力疗法的临床报告，此后道尔蒂(Dougherty)等人在《北大西洋公约组织癌症研究所杂志》1975 年第 55 期 115 页(J.Natl.Cancer Inst.,1975,55,115) 中报导，其研究小组用 HPD 对几千例各种癌患者施行了光动力疗法，表明 HPD 的光动力疗法对脑癌、颈癌和眼癌等浅层癌有明显疗效。1978 年 Dougherty 用 HPD 作为光敏剂来治疗恶性皮肤癌和皮下恶性肿瘤，发现在 113 个病变中，有 111 处被完全治愈或部分治愈。卟啉类光敏剂是由四个吡咯环和四个次甲基桥连接起来的大共轭体系。目前用于临床的主要是 HPD 和卟啉醚脂(Dihematoporphyrin ether or ester,简称 DHE)。在水溶液中浓度较高时，卟啉化合物容易簇集(aggregation)，这种簇集也发生在细胞中，由于簇集使卟啉类光敏剂的光动力活性降低而不利于光疗。艾尔法(El-Far)等人在《细胞生物化学作用》1985 年第 3 期第 15 页(Cell Biolchem Funct.,1985,3,115)上报导卟啉类化合物是亲脂性的，在癌细胞中具有定位能力，可选择性地富集于癌组织中，其在癌组织中的定位作用和光敏活性主要受其疏水性、聚集态和电荷分布的影响。卟

啉类药物光疗法虽取得了很大进展,但还存在着某些严重的缺点,如组分复杂、光疗窗口吸收弱、体内代谢慢、副作用大等。

为克服以上缺点,人们探索着各种新的光疗药物。竹红菌素(Hypocrellin)是从特产于我国云南箭竹上的一种寄生真菌—竹红菌(*Hypocrella Lanluase Sacc*)中提取出的天然光敏剂,其含量极高,达3%—4%,而且分离提纯简单。我国一些医院在临床上用竹红菌光疗法治疗某些皮肤病(如外阴白色病变,白癫疯,牛皮癣等)。1980年万象仪在《科学通报》1980年第25期1148页,罗子华等人在《云南医药》1980年第1期20页上报导竹红菌光疗法可用于治疗外阴白色病变和疤痕疙瘩。此后竹红菌光疗法逐渐被用于治疗皮肤淀粉样变苔藓,白癫疯,牛皮癣和头癣等皮肤病,1981年陈远藤等人在《利比希分析化学》1981年1880页(Liebigs Ann.Chem.,1981,1880)中鉴定了竹红菌的一个有效成分—竹红菌甲素(Hypocrellin A,简称HA),1988年张曼华和梁丽等人在《科学通报》1988年第33期518页上鉴定了竹红菌的另一个有效成分—竹红菌乙素(Hypocrellin B,简称HB)。十多年来我们对竹红菌素从结构、光化学、光物理、光生物和细胞学等各方面进行了广泛系统的研究,研究结果表明,竹红菌素(Hypocrellins 简称 Hys)包括如结构I所示的竹红菌甲素(HA),{3,10-二羟基-4,9-二酮-1,12(2'-羟基,2'-甲基,3'-乙酰基)丙撑(1',3')-2,6,7,11-四甲氧基北};和如结构II所示的竹红菌乙素(HB),{3,10-二羟基-4,9-二酮-1,12(2'-甲基-3'-乙酰基-2',3'-去氢)丙撑(1',3')-2,6,7,11-四甲氧基北},竹红菌甲素(HA)和竹红菌乙素(HB)作为一类新的光疗药物,它具有:易得、易纯化、低毒、高稳定性、不簇集、能富集于癌细胞、代谢快和无明显副作用等优点,有希望成为新一代的光疗药物。加拿大的劳恩(W. Lown)在《光化学与光生物》1997年第65卷第2期352-354页(Photochemistry & Photobiology, 1997.65(2) 352~354)上报导了HB具有明显的抗艾滋病毒的作用。但它们最大的不足之处是其在光疗窗口无明显吸收。

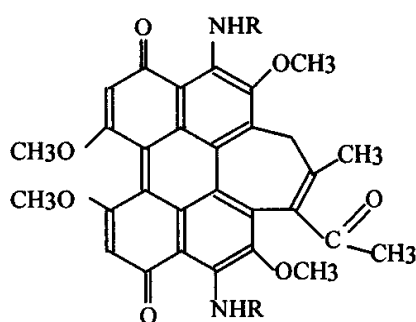


I

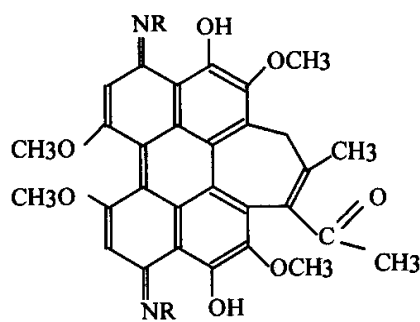


II

为克服这一缺点，人们开展了大量的结构改性工作，合成、制备出了几十种竹红菌素衍生物，希望能从中挑选出性能优良的光疗药物。在 1994~1995 年中国感光化学研究所和加拿大的劳恩教授几乎同期先后报道了竹红菌素胺基衍生物，它们在光疗窗口具有强吸收，配合激光照射，其光动力作用比竹红菌甲素和竹红菌乙素大大增强，最近在《光化学与光生物》1997 年第 65 卷第 4 期 714-722 页(Photochemistry & Photobiology, 1997,65(4), 714~722)中，加拿大的劳恩又对此类衍生物对癌细胞的光动力作用作了详细报道。但其合成的衍生物，胺基取代在萘醌环上的迫位羟基，改变了竹红菌素的光活性部位(迫位羟基萘醌)结构（如结构III、IV所示，III、IV的母体化合物互为异构体）。加拿大的劳恩已发表了合成竹红菌乙素的方法，但合成步骤多且产品价格昂贵。



III

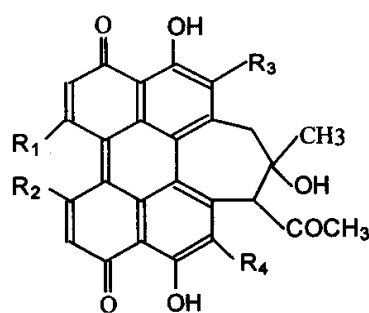


IV

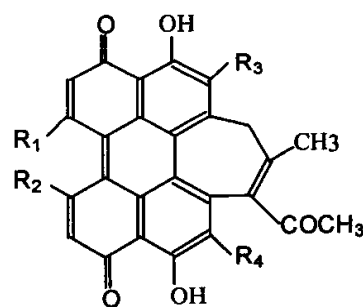
张曼华等人在《染料和颜料》1996 年第 35 卷第 4 期 297-310 页 (Dyes and Pigments, 1996, 35(4), 297-310) 上报道，以前合成的巯基衍生物，巯基取代在侧链脂环上，与光活性部位距离甚远，而且光疗窗口（600-900 纳米）处吸收很弱。

本发明的目的在于克服竹红菌乙素在光疗窗口无明显吸收，合成竹红菌乙素的方法步骤多且产品价格昂贵，合成的巯基衍生物在光疗窗口（600-900 纳米）处吸收弱等缺陷，提供一种带有脂肪环或芳香环（包括杂环）的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素及其合成方法和用途，使其在光疗窗口(600-900 纳米)有很强的吸收，同时不改变其光活性部位的结构，在激光照射下，能有效产生 $^1\text{O}_2$, O_2^- 和 OH 等活性氧分子，光动力作用强，可以用于癌症治疗和抗艾滋病毒。

本发明的带有脂肪环或芳香环（包括杂环）的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素分为胺基取代去甲氧基竹红菌甲素和胺基取代去甲氧基竹红菌乙素，其通式分别如结构V和结构VI所示：



V



VI

其中: R_1, R_2, R_3, R_4 分别为 OCH_3 、 $NHCH_2Ar$ 或 $NHCH(CH_2)_n$, Ar 为苯环或吡啶环等, $-CH(CH_2)_n$ 为脂环基, $n=3, 4, 5, 6$ 。

本发明的带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代去甲氧基竹红菌素的制备方法按如下步骤进行:

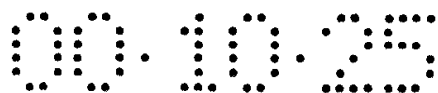
将竹红菌甲素和与竹红菌甲素摩尔数比过量的脂肪胺以及适量的溶剂加入到反应容器中, 常温下搅拌反应进行 6-24 小时, 除去剩余的溶剂, 剩余物用氯仿萃取 3-4 次, 氯仿液用水洗 3-4 次, 减压浓缩氯仿液, 用硅胶板层析分离, 展开液为环己烷: 乙酸乙酯: 乙醇, 体积比=3:1:0.5。进一步用此法层析纯化, 得到胺基取代去甲氧基竹红菌素。

所述的竹红菌素为竹红菌甲素或竹红菌乙素, 即通式结构分别为V和VI。

所述的脂肪胺为环戊胺、环己胺、苄胺、3-吡啶甲基胺或 4-吡啶甲基胺等; 溶剂可为苯、吡啶、环己烷或二氧六环等。

本发明的用途: 本发明合成的胺基取代去甲氧基竹红菌素(包括竹红菌甲素和竹红菌乙素)在光疗窗口(600-900 纳米)有强吸收。在激光照射下, 能有效产生活性氧, 如 1O_2 , $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 等, 光动力作用强, 暗毒性低, 有望成为较卟啉类药物性能更优的新一代光疗药物, 用于制备治疗癌症和抗艾滋病毒的药物方面的用途。

本发明的优点和效果: 此类带有脂肪环或芳香环的脂肪胺基取代的竹红菌素衍生物(包括竹红菌甲素和竹红菌乙素)的光化学、光物理实验表明: 此类衍生物结构上完全保留了竹红菌甲素和竹红菌乙素光活性部位, 结构完整, 能有效产生单重态氧(1O_2), 且单重态氧量子产率为 0.5-0.8, 与 HA、HB 或 HPD 相当, 能产生超氧负离子($O_2^{\cdot-}$), 且超氧负离子量子产率高于 HA、HB 或 HPD, 为 HB 的 2-5 倍, 活性氧的能力强, 而且在光疗窗口吸收强度大大增强(在 600-900nm 处的消光系数为 HA、HB 或 HPD 的 10-100 倍), 显示出了作为新的光疗药物极优良的特性。从现阶段的初



步实验数据, 以及从结构、作用机制来推测, 此类胺基衍生物具有更好的潜在性能。通过生物体试验已证明竹红菌甲素和乙素都为低毒性化合物, 胺基的引入使竹红菌素具有弱碱性, 致使其在溶酶体中能很好的富集, 故低剂量药物就能有效地杀伤癌细胞, 大大降低其毒性。而有光时, 溶酶体的光损伤能高效地引起癌细胞的退化和死亡, 故有理由推测生物体实验也会证明此类胺基取代去甲氧基竹红菌素是低毒性化合物。本发明的胺基取代去甲氧基竹红菌素在光疗窗口有强吸收, 光疗窗口的最大摩尔消光系数大于 10^4 L/mol/cm ; 它有很高的单重态氧量子产率其和母体化合物相当; 有较强的电子转移能力, 氧化电位由原来的 1.3 V 降为 0.8 V , 超氧负离子产生能力比母体化合物增加 4 倍; 有较强的光动力作用。我们制备胺基取代去甲氧基竹红菌素的方法简单, 条件温和, 处理简便, 成本低, 有望工业化规模生产。

以竹红菌甲素和竹红菌乙素为原料制备出的各种胺基衍生物, 结构确定, 合成方法简单。

下面结合实施例详述本发明。

实施例 1

竹红菌甲素(HA) 150 毫克(0.28×10^{-3} 摩尔), 大大过量的环戊基胺和 100 毫升苯放入 250 毫升圆底烧瓶中, 电磁搅拌, 反应进行 18 小时。减压蒸去溶剂, 剩余物用适量氯仿萃取数次, 氯仿液用适量水洗三次, 减压浓缩氯仿液, 用硅胶板层析分离, 展开液为环己烷: 乙酸乙酯: 乙醇, 体积比=3:1:0.5。进一步用此法层析纯化, 得到环戊基胺基取代去甲氧基竹红菌甲素。

此化合物的鉴定:

紫外光谱 λ_{max} : 468nm, 581nm, 640nm;

红外光谱 ν_{max} : 3408cm^{-1} , 2920cm^{-1} , 1685cm^{-1} , 1604cm^{-1} ;

核磁共振

$\delta(^1\text{H})$: 6.32(s), 6.80(s), 3.02(s), 2.54(s), 1.79(s), 1.91(s), 4.01(s), 4.07(s), 4.24(s),

1.86(m), 1.66(m), 1.51(m), 1.00(m), 16.07, 15.78ppm;

质谱分析 m/z : 601(M^+), 583 (M^+)

实施例 2

竹红菌乙素(HB)150 毫克(0.28×10^{-3} 摩尔), 大大过量环己基胺和 100 毫升苯放入 250 毫升圆底烧瓶中, 电磁搅拌, 反应进行 16 小时。减压蒸去溶剂, 剩余物用适量氯仿萃取三次, 氯仿液用水洗四次。减压浓缩氯仿液, 用硅胶板层析分离, 展开液

为环己烷：乙酸乙酯：乙醇，体积比=3:1:0.5。进一步用此法层析纯化，得到环己基胺基取代去甲氧基竹红菌乙素。

紫外光谱 $\lambda_{\max}$: 468nm, 579nm, 642nm;

红外光谱 $\nu_{\max}$: 3421 cm^{-1} , 2920 cm^{-1} , 1678 cm^{-1} , 1605 cm^{-1} ;

核磁共振

$\delta(^1\text{H})$: 6.12(s), 6.79(s), 3.05(s), 2.54(s), 1.76(s), 1.89(s), 4.05(s), 4.10(s), 4.21(s),

1.84(m), 1.40(m), 1.26(m), 1.01(m), 16.08, 15.79ppm;

质谱分析 m/z : 597(M^+)

实施例 3

竹红菌乙素(HB) 150 毫克(0.28×10^{-3} 摩尔), 大大过量的环戊基胺和 100 毫升苯放入 250 毫升圆底烧瓶中, 电磁搅拌, 反应进行 18 小时。减压蒸去溶剂, 剩余物用适量氯仿萃取数次, 氯仿液用适量水洗三次, 减压浓缩氯仿液, 用硅胶板层析分离, 展开液为环己烷：乙酸乙酯：乙醇，体积比=3:1:0.5。进一步用此法层析纯化，得到环戊基胺基取代去甲氧基竹红菌乙素。

此化合物的鉴定:

紫外光谱 $\lambda_{\max}$: 466nm, 577nm, 641nm;

红外光谱 $\nu_{\max}$: 3419 cm^{-1} , 2922 cm^{-1} , 1680 cm^{-1} , 1608 cm^{-1} ;

核磁共振

$\delta(^1\text{H})$: 6.32(s), 6.80(s), 3.08(s), 2.55(s), 1.79(s), 1.91(s), 4.01(s), 4.08(s), 4.24(s),

1.86(m), 1.68(m), 1.49(m), 1.00(m), 16.07, 15.78ppm;

质谱分析 m/z : 583(M^+)

实施例 4

竹红菌甲素(HA) 150 毫克(0.28×10^{-3} 摩尔), 大大过量苄胺和 100 毫升吡啶一起放入 250 毫升圆底烧瓶中, 电磁搅拌, 反应进行 15 小时。减压蒸去溶剂, 剩余物用氯仿萃取三次, 氯仿液用水洗三次, 减压浓缩氯仿液, 用硅胶板层析分离, 展开液为环己烷：乙酸乙酯：乙醇，体积比=3:1:0.5。进一步用此法层析纯化，得到苄胺基取代去甲氧基竹红菌甲素。

紫外光谱 $\lambda_{\max}$: 468nm, 623nm;

红外光谱 $\nu_{\max}$: 3438 cm^{-1} , 2942 cm^{-1} , 1683 cm^{-1} , 1605 cm^{-1} ;

核磁共振

$\delta(^1\text{H})$:7.53(m),7.34(m),6.32(s),6.80(s),3.08(s),2.55(s),1.79(s),1.91(s),4.01(s),4.08(s),4.24(s),1.86(m),16.07,15.78ppm;
质谱分析 m/z :621(M^+),603(M^+)。

实施例 5

竹红菌乙素(HB) 150 毫克(0.28×10^{-3} 摩尔),大大过量苄胺和 100 毫升环己烷一起放入 250 毫升圆底烧瓶中,电磁搅拌,反应进行 15 小时。减压蒸去溶剂,剩余物用氯仿萃取三次,氯仿液用水洗三次,减压浓缩氯仿液,用硅胶板层析分离,展开液为环己烷:乙酸乙酯:乙醇,体积比=3:1:0.5。进一步用此法层析纯化,得到苄胺基取代去甲氧基竹红菌乙素。

紫外光谱 λ_{max} :468nm,623nm;

红外光谱 ν_{max} :3438 cm^{-1} ,2942 cm^{-1} ,1683 cm^{-1} ,1605 cm^{-1} ;

核磁共振

$\delta(^1\text{H})$:7.53(m),7.34(m),6.32(s),6.80(s),3.08(s),2.55(s),1.79(s),1.91(s),4.01(s),4.08(s),4.24(s),1.86(m),16.07,15.78ppm;
质谱分析 m/z :603(M^+)。

实施例 6

竹红菌乙素(HB) 150 毫克(0.28×10^{-3} 摩尔),大大过量 3-吡啶甲基胺和 100 毫升吡啶一起放入 250 毫升圆底烧瓶中,电磁搅拌,反应进行 21 小时,减压蒸去溶剂,剩余物用氯仿萃取三次,氯仿液用水洗三次,减压浓缩氯仿液,用硅胶板层析分离,展开液为环己烷:乙酸乙酯:乙醇,体积比=3:1:0.5。进一步用此法层析纯化,得到 3-吡啶甲基胺基取代去甲氧基竹红菌乙素。

紫外光谱 λ_{max} : 471nm,625nm;

红外光谱 ν_{max} : 3435 cm^{-1} ,2940 cm^{-1} ,1682 cm^{-1} ,1604 cm^{-1} ;

核磁共振

$\delta(^1\text{H})$:8.53(s),8.29(d),7.77(m),7.36(d),6.37(s),6.59(s),3.98(s),2.63(s),1.78(s),2.28(s),4.04(s),4.06(s),4.13(s),1.90(m),1.62(m),1.42(m),1.27(m),1.00(m) 16.59, 16.80 ppm;

质谱分析 m/z :603(M^+)。

实施例 7

00:10:25

竹红菌乙素(HB) 150 毫克(0.28×10^{-3} 摩尔), 大大过量 4-吡啶甲基胺和 100 毫升吡啶一起放入 250 毫升圆底烧瓶中, 电磁搅拌, 反应进行 21 小时, 减压蒸去溶剂, 剩余物用氯仿萃取三次, 氯仿液用水洗三次, 减压浓缩氯仿液, 用硅胶板层析分离, 展开液为环己烷: 乙酸乙酯: 乙醇, 体积比=3:1:0.5。进一步用此法层析纯化, 得到 4-吡啶甲基胺基取代去甲氧基竹红菌乙素。

紫外光谱 $\lambda_{\max}$: 398nm, 474nm, 596nm ;

红外光谱 $\nu_{\max}$: 3433cm^{-1} , 2928cm^{-1} , 1680cm^{-1} , 1600cm^{-1} ;

核磁共振

$\delta(^1\text{H})$: 8.56(s), 8.24(d), 7.72(m), 7.28(d), 6.47(s), 6.50(s), 5.25(s), 2.58(s), 2.80(s), 3.90(s), 3.88(s), 3.89(s), 4.02(t), 4.20(t), 16.07ppm;

质谱分析 m/z : 603(M^+)。