



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102718769 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 10

(21) 申请号 201210239241. 2

(22) 申请日 2012. 07. 11

(71) 申请人 上海先辉医药科技有限公司

地址 200433 上海市杨浦区翔殷路 873 弄 7  
号 1602 室

(72) 发明人 陈志龙 叶颖 严懿嘉 陈珍琰

(51) Int. Cl.

*C07D 487/22* (2006. 01)

*A61K 41/00* (2006. 01)

*A61K 31/409* (2006. 01)

*A61P 35/00* (2006. 01)

*A61P 17/00* (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 7 页

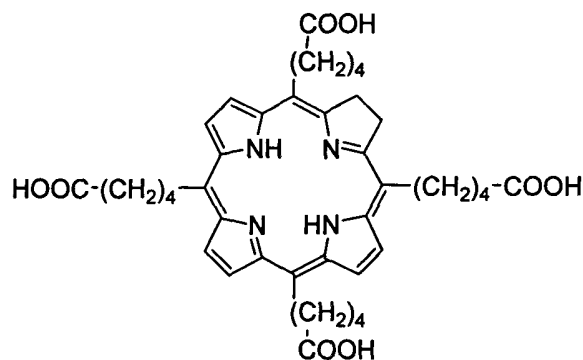
### (54) 发明名称

一种中介四取代二氢卟吩化合物及其在医药领域的应用

### (57) 摘要

本发明涉及一个中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物、其制备方法及其在医药领域的应用,其制备:(1) 以吡咯和 5- 甲氧羰基-1- 戊醛为原料,合成重要的中间体 5,10,15,20- 四-(4- 甲氧羰基丁基)- 卟吩;(2) 在有机溶剂介质中,将 5,10,15,20- 四-(4- 甲氧羰基丁基)- 卟吩在碱性条件下进行水解,制得 5,10,15,20- 四-(4- 羧基丁基)- 卟吩;(3) 5,10,15,20- 四-(4- 羧基丁基)- 卟吩经还原反应,柱层析分离得到目标化合物;此化合物作为光敏剂主要用于治疗肿瘤、鲜红斑痣等疾病。

1. 一个中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物, 其特征在于: 该化合物的化学结构式如式 (I) 所示,



(I)

2. 根据权利要求 1 所述的中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物的制备方法, 包括如下步骤:

(1) 以吡咯和 5- 甲氧羰基 -1- 戊醛为原料, 在 Lewis 酸存在下搅拌, 最后经四氯苯醌氧化, 制备重要的中间体 5, 10, 15, 20- 四 -(4- 羧基丁基) - 卟吩;

(2) 在有机溶剂介质中, 将 5, 10, 15, 20- 四 -(4- 羧基丁基) - 卟吩用碱 (如氢氧化钠或氢氧化钾) 进行水解反应, 制得 5, 10, 15, 20- 四 -(4- 羧基丁基) - 卟吩;

(3) 5, 10, 15, 20- 四 -(4- 羧基丁基) - 卟吩经还原反应, 除去溶剂, 残余物经硅胶柱层析洗脱, 收集产物。

3. 根据权利要求 2 所述的中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物的制备方法, 其特征在于: 所述步骤 (1) 中的 4- 甲氧羰基 -1- 戊醛和吡咯的物质的量之比为 1 ~ 1.2 : 1。

4. 根据权利要求 2 所述的中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物的制备方法, 其特征在于: 所述步骤 (1) 中的 Lewis 酸可以是  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 、丙酸或是蒙脱土 k10。

5. 根据权利要求 2 所述的中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物的制备方法, 其特征在于: 所述步骤 (2) 中的反应温度范围为室温至有机溶剂的回流温度, 有机溶剂为甲醇、乙醇或乙腈。

6. 根据权利要求 2 所述的中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩化合物的制备方法, 其特征在于: 所述步骤 (2) 中水解反应的碱具体为 5% -30% 氢氧化钠或氢氧化钾水溶液。

7. 根据权利要求 2 所述的中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩化合物的制备方法, 其特征在于: 所述步骤 (3) 中的还原剂可以为: 对甲苯磺酰肼和吡啶, 水合肼或硼烷。

8. 根据权利要求 2 所述的中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩化合物的制备方法, 其特征在于: 所述步骤 (3) 中的洗脱液为石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇的混合溶剂。

9. 中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物作为光敏剂主要用于治疗肿瘤与鲜红斑痣等疾病。

## 一种中介四取代二氢卟吩化合物及其在医药领域的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属二氢卟吩类化合物领域,特别是涉及一个中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物、其制备方法及其在医药领域的应用。

### 背景技术

[0002] 光动力疗法(PDT)是近 20 年发展起来的一种最有前途的新技术。自 20 世纪 70 年代进入临床研究以来,已经在肿瘤的治疗上取得了突破进展,目前光动力疗法不仅局限于恶性肿瘤的治疗,在其他多种疾病的治疗中也表现出良好的前景。

[0003] 在光动力治疗中,光敏剂作为能量的载体、反应的桥梁而起着决定性的作用。第一代光敏剂是以 1993 年在荷兰上市的第一个光敏剂 photofrin II 为代表,它是组成复杂的血卟啉衍生物的混合物,其适应症为肿瘤;第二代光敏剂以卟啉类衍生物为主,该类化合物的化学结构明确,有较高的纯度,红光区的吸收较强,同时通过对卟啉环的化学修饰可以调节光敏剂的疏水分配系数,有利于光敏剂在病变组织的吸收和聚积。二代光敏剂中发展的重点之一是二氢卟吩类化合物。这一类化合物主要包括叶绿素类和细菌卟吩,是卟啉结构中一个吡咯环上的双键被还原后的产物。这类化合物具有很好的光物理性质,在可见区吸收波长长且吸收强。从理论角度讲,这类化合物表现出了适合 PDT 药物的特性,具有开发成 PDT 药物的巨大潜力。目前已经上市的二氢卟吩类光动力药物如 Temoporfin(见结构式 II),被广泛的应用于各种肿瘤疾病的治疗中,取得了显著的社会效益与经济效益,应用前景十分可观。但这些药物尚存在某些缺点,如 Temoporfin 周边存在酚羟基,易被氧化,不够稳定。亟待研制疗效好、结构稳定的新光敏剂。

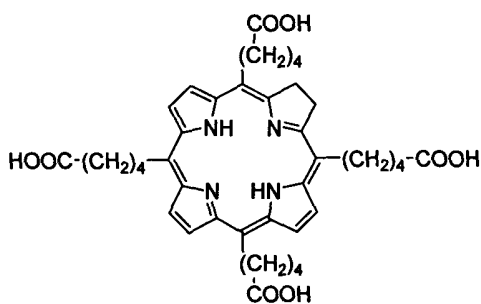
[0004] 人类用光作为医疗技术已经有几千年的历史,但直到 20 世纪 70 年代末 PDT 方得到长足发展。目前 PDT 已广泛应用于肿瘤(如肺癌、皮肤癌、食管癌、膀胱癌、头颈部癌等)、视网膜黄斑变性、光化性角化病、鲜红斑痣、银屑病、类风湿性关节炎、血管成形术后再狭窄等疾患的治疗,应用前景十分可喜。

### 发明内容

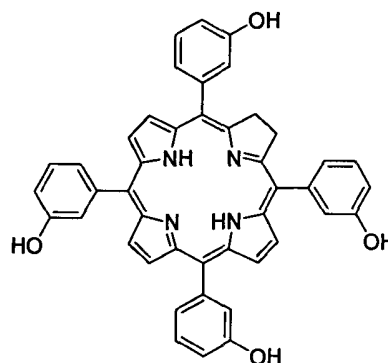
[0005] 本发明的目的是提供一个中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物、其制备方法及其在医药领域的应用。本发明采用从吡咯和 5- 甲氧羰基 -1- 戊醛合成重要中间体 5,10,15,20- 四-(4- 甲氧羰基丁基)-卟吩,然后在碱性条件下水解,最后经还原剂还原得到中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物。该合成路线比较简单,成本较低。

[0006] 本发明的中介位为 4- 羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物,具有分子结构稳定、水溶性好的特点。其化学结构式如式(I)所示,

[0007]



(I)

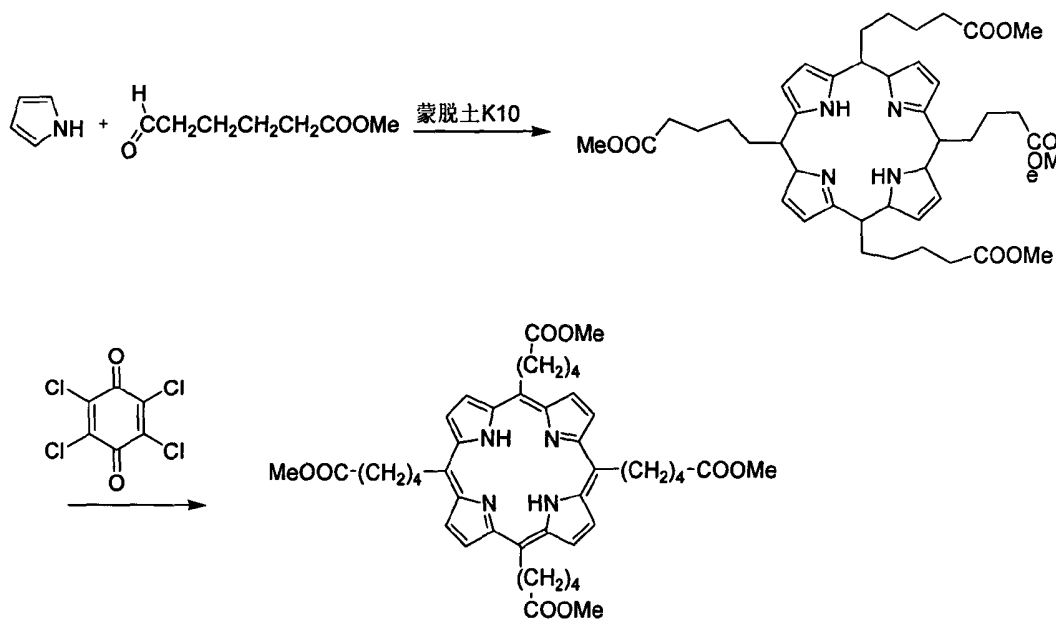


(II)

[0008] 本发明的中介位为 4-羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物的制备方法,包括如下步骤:

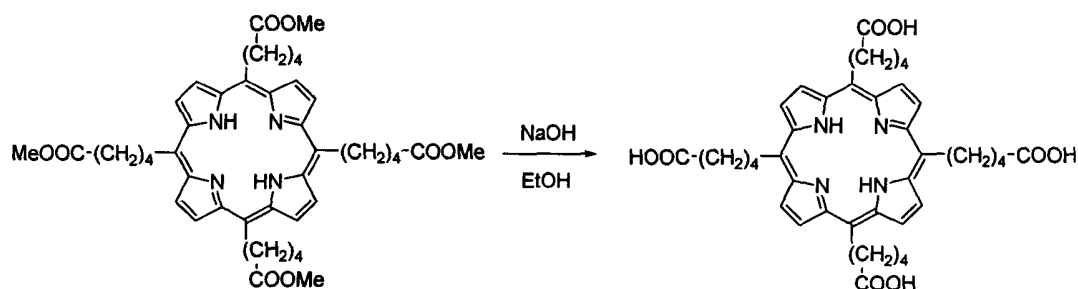
[0009] (1) 以吡咯和 5-甲氧羰基-1-戊醛为原料,在 Lewis 存在下搅拌,最后经四氯苯醌氧化,制备重要的中间体 5,10,15,20-四-(4-甲氧羰基丁基)-卟吩,其反应路线为:

[0010]



[0011] (2) 在有机溶剂介质中,将 5,10,15,20-四-(4-甲氧羰基丁基)-卟吩与氢氧化钠水溶液等碱性溶液进行水解反应,制得 5,10,15,20-四-(4-羧基丁基)-卟吩,其反应路线为:

[0012]



[0013] (3) 5, 10, 15, 20-四-(4-羧基丁基)-卟吩经还原反应, 除去溶剂, 残余物经硅胶柱层析洗脱, 得到中介位为 4-羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物, 其反应路线为:

[0014] 所述步骤 (1) 中的 5-甲氧羰基-1-戊醛和吡咯的物质的量之比为 1 ~ 1.2 : 1; Lewis 酸可以是 BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O、丙酸或是蒙脱土 k10, 其中优选蒙脱土 k10; 四氯苯醌加入后, 有机溶剂回流 1h ~ 2h。

[0015] 所述步骤 (2) 中反应温度范围为室温至有机溶剂的回流温度, 有机溶剂为甲醇、乙醇或乙腈; 水解反应的碱具体为 5% ~ 30% 氢氧化钠或氢氧化钾水溶液。

[0016] 所述步骤 (3) 中的还原剂可以为: 对甲苯磺酰肼和吡啶, 水合肼或硼烷, 其中优选对甲苯磺酰肼和吡啶, 洗脱液为石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇的混合溶剂。

[0017] 本发明的中介位为 4-羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物作为光敏剂主要用于治疗肿瘤、鲜红斑痣等疾病。

[0018] 本发明的有益效果:

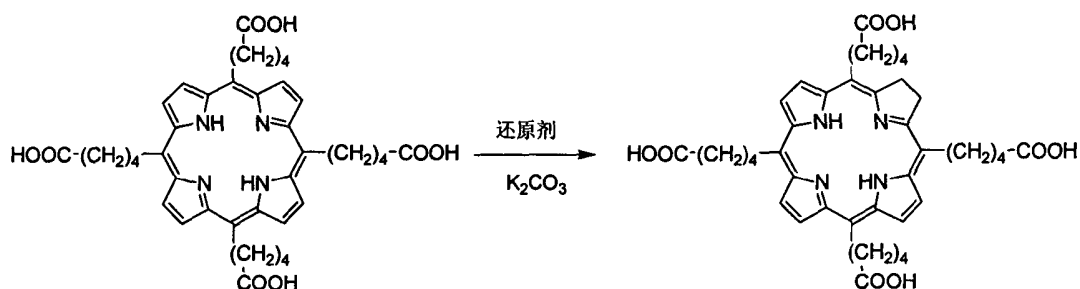
[0019] 本发明的中位为 4-羧基丁基取代的二氢卟吩类化合物在可见光区吸收波长长而且强, 增加了穿透能力, 而且在四吡咯化合物的 5, 10, 15, 20 位引入了化学性质稳定的烷基链与羧基, 提高了其脂溶性和水溶性、提高了稳定性, 有利于光敏剂的制备、储存, 有利于光敏剂通过血液被输送到病灶, 也有利于光敏剂透过细胞壁, 而使其在肿瘤细胞中有较好的选择性吸收, 是较为理想得光敏剂。

[0020] 通过对此种光敏剂对结肠癌细胞的光动力试验发现, 在有光照时, 光敏剂能明显的抑制结肠癌细胞的增殖; 通过对此种光敏剂对小鼠 S<sub>180</sub> 肉瘤的光动力试验发现, 该类光敏剂可明显抑制小鼠 S<sub>180</sub> 肉瘤, 对肿瘤具有显著的杀伤作用, 具有成为光动力抗肿瘤药物的前景。

## 具体实施方式

[0021] 下面结合具体实施例, 进一步阐述本发明。应理解, 这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。此外应理解, 在阅读了本发明讲授的内容之后, 本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改, 这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

[0022]



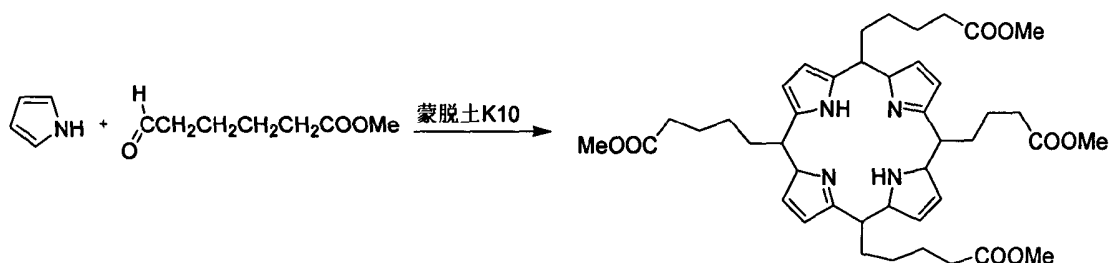
[0023] 实施例 1

[0024] 1. 原料的合成实验

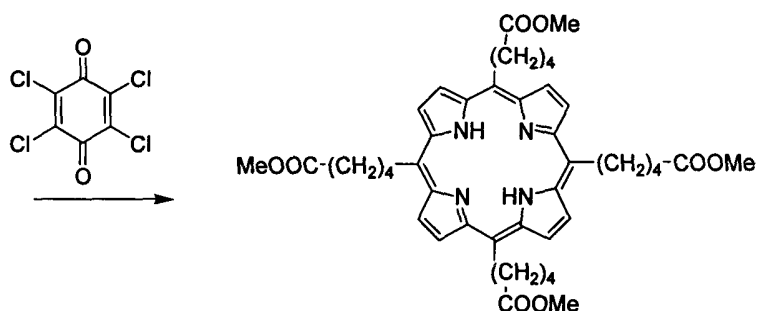
[0025] (1) 5, 10, 15, 20-四-(4-甲氧羰基丁基)-卟吩

[0026] (5, 10, 15, 20-tetrakis(4-methoxycarbonylbutyl)-21H, 23H-Porphine) 的合成:

[0027]



[0028]



[0029] 称取 12g 蒙脱土 k10 于 500mL 三口烧瓶中放入烘箱在 120℃ 下活化 3 小时, 随后将其取出, 搭置好回流装置, 充入氮气, 瓶壁用铝箔包住避光。加入 350mL 二氯甲烷和溶有 5-甲氧羰基-1-戊醛 (3.2g, 21mmol) 的 10mL 二氯甲烷, 搅拌半小时。充分搅拌的情况下, 室温下, 慢慢滴入吡咯 (1.52mL, 22mmol), 继续搅拌 1 小时。然后加入四氯苯醌 (3.87g, 15.75mmol), 45℃ 下回流 1 小时。过滤去除固体粉末, 乙酸乙酯洗滤饼至其无色。将滤液旋干, 乙酸乙酯和石油醚柱层析, 得到 5, 10, 15, 20-四-(4-甲氧羰基丁基)-卟吩 1.0g, 产率 25.0%。

[0030] MS(ESI): 767.4(M+1).

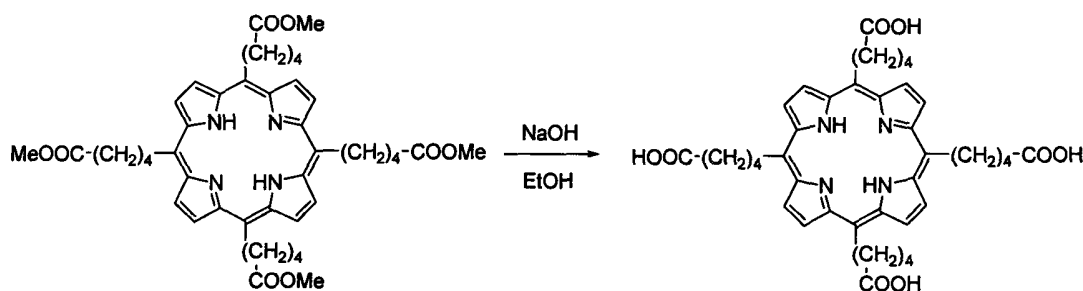
[0031]  $^1\text{H NMR}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): -2.70(s, 2H), 1.86 ~ 1.90(m, 16H), 2.27 ~ 2.67(m, 8H), 4.05(t, 8H), 3.68(s, 12H), 9.37(s, 8H)。

[0032] UV/vis:  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) nm: 420, 531, 567, 673.

[0033] (2) 5, 10, 15, 20-四-(4-羧基丁基)-卟吩

[0034] (5,10,15,20-tetrakis(4-carbonylbutyl)-21H,23H-Porphine) 的合成:

[0035]



[0036] 将 5,10,15,20-四-(4-甲氧羰基丁基)-卟吩 (2g, 2.6mmol) 溶于 100mL 乙醇中, 加入 10% 的氢氧化钠溶液 50mL, 氮气保护下加热回流 2 小时。冷却, 加醋酸中和至 pH4-5, 加入 200mL 乙酸乙酯萃取, 用水洗多次, 再用饱和食盐水洗 2 次, 收集有机相, 加入无水硫酸镁干燥, 过滤, 旋蒸。柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 10 : 1), 得到化合物 5,10,15,20-四-(4-羧基丁基)-卟吩 1.68g, 产率 91%。

[0037] MS (ESI) : 711.3 (M+1).

[0038]  $^1\text{H NMR}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : -2.73 (s, 2H), 1.56 ~ 1.66 (m, 16H), 2.25 ~ 2.36 (m, 8H), 4.06 (t, 8H), 9.38 (s, 8H), 12.31 (s, 4H)。

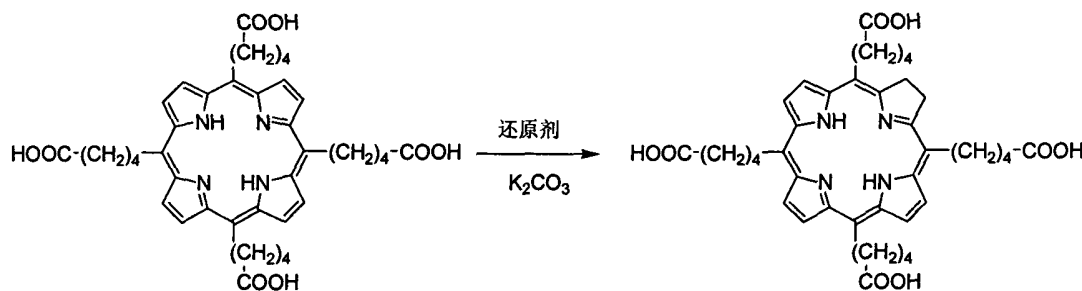
[0039] UV/vis :  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) nm : 421, 530, 568, 672.

[0040] 2. 新光敏剂的合成实验

[0041] 5,10,15,20-四-(4-羧基丁基)-二氢卟吩

[0042] (5,10,15,20-tetrakis(4-carbonylbutyl)-7,8-dihydro-21H,23H-Porphine) 的合成:

[0043]



[0044] 在 250mL 三口烧瓶中, 加入碳酸钾 (653mg), 5,10,15,20-四-(4-羧基丁基)-卟吩 (0.497g, 0.7mmol), 对甲基苯磺酰肼 (212mg, 1.13mmol), 搭好回流装置, 充入氮气保护, 随后加入吡啶 (32mL), 加热回流。隔 2, 4, 6, 8 小时再补加对甲苯磺酰肼 (212mg, 1.13mmol) 和吡啶 (1mL), TLC 监测反应。反应基本结束, 停止加热冷却。加入水 (50mL), 乙酸乙酯 (100mL), 加热至 100℃, 回流一小时。待冷却后, 加入醋酸中和至 pH4-5, 用乙酸乙酯萃取, 水洗三次, 饱和食盐水洗 2 次, 收集有机相, 加入无水硫酸镁干燥, 过滤, 旋蒸。柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 10 : 1), 得 5,10,15,20-四-(4-羧基丁基)-二氢卟吩 369mg, 产率 74%。

[0045] MS (ESI) : 713.3 (M+1).

[0046]  $^1\text{H NMR}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , ppm) : -1.80 (s, 2H), 1.40 ~ 1.59 (m, 16H), 2.25 ~ 2.34 (m, 8H), 4.04 ~ 4.08 (m, 8H), 4.53 (s, 4H), 8.66 (s, 2H), 8.98 (s, 2H), 9.05 (s, 2H), 12.31 (s, 4H)。

[0047] UV/vis  $\lambda_{\max}$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) nm :418, 549, 563, 615, 657.

[0048] 实施例 2

[0049] 1. 光敏剂对结肠癌 SW480 细胞的光动力抗增殖实验

[0050] 受试细胞 :结肠癌细胞 SW480

[0051] 受试药物 :合成的新光敏剂, 血卟啉衍生物 HpD (北京制药工业研究所生产)。

[0052] 光源 :MTZ-1 型脉冲激光治疗机 ;SD2490 型激光功率测量仪。

[0053] 光动力抗肿瘤细胞增殖作用实验 :将处于对数生长期的细胞用胰酶消化后, 完全培养基重悬成细胞悬液, 随之将其接种于 96 孔板, 每孔  $100 \mu\text{L}$ , 置于  $37^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养, 24h 后加入相同浓度五种不同的光敏剂 ;48h 换成新鲜培养基, 然后进行光照 (XD-635AB 型光动力 PDT 激光治疗仪, 功率  $15\text{mW}/\text{cm}^2$ , 波长  $630\text{nm}$ , 辐射细胞  $20\text{min}$ , 光剂量  $18\text{J}/\text{cm}^2$ ) ; 72h 时进行 MTT 检测。培养终止前 4h 加入  $10 \mu\text{L}$   $5\text{mg}/\text{mL}$  的 MTT, 吸弃培养液后加  $100 \mu\text{L}$  DMSO 终止反应, 酶标仪  $570\text{nm}$  检测 OD 值。实验重复三次。实验结果见表 1, 结果发现新光敏剂对结肠癌细胞有显著的光动力抗增殖作用。

[0054] 表 1 光敏剂 1 对 SW480 结肠癌细胞增殖抑制作用

[0055]

化合物	剂量 ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ )	光剂量 ( $\text{J}/\text{cm}^2$ )	OD570	抑制率 (%)
光敏剂 1	1	18	0.212	68.4
	5	18	0.023	96.6
	10	18	0.000	100
HpD	1	18	0.563	16.0
	5	18	0.028	95.8
	10	18	0.001	98.5
空白	0	0	0.670	

[0056] 2. 光敏剂对小鼠  $\text{S}_{180}$  肉瘤的光动力治疗实验

[0057] 受试动物 :远交昆明株小鼠平均体重  $18 \sim 24\text{g}$ ,  $\text{S}_{180}$  肉瘤种鼠 (中国科学院药物研究所提供)

[0058] 受试药物 :光敏剂 1, 在无菌条件下将上述药物溶于最小量吐温 -80 中的生理盐水稀释至  $0.5\text{mg}/\text{mL}$  溶液备用, 血卟啉衍生物 HpD (北京制药工业研究所生产)。

[0059] 光源 :MTZ-1 型脉冲激光治疗机 ;SD2490 型激光功率测量仪。

[0060] 小鼠  $\text{S}_{180}$  肉瘤光动力损伤实验 :无菌条件下于小鼠前胸部皮下接种  $\text{S}_{180}$  肉瘤, 待肿瘤长至直径  $4 \sim 6\text{mm}$  时, 选取生长良好、无溃疡具半球状单一肿瘤的小鼠, 按同窝同性别随机分组, 每组 8 只, 小鼠腹腔注射给药, 并以药物溶剂作为空白对照, 将 HpD 配成相同浓度溶液作为阳性对照, 给药后 2h 用功率密度为  $220\text{mW}/\text{cm}^2$  铜蒸汽 - 染料激光 (波长  $630\text{nm}$ ) 辐射肿瘤  $20\text{min}$  (光剂量  $150\text{J}/\text{cm}^2$ ) ;光照后 5 天, 处死小鼠, 剥离肿瘤, 称重, 并与对照组比较抑制率。

[0061] 肿瘤抑制率% =  $\frac{C-T}{C} \times 100\%$  式中, T :给药组平均瘤重 ;C :对照组平均瘤重



[0062] 实验结果见表 2,表明光敏剂 1 对肿瘤具有显著的光动力抑制作用。

[0063] 表 2 光敏剂 1 对肿瘤的抑制效果

[0064]

化合物	剂量 (mg/Kg)	光剂量 (J/cm <sup>2</sup> )	试验小鼠数 (只)	瘤重 (mg)	抑制率 (%)
光敏剂 1	10	150	8	24.7±9.2	90.0*
HpD	10	150	8	26.4±8.1	89.3*
空白	10	150	8	246.4±23.9	--

[0065] \*P < 0.05 与空白对照比较