

新肿瘤光化学诊治剂(PsD-007)的化学组成的研究

陈文晖* 许德余 殷祥生 (第二军医大学五二三药物研究室, 上海 200433)

摘要 采用反相高效液相色谱法测定了新肿瘤光化学诊治剂(PsD-007)的化学组成, 通过与确认品的对照测定, 进一步阐明了 PsD-007 是由 HP、MHD、AHD、HVD、DMD、MVD 和 Pp 等 7 种不同卟啉所组成, 从而使 PsD-007 成为第一种具有确定的化学组成、各成分化学结构和肿瘤光生物活性成分的肿瘤光化学诊治剂。

关键词 反相高效液相色谱 肿瘤光化学诊治剂(PsD-007) 化学组成

近年来应用血卟啉衍生物(Hematoporphyrin Derivative, HpD)配合激光辐照早期诊断和

治疗恶性肿瘤取得可喜的成就, 激励着人们进一步发展新的理想的肿瘤光化学诊治药物^[1]。但已知国

* 陈文晖 男, 34岁。1982年毕业于南京药学院药学系, 90年获硕士学位, 讲师。

内外临床使用的肿瘤光敏剂如 HpD^[2]、YHpD^[3]、及 Photofrin II^[4]等都是混合卟啉制剂, 它们的肿瘤光生物活性成分尚未完全阐明, 这对于研究它们的光动力作用机理和发展商品成药带来很大限制。因此, 发展组成稳定、肿瘤光生物活性成分结构明确, 最好是单一成分的优良肿瘤光化学诊治药物是当前新的课题。

PsD-007^[5]是我国独立创制的一种新的卟啉类肿瘤光化学诊治剂。实验证明, PsD-007在非细胞体系中的光敏化效应, 对体外培养人癌细胞系的光灭活作用和对不同动物移植瘤的光动力疗效均优于 HpD和Photofrin II。其组成和主要成分的色谱行为和光谱特征亦不同于 HpD 和 PhotofrinII^[6]。作者通过色谱分离技术结合有机波谱测定和确认品合成对照, 证明了 PsD-007 各成分的化学结构, 它是由 7 种不同卟啉化合物所组成。并弄清了其肿瘤光生物活性成分^[7]。本文采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC) 结合对照确认品分析测定 PsD-007 的各组分, 以从色谱角度进一步阐明其化学组成。

1 仪器和试剂

Gilson 高效液相色谱仪(法国产), PsD-007系本室制备^[5], 卟啉化合物 Hp、MHD、AHD、HVD、DMD、MVD 和 Pp 系作者合成制备, 均经 UV、IR、¹H-NMR 和 FAB-MS 等波谱测定, 确证化学结构^[7]; 四氢呋喃(AR); 三重蒸馏水; 冰乙酸(AR); 乙酸钠(AR)

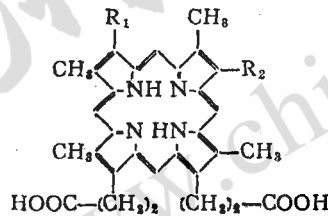
2 色谱条件

Whatman ODS 柱, 0.46 cm × 25 cm; 流动相: 60%(V/V)四氢呋喃水溶液 + 10% 0.2 mol/L 乙酸—乙酸钠缓冲液; 流动相流速: 1 ml/min; 柱温: 20 ± 1°C; 柱压: 25 MPa; 检测波长: 395 nm; 量程: 0.1 AUFS; 纸速: 2 mm/min。

3 方法与结果

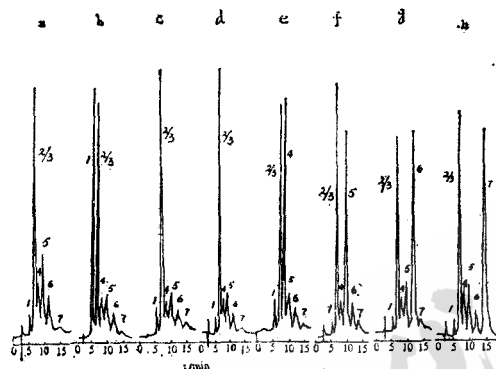
3.1 PsD-007的反相高效液相色谱分析 PsD-007 固体以四氢呋喃溶解, 使成浓度 1 mg/ml, 溶液过滤后进样 5 μl, 以上述色谱条件进行 RP-HPLC 测定, 结果见附图 a。经进一步分离及有机波谱测定, 证明 PsD-007 是由 7 种卟啉化合物所组成(见附表)。

附表 PsD-007 的 7 种组分



组 编	分 号	名 称	结 构		HPLC 保留时间 (min)
			R ₁	R ₂	
1		血卟啉IX(Hp)	OH -CHCH ₃	OH -CHCH ₃	5.42
2		3(8)-0-乙酰基-8(3)- (1-羟乙基)一次卟啉IX(AHD)	OAc OH -CHCH ₃ (-CHCH ₃)	OH OAc -CHCH ₃ (-CHCH ₃)	
3		3(8)-(1-甲氧乙基)-8(3)- (1-羟乙基)一次卟啉IX(MHD)	OCH ₃ OH -CHCH ₃ (-CHCH ₃)	OH OCH ₃ -CHCH ₃ (-CHCH ₃)	7.08
4		3(8)-(1-羟乙基)-8(3)- 乙烯基一次卟啉IX(HVD)	OH -CHCH ₃ (-CH=CH ₂)	OH -CH=CH ₂ (-CHCH ₃)	
5		3,8-二(1-甲氧乙基)- 次卟啉IX(DMD)	OCH ₃ -CHCH ₃	OCH ₃ -CHCH ₃	9.99
6		3(8)-(1-甲氧乙基)-8(3)- 乙烯基次卟啉IX(MVD)	OCH ₃ -CHCH ₃ (-CH=CH ₂)	OCH ₃ -CH=CH ₂ (-CHCH ₃)	
7		原卟啉IX	-CH=CH ₂	-CH=CH ₂	14.70

3.2 PsD-007与对照确认品的反相高效液相色谱分析将上述对照确认品 Hp、MHD、AHD、HVD、DMD、MVD 和 Pp 以四氢呋喃溶解, 分别加至一定量的 PsD-007 四氢呋喃溶液中, 混匀, 过滤后进样, 以上述色谱条件进行 RP-HPLC 分析。实验结果可见, 确认品的色谱峰均与 PsD-007 中相对应的组分峰重叠, 且在此保留时间处的峰面积较 PsD-007 相应组分峰面积增大。(见附图 b~h)



附图 PsD-007及其7种组分的HPLC

- | | |
|-------------------|-------------------|
| a. PsD-007; | b. Hp + PsD-007; |
| c. AHD + PsD-007; | d. MHD + PsD-007; |
| e. HVD + PsD-007; | f. DMD + PsD-007; |
| g. MVD + PsD-007; | h. Pp + PsD-007. |

4 讨论

4.1 实验发现, PsD-007中 HPLC 保留时间为 7.08 min 的 2/3 组分峰与 3(8)-0-乙酰基-8(3)-(1-羟乙基)一次卟啉 IX 确认品的 HPLC 保留时间相同, 但后者经碱溶液处理后, 即在该保留时间处色谱峰消失, 而 PsD-007 经碱溶液处理后, 组分 2/3 峰仍然存在, 唯相对峰面积百分比略有降低, 提示组分 2/3 可能为两种 HPLC 保留时间极为相近的不同成分。经进一步色谱分离获得了组分 2 和组分 3, 通过波谱测定证明了它们分别为 3(8)-0-乙酰基-8(3)-(1-羟乙基)一次卟啉 IX 和 3(8)-(1-甲氧基乙基)-8(3)-(1-羟乙基)次卟啉 IX。确认品与 PsD-007 对比的 RP-HPLC 亦证实了这一点(附图 C、D)。

4.2 虽然已有不少工作阐述 HpD 的化学组成^[2,8], 但已具明确结构的只是三种成分: 血卟啉(Hp)、羟乙基乙烯基次卟啉(HVD)和原卟啉(Pp), 且该 3 种成分均经反复证明对肿瘤无选择性摄入作用^[8]。1981年 Dougherty 等报道 HpD 经凝胶色谱分离后得到了它的主要有效成分 HpDA, 当时被认为是

Hp 和 HVD 的二聚体, 1984 年他们进一步报道称此种二聚体为二血卟啉醚类 (Dihematoporphyrin Ethers, DHE)^[4]。1988 年 Morris 等报道^[9], 已合成得到 DHE, 肿瘤光生物活性测定结果表明, DHE 至多只能是 HpD 或 Photofrin II 中的一种微量成分。从而使 HpD 或 Photofrin II 的有效成分仍为当前的一个待研究的课题。我们通过色谱分离结合有机波谱测定和对照确认品的合成制备, 再经 HPLC 分析测定, 确证了 PsD-007 的化学组成及各成分的化学结构, 使 PsD-007 成为第一种具有确定的化学组成、各成分化学结构及肿瘤光生物活性成分的肿瘤光化学诊治剂。

参考文献

- 1 许德余. 肿瘤光化学诊治药物研究的进展. 医药工业, 1987, 18(1):31
- 2 Bonnett R, Ridge RJ, Scourides PA et al. On the nature of hematoporphyrin derivative. J Chem Soc (Perkin I), 1981, 3135.
- 3 刘永隆, 朱路州, 吴鹏等. 卟啉类光敏药物扬州光卟啉 (YHPD) 的研究, 药化学报, 1985, 20(8):619
- 4 Dougherty TJ, Potter WR and Weishaupt KR. The structure of the active component of HpD. In 'Porphyrins in tumor phototherapy (edited by Adreoni A. et al)'. Plenum Press, New York. 1984, pp. 23—35.
- 5 许德余, 殷祥生, 陈雄等. 新光敏剂 PsD-007 的研究. 第二军医大学学报, 1984, 5(1):31
- 6 马剑文, 刘玉波, 殷祥生等. 高效液相色谱法分析新肿瘤光敏剂 (PsD-007) 及血卟啉衍生物的成分. 药物分析杂志, 1988, 8(2):66
- 7 Chen WH, Yin XS and Xu DY. Separation and identification of the major components of Photocarcinorin and their tumor-photobiological activities. J Med Coll PLA, 1991, 6(4): 309.
- 8 Kessel D. Component of hematoporphyrin derivatives and their tumor localizing capacity. Cancer Res, 1982, 42, 1703.
- 9 Morris IK, Ward AD. The synthesis of dihematoporphyrin ether and related porphyrin dimers. Laser in Medical Science. Abstracts Issue-July, 1988, 51.

收稿日期: 1993-03-05

Studies on Determination of the Chemical composition of the new tumor-photochemodiagnostic & photochemotherapeutic agent (PsD-007)

Chen Wenhui, Xu Deyu, Yin Xiangsheng

(Laboratory for Antimalarial Drug Research, Second Military Medical
University, Shanghai 200433)

Abstract The chemical composition of the new tumor-photochemodiagnostic and photochemotherapeutic agent (PsD-007) was determined by the reversed-phase HPLC. It has been further confirmed by HPLC analysis compared the components of PsD-007 with their corresponding authentic samples obtained by synthetic method, that PsD-007 is composed of 7 different porphyrins, Hp, MHD, AHD, HVD, DMD, MVD and Pp. Thus, PsD-007 becomes the first kind of photochemodiagnostic and photochemotherapeutic agent with definite composition and known structures of all of its components as well as explicit tumor-photobiologically active components.

Key words Reversed-phase HPLC Tumor-photochemodiagnostic and photochemotherapeutic agent (PsD-007) Chemical composition