

# 新型细菌卟吩类衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

吕志卿, 陈贞亮\* (浙江海正药业股份有限公司, 浙江 台州 318000)

**摘要:** 目的 设计、合成新型细菌卟吩类衍生物, 并研究其抗肿瘤效果。方法 以细菌卟吩类化合物为原料, 经还原、溴化后与 2-[4-(羟甲基)苯氧基]乙酸甲酯进行醚化, 随后水解得到目标化合物。采用 NCI-H460 BALB/c 裸鼠移植瘤模型, 检测药物在组织中的分布, 利用光动力治疗法对目标化合物的抗肿瘤效果进行了研究。结果 合成了 1 个全新结构的细菌卟吩类衍生物, 结构经  $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、MS 和 UV 确证, 目标化合物具有较好的组织分布性, 对肿瘤细胞的生长具有较好的抑制作用。结论 细菌卟吩类衍生物结构中引入亲水性基团后, 组织选择性及抗肿瘤效果得到了改善, 值得深入研究。

**关键词:** 细菌卟吩; 合成; 光动力治疗; 抗肿瘤

中图分类号: R914; R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2023)21-2964-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20230430

引用本文: 吕志卿, 陈贞亮. 新型细菌卟吩类衍生物的合成及抗肿瘤活性研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(21): 2964-2971.

## Study on Synthesis and Antitumor Activity of Novel Bacteriochlorin Derivative

LYU Zhiqing, CHEN Zhenliang\* (Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd., Taizhou 318000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To design and synthesize a novel bacteriochlorin derivative and study its antitumor effect. **METHODS** The target compound was synthesized from bacteriochlorin derivative via reduction, bromination after reacted with methyl 2-[4-(hydroxymethyl)phenoxy]acetate via etherification and hydrolysis. NCI-H460 BALB/c nude mice model was used to detect the distribution of drugs in various tissues, the antitumor effect of the target compound was studied by photodynamic therapy. **RESULTS** A novel bacteriochlorin derivative was synthesized, and structure was characterized by  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , MS and UV. The target compound expressed fine distribution in tissues, and it had a great inhibit effect on the growth of tumor cells. **CONCLUSION** After introducing hydrophilic group into the structure of bacteriochlorin derivative, the tissue selectivity and antitumor effect has been improved, which is worthy of further study.

**KEYWORDS:** bacteriochlorin; synthesis; photodynamic therapy; antitumor

含卟啉、二氢卟吩或细菌卟吩等环结构的化合物为叶绿素 a 类化合物, 结构见图 1, 区别在于卟啉环中 4 个吡咯环均为不饱和结构, 二氢卟吩的结构为卟啉环中其中 1 个吡咯的  $\beta$  位双键被还原, 而细菌卟吩的结构为卟啉环中 2 个对位的吡咯  $\beta$  位双键被还原<sup>[1-2]</sup>。结构的差别导致它们的性质发生了明显的改变, 卟啉及二氢卟吩的最大吸收峰波长为 650 nm 左右, 而细菌卟吩的最大吸收波长为 700~900 nm<sup>[3]</sup>, 主要是细菌卟吩环为  $18\pi$  电子共轭大环体系, 符合休克尔  $4n+2$  规则, 具有芳香性, 与卟啉和二氢卟吩相比, 吸收波长发生红移。由于其特殊的性质, 细菌卟吩类衍生物逐步成为在肿瘤的光动力疗法 (photodynamic therapy, PDT) 领域非常有发展潜力的光敏剂<sup>[4-6]</sup>。

PDT 的原理是通过静脉注射药物后, 药物特

异性地聚集在病变组织周围, 通过合适波长的光源照射病变组织, 药物吸收能量后从基态跃迁至高活性的激发态, 并将能量传递给细胞周围的氧分子, 从而产生大量具有强氧化性的活性氧并与周围细胞发生反应, 引起细胞的坏死和凋亡<sup>[7-9]</sup>。



图 1 卟啉、二氢卟吩及细菌卟吩的分子结构

**Fig. 1** Molecular structure of porphyrin, chlorin and bacteriochlorin

目前, 已有多种叶绿素类的光敏剂上市或进入临床试验<sup>[10-12]</sup>, 比如卟啉类的光福啉<sup>[13]</sup>及处于

基金项目: 浙江省科技计划项目(2017C03001)

作者简介: 吕志卿, 男, 硕士, 工程师 E-mail: zqlv@hisunpharm.com

\*通信作者: 陈贞亮, 男, 博士 E-mail: zlchen@hisunpharm.com

临床研究阶段的二氢卟吩类的 HPPH<sup>[14-16]</sup>, 结构见图 2, 它们的最大吸收波长处于 630~670 nm 的可见光及红光区域, 组织穿透深度均<0.5 cm, 治疗后需避光 1~6 周, 而且具有一定的皮肤光毒性, 治疗后皮肤会产生红斑等损伤, 并且存在着一定的耐药性<sup>[17]</sup>。其他处于研究中的卟啉类光敏剂<sup>[18-19]</sup>, 普遍都存在代谢缓慢、避光时间长、皮肤光毒性大等缺点, 最终限制了其在 PDT 领域中的广泛应用。

细菌卟吩类的光敏剂由于吸收波长处于近红外区, 达到近 800 nm, 照射时, 相比较 HPPH, 其表层散射明显减弱, 可以使光更容易穿透组织达到目标肿瘤部位, 从而能产生更多的活性氧, 更利于对组织深处肿瘤的治疗<sup>[20-24]</sup>, 在 PDT 领域具有更好的优势和发展前景。

鉴于此, 为了开发出近红外波段(波长为 800 nm 左右)的新型细菌卟吩类光敏剂, 笔者所在团队以脱镁细菌叶绿素为原料, 制备出 1 个细菌卟吩类化合物 Photobac, 其最大吸收波长为 780 nm, 结构见图 3, 但是其水溶性极差, 代谢缓慢, 稳定性较差。为了改善化合物的水溶性, 加速代谢, 从而缩短避光周期, 本研究对此化合物的结构进行优化, 在不破坏大环骨架的基础上, 在分子中引入亲水性基团——羧基, 期望制备出 1 个全新结构的细菌卟吩类衍生物, 即化合物 V, 并对其药动力学及抗肿瘤效果等方面进行研究。

## 1 仪器与方法

### 1.1 仪器与试剂

AVANCE 400 核磁共振波谱仪(德国 Bruker); Agilent 1260 LC-6540 Q-TOF 液质联用仪(美国 Agilent); SHIMADZU UV2600 紫外可见光谱仪(日本岛津); Rotavapor R-200 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi); DB-2BC 型真空干燥仪(上海精宏实验设备有限公司); DLSB2010 低温恒温槽及磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司); FOBI 小动物活体成像仪(北京安默赛斯科技有限公司); PDT-665 nm

(PDT-780 nm)半导体激光光动力治疗仪[浙江海正(富阳)药业股份有限公司]; 薄层色谱(TLC)硅胶板(青岛海洋化工); 实验所用试剂和溶剂均为市售分析纯或化学纯并直接使用。所有反应通过 TLC 进行监测(波长: 254 nm)。

SPF 级 BALB/c 裸鼠 80 只, ♂, 28~41 d 龄, 饲养温度: 22~26 °C, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物生产许可证号: SCXK(京)2012-0001。

### 1.2 合成

化合物 V 的合成路线见图 4。合成路线分 2 个部分, 第 1 部分以对羟基苯甲醛(I)为原料, 经醚化、还原得到 2-(4-羟甲基)苯氧乙酸甲酯(II)。第 2 部分为以细菌卟啉类衍生物中间体 III 为原料, 通过还原、溴化后与中间体 II 发生醚化、水解反应, 得到化合物 V。

**1.2.1 2-(4-羟甲基)苯氧乙酸甲酯(II)的制备** 向反应瓶中加入对羟基苯甲醛(10 g, 82 mmol), 120 mL 乙腈, 搅拌溶解, 再加入溴乙酸甲酯(10 mL, 105 mmol)和碳酸钾(15 g, 108.5 mmol), 常温搅拌反应, TLC 监控反应。反应结束后, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到黄色油状物, 将油状物转入到反应瓶中, 加入 100 mL 二氯甲烷和 50 mL 甲醇溶解, 搅拌, 冰浴下, 加入硼氢化钠(3.0 g, 79 mmol), 常温搅拌反应, TLC 监控反应。反应结束后, 用 10% 的稀盐酸水溶液淬灭反应, 再加入 150 mL 二氯甲烷和 100 mL 水, 分出有机相, 减压浓缩至干, 用硅胶柱层析法纯化, 洗脱剂及体积比为石油醚-乙酸乙酯=4:1, 得到白色固体 II(8.5 g, 收率: 52.86%)。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.18(s, 1H), 3.77(s, 3H), 4.56(s, 2H), 4.6(s, 2H), 6.85(d, *J*=8.36 Hz, 2H), 7.25(d, *J*=8.28 Hz, 2H); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.30, 64.70, 65.31, 114.63, 128.63, 134.37, 157.25, 169.45。

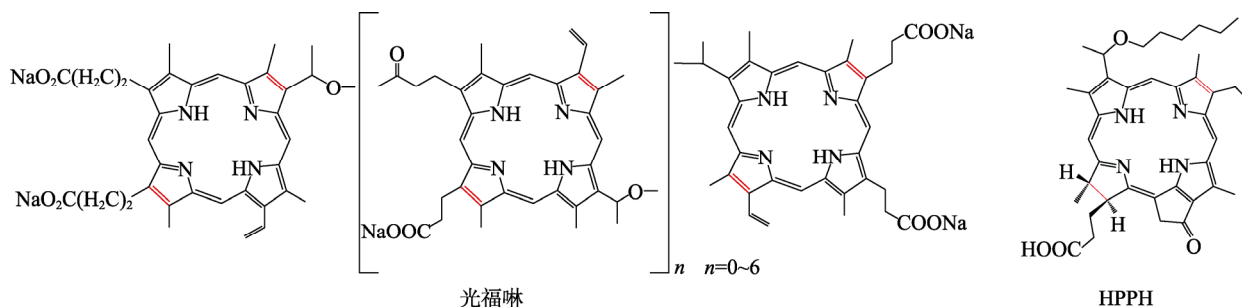


图 2 光福啉及 HPPH 的分子结构

Fig. 2 Molecular structure of photofrin and HPPH

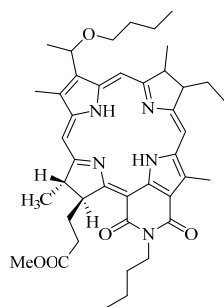


图3 Photobac 的分子结构

Fig. 3 Molecular structure of Photobac

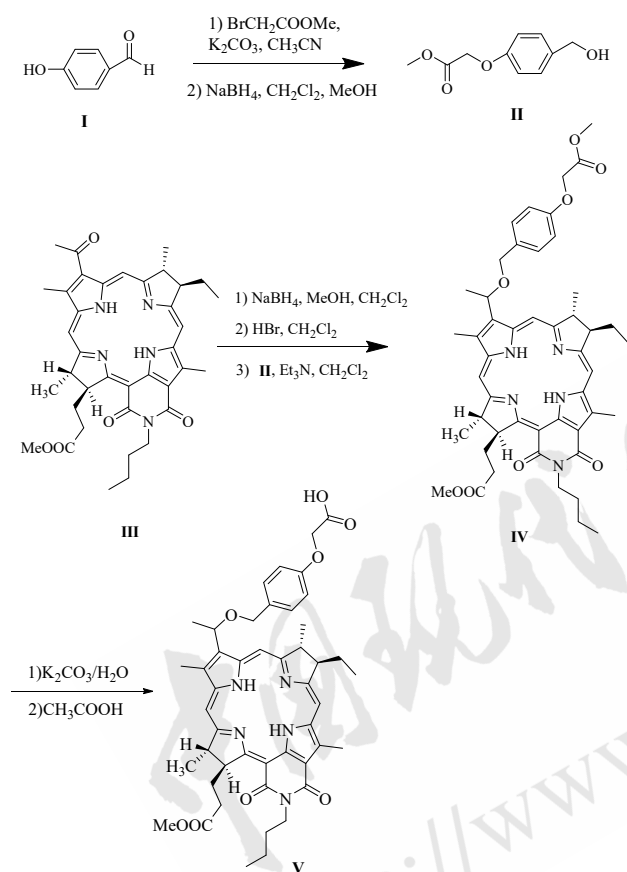


图4 目标化合物 V 的合成路线

Fig. 4 Synthesis route of target compound V

**1.2.2 细菌卟吩类衍生物中间体(III)的制备** 细菌卟吩类衍生物中间体III, 参照文献[25]类似的方法制备。合成方法: 以脱镁细菌叶绿素为起始原料, 在强碱性条件下氧化开环, 经甲酯化、酰胺化、甲基化、脱水等步骤制备得到产物, 总收率约20%。合成路线见图5。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : -0.71(s, 1H), -0.50(s, 1H), 1.09~1.15(m, 6H), 1.61~1.70(m, 2H), 1.76(d,  $J=7.24$  Hz, 3H), 1.84(d,  $J=7.24$  Hz, 3H), 1.94~2.10(m, 4H), 2.32~2.44(m, 3H),

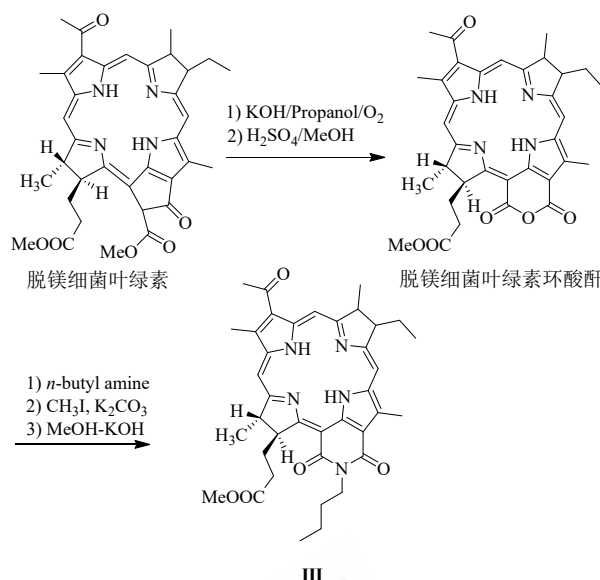


图5 化合物III的合成路线

Fig. 5 Synthesis route of compound III

2.66~2.73(m, 1H), 3.19(s, 3H), 3.57(s, 3H), 3.60(s, 3H), 3.73(s, 3H), 4.10~4.15(m, 1H), 4.27~4.38(m, 2H), 4.46(t,  $J=7.64$  Hz, 2H), 5.32~5.38(m, 1H), 8.66(s, 1H), 8.83(s, 1H), 9.26(s, 1H); ESI-MS( $m/z$ ): 652.28[ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 。

**1.2.3 细菌卟吩类衍生物中间体(IV)的合成** 在反应瓶中, 加入中间体III(1.4 g, 2.15 mmol), 100 mL 二氯甲烷和 10 mL 甲醇, 搅拌溶解, 冰浴下, 加入硼氢化钠(0.815 g, 21.5 mmol), 常温搅拌反应, TLC 监控反应。反应结束后, 用 10% 的稀醋酸水溶液淬灭反应, 接着加入 150 mL 二氯甲烷和 100 mL 水, 分出有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到黑色固体, 直接进行下一步反应; 将固体转入一反应瓶中, 加入 150 mL 二氯甲烷, 缓慢搅拌, 通入溴化氢气体至饱和, 继续搅拌, TLC 监控反应。反应结束后, 减压浓缩至干, 直接进行下一步反应。

将上述所得的浓缩物加至反应瓶中, 加入化合物 2-(4-羟甲基)苯氧乙酸甲酯(II)(1.9 g, 10 mmol), 100 mL 二氯甲烷, 搅拌, 冰浴冷却下, 加入 2 mL(14.35 mmol)三乙胺, 常温反应, TLC 监控反应。反应结束后, 加入 100 mL 二氯甲烷和 100 mL 去离子水, 分出有机相, 减压浓缩至干, 用硅胶柱层析法纯化, 洗脱剂及体积比为二氯甲烷: 丙酮=100:2, 得到黑色固体IV(1.5 g, 收率56.9%), ESI-MS( $m/z$ ): 832.43[ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 。

**1.2.4 细菌卟吩类衍生物(V)的制备** 将化合物IV(1.5 g, 1.8 mmol)加至反应瓶中, 加入 100 mL

乙腈和 40 mL 水, 搅拌, 再加入碳酸钾(3.8 g, 27.5 mmol), 40 °C 搅拌反应, TLC 监控反应。反应结束后, 加入 10% 的乙酸水溶液, 调节 pH 值至 2~3。将反应液转入 1 个 500 mL 的分液漏斗中, 加入 200 mL 乙酸乙酯和 100 mL 去离子水, 分出有机相, 减压浓缩至干, 用硅胶柱层析法纯化, 洗脱剂及体积比为二氯甲烷: 甲醇=100: 10, 得到黑色固体 V(0.8 g, 收率 45.1%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400M Hz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.28(s, 1H), 0.06(s, 1H), 0.90~0.97(m, 6H), 1.36~1.46(m, 2H), 1.58~1.66(m, 6H), 1.70~1.77(m, 3H), 1.83~1.93(m, 4H), 2.17~2.32(m, 3H), 2.47~2.55(m, 1H), 3.22(s, 3H), 3.38(s, 3H), 3.42(s, 3H), 3.84~3.86(m, 1H), 4.02~4.13(m, 3H), 4.24~4.30(m, 1H), 4.43~4.54(m, 2H), 4.64(s, 2H), 5.06(d,  $J=7.96$  Hz, 1H), 5.81~5.86(m, 1H), 6.84~6.86(m, 2H), 7.22(d,  $J=8.08$  Hz, 2H), 8.58~8.61(m, 2H), 8.78(s, 1H), 8.86(s, 1H), 13.01(s, 1H);  $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.77, 11.01, 11.08, 14.27, 20.48, 22.43, 22.81, 23.68, 24.13, 24.36, 29.84, 30.89, 31.33, 32.07, 47.79, 48.76, 51.55, 53.55, 54.58, 64.95, 70.24, 70.49, 71.40, 95.73, 99.28, 101.48, 113.13, 114.62, 128.19, 129.79, 131.03, 131.24, 132.54, 134.06, 138.03, 138.41, 141.58, 157.69, 161.25, 162.84, 167.02, 170.62, 171.37, 171.60, 172.68, 173.43, 175.45。

ESI-MS( $m/z$ ): 818.41[ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ ; UV( $\lambda_{\text{max}}$ , nm): 781.5。

### 1.3 抗肿瘤活性研究

采用人肺癌细胞 NCI-H460 BALB/c 裸鼠移植瘤模型, 采用荧光活体成像法及 HPLC, 检测药物在各组织中的分布, 以模型组和 HPPH 组作为对照, 利用 PDT 对目标化合物 V 的抗肿瘤效果进行了研究。

NCI-H460 裸鼠移植瘤模型的建立: 将 NCI-H460 细胞置于含 10% 胎牛血清、100  $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$  青霉素、100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  链霉素的 RPMI-1640 完全培养液中, 在 5%  $\text{CO}_2$ 、37 °C 饱和湿度恒温培养箱内培养, 取对数生长期细胞种植于裸鼠右前肢腋下, 细胞接种数量为  $2\times 10^6$  个。取接种于裸鼠腋下处于快速增殖期的 NCI-H460 瘤块(3~10 代), 除去肿瘤体中心坏死组织, 将瘤块切成 1 mm $\times$ 1 mm $\times$ 1 mm 的小瘤块, 无菌条件下用套管针接种于裸鼠右前肢皮下, 待瘤体长至 80~150 mm $^3$  后结合体质量开始分组进

行实验, 使每组小鼠体质量和肿瘤体积平均值趋于一致。

**1.3.1 基于荧光活体成像的组织分布试验** 荷瘤裸鼠, 经常规尾静脉注射化合物 V, 剂量为 1  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 分别在给药后 0.5, 2, 6, 24, 48 h 取肝脏、脾脏、肌肉、皮肤和肿瘤, 每个时间点取 5 只, 采用 FOBI 小动物活体成像仪进行活体成像检测, 观察药物在裸鼠肝脏、肿瘤、皮肤、肌肉、脾脏中的荧光强度[成像参数: 激发波长 745~780 nm; 发射波长(820 $\pm$ 25)nm]。

**1.3.2 基于 HPLC 的组织分布试验** 荷瘤裸鼠分成 3 只 1 组, 共 5 组。常规尾静脉注射给药, 心脏穿刺采血, 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-2K)作为抗凝剂抗凝。分别于给药后在设定的各时间点杀死裸鼠取得抗凝血浆、肿瘤、皮肤、肌肉等样本, 给予剂量为 3.0  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的化合物 V 进行匀浆和甲醇沉淀萃取后, 经 HPLC 进行含量的测定[Agilent Technologies 1200 Infinity 色谱仪; 色谱柱: Kromasil 100-5  $\text{C}_{18}$ (4.6 mm $\times$ 250 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ; 检测波长: 410 nm; 流速: 1.5  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 柱温: 25 °C; 流动相: 甲醇: 2% 磷酸水溶液=95: 5, HPLC 经方法学验证, 其中精密度峰面积  $\text{RSD}\leq 2.0\%$ ; 线性相关系数  $R\geq 0.99$ ; 回收率 98.0%~106.0%, 回收率  $\text{RSD}\leq 2.0\%$ , 方法稳定性可行)。

**1.3.3 化合物 V 的剂量及给药时间对裸鼠 NCI-H460 抑瘤率的试验** 按“1.3”项下方法建立 NCI-H460 裸鼠移植瘤模型, 将瘤块接种于裸鼠右前肢皮下, 待瘤体长至 80~150 mm $^3$  后结合体质量开始分组, 分成模型组, HPPH 组(1.5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 化合物 V 0.67, 1.0, 1.5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  组, 每组 8 只, 除模型组外, 各组经尾静脉依次注射上述不同剂量的药物, 用相应波长的光动力治疗仪以一定的照射条件对肿瘤部位进行局部照射, 其中化合物 V 各剂量组使用半导体 780 nm 光动力治疗仪, 于给药 0.5 h 后进行照射治疗, HPPH 组使用半导体 665 nm 光动力治疗仪, 于给药后 24 h 进行照射治疗, 光照强度均为 150  $\text{mw}\cdot\text{cm}^{-2}$ , 能量密度均为 150  $\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ , 光照时长均 15 min。动物光照结束后, 于光照后的第 11 天开始, 每隔 4 d 测量移植瘤体积, 直至第 31 天实验结束, 最后剥离瘤体, 称重并计算抑瘤率。

## 2 结果

### 2.1 化合物 V 的组织分布研究

#### 2.1.1 基于荧光活体成像的组织分布 荷瘤裸鼠



经尾静脉注射后,采用小动物活体成像仪对不同时间点化合物 **V** 在裸鼠活体内组织的分布情况进行观察,成像结果见图 6,对应的荧光强度值见表 1。结果显示,药物主要集中在肝脏组织,但是经 24 h 后,肝脏中含量降低较明显,说明代谢很快;在肿瘤中,2 h 时,荧光强度最大,在 0.5~6 h 均处于较高水平,说明在肿瘤中维持时间较长;2 h 后肌肉中含量较低,说明无蓄积现象;在皮肤中 6 h 后基本排泄完毕,24 h 后几乎无蓄积,意味着皮肤光毒性风险较低。

**2.1.2 基于 HPLC 的组织分布** 将取得的血浆、肿瘤、皮肤、肌肉等组织用甲醇萃取后,经 HPLC 测定含量,研究药物在不同组织的分布及药物浓度-时间关系,测定结果见表 2。可以看出,化合物 **V** 在给药 1 h 后,有比较好的组织分布选择性,并且大多集中在肿瘤及血浆中,其在皮肤中检测量低于定量限,对周围其他组织的损伤减弱,从血浆中的浓度和时间的关系可以看出,药物半衰期较短(1~2 h),再次证明药物代谢较快,也预示

着临床治疗后避光周期较短。

根据文献报道<sup>[26]</sup>及相关的研究表明,HPH 经小鼠尾静脉注射,在 24 h 后,肿瘤和皮肤中含量仍相近,药物的靶向选择性较差,48 h 后,仍可在皮肤组织中检出残留,说明其半衰期较长,代谢缓慢。

结合表 2 的数据及药物浓度和时间的关系,计算出化合物 **V** 在血浆、肿瘤及肝脏中的药动学参数,结果见表 3。

从表 3 可以看出,药物在肿瘤中的半衰期及平均滞留时间均较长,有利于进行 PDT,在血浆和肝脏中的半衰期较短,分别为 1.5 h 及 1.1 h,表明药物在血浆及肝脏中代谢均较快,不良反应较小,同时也降低了代谢毒性对机体的损伤。

## 2.2 目标化合物 **V** 的抑瘤率的研究

动物经 NCI-H460 裸鼠移植瘤模型接种,经 PDT 后,裸鼠活动较模型组明显减少,饮食亦减少,因此,体质量出现下降。11 d 后,给药组裸鼠体质量缓慢回升,20 d 后出现一定程度的波动,

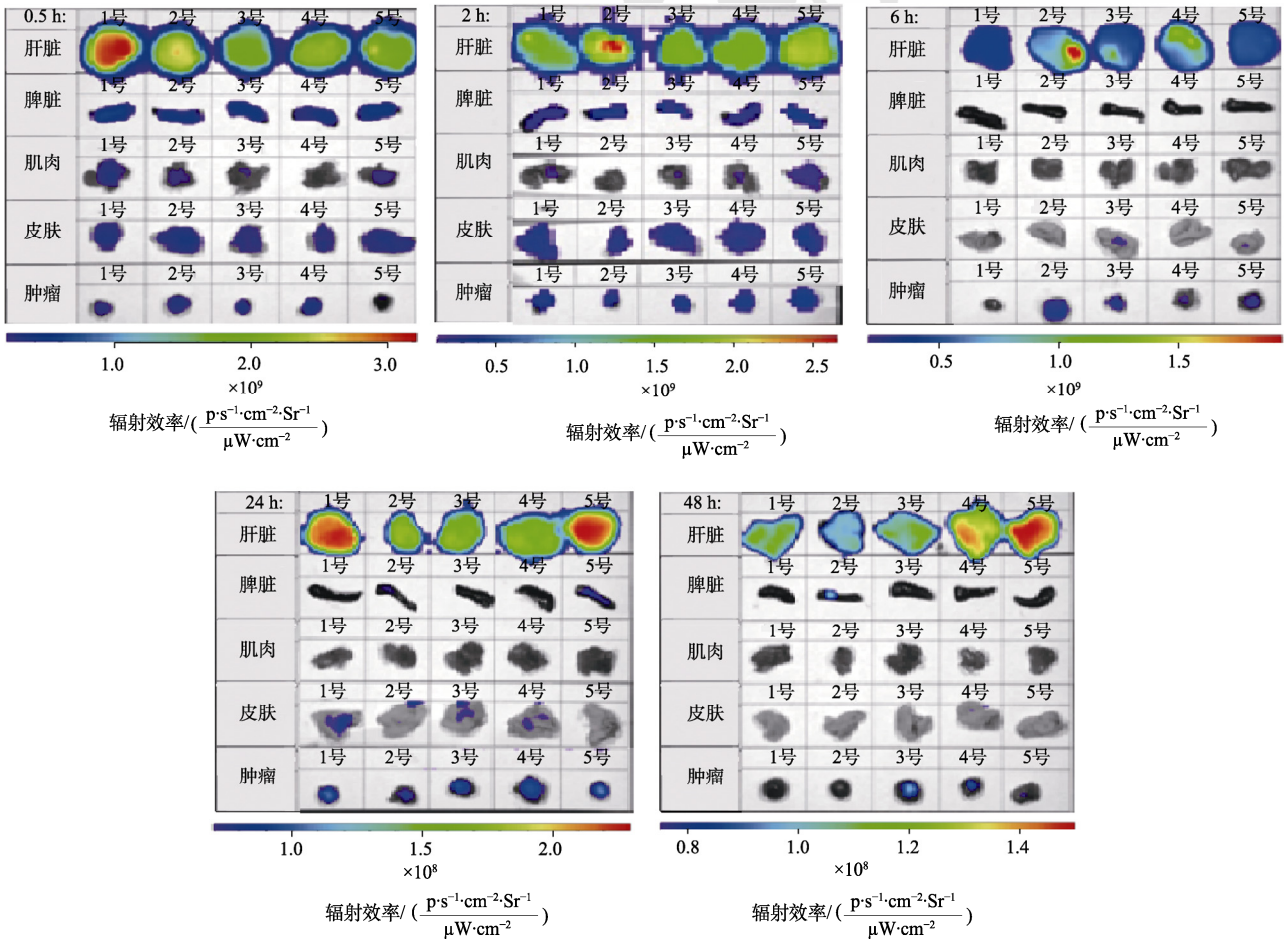


图 6 荷瘤裸鼠在不同时间点的荧光成像图

Fig. 6 Fluorescence imaging map of tumor bearing nude mice at different times

表 1 各分布组织不同时间点的荧光强度( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )  
Tab. 1 Fluorescence intensity at different time in various tissues( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )  $\times 10^8$

脏器	0.5 h	2 h	6 h	24 h	48 h
肝脏	23.89±5.34	17.91±2.30	7.34±3.29	1.92±0.27	1.18±0.22
脾脏	6.44±1.22	3.13±0.77	2.00±0.00	0.70±0.00	0.75±0.00
肌肉	3.35±1.30	1.13±0.29	2.00±0.00	0.70±0.00	0.75±0.00
皮肤	6.08±0.54	6.12±0.63	2.00±0.00	0.71±0.02	0.75±0.00
肿瘤	3.21±0.91	4.52±1.26	3.04±0.86	1.00±0.11	0.79±0.08

表 2 化合物 V 在各组织中的含量  
Tab. 2 Content of compound V in various tissues  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$

时间/h	血浆	肝脏	肿瘤	皮肤	肌肉
1	7 217	4 552	401	BLOQ	BLOQ
2	2 600	2 134	255	BLOQ	BLOQ
4	911	640	212	BLOQ	BLOQ
8	108	BLOQ	141	BLOQ	BLOQ
12	29.8	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ

注: BLOQ 表示含量极低, 大大低于定量限。  
Note: BLOQ meant the content of the compound was extremely low, far below the limit of quantitation.

表 3 化合物 V 的药动学参数  
Tab. 3 Pharmacokinetics parameters of compound V

药动学参数	血浆	肿瘤	肝脏
$\text{Ke}/\text{h}^{-1}$	0.453	0.099	0.647
$t_{1/2}/\text{h}$	1.5	7.0	1.1
$\text{AUC}_{0-\infty}/\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	24 358	2 017	13 248
$\text{AUC}_{0-12}/\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	24 424	3 438	14 238
$\text{AUMC}_{0-\infty}/\text{ng} \cdot \text{h}^2 \cdot \text{mL}^{-1}$	30 120	5 966	13 514
$\text{AUMC}_{0-12}/\text{ng} \cdot \text{h}^2 \cdot \text{mL}^{-1}$	31 055	31 662	19 004
$\text{MRT}_{\text{iv}}/\text{h}$	1.3	9.2	1.3
$\text{CL}/\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	2.05	14.5	3.51

但是总体影响较小, 体质量影响无明显的规律, 总体处于较平稳的波动范围, 裸鼠体质量随时间的变化关系见图 7。

在各时间点测量移植瘤体积, 考察不同剂量的化合物 V 对 NCI-H460 移植瘤体积的影响, 并与 HPPH 的治疗效果进行对比, 结果见表 4。

由于 780 nm 波长的光穿透性更强, 表现为化合物 V 各剂量组经照射后的初期, 瘤体、瘤体表

表 4 不同剂量的化合物 V 治疗的 NCI-H460 移植瘤体积( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Tab. 4	Volume of NCI-H460 transplanted tumor treated with different doses of compound V( $\bar{x} \pm s$ , $n=8$ )							$\text{mm}^3$
组别	0 d	11 d	15 d	19 d	23 d	27 d	31 d	
模型组	118.20±55.54	463.19±210.91	702.43±319.72	976.05±408.47	1 242.65±587.46	1 647.16±775.62	2 033.04±1 444.94	
HPPH 组	122.93±45.45	191.62±132.46	276.57±187.60	487.11±256.65	694.39±360.42	1 073.35±703.52	1 490.10±1 162.70	
化合物 V(0.67 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	121.58±48.56	63.95±76.75	40.50±69.10	108.23±162.39	152.57±258.80	268.28±330.02	428.85±564.26	
化合物 V(1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	118.85±56.18	—	—	—	8.25±16.49	62.39±61.02	139.76±147.62	
化合物 V(1.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	121.70±66.12	—	3.33±9.41	24.36±38.26	85.77±129.66	189.67±163.37	346.39±259.02	

面以及瘤体周边皮肤会出现黑化现象, 导致肿瘤界限不清, 同时给瘤体测量造成困难, 因此,

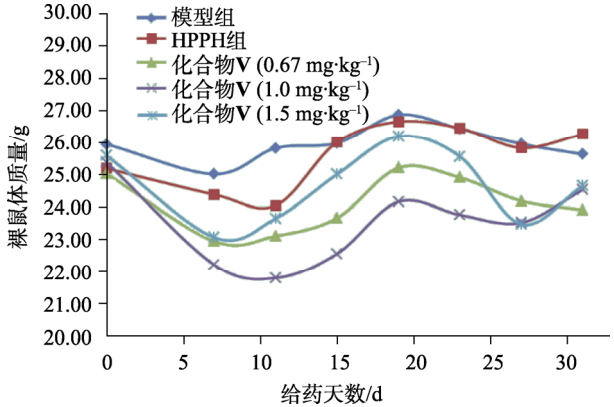


图 7 裸鼠体质量-时间关系图( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )  
Fig. 7 Body weight-time curve of nude mice( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

化合物 V 在剂量为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 未对 11~19 d 的肿瘤体积进行统计, 剂量为  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 未对 11 d 的肿瘤体积进行统计, 而只对剂量为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时的各时间点进行了统计。

结果显示, 化合物 V 在剂量为  $0.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 经 PDT 治疗后, 肿瘤体积逐渐减小, 在 15 d 时肿瘤体积达到最小值, 此后, 肿瘤体积逐渐变大; 化合物 V 在剂量为  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 同样在 15 d 后肿瘤体积逐渐增加, HPPH 同样体现了抑制肿瘤生长的作用, 但仅使肿瘤生长速度变得缓慢, 并未使肿瘤体积变小。

试验结束后, 剥离瘤体并称重, 计算抑瘤率, 结果见表 5, 终点时裸鼠瘤体照片见图 8。

结果显示, 与 HPPH 组相比, 化合物 V 各剂量组对 NCI-H460 移植瘤的肿瘤生长表现出更好的抑制作用, 且抑制率均  $>80\%$ , 特别是剂量为  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 抑瘤率达到  $91.06\%$ , 因此, 化合物 V 在抑制 NCI-H460 移植瘤的肿瘤生长方面具有很大的优势。

### 3 讨论

基于分子设计的理念, 在不改变细菌卟吩类

表 5 不同剂量的化合物 V 对 NCI-H460 移植瘤的抑瘤率 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 5 Inhibitory rate of compound V with different doses on NCI-H460 transplanted tumor ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	死亡数/ 试验数	平均瘤重/g	抑瘤率/%
模型组	1/8	1.590 1±0.917 2	—
HPPH 组	2/8	1.236 6±0.793 9	22.23
化合物 V(0.67 mg·kg <sup>-1</sup> )	0/8	0.267 9±0.214 6	83.15
化合物 V(1.0 mg·kg <sup>-1</sup> )	4/8	0.142 2±0.115 9	91.06
化合物 V(1.5 mg·kg <sup>-1</sup> )	0/8	0.240 1±0.195 8	84.90

注: 抑瘤率(%)=[(模型组的平均瘤重-实验组的平均瘤重)/实验组的平均瘤重]×100%。

Note: Tumor growth inhibition value(%)=[average tumor weight of model group-average tumor weight of experimental group/average tumor weight of experimental group]×100%.

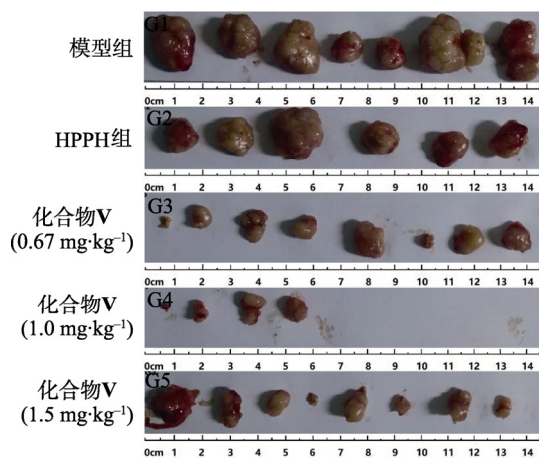


图 8 裸鼠肿瘤照片(31 d)

Fig. 8 Images of tumors of nude mice(31 d)

大环骨架的基础上, 通过对大环侧链进行结构的修饰和改进, 在侧链中引入了含苯氧乙酸的水溶性基团, 合成了新型的细菌卟吩类衍生物 V, 通过 <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、MS(ESI)及 UV 对其结构进行确证。化合物 V 增加水溶性后, 在皮肤、肌肉组织的分布量极少, 与已上市的同类药物或 HPPH 相比, 靶向性更佳, 组织选择性更好, 半衰期缩短, 代谢更快, 抗肿瘤疗效得到了较大的改善。在设定的给药剂量区间内, 化合物 V 体现了对 NCI-H460 裸鼠移植瘤肿瘤抑制效应, 证明了其有效性, 其抑瘤率显著高于 HPPH。

此外, 化合物 V 的最大吸收波长为 781 nm, 波长越长, 散射越弱, 透射光强度越强, 对组织的穿透力越强, 可以对较深层的肿瘤细胞进行杀灭, 因此, 本研究可以为肿瘤的 PDT 深度治疗研究提供参考, 也为进一步探索发现新型的含细菌卟吩类衍生物提供了设计思路。

## REFERENCES

- [1] ROBINSON B C, BARKIGIA K M, RENNER M W, et al. Molecular structure and spectroscopy of a bacteriopurpurin. A new class of bacteriochlorin photosensitizers[J]. J Phys Chem B, 1999, 103(34): 7324-7328.
- [2] SUN E J, YU M, QI Y J, et al. Progress on the syntheses of bacteriochlorins[J]. Chem Reag(化学试剂), 2014, 36(9): 769-774, 787.
- [3] BONNETT R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy[J]. Chem Soc Rev, 1995, 24(1): 19-33.
- [4] LUO T K, NI K Y, CULBERT A, et al. Nanoscale metal-organic frameworks stabilize bacteriochlorins for type I and type II photodynamic therapy[J]. J Am Chem Soc, 2020, 142(16): 7334-7339.
- [5] HARADA T, SANO K, SATO K, et al. Activatable organic near-infrared fluorescent probes based on a bacteriochlorin platform: Synthesis and multicolor *in vivo* imaging with a single excitation[J]. Bioconjug Chem, 2014, 25(2): 362-369.
- [6] PATEL N, PERA P, JOSHI P, et al. Highly effective dual-function near-infrared(NIR) photosensitizer for fluorescence imaging and photodynamic therapy (PDT) of cancer[J]. J Med Chem, 2016, 59(21): 9774-9787.
- [7] HAN X B, ZHENG Y H, YANG L M. Advancement of photosensitizers for photodynamic therapy[J]. J Shanghai Univ(上海大学学报: 自然科学版), 2017, 23(2): 169-178.
- [8] WONG T W, WANG Y Y, SHEU H M, et al. Bactericidal effects of toluidine blue-mediated photodynamic action on *Vibrio vulnificus*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(3): 895-902.
- [9] POGUE B W, O'HARA J A, DEMIDENKO E, et al. Photodynamic therapy with verteporfin in the radiation-induced fibrosarcoma-1 tumor causes enhanced radiation sensitivity[J]. Cancer Res, 2003, 63(5): 1025-1033.
- [10] KIM J, SHAMUL J G, SHAH S R, et al. Verteporfin-loaded poly(ethylene glycol)-poly(beta-amino ester)-poly(ethylene glycol) triblock micelles for cancer therapy[J]. Biomacromolecules, 2018, 19(8): 3361-3370.
- [11] VALLINAYAGAM R, SCHMITT F, BARGE J, et al. Glycoside esters of 5-aminolevulinic acid for photodynamic therapy of cancer[J]. Bioconjug Chem, 2008, 19(4): 821-839.
- [12] ZHANG D D, LI W N, MEI W J, et al. Studies on the target of photodynamic therapy with porphyrin derivatives as photosensitizer[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(4): 445-449.
- [13] WEISHAUP T K R, DOUGHERTY T J, POTTER W R. Purified hematoporphyrin derivative for diagnosis and treatment of tumors, and method: USA, WO8401382 (A1)[P]. 1984-04-12.
- [14] PALLEMBERG A J, DOBHAL M P, PANDEY R K. Efficient synthesis of pyropheophorbide-a and its derivatives[J]. Org Process Res Dev, 2004, 8(2): 287-290.
- [15] PANDEY R K, DOUGHERTY T J, PALLEMBERG A J. Efficient synthesis of pyropheophorbide a and its derivatives: US20040044198[P]. 2004-03-04.
- [16] CHEN Z, LYU Z, BAI H. Purification method of HPPH:

CN108586468A[P]. 2020-06-23.

- [17] GUO D R, LIU B B, ZHANG T T, et al. Research progress of chlorin E6 and its photodynamic therapy on tumor[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2022, 39(14): 1908-1916.
- [18] PANDEY R K, POTTER W R, DOUGHERTY T J. Fluorinated photosensitizers related to chlorins and bacteriochlorins for photodynamic therapy: US7166719[P]. 2007-01-23.
- [19] PANDEY S K, SAJJAD M, CHEN Y H, et al. Compared to purpurinimides, the pyropheophorbide containing an iodobenzyl group showed enhanced PDT efficacy and tumor imaging (124I-PET) ability[J]. Bioconjug Chem, 2009, 20(2): 274-282.
- [20] CHEN Y H, POTTER W R, MISSERT J R, et al. Comparative *in vitro* and *in vivo* studies on long-wavelength photosensitizers derived from bacteriopurpurinimide and Bacteriochlorin p6: Fused imide ring enhances the *in vivo* PDT efficacy[J]. Bioconjug Chem, 2007, 18(5): 1460-1473.
- [21] KOZYREV A, ETHIRAJAN M, CHEN P, et al. Synthesis, photophysical and electrochemistry of near-IR absorbing bacteriochlorins related to bacteriochlorophyll A[J]. J Org Chem, 2012, 77(22): 10260-10271.
- [22] PATEL N, PERA P, JOSHI P, et al. Highly effective dual-function near-infrared (NIR) photosensitizer for fluorescence imaging and photodynamic therapy (PDT) of cancer[J]. J Med Chem, 2016, 59(21): 9774-9787.
- [23] OTVAGIN V F, KUZMINA N S, KUDRIASHOVA E S, et al. Conjugates of porphyrinoid-based photosensitizers with cytotoxic drugs: Current progress and future directions toward selective photodynamic therapy[J]. J Med Chem, 2022, 65(3): 1695-1734.
- [24] CHERUKU R R, CACACCIO J, DURRANI F A, et al. Synthesis, tumor specificity, and photosensitizing efficacy of erlotinib-conjugated chlorins and bacteriochlorins: Identification of a highly effective candidate for photodynamic therapy of cancer[J]. J Med Chem, 2021, 64(1): 741-767.
- [25] PATEL N, PERA P, JOSHI P, et al. Highly effective dual-function near-infrared (NIR) photosensitizer for fluorescence imaging and photodynamic therapy of cancer[J]. J Med Chem, 2016, 59(21): 9774-9787.
- [26] SRIVATSAN A, ETHIRAJAN M, PANDEY S K, et al. Conjugation of cRGD peptide to chlorophyll a based photosensitizer (HPPH) alters its pharmacokinetics with enhanced tumor-imaging and photosensitizing (PDT) efficacy[J]. Mol Pharm, 2011, 8(4): 1186-1197.

收稿日期: 2023-02-21

(本文责编: 李艳芳)