

· 论著 ·

## 光敏剂二氢卟吩 f 的合成工艺优化

韩贵焱<sup>1</sup>, 孟志<sup>1</sup>, 刘明辉<sup>2</sup>, 刘俊宏<sup>1</sup>, 盛春泉<sup>1</sup>, 姚建忠<sup>1,2</sup> (1. 第二军医大学药学院, 上海, 200433; 2. 福建中医药大学药学院, 福建 福州, 350108)

**[摘要]** 目的 改进光敏剂二氢卟吩 f(1)的制备工艺。方法 采用“一锅法”,以脱镁叶绿酸 a(3)为原料,在氢氧化钾醇液中通 O<sub>2</sub>使 E 环氧化开裂后直接回流降解,制得化合物 1。选择氧化开环反应时间、醇的种类、碱浓度及回流反应时间为影响 1 合成产率的 4 个主要考察因素,每个因素各取 3 个水平,采用正交试验设计优化制备 1 的反应条件。结果 3 粗品经 10 倍质量的 25% 氢氧化钾乙醇液于 0 °C 下通 O<sub>2</sub>反应 30 min 后,迅速通 N<sub>2</sub>回流反应 20 min,最终经硅胶 H 柱色谱分离制得 1,产率达 40.8%。结论 该工艺具有操作安全、简便、收率高等优点。

**[关键词]** 光敏剂;二氢卟吩 f;正交试验;工艺优化

**[中图分类号]** R914.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)02-0135-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.02.010

## Optimization of synthesis process of photosensitizer chlorin f

HAN Guiyan<sup>1</sup>, MENG Zhi<sup>1</sup>, LIU Minghui<sup>2</sup>, LIU Junhong<sup>1</sup>, SHENG Chunquan<sup>1</sup>, YAO Jianzhong<sup>1,2</sup> (1. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China)

**[Abstract]** **Objective** To improve the synthesis process of chlorine f (1). **Methods** A "one-pot" method was applied to prepare Photosensitizer component (1), using pheophorbide a (3) as raw material by oxidating and cracking of the E-ring of (3) with bubbling oxygen in alcoholic solution of potassium hydroxide at 0 °C followed by refluxing in nitrogen atmosphere. In order to obtain the optimal synthetic procedure, the orthogonal experimental design of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) was adopted to investigate three different levels of four main factors *i.e.* ring opening reaction time, alcoholic variety, alkali concentration and refluxing reaction time. **Results** The target compound (1) was optimizedly synthesized through treatment of raw material (3) with bubbling oxygen in 25% ethanol solution of potassium hydroxide at 0°C for 30 min, followed by refluxing in nitrogen atmosphere for 20 min in yield of 40.8%. **Conclusion** The procedure developed has some advantages of simple and safty operation, and high synthetic yield.

**[Key words]** photosensitizer; chlorin f; orthogonal experimental design; process improvement

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是起源于 20 世纪 70 年代末的肿瘤治疗新技术,即选择性摄入肿瘤组织的光敏剂(photosensitizer, PS)在特殊波长的光照射下,由吸收光能后的激发三线态光敏剂分子与组织中的基态氧相互作用,产生单线态氧或超氧阴离子自由基等具有细胞毒作用的活性氧物质,最终导致肿瘤细胞坏死或凋亡而发挥治疗作用。光敏剂、光和组织中的氧是 PDT 的三大要素,其中,光敏剂是 PDT 的核心<sup>[1,2]</sup>。二氢卟吩类

光敏剂具有结构明确、红光区最大吸收波长较长、摩尔消光系数高、光敏作用强、体内清除快及滞留光毒性小等优点,已成为新一代 PDT 光敏新药研究的热点之一<sup>[3,4]</sup>。

二氢卟吩 f(1)为叶绿素 a 的稳定降解产物,研究表明<sup>[5-8]</sup>,1 及其衍生物对小鼠肉瘤-180 移植瘤具有显著的 PDT 疗效,有希望成为光动力治癌候选药物。文献[9]曾初步优化获得 1 的制备反应条件,即以蚕沙叶绿素 a 粗提物(糊状叶绿素)经酸降解制得的脱镁叶绿酸 a(3)粗品为原料,用 30% (W/V)氢氧化钾甲醇液于 0 °C 条件下通 O<sub>2</sub>反应 1 h,生成紫红素-7(2)后,立即通 N<sub>2</sub>煮沸,回流反应 0.5 h,制得目标产物 1(图 1),但反应收率偏低,为 36.7%。本研究采用正交试验设计,优化 1 的合成反应条件,提高工艺收率,以满足工业化生产需求。

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81172950),上海市科委重点科技攻关项目(11431920401)

**[作者简介]** 韩贵焱,硕士研究生. E-mail: ahanguiyang@163.com

**[通讯作者]** 姚建忠,教授. 研究方向:光敏抗肿瘤药物研究. Tel: (021)81871235; E-mail: yaojz@sh163.net

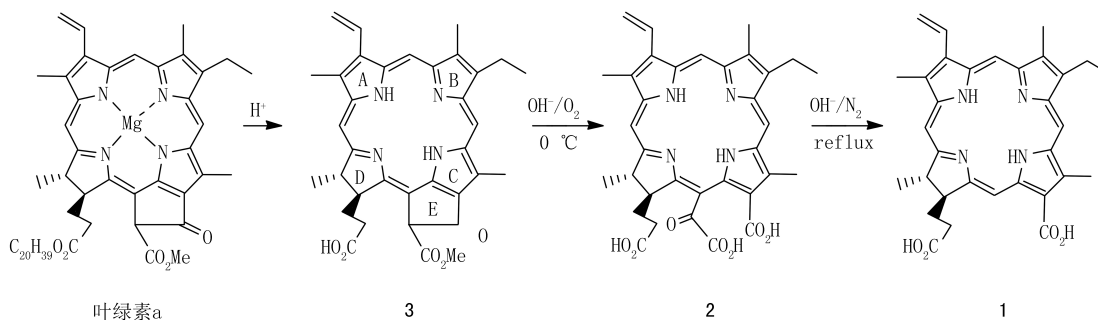


图 1 二氢吡吩 f(1)的合成

## 1 材料与仪器

测定 HPLC 用 Water-600 型高效液相仪(美国),分离柱:ZORBAX ODS 柱(0.46 cm×25 cm),流动相:60% THF 水溶液+10% 0.2 mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液,流速:1 ml/min,检测波长:401 nm,灵敏度:0.1 AUFS;糊状叶绿素(浙江省海宁市天然色素厂);化合物 **3** 粗品按文献[5]方法制备;柱层析硅胶 H(60 型,青岛海洋化工集团公司);氢氧化钾、甲醇、乙醇、丙醇(国药集团化学试剂有限公司)等所用化学试剂均为市售分析纯。

## 2 方法

**2.1 正交试验设计** 运用  $L_9(3^4)$  正交试验设计<sup>[10]</sup>对中间体 **3** 粗品合成目标化合物 **1** 的两步反应工艺进行优化。根据反应原理并参照文献[5, 9]方法,采用“一锅法”,**3** 在氢氧化钾醇液中通  $O_2$  将 E 环氧化开裂生成 **2** 后,直接在  $N_2$  保护下回流降解制得化合物 **1**(图 1)。在 **3** 粗品与氢氧化钾的质量投料比确定为 1:10 的条件下,进一步考察影响目标物 **1** 合成收率的开环反应时间(A)、醇种类(B)、碱浓度(C)和回流反应时间(D)4 个主要因素,每个因素各取 3 个水平(表 1)。

表 1 正交试验设计因素水平表

水平	因素			
	A 开环反应时间 (t/min)	B 醇种类	C 碱浓度 (W/V %)	D 回流反应 时间(t/min)
1	30	甲醇	30	40
2	60	乙醇	25	30
3	120	丙醇	15	20

**2.2 二氢吡吩 f(1)的合成** 称取 X 克同一批号 **3** 粗品(HPLC 检测纯度为 55%),加入事先  $O_2$  饱和的 10 倍质量 KOH 溶于某醇(A)而制成的某浓度

(W/V),B)碱溶液,在  $0\text{ }^\circ\text{C}$  下通  $O_2$  反应一定时间(C)后,再通  $N_2$  迅速煮沸,回流反应一定时间(D),停止反应,待反应液冷却后,加 2 倍反应液体积的水稀释,用 2 mol/L HCl 调节 pH 值至 5~6,静置,过滤,收集滤饼,室温真空干燥,得黑色粉末 **1** 粗品。经硅胶 H 柱色谱分离得二氢吡吩 f 纯品(HPLC 检测纯度 $\geq 95\%$ )。

## 3 结果

**3.1 二氢吡吩 f(1)合成反应条件的优化** 采用表 1 相应条件,按  $L_9(3^4)$  正交表的试验顺序重复进行 3 次平行试验。每次试验取中间体 **3** 粗品 3.0 g (HPLC 检测为 55%,理论上含 **3** 纯品 1.65 g),均得到性状稳定的 **1** 粗品约 2.7 g,并采用 HPLC 法测定 **1** 粗品的纯度来衡量制备 **1** 产率的高低。

正交试验计算结果及极差分析数据见表 2。 $L_9(3^4)$  正交表除各因子列外,缺少空白列对照,因此,采用重复试验方差分析方法<sup>[11]</sup>,各因子列对应的方差分析数据结果见表 3。

由表 3 方差分析结果可知,因素 A、B、C、D 均显著影响化合物 **1** 的产率。同时,由表 2 极差(R)分析数据进一步显示,各因素均影响 **1** 的产率,且影响程度以  $B > C > D > A$  的顺序递减,正交试验计算结果(K)更直观地提示我们,制备目标产物 **1** 的理想条件应为  $B_2 C_1 D_3 A_1$ ,但考虑到  $C_2$  条件下,化合物 **1** 的收率较  $C_1$  差别不大,因此,为节约原材料成本,选择  $B_2 C_2 D_3 A_1$  为化合物 **1** 的最优制备条件。

**3.2 二氢吡吩 f(1)最优合成反应条件的验证** 以同一批号的 **3** 粗品 12.0 g (HPLC 检测纯度为 55%,理论上内含纯品 6.6 g,11.15 mmol)按上述最优反应条件,即加入事先  $O_2$  饱和的 25% (W/V) 的氢氧化钾乙醇液 480 ml, $0\text{ }^\circ\text{C}$  下通  $O_2$  搅拌反应 30 min 后,迅速通  $N_2$  回流反应 20 min,停止反应,待反应液冷却后,加 2 倍反应液体积的水稀释,以

表2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验结果及极差分析数据

试验号	A 因素	B 因素	C 因素	D 因素	相对含量 (%)			合计	平均相对含量 (%)
1	1	1	1	1	51.0	52.5	53.4	156.9	52.3
2	1	2	2	2	57.2	58.7	57.5	173.4	57.8
3	1	3	3	3	29.0	30.7	27.6	87.3	29.1
4	2	1	2	3	57.9	55.8	56.1	169.8	56.6
5	2	2	3	1	32.4	35.3	34.9	102.6	34.5
6	2	3	1	2	36.7	36.2	40.8	113.7	35.7
7	3	1	3	2	35.7	38.2	37.7	111.6	37.2
8	3	2	1	3	59.5	60.6	61.1	181.2	60.4
9	3	3	2	1	32.9	33.1	34.5	100.5	33.5
K <sub>1</sub>	139.2	146.1	148.4	120.3					
K <sub>2</sub>	126.8	152.7	147.9	130.7					
K <sub>3</sub>	131.1	98.3	100.8	146.1					
k <sub>1</sub>	46.4	48.7	49.5	40.1					
k <sub>2</sub>	42.3	50.9	49.3	43.6					
k <sub>3</sub>	43.7	32.8	33.6	48.7					
R	4.1	18.1	15.9	8.6					

表3 方差分析结果

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	60.54	2	30.27	12.76	P<0.005
B	1604.22	2	802.11	338.13	P<0.005
C	1588.02	2	794.01	334.71	P<0.005
D	340.62	2	170.31	71.79	P<0.005
SS <sub>e2</sub>	42.7	18	2.372		

$$F_{0.005(2,18)} = 7.21$$

2 mol/L HCl 调节 pH 值至 5~6, 静置, 过滤, 收集滤饼, 室温真空干燥, 重复试验 3 批, 平均每批得到性状稳定的黑色粉末 1 粗品 10.8 g (HPLC 检测纯度平均为 61.6%)。

**3.3 二氢卟吩 f(1) 的色谱制备** 采用硅胶 H 柱色谱分离方法, 以氯仿-甲醇-甲酸(14:1:0.1, V/V/V) 为流动相, 分离上述 3 批 1 粗品, 平均每批得 1 纯品 2.55 g (HPLC 检测纯度为 98.4%), 平均制备工艺收率为 40.8%。

#### 4 讨论

本研究运用正交试验设计方法, 对文献报道的“一锅法”制备 1 的工艺进行改进, 优化获得的工艺条件为 B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>A<sub>1</sub>, 即 3 粗品 (HPLC 检测纯度为 55%) 经 10 倍质量的 25% 氢氧化钾乙醇液于 0 °C 下通 O<sub>2</sub> 反应 30 min 后, 迅速通 N<sub>2</sub> 回流反应 20 min, 最后经硅胶 H 柱色谱分离, 可制得性状稳定的 1, HPLC 检测纯度 ≥ 98%, 产率达 40.8%。与文献[9]报道的合成方法相比, 该工艺将有毒溶剂甲醇替换为乙醇, 有效提高了工艺安全性, 并减少了碱及醇的用量, 同时还缩短了氧化开环和回流反应时间, 工艺产率也由

36.7% 提高至 40.8%, 从而为较大规模制备光敏剂 1 奠定了坚实的基础。

#### 【参考文献】

- [1] Agostinis P, Berg K, Cengel KA, et al. Photodynamic therapy of cancer: an update[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(4): 250-281.
- [2] Kamkaew A, Lim SH, Lee HB, et al. BODIPY dyes in photodynamic therapy[J]. Chem Soc Rev, 2013, 42(1): 77-88.
- [3] Oliveira KT, Momo PB, Assis FF, et al. Chlorins: natural sources, synthetic developments and main applications [J]. Current Organic Synthesis, 2014, 11(1): 42-58.
- [4] Zhang JL, Deng L, Yao JZ, et al. Synthesis and photobiological study of a novel chlorin photosensitizer BCPD-18MA for photodynamic therapy[J]. Bioorg Med Chem, 2011, 19(18): 5520-5528.
- [5] 姚建忠, 贺祥, 沈卫镛, 等. 二氢卟吩 f 的合成及肿瘤光生物活性[J]. 中国药理学杂志, 1999, 34(12): 846-848.
- [6] 姚建忠, 陈文辉, 贺祥, 等. 二氢卟吩 F 甲醚的合成及其光敏化力和肿瘤光生物活性[J]. 药学报, 2000, 35(1): 63-66.
- [7] 姚建忠, 沈卫镛, 刘建飞, 等. 2-(1-羟基)乙基二氢卟吩 f 及其醚衍生物对小鼠肉瘤 180 移植瘤的光化学治疗作用[J]. 中国激光医学杂志, 2000, 9(4): 228-230.
- [8] 姚建忠, 刘建飞, 张万年, 等. 2-(1-羟基)乙基二氢卟吩 f 及其醚衍生物的合成和肿瘤光生物活性[J]. 中国药物化学杂志, 2001, 11(1): 1-4.
- [9] 姚建忠, 张万年, 王小燕, 等. 正交实验设计优化二氢卟吩 f 的制备反应条件[J]. 数理医药学杂志, 2002, 15(4): 361-362.
- [10] 周怀梧. 医药用数理统计[M]. 济南: 山东教育出版社, 1986: 148.
- [11] 马志庆, 周介南. 医药数理统计. 4 版.[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 174-177.

【收稿日期】 2015-11-30 【修回日期】 2016-01-06  
【本文编辑】 李睿旻