

# 双巯基乙酸取代竹红菌乙素光合成条件的优化

乔 瑞<sup>1</sup>, 张淑萍<sup>1</sup>, 邵思常<sup>1</sup>, 程宝荣<sup>2</sup>, 周家宏<sup>2</sup>

(1. 阜阳师范学院化学化工学院, 安徽 阜阳 236041)

(2 南京师范大学分析测试中心, 江苏 南京 210097)

[关键词] 竹红菌乙素, 光合成, 条件优化

[中图分类号] O657 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2009)04-0145-04

竹红菌素 (Hypocrellins) 是从生长在我国云南和四川等地的箭竹上的一种寄生真菌——竹红菌 (*Hypocrella Bambuse*) 中提取的天然色素, 属于蒽醌类光敏剂. 天然竹红菌素包括竹红菌甲素 (Hypocrellin A, HA) 和竹红菌乙素 (Hypocrellin B, HB), 二者的结构如图 1. 在碱性条件下, HA 通过脱水转化为 HB.

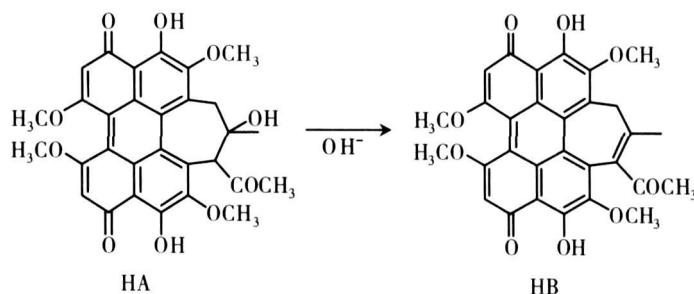


图 1 竹红菌甲素和竹红菌乙素的结构

Fig.1 The structure of hypocrellin A and hypocrellin B

作为一种非卟啉类的光动力抗肿瘤药物, 竹红菌素与已商品化的 Photofrin<sup>®</sup> 相比, 具有原料易得易纯化、易结构修饰、三重态量子产率高、光毒性高、暗毒性低、从正常组织的排除速度快等优点<sup>[1-5]</sup>, 是一种很有应用前景的光疗药物, 引起了国内外多个研究小组的兴趣. 但是它存在光疗窗口吸收强度不高和水溶性差等缺点, 这些限制了其在光动力疗法领域中的应用. 为此, 研究工作者通过化学或物理的方法来提高竹红菌乙素的光动力效率, 如结构修饰和物理包裹<sup>[6-10]</sup>等. 在结构修饰研究方面, 最近的研究报道大多是以巯基乙酸取代的竹红菌乙素为中间体, 通过对其进一步的结构修饰来获得了多个竹红菌乙素的衍生物<sup>[11-14]</sup>, 由此可见, 巯基乙酸取代的竹红菌乙素已经成为对竹红菌乙素进行结构修饰的重要中间体. 巯基乙酸取代的竹红菌乙素类中间体有 5 位、8 位单取代混合物和 5, 8 双巯基乙酸取代竹红菌乙素 (DMHB) 等, 其中 5 位、8 位单取代同分异构体的混合物目前没有合适的手段来实现二者的分离, 使得所制得的衍生物难以准确分析其光疗机理, 导致其在合成新型竹红菌乙素衍生物研究领域中的应用受到明显限制, 而 5, 8 双巯基乙酸取代的竹红菌乙素虽然是单一组分, 但是目前该中间体的产率很低, 只有 18%<sup>[11-14]</sup>, 限制了其在进一步合成中的使用. 因此, 为了能使其在新型竹红菌乙素衍生物研究领域中得到广泛的应用, 有必要对其光反应的条件进行优化, 有效地提高其产率.

本文在合成 DMHB 的基础上, 分别对该反应条件中的反应物摩尔比、气流种类与流量等条件进行了优化, 获得了最佳反应条件, 将其产率从文献报道的 18% 提高到 45%.

收稿日期: 2009-03-07

基金项目: 国家自然科学基金 (20603018)、安徽高校省级自然科学研究重点项目 (KJ2009A047Z) 资助项目.

通讯联系人: 周家宏, 副教授, 研究方向: 光化学. E-mail: zhoujiahong@njnu.edu.cn

1 实验部分

1.1 试剂

巯基乙酸为 Acros 产品, 其余溶剂均为北京化学试剂公司的分析纯试剂, 使用前未经任何处理. 检测反应和分离产物所用的薄层层析硅胶板均为自制的酸性硅胶板. HB 由 HA 脱水制得, 经丙酮重结晶 2 次后使用.

1.2 仪器

核磁共振波谱仪为 Bruker DPX-400 测定, 采用氘代氯仿为溶剂, 四甲基硅烷 (TMS) 为内标. 质谱分析采用 Bruker Daltonics Inc. BIFLEX III 型 MALDI-TOF 质谱仪测定.

光反应装置为外置式光反应装置, 光源为 450 W 中压钠灯 (利用玻璃滤光片截断 470 nm 以下的光), 外加冷却套, 用流动水进行冷却.

1.3 双巯基乙酸取代的竹红菌乙素 (DMHB) 的合成

将 HB 60 mg (10 mmol) 加入装有 150 mL 乙醇-乙醇钠缓冲溶液 (体积比 3/1, pH = 11) 的三口瓶中 (三口瓶需用水浴冷却), 待其溶解后再加入 3.5 mL 巯基乙酸, 同时通入气体, 进行光照. 光反应过程中, 利用薄层色谱随时跟踪检测反应进度. 待 HB 反应完全后, 用稀盐酸将溶液的 pH 调至 6, 三氯甲烷萃取, 萃取液用水洗 4 次后, 加入无水硫酸钠干燥过夜, 最后用自制的酸性硅胶板进行分离, 展开剂为三氯甲烷/甲醇 (体积比 245/6). 最终产物氢谱的数据为  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.95 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.71 (d, H-13a,  $J_{AB} = 12.5 \text{ Hz}$ , 1H), 3.62 (d, H-13b,  $J_{AB} = 12.5 \text{ Hz}$ , 1H), 3.83 (m, 4H), 3.86 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 4.13 (s, 3H), 4.16 (s, 3H), 15.80 (s, 1H), 15.70 (s, 1H), 质谱数据为: MALDI-TOF-MS: 708.2 ( $[M+1]^+$ ), 均与文献值一致<sup>[5]</sup>.

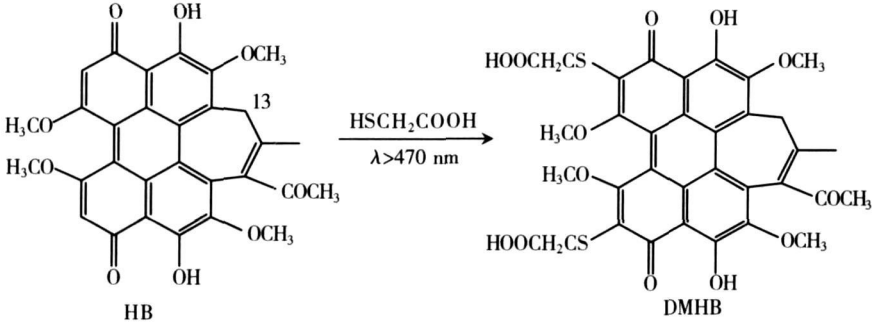


图 2 5,8-双巯基乙酸取代的竹红菌乙素的反应方程式  
Fig.2 The interaction equation of 5,8-thioglyalic acid-substituted hypocrellin B

2 结果与讨论

2.1 气流的影响

在光反应的过程中, 向反应体系中分别通入流量不同的氩气、氮气、空气和氧气, 比较在不同气源和不同气流的情况下, 中间体 DMHB 产率的变化情况 (表 1). 由表中的数据可以看出, 该光反应只有在有氧气存在的条件下才可以顺利进行. 另外, 对照实验表明, 在反应的过程中加入硝基甲烷等自由基猝灭剂不会影响其反应的进行, 说明该反应不是通过自由基机制进行的<sup>[15]</sup>, 而是巯基化合物与竹红菌乙素发生还原性亲核加成反应, 反应经历了醌羰基的还原和氧化 2 个步骤<sup>[16, 17]</sup>.

表 1 DMHB 产率随气体种类和流量的变化情况

	Ar	N <sub>2</sub>	Air	O <sub>2</sub>
2.5 mL/min	-	-	0.196	0.031
5.0 mL/min	-	-	0.231	0.055
7.5 mL/min	-	-	0.382	0.072
10.0 mL/min	-	-	0.379	0.096
12.5 mL/min	-	-	0.381	0.074

氧气存在的必要性是由于在该实验条件下 ( $\text{pH} = 11$ ), 巯基乙酸中的巯基成为巯基负离子, 可以与竹红菌乙素发生 Michael 加成反应, 反应生成的氢醌并不能被竹红菌乙素自身所氧化, 只有在反应体系存在氧的时候, 才可以保证反应的顺利进行。

另外, 从表 1 中的数据还可以发现, 通入空气条件下的 DMHB 产率要明显高于通入氧气条件下的 DMHB 产率, 即 DMHB 的产率并没有随着体系中氧气浓度的升高而增加, 这是由于在碱性条件下, 氧分子可以将巯基负离子氧化成二硫化物和烷基磺酸<sup>[18-19]</sup>, 从而降低了巯基负离子的有效浓度, 不利于其与竹红菌乙素的反应。此外, 氧还可以通过能量转移和电子转移消耗竹红菌乙素的激发态, 同时产生的活性氧又可以加速巯基化合物的氧化过程。由此可见, 虽然氧气的存在是该光反应顺利进行所必需的条件, 但也不是体系中氧气浓度越大越好, 即氧气在该反应体系中的作用是一把“双刃剑”。

## 2.2 反应物的化学计量比

根据文献报道, 反应体系中的巯基乙酸只有在过量 100 倍的条件下, 该反应才可能顺利进行。因此, 我们在空气流量为  $7.5 \text{ mL/min}$  的条件下, 比较了巯基乙酸与竹红菌乙素之间不同的摩尔比对 DMHB 产率的影响 (图 3)。结果表明在空气流量为  $7.5 \text{ mL/min}$  的情况下, DMHB 产率在一定程度随着反应物之间的摩尔比的增大而升高, 当摩尔比大于 500 以后, DMHB 产率几乎没有明显变化。

## 3 结论

在制备 DMHB 的基础上, 对其反应条件进行了优化, 得到最佳的反应条件为: 气源为空气, 流量为  $7.5 \text{ mL/min}$ , 巯基乙酸与竹红菌乙素的摩尔比为 500 此时 DMHB 产率可由原先文献报道的 18% 提高到 45%。

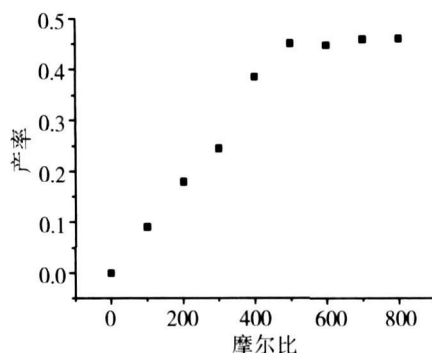


图 3 DMHB 的产率随反应物摩尔比的变化

Fig.3 The change of the yield rate of DMHB with the reactants' molar ratio

## [参考文献]

- [1] Miller G G, Brown K, Ballangrud M, et al. Preclinical assessment of hypocrellin B and hypocrellin B derivatives as sensitizers for photodynamic therapy of cancer: progress update[J]. Photochem Photobiol, 1997, 65(4): 714-722.
- [2] Zhang J, Cao E H, Li J F, et al. Photodynamic effects of hypocrellin A on three human malignant cell lines by inducing apoptotic cell death[J]. J Photochem Photobiol B Biol, 1998, 43(2): 106-111.
- [3] Fehr M J, Carpenter S L, Wannemuehler Y, et al. Roles of oxygen and photoinduced acidification in the light-dependent antiviral activity of hypocrellin A[J]. Biochemistry, 1995, 34(38): 15845-15848.
- [4] Diwu Z, Zimmermann J, Meyer T, et al. Design, synthesis and investigation of mechanisms of action of novel protein kinase C inhibitors: perylenequinoid pigments[J]. Biochem Pharmacol, 1994, 47(2): 373-385.
- [5] Diwu Z J. Novel therapeutic and diagnostic applications of hypocrellins and hyperocins[J]. Photochem Photobiol, 1995, 61(6): 529-539.
- [6] Zhou J H, Xia S Q, Chen J R, et al. The photodynamic property improvement of hypocrellin A by chelation with lanthanum ions[J]. Chem Commun, 2003, 21(12): 1372-1373.
- [7] Song Y Z, An J Y, Jiang L J. ESR studies of the photodynamic properties of a long-wavelength and water-soluble hypocrellin B derivative: photogeneration of semiquinone radical anion and activated oxygen[J]. J Photochem Photobiol A: Chem, 1999, 123(1): 39-46.
- [8] Xu S J, Chen S, Zhang M H, et al. A novel method for the preparation of an ino-substituted hypocrellin B[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2001, 11(15): 2045-2047.
- [9] Xu S J, Chen S, Zhang M H, et al. Cyclohexyl ino-demethoxy-hypocrellin B and photodynamic therapy decreases human cancer in vitro[J]. Anti-cancer Drug Des, 2001, 16(6): 271-277.
- [10] Zhou J H, Zhou L, Dong C, et al. Preparation and photodynamic properties of water-soluble hypocrellin A-silica nanospheres[J]. Mater Lett, 2008, 62(17/18): 2910-2913.

- [ 11 ] He Y Y, An J Y, Jiang L J. Synthesis and ESR investigation of hypocrellin glycoside[ J]. Tetrahedron Lett. 1998, 39(28): 5 069-5 072.
- [ 12 ] Ou Z Z, Chen J R, Wang X S, et al. Synthesis of a water-soluble cyclodextrin modified hypocrellin and ESR study of its photodynamic therapy properties[ J]. New J Chem, 2002, 26( 9): 1 130-1 136.
- [ 13 ] Ou Z Z, Chen J R, Wang X S, et al. Synthesis and photodynamic therapy properties of a water-soluble hypocrellin modified by cyclodextrin[ J]. Chem Lett. 2001, 30( 8): 838-839.
- [ 14 ] Xia S Q, Zhou J H, Chen J R, et al. A tyrosine-modified hypocrellin B with affinity for and photodamaging ability towards calf thymus DNA[ J]. Chem Commun. 2003, 7( 1): 2 900-2 901.
- [ 15 ] 何玉英. 竹红菌类光敏剂的设计、合成、光物理、光化学及生物[ D]. 北京: 中国科学院理化技术研究所, 1999.
- [ 16 ] Chambers J Q. The Chemistry of Quinoid Compound[M]. London: Wiley-Interscience, 1974. 1 112-1 123.
- [ 17 ] He Y Y, An J Y, Jiang L J. Photoreactions of hypocrellin B with thiol compounds[ J]. J Photochem Photobiol B Biol. 1998, 44( 1): 45-52.
- [ 18 ] Gennari G, Cauzzo G, Jori G. Future studies on the crystal-violet-sensitized photooxidation of cysteine to cysteic acid[ J]. Photochem Photobiol. 1974, 20( 6): 497-500.
- [ 19 ] Spikes J D. Selectivity photooxidation of thiol sensitized by aqueous suspension of cadmium sulfide[ J]. Photochem Photobiol. 1981, 34( 5): 359-366.

[ 责任编辑: 顾晓天 ]