

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>7</sup>

C07D487/22  
A61K 39/395

# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98804869.8

[43]公开日 2000年5月31日

[11]公开号 CN 1255135A

[22]申请日 1998.4.29 [21]申请号 98804869.8

[30]优先权

[32]1997.5.7 [33]US[31]08/852,326

[32]1997.8.26 [33]US[31]08/918,840

[86]国际申请 PCT/CA98/00425 1998.4.29

[87]国际公布 WO98/50386 英 1998.11.12

[85]进入国家阶段日期 1999.11.8

[71]申请人 不列颠哥伦比亚省大学

地址 加拿大不列颠哥伦比亚省

[72]发明人 E·斯滕伯格 D·多尔芬

J·G·利维 A·M·里克特

A·托维

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 章鸣玉

权利要求书 6 页 说明书 15 页 附图页数 5 页

[54]发明名称 新一类的苯并卟啉光活性化合物

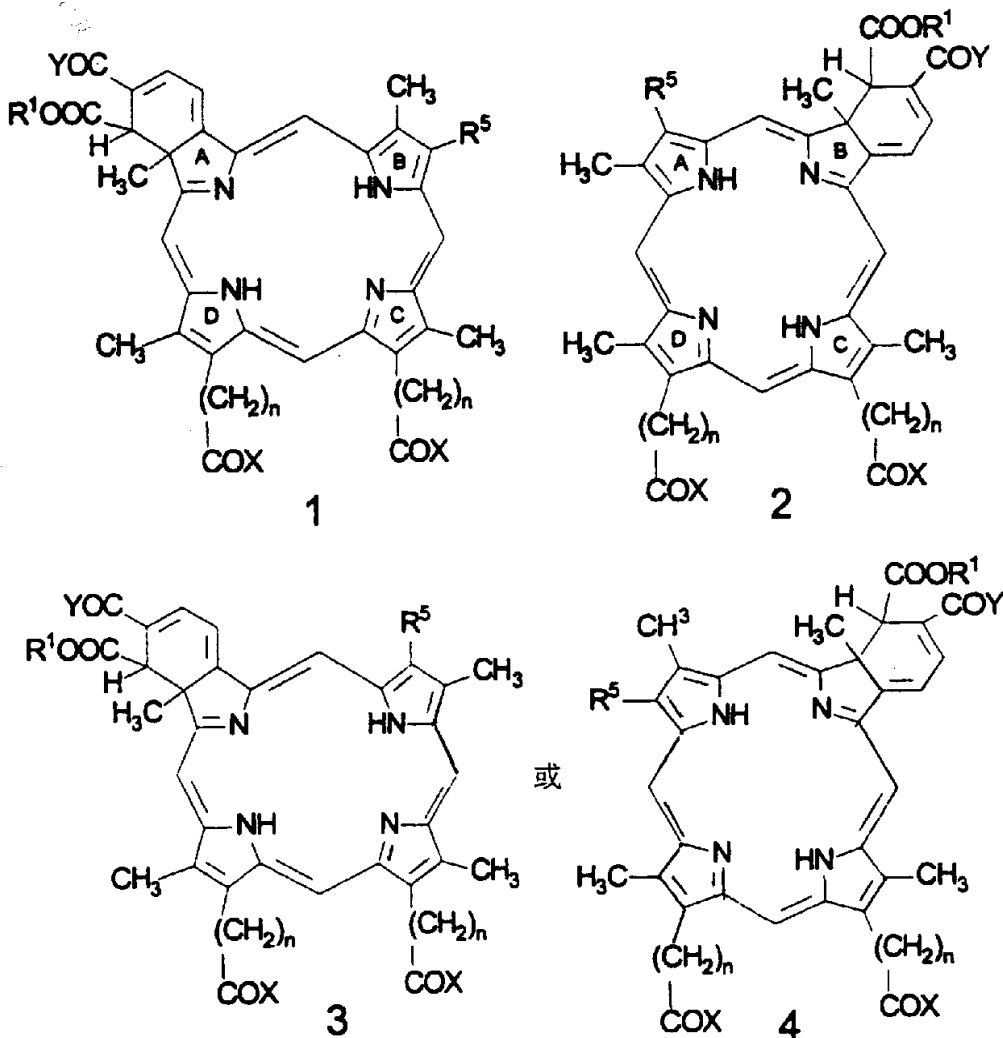
[57]摘要

描述了可扩展可用于光动力学治疗的化合物范围的新化合物。一氢苯并卟啉可以三元酸形式或以与杂原子取代的醇的酯的形式或以酰胺的形式得到。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权 利 要 求 书

1. 下式所示化合物及其盐和/或金属取代的和/或标记的和/或共轭的形式



5 式中， $R^1$ 表示  $C_{1-6}$ 烷基；

$Y$ 表示  $OH$  或  $NR^2$  或  $-NHR^2$ ，各  $R^2$ 独立地为  $H$  或取代的或未取代的  $C_{1-10}$ 烃基，或者二个  $R^2$ 结合在一起，形成  $C_{1-20}$ 的环状或多环胺；或者，各  $R^2$ 独立地为  $OR^3$ ，其中  $R^3$ 是被至少一个含杂原子的取代基取代的  $C_{1-10}$ 烷基；

$n$ 是  $0$ 至  $6$ 的整数；

10 各  $X$ 独立地为  $-OH$  或  $-OR^4$ ，其中  $R^4$ 是未取代的  $C_{1-10}$ 烃基；或者各  $X$ 独立地为  $NR^2$  或  $-NHR^2$ ，其中  $R^2$ 的定义同上；或者各  $X$ 独立地为  $OR^3$ ，其中  $R^3$ 的定义同上；

$R^5$ 是乙烯基或其衍生物。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中， $n$ 为  $2$ ；和/或  $R^5$ 是乙烯基、 $-CHOR'$ 、 $-CHO$ 、 $-COOR'$ 、 $-CH(OR')CH_3$ 、 $-CH(OR')CH_2OR'$ 、 $-CH(SR')CH_3$ 、

$-\text{CH}(\text{NR}')_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CN})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{COOR}')\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{OOCR}')\text{CH}_3$ 、

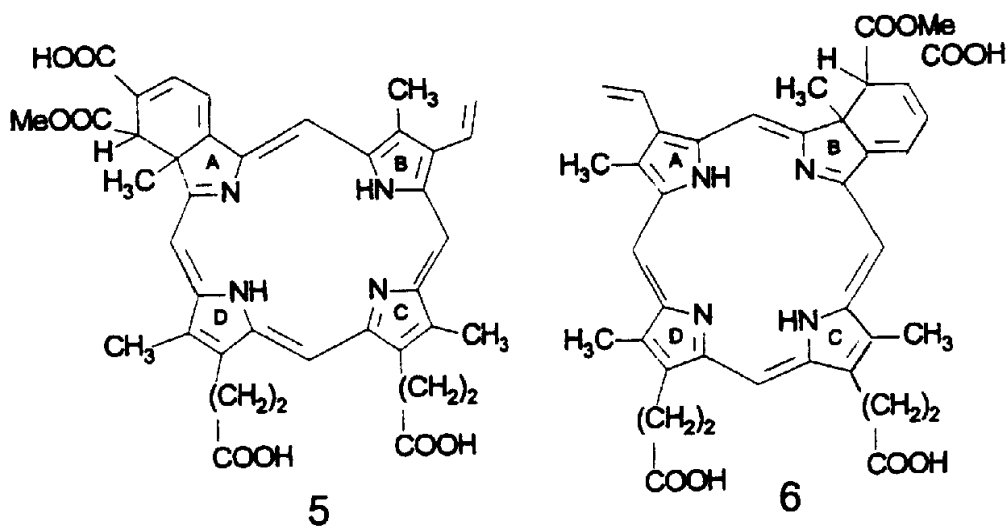
$-\text{CH}(\text{NR}'\text{COR}')\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CONR}'_2)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{卤素})\text{CH}_3$  或  $-\text{CH}(\text{卤素})\text{CH}_2(\text{卤素})$ ，其中  $\text{R}'$  为 H 或可任意地含被杂原子的取代基取代的  $\text{C}_{1-6}$  烷基，或者  $\text{R}'$  是从乙烯基直接或间接生化而来的少于 12 个碳原子的有机基团，或者  $\text{R}'$  是含有 1-3 个四吡咯

5 型核的基团；和/或

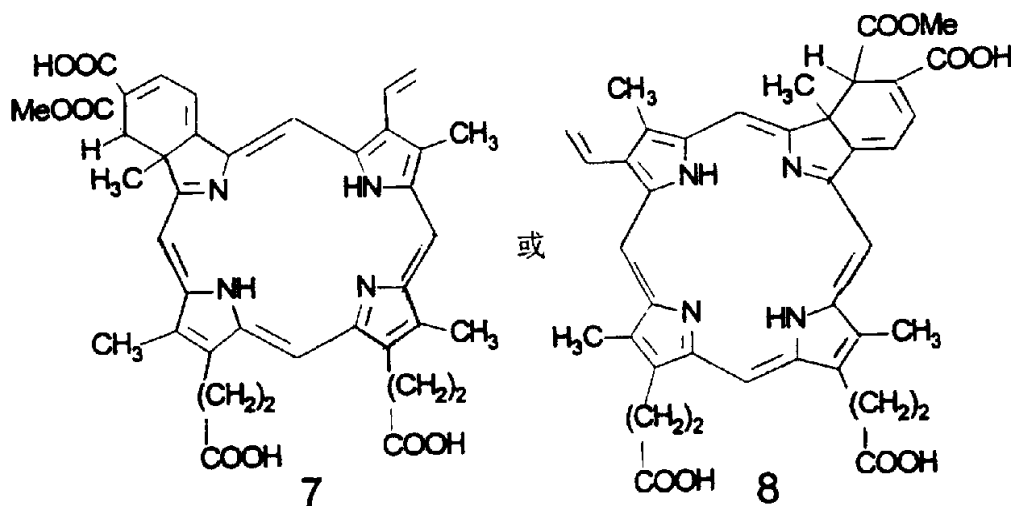
Y 和二个 X 均为  $-\text{OH}$ 。

3. 如权利要求 2 所述的化合物，其中， $\text{R}'$  是乙烯基，Y 和二个 X 均为  $-\text{OH}$ ；n 为 2。

4. 如权利要求 3 所述的化合物，所述化合物是三元酸型的下式所示化合物。



10



5. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中 Y 是  $-\text{NR}'_2$ 。

6. 如权利要求 5 所述的化合物，其中各  $-\text{NR}'_2$  独立地为甲基、乙基、丙基、丁基、异丁基、己基、 $\text{C}_{1-6}$  羟烷基、环戊基、环戊二烯基、咪唑基、噻吩基、吡咯基、异吡咯基、吡啶基、吡唑基、吲哚基、异吲哚基、咪唑基、异咪唑基、三唑

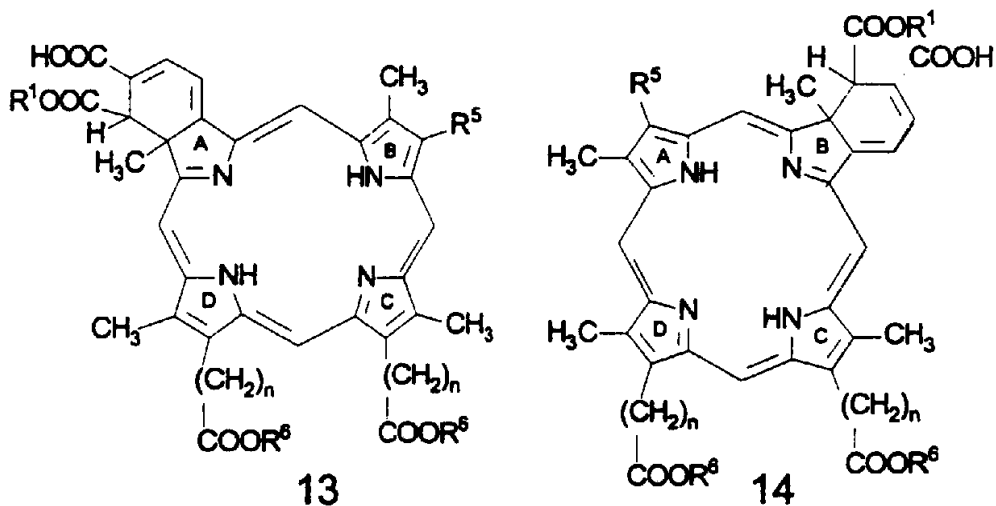
基、咪唑基、异咪唑基、噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噁二唑基、噁三唑基、二噁唑基、苯基、环己基、吡喃基、二噁星基、吡啶烷基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、哌嗪基、吲哚吡嗪基、吡咯烷基、三嗪基、噁嗪基、异噁嗪基、噁噻嗪基、噁二嗪基、吗啉基、氮杂基、氧杂基、硫杂基、二氮杂基、茛基、异茛基、5 基、苯并咪唑基、异苯并咪唑基、硫茛基、异硫茛基、二氮吲哚基、异吲哚基、吡喃并吡咯基、吲唑基、异吲唑基、吲哚噁嗪基、苯并噁唑基、色烯基、葱基、萘基、1, 2, 3, 4-四氢化萘基、萘烷基、苯并噻吩基、苯并吡喃基、香豆基和噌啉基、苯并吡喃酮基、喹啉酰基、异喹啉酰基、苯并二嗪基、喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基、喹嗪基、喹喔啉基、1, 5-二氮杂萘基、吡啶并吡啶烷基、苯并噁嗪基、苯并异噁嗪基、嘌呤基、2, 3-二氮杂萘基、蝶啶基或芞基。

7. 如权利要求 1-2 或 5-6 中任一项所述的化合物，其中，二个 X 均为  $-NR^2$ 。

8. 如权利要求 1-2 中任一项所述的化合物，其中，二个 X 和 Y 均为  $-OCH_2CH_2OH$ 。

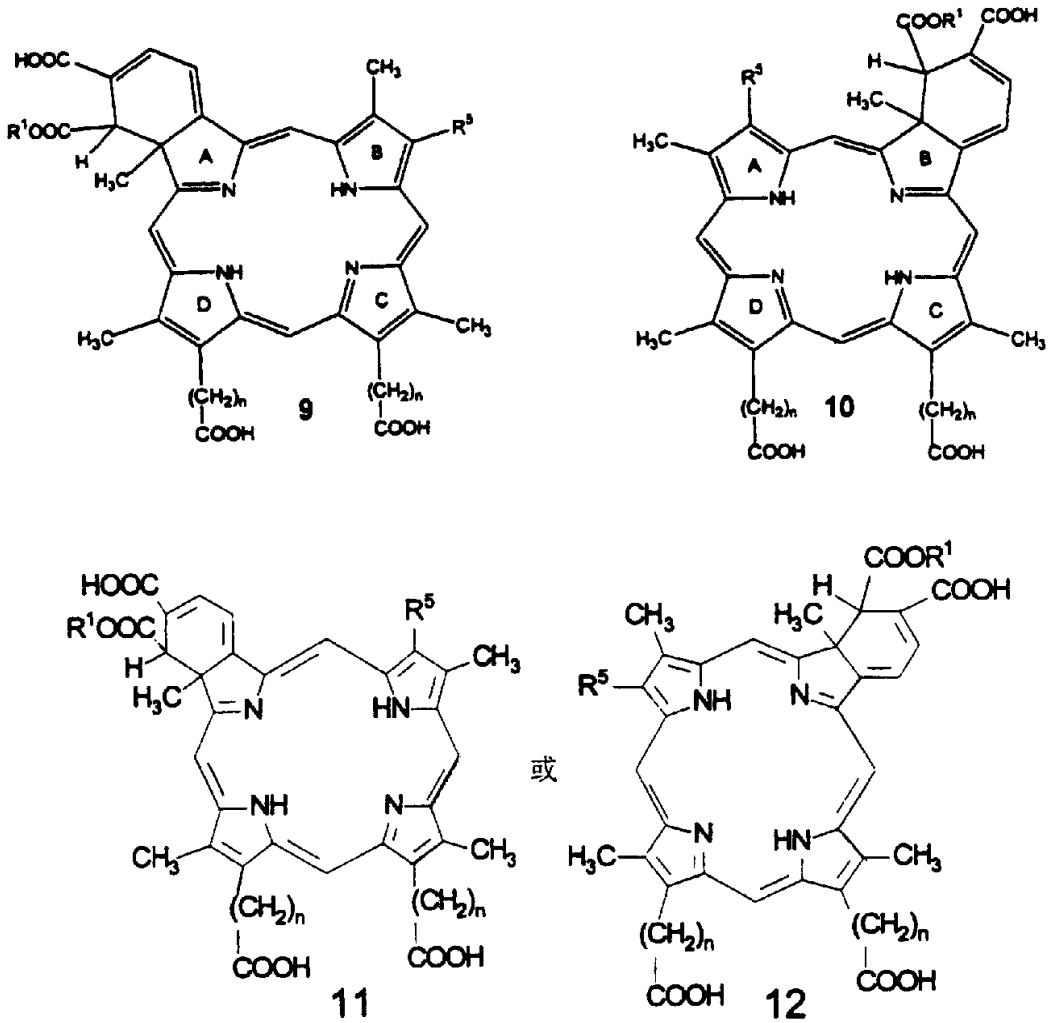
9. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中 Y 为 OH，二个 X 为  $-OR^6$ ， $R^6$  为  $C_{1-4}$  低级烷基。

10. 如权利要求 9 所述的化合物，所述化合物是下式所示化合物



式中，n 为 2， $R^5$  是乙烯基。

11. 制备下式所示产物化合物及其盐和/或金属取代的和/或标记的和/或共轭的形式的方法，



式中， $R^1$  为  $C_{1-6}$  烷基，

$n$  是 1 至 6 的整数，

5  $R^5$  是乙烯基或其衍生物；

该方法包括用碱和溶剂将较高度酯化形式的产物化合物或其盐、金属取代的形式、标记的形式或共轭的形式处理足够的时间，使其脱去酯基，从而得到所述产物化合物。

10 12. 如权利要求 11 所述的方法，其中，所述处理是在防止氧化的惰性气氛下进行的；和/或

所述碱是氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、氢氧化钙、氢氧化钡、氢氧化铬或氢氧化四烷基铵；和/或

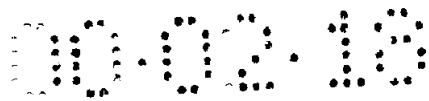
所述溶剂是 DMSO、低分子量醇、DMF、THF 或水或它们的混合物；和/或

所述惰性气氛为氮、氩或氦气氛；和/或

15 所述处理是在  $0-60^{\circ}\text{C}$  的温度进行的；和/或

所述处理是在室温下进行 2-48 小时。

13. 如权利要求 11 或 12 所述的方法，该方法还包括将任何产物化合物或其

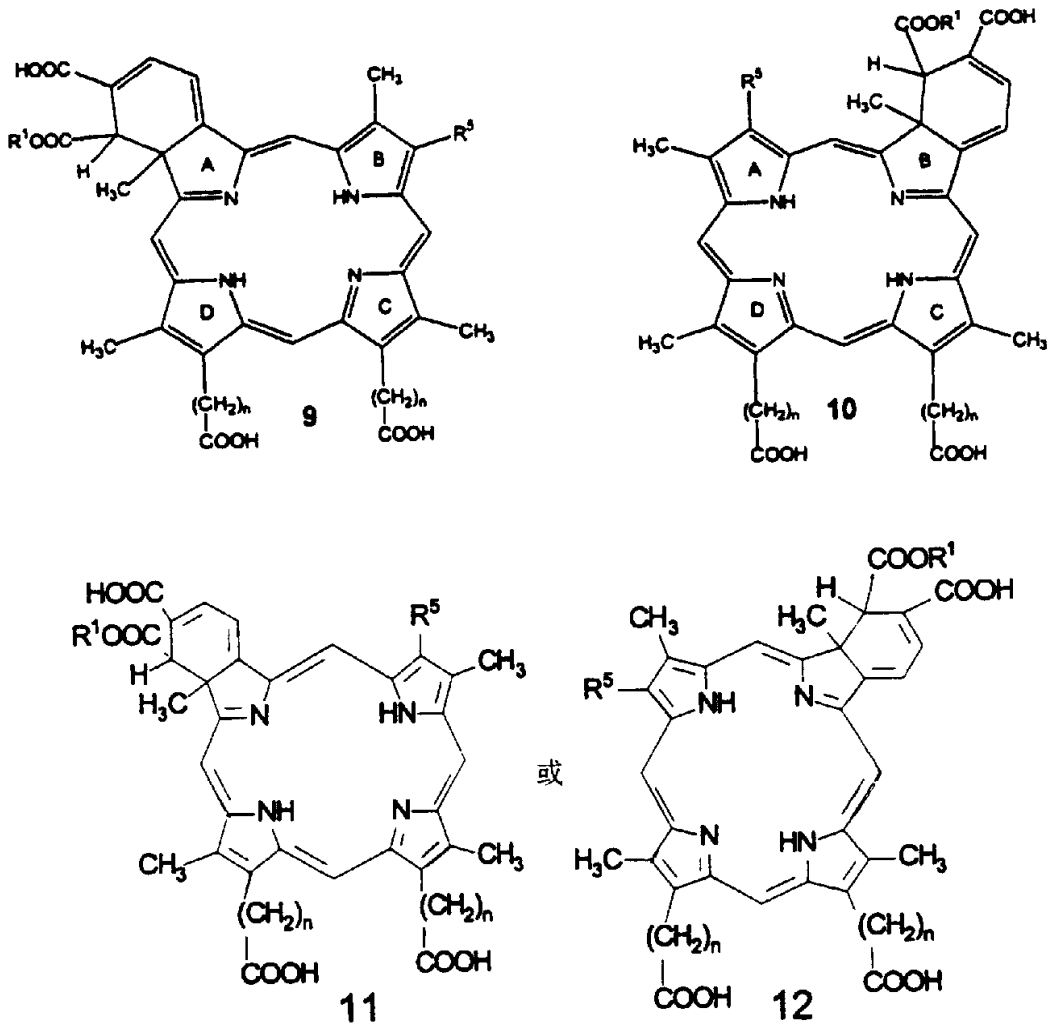


盐、金属取代的形式、标记的形式或共轭的形式溶解在水中，并加入足够的酸使所述产物化合物沉淀。

14. 制备式 1-4 化合物或其盐、金属取代的或标记的或共轭的形式的方法，式中， $R^1$  为  $C_{1-6}$  烷基，Y 和二 X 均为  $-OR^3$  或  $-NR^2$ ，n 是 1 至 6 的整数， $R^5$  是

5 乙烯基或其衍生物；

该方法包括在足以形成其中的 Y 和二 X 为  $-OR^3$  或  $-NR^2$  的式 1-4 化合物或其金属取代的或标记的或共轭的形式的条件下用  $R^3OH$  或  $HNR^2$  处理羧基活化形式的下式所示起始化合物及其盐和/或金属取代的和/或标记的和/或共轭的形式，



10

式中， $R^1$  为  $C_{1-6}$  烷基，

n 是 1 至 6 的整数，

$R^5$  是乙烯基或其衍生物。

15. 如权利要求 14 所述的方法，其中，所述活化的羧基通过用活化剂处理所述起始化合物的游离羧基而得到。

16. 如权利要求 14 所述的方法，其中，Y 和二 X 均为  $-OR^3$ ， $-OR^3$  为  $-OCH_2CH_2OH$ ，

-R<sup>3</sup>OH 为乙二醇。

17. 如权利要求 15 所述的方法，其中，所述活化剂是 TSTU 或 BTU。
  18. 药学组合物，含权利要求 1-10 中任一项所述的化合物以及药用赋形剂。
  19. 改进的 PDT 方法，其中，所述改进之处是用权利要求 1-10 中任一项所
- 5 述的化合物作为光活性剂。



# 说明书

## 新一类的苯并卟啉光活性化合物

5

### 技术领域

本发明的领域是可用于光动力学治疗的化合物的设计和合成以及光活性化合物技术的应用。具体地说，本发明涉及在4个取代基中的3个以可控的衍生化反应制备一类苯并卟啉衍生物的方法。本发明还涉及作为该类化合物的所得化合物。

10

### 背景技术

光动力学治疗 (PDT) 一般包括可吸收光 (典型的是可见光, 但也可可是近紫外) 的化合物的施用和其后的对受治疗者需要产生毒性、调节或抑制作用的部位的照射。PDT 最初是通过用血卟啉和相关化合物治疗肿瘤而开展起来的, 因为这些化合物似乎会“寻到”含快速分裂的细胞的部位。然后可用被该血卟啉吸收的光照射肿瘤, 由此破坏其周围的组织。此后证明, PDT 可用于治疗动脉粥样硬化斑块、再狭窄、血液感染、类风湿性关节炎、牛皮癣和用于治疗不一定限于肿瘤的眼部疾病。

美国专利 No.5,171,749 和授予相关申请的专利 (美国专利 No.5,283,255、  
20 5,399,583、4,883,790、4,920,143 和 5,095,030) (所有这些专利的内容均纳入本文作为参考) 描述和要求保护一类可用于 PDT 的化合物, 称作一氢苯并卟啉, 即“BPD”。这类化合物是这样得到的: 将一或二取代的炔与原卟啉-IX 进行 Diels-Alder 反应, 所得化合物可进一步异构化、还原和/或衍生化, 得到一大类 BPD。如这些专利中所公开的, 这类化合物中特别有用的亚类由 C 环和 D 环的  
25 2-羧乙基侧链的酯基的水解或部分水解而产生。作为在 Diels-Alder 反应过程中对这些基团的保护而进行的酯化产生了含 2-烷酯基乙基的起始产物。人们发现, 这些酯可容易地快速水解, 使与得自二烷酯基炔的 Diels-Alder 产物有关的所有烷酯基实质上完全不水解。这产生了图 1 所示的 4 种化合物: BPD-MA、BPD-MB、  
30 BPD-DA 和 BPD-DB; 此图取自美国专利 No.5,171,749。在此图中,  $R^1$  和  $R^2$  为烷酯基, 典型地为甲酯基或乙酯基, R 为  $C_{1-6}$  烷基。

已发现, BPD-MA 具有对 PDT 特别有用的特性, 目前正处于临床开发中。然而, 如上所述, 仍有必要寻找另外的具体形式的光活性剂, 它们能为采用 PDT

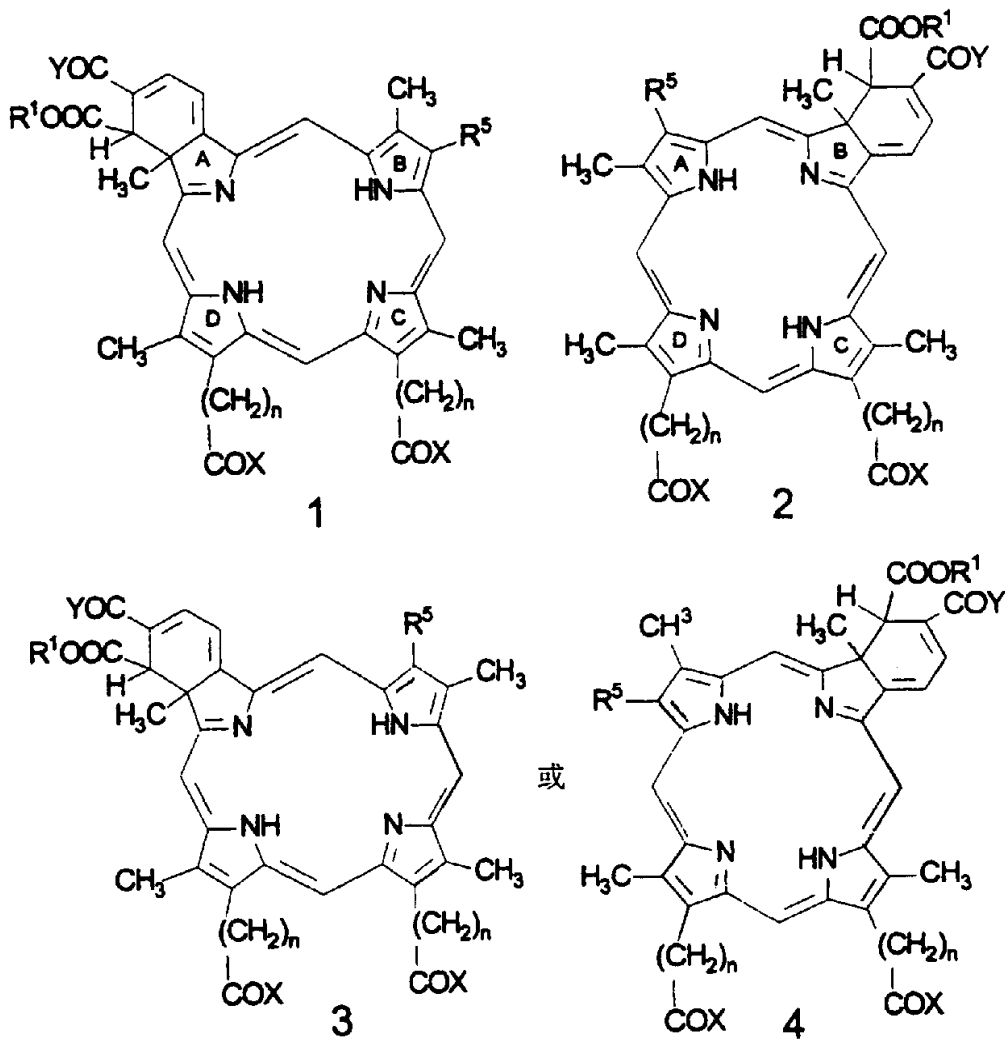


适应症扩展成员。本发明提供一种与在上述专利中公开的化合物相关的一类化合物中迄今未曾公开和难以得到的化合物的制备方法，其中，在羧基取代基中的3个的特定的可控衍生化反应提供了新的一批具有所需特性的光活性化合物。包括“三元酸”型和特别有用的同三酯 (homotriester)，其中，用乙二醇将三元酸的所有3个羧基酯化。

发明的公开

本发明的方法和化合物为可用于光动力学治疗的化合物和方法添加了特别有用的新成员，扩展了其方法样式的范围。本发明方法的优点是，可调节水解条件，从而可得到以前未公开过的三元酸型一氢苯并卟啉类光活性化合物，并可以可控方式对所得的3个羧基进行衍生化。

因此，作为一个方面，本发明涉及下式所示化合物



包括这些化合物的盐和金属取代的和/或标记的和/或共轭的形式。应注意，化合



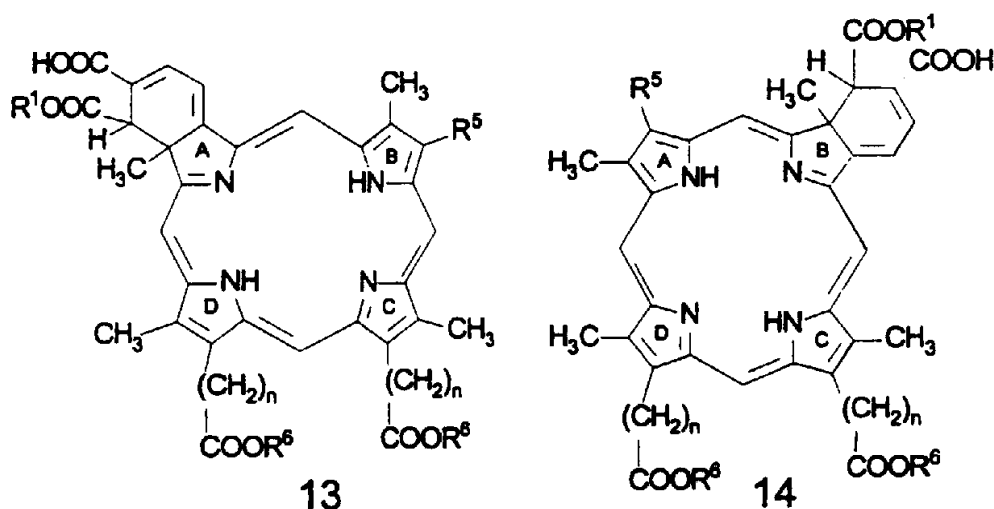
物 1 与化合物 2 的不同之处仅在于 Diels-Alder 取代基的位置上 (一个在 A 环, 一个在 B 环)。所以会产生二个这样的产物是因为原卟啉 IX (制备化合物 1 和 2 的起始物质) 在这些环中的取代是不对称的。另一方面, 式 3 化合物得自原卟啉 III 的类似的 Diels-Alder 加成。式 4 化合物得自原卟啉 XIII 的 Diels-Alder 加

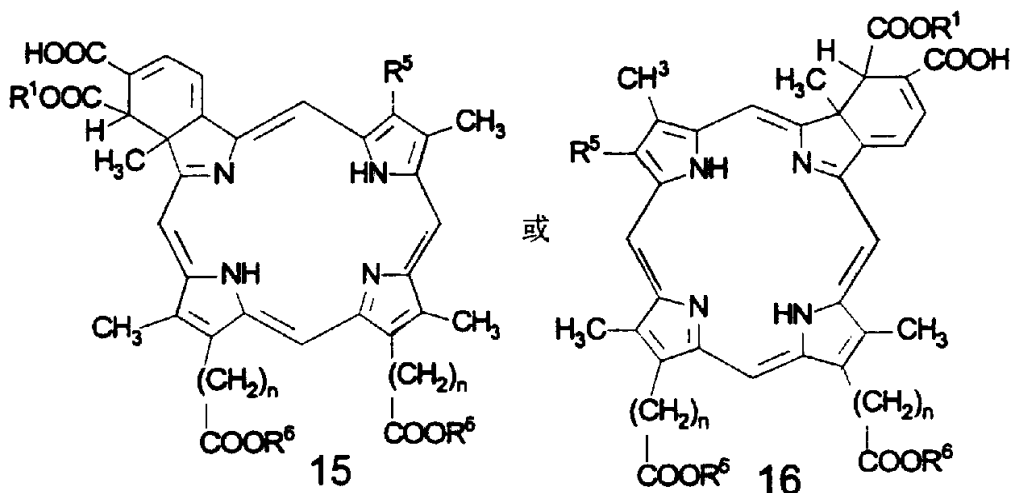
5 成。由于这些原卟啉是被对称地取代的, 因此在各个反应中仅会得到一个产物。  
 在式 1-4 中,  $R^1$  表示  $C_{1-6}$  烷基,  $Y$  表示 OH (包括其盐型)、 $NR^2$  或  $NHR^2$  (其中各  $R^2$  独立地为 H 或取代的或未取代的  $C_{1-10}$  烃基, 或其中, 二个  $R^2$  结合在一起, 形成  $C_{1-20}$  的环状或多环胺)、或  $OR^3$  (其中  $R^3$  是  $C_{1-10}$  烃基, 该烃基必须被至少一个含杂原子的取代基取代)。在式 1-4 中,  $X$  的定义与  $Y$  相同, 但  $X$  还可表示  $OR^4$ ,  
 10 其中  $R^4$  是烃基 (未取代的,  $C_{1-10}$ )。"n" 是 0 至 6 的整数, 优选 2。 $R^5$  是乙烯基或其衍生物。

本发明还涉及其中的  $X$  和  $Y$  均为 OH (或其相应的盐) 的式 1-4 化合物的制备方法: 在氧化性惰性气氛下用碱将溶解在合适的溶剂中的较完全酯化型的合适的式 1-4 化合物处理足够长的时间, 使足够的羧基脱去酯基而得到三元酸型, 并  
 15 从反应混合物中回收三元酸型化合物。

本发明包括其中的所有  $X$  和  $Y$  均为  $OCH_2CH_2OH$  的式 1-4 化合物。这些化合物与三元酸一样, 是可用于光动力学治疗的各种应用的有用的光活性化合物。

作为优选实例, 本发明还包括下式所示的化合物和含这些化合物的药学组合物以及用这些化合物或组合物进行 PDT 的方法





其中， $R^1$ 和 $R^5$ 的定义同上， $R^6$ 为 $C_{1-4}$ 低级烷基。特别优选的是这些化合物中 $R^5$ 为乙烯基， $R^1$ 为 $C_{1-4}$ 低级烷基的化合物。

5

### 附图的简单描述

图 1 表示现有技术化合物 BPD-MA、BPD-MB、BPD-DA 和 BPD-DB

图 2A 和 2B 为以浓度函数表示的 L1210 细胞在体外被 B3 光敏化。

图 3 表示 B3 被 L1210 细胞摄取的时间过程。

图 4 表示在温育 1 小时后 B3 从 L1210 细胞释放的动力学。

10

图 5 表示 B3 在小鼠组织中的生物分布。

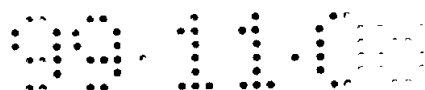
### 本发明的实施方式

本发明的式 1-4 化合物与美国专利 No. 5,171,749 和相关专利(美国专利 No. 5,283,255、5,399,583、4,883,790、4,920,143 和 5,095,030)中所公开的化合物类似。本发明化合物通过在这些式中示为“COY”和“COX”的 3 个羧基的衍生化反应而不同于这些专利所述的化合物。由于难以将“COY”所占位置上的酯基水解，这些化合物的形成曾经被排除。本发明提供对该酯基进行水解并合成各种迄今未能得到的光活性化合物的途径。

为使讨论变得简明，以下称取代基“COY”为“乙烯基羧基”而不管 Y 在所讨论的化合物中具体是什么。以下还称表示为“COX”的基团为“丙酸羧基”而不管 X 在任何具体化合物中具体是什么。

本发明者发现，适当调节水解条件，可使乙烯基羧基水解。虽然丙酸羧基容易地进行脱去酯基、再酯化或进一步衍生化的处理，但烷基酯形式的乙烯基羧基更难以被水解，实际上，该基团必须是在防止该分子氧化或破坏的条件下才得以成功地水解的。

25



以成功地水解的。

能使乙烯基羧基水解是具有重要意义的。首先，由此形成的三元酸型化合物其自身是重要的新光活性剂。第二，由于丙酸羧基最具活性，它们可容易地为了保护而再酯化，然后将乙烯基羧基活化，以便进一步取代。由此，可得到一系列下述化合物：其中的丙酸羧基为游离酸和盐的形式或者为简单的酯或酰胺或酰基胍的形式，乙烯基羧基为游离酸或盐或者衍生为复杂的酯或酰胺或酰基胍。

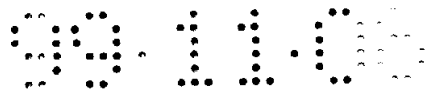
本发明化合物呈光学异构体形式。不管是否分离成各光学异构体，通过在乙烯基羧基上进行衍生而得到的化合物其自身可用作光活性剂。有了属于光活性剂的另外的化合物，就能够调整技术方案以适合具体适应症和个体。

10 由于乙烯基羧基所具有的可反应性，因此，还可形成其中的所有3个羧基（一个乙烯基羧基和二丙酸羧基）被同样地衍生化了的光活性剂，从而可增添新的光活性化合物。最后，显而易见的是，3个相关羧基上的取代基的各种组合可提供一系列化合物，其范围可由乙烯基取代基的衍生化而能在  $R^5$  得到的变化而扩展。

15 因此，即使不调节条件以仅使丙酸羧基中的一个发生反应和不考虑在  $R^5$  变化的可能性，可利用的组合包括表1所示的那些。

表 1

	乙烯基羧基 Y =	丙酸羧基 X =
X-1	-OH	-OH
X-2	-OH	-OR <sup>4</sup>
X-3	-OH	-OR <sup>3</sup>
X-4	-OH	-NR <sup>2</sup> <sub>2</sub> 或 -NHNR <sup>2</sup> <sub>2</sub>
Y-1	-OR <sup>3</sup>	-OH
Y-2	-OR <sup>3</sup>	-OR <sup>4</sup>
Y-3	-OR <sup>3</sup>	-OR <sup>3</sup>
Y-4	-OR <sup>3</sup>	-NR <sup>2</sup> <sub>4</sub> 或 -NHNR <sup>2</sup> <sub>2</sub>
Z-1	-NR <sup>2</sup> <sub>4</sub> 或 -NHNR <sup>2</sup> <sub>2</sub>	-OH
Z-2	-NR <sup>2</sup> <sub>4</sub> 或 -NHNR <sup>2</sup> <sub>2</sub>	-OR <sup>4</sup>
Z-3	-NR <sup>2</sup> <sub>4</sub> 或 -NHNR <sup>2</sup> <sub>2</sub>	-OR <sup>3</sup>
Z-4	-NR <sup>2</sup> <sub>4</sub> 或 -NHNR <sup>2</sup> <sub>2</sub>	-NR <sup>2</sup> <sub>4</sub> 或 -NHNR <sup>2</sup> <sub>2</sub>



其中，OH表示游离酸或盐，取决于pH。

为得到 X-1 组的化合物，将 Diels-Alder 产物或任何其他乙烯基羧基和丙酸羧基更高度酯化形式的该组化合物在本文所述条件下水解，得到三元酸型。为得到 X-2、X-3 和 X-4 组的化合物，可用标准方法将丙酸羧基再酯化或酰胺化，因为丙酸羧基比乙烯基羧基的活性大很多。

用该方法，如下面的实施例 3 所示，制得本文中表示为“B3”的特别优选的化合物。

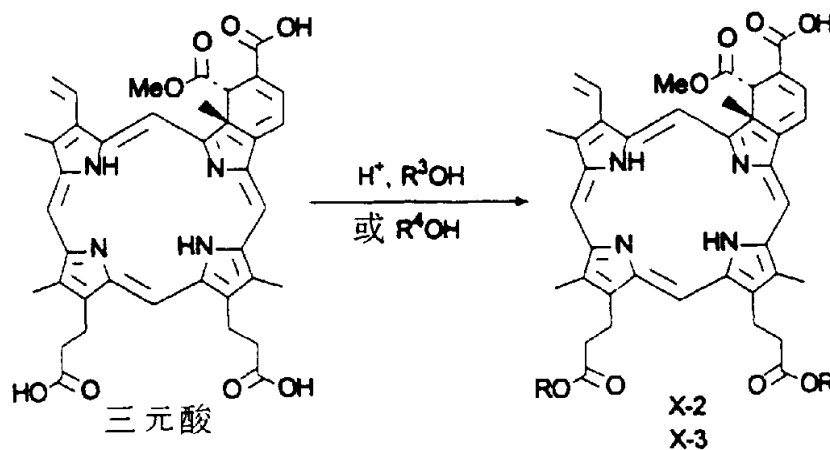
为得到 Y-3 组的化合物，先将三元酸的 3 个羧基活化，然后与相应于 $-OR^3$ 的醇反应。对于 Y 组的其余化合物，由于丙酸羧基可容易地加以处理而不会干扰乙烯基羧基，包含 $-OR^3$ 的原始的酯可在有利于形成游离酸、未取代的烃酯( $-OR^4$ )或酰胺的条件下反应。

Z-2 和 Z-3 组的酰胺最容易用以下方法得到：先将丙酸羧基酯化(其中  $X = -OR^4$  或  $-OR^3$ )，然后将乙烯基活化，接着酰胺化。为得到 Z-1 组的化合物，只要将这些酯基通过简单的水解而方便地除去。Z-4 组的化合物用以下方法由 Z-2 组化合物得到：将 Z-2 组化合物的丙酸羧基上的酯基水解，然后活化并转化成酰胺或酰肼，或者，Z-4 组化合物可如下面的反应图 3 所示，直接由三元酸得到。

下面对举例说明这些化合物形成的反应图进行解释。

反应图 1 表示由本发明方法得到的三元酸中间体通过在标准条件下的丙酸羧基的简单酯化而向 X-2 或 X-3 组化合物转化。这些标准条件包括在酸(如硫酸、盐酸、三氟甲磺酸或其它合适的酸)的存在下用合适的醇处理三元酸中间体。

反应图 1

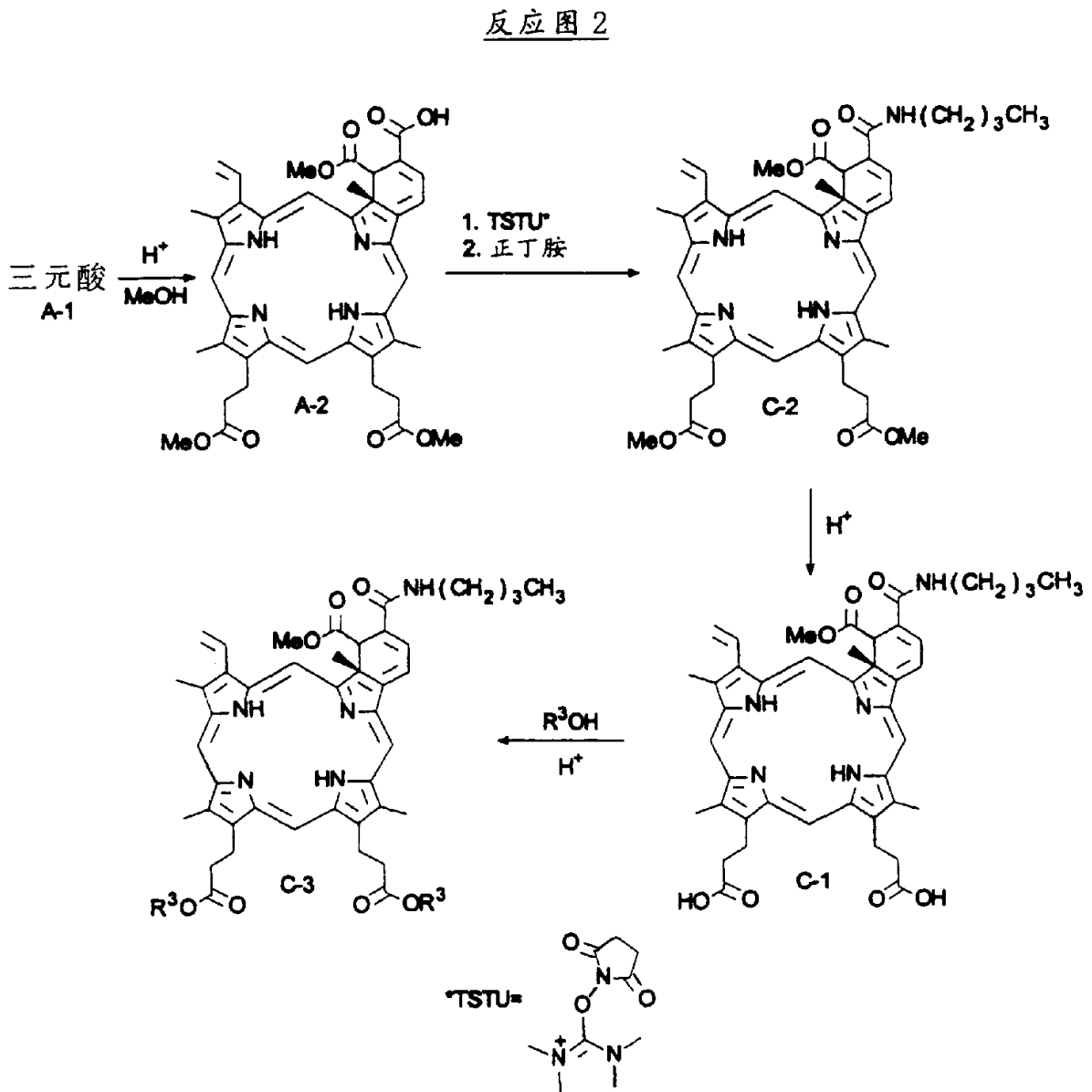


式中，R为 $R^3$ 或 $R^4$ 。

概括，显示在此仅作举例说明。前面的式 1、3 或 4 的化合物和 R<sup>5</sup> 的其它实例可同样地用于举例说明。

该反应图的特别优选的产物是前面所述的式 13-16 的化合物。这些化合物可配制成用于 PDT 的治疗用组合物。

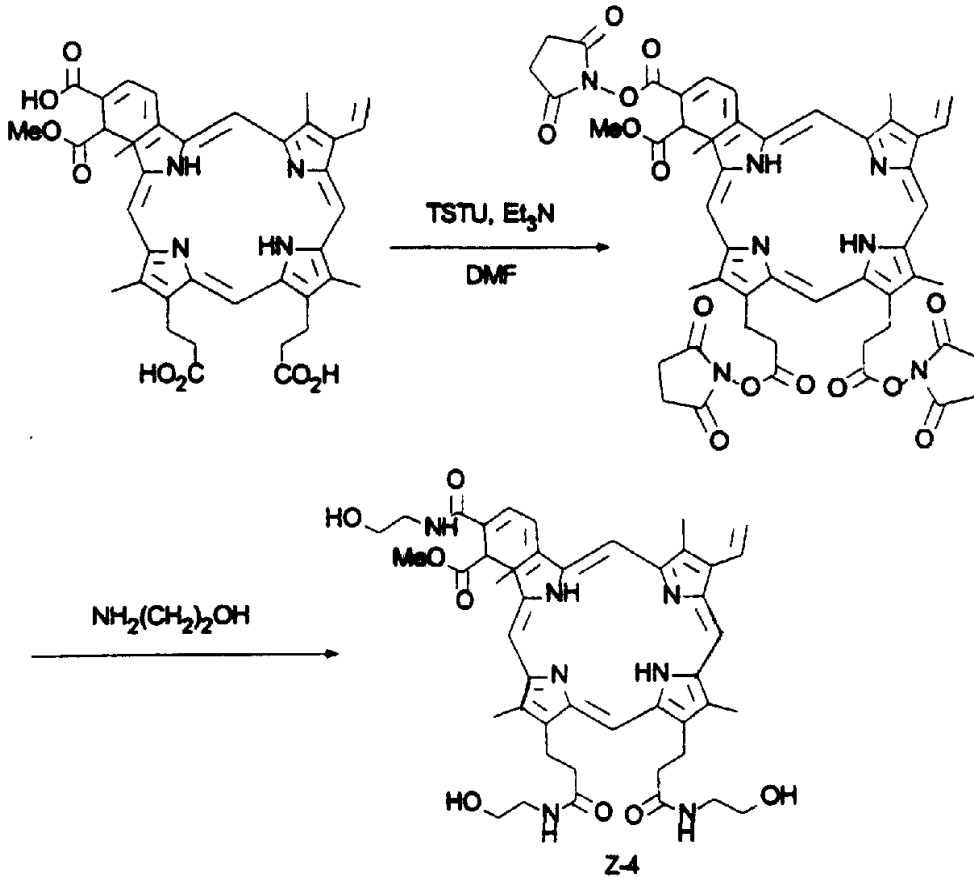
5 反应图 2 表示三元酸中间体向 Z-1、Z-2 或 Z-3 组化合物的转化。



如反应图 2 所示，首先用未取代的羟基醇（例如 MeOH）将三元酸 A-1 的丙羧基适宜地酯化，保护这些位置；然后用 TSTU 使乙烯基羧基活化，接着用 N-丁胺（为了举例说明的目的）进行酰胺化。当然，可用各种伯胺或仲胺或胍。该反应产生 Z-2 组化合物；Z-1 组化合物可容易地通过丙羧基的酸水解而得到，然后，可在这些位置上形成更复杂的酯，得到 Z-3 组化合物。

反应图 3 举例说明 Z-4 组化合物的形成，其中，在对丙酸羧基不加保护的情况下用 TSTU 使三元酸型化合物活化并在所有 3 个位置进行酰胺化。

反应图 3



5

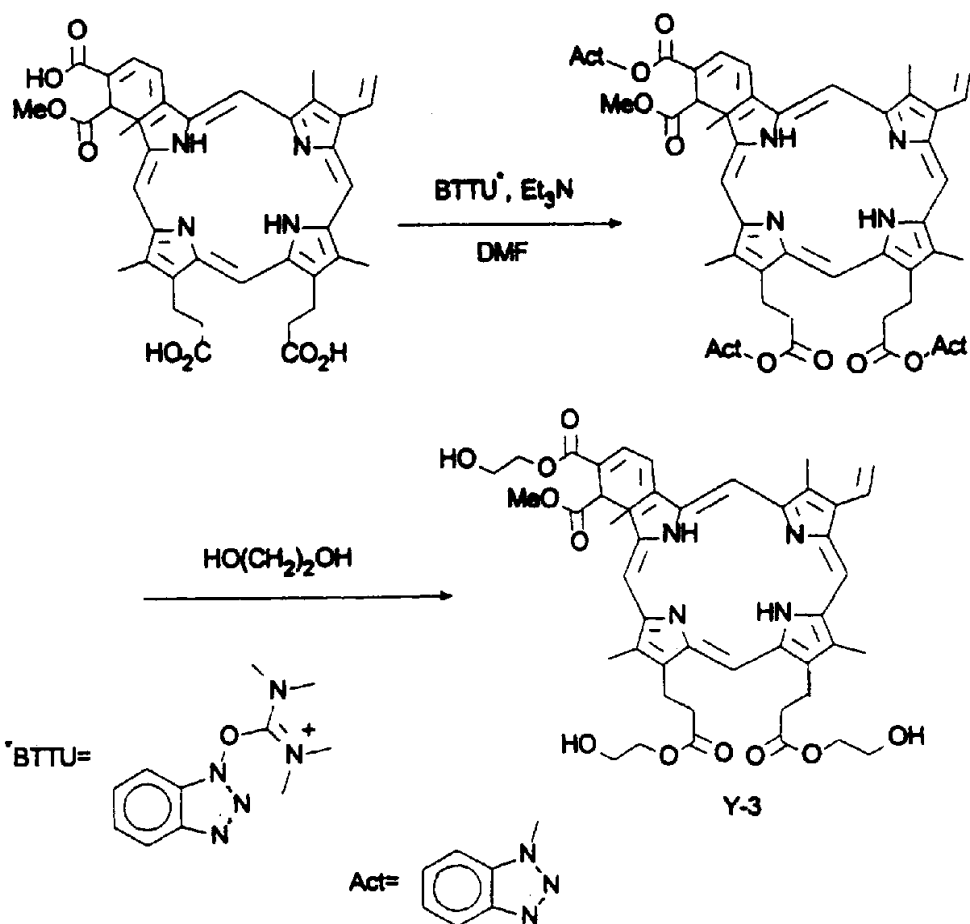
如图所示，可用此方法形成复杂的酰胺；可由此得到各种酰胺。

如果与乙烯基羧基相比，希望在丙酸羧基位置得到不同的酰胺取代基，则首先得到反应图 2 中代表 Z-1 或 Z-2 的化合物，将所得羧基活化，得到所需的酰胺。

为通过 Y-4 得到 Y-1 组化合物，如反应图 4 所示，先得到在乙烯基羧基上的所需酯，以产生 Y-3 组化合物。

10

反应图 4



接着，可以与前面所引用的 BPD 专利中所述的 Diels-Alder 产物类似的方式处理所得三酯；丙酸羧基酯容易在酸中水解，得到 Y-1 组化合物，所得酸可如上所述进行处理，得到 Y-2 和 Y-4 组化合物。

如上所述，本发明的方法，具体地说，三元酸型 BPD 类化合物的可利用性（尤其是与在 R<sup>5</sup> 的乙烯基的可用于衍生化的性能的结合）提供了合成大量相关光活性剂的方法。这些合成可按随机或系统的方式计划和进行，得到大量的化合物，在这个意义上，这些合成被认为是组合的图书馆。

用表征 R<sup>1</sup> - R<sup>5</sup> 的术语进行描述本发明的 BPD 上的取代基。这些术语可进一步地定义如下：

在本文中，“烷基”一词是指指饱和直链或支链烃，它如果含有足够数目的碳原子，则可以是环状的或含有环状部分。典型的例子是甲基、乙基、叔丁基、环己基等。

“烃基”是指只含有碳和氢的单价取代基，它可以是直链或支链、饱和的或不饱和的、芳族或非芳族或两者兼有，可以是环状的或非环状的。因此，C<sub>1-10</sub> 烃





烃基可包括环戊基乙基、2-戊烯基、3-丁炔基、2,4-二甲基己基等。

5 在一些取代基(如  $R^2$  和  $R^3$ ) 中, 烃基可被含杂原子的取代基取代, 这样的取代基包括-OR、 $-NR^2$ 、-SR、-COOR、 $-CONR^2$ 、-OOCR、-NRCOR、-SOR、 $-SO_2R$ 、 $-SO_3R$ 、卤素、-CN等(其中R为H或  $C_{1-6}$  烷基)以及包括吡啶基、嘧啶基、噻唑基、喹啉基等环状胺在内的杂环基。因此, 含杂原子的取代基可包括单环或稠环系统, 并可含另外的杂原子。

10 X或Y为 $-NR^2_2$ 或 $-NHNR^2_2$ 的实例包括各  $R^2$  独立地为H、烷基、链烯基、环烷基或不饱和环状烃基或芳基取代基(如苯基或取代的苯基)。然而,  $-NR^2_2$  或 $-NHNR^2_2$  也可更复杂, 可包含各种作为在氮上的直接取代基的环状胺, 或者所述的氮其自身可以是环的一员。这些环状胺包括吡咯基、异吡咯基、吡啶基、吡唑基、吡啶基、异吡啶基、咪唑基、异咪唑基、三唑基、呋咱基、异噁唑基、噁唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噁三唑基、二噁唑基、吡啶烷基、吡嗪基、嘧啶基、吡嗪基、哌嗪基、吡啶吡嗪基(indolizynyl)、吡咯烷基、三嗪基、噁嗪基、异噁嗪基、噁噁嗪基、噁二嗪基、吗啉基、氮杂萘基、二氮杂萘基、茛基、15 异茛基、二氢吡啶基、异吡啶基、吡喃并吡咯基、吡唑基、异吡唑基、吡啶噁嗪基、苯并噁唑基、苯并吡喃酮基、喹啉酰基、异喹啉酰基、苯并二嗪基、喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基、喹嗪基、喹啉基、1,5-二氮杂萘基、吡啶并吡啶烷基、苯并噁嗪基、苯并异噁嗪基、嘌呤基、2,3-二氮杂萘基和蝶啶基。

20 当环状胺为一价时, 也归入如在  $R^3$  的定义中所述的被含杂原子的取代基取代的  $C_{1-10}$  烃基的定义里。还包括环状系统, 如呋喃基、噻吩基、吡喃基、二噁星基、氧杂萘基(oxepinyl)、硫杂萘基(thiepinyl)、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、硫茛基、异硫茛基、苯并噻吩甲基、苯并吡喃基、香豆基和噌啉基。

25 在  $R^4$  中作为实例并包括在  $R^2$  中的合适的未取代的  $C_{1-10}$  烃基例如包括甲基、乙基、丙基、丁基、己基、环戊二烯基、苯基、色烯基、蒽基(anthanyl)、萘基或苈基。若它们被上面所述的含杂原子的取代基取代的话, 则这些实例还可包括在  $R^3$  的定义中。

为形成酰胺, 可将相关的羧酸基团活化, 例如得到酰基卤, 或者用更温和的条件, 如举例说明的四甲基脲阳离子为基的试剂、碳化二亚胺或活性酯(如对硝基苯基)。然后用合适的胺或酰肼处理活性羧基。

30 在本发明的化合物中, 较好的是,  $R^5$  为乙烯基, 但也可为其衍生物。通过加成或氧化, A环或B环上的乙烯基可容易地衍生化为其它  $R^5$  实例。加成或氧化产物可被进一步取代, 如果所加成的取代基起离去基团的作用的话, 例如, -Br



可被-OH、-OR<sup>n</sup>、-NH<sub>2</sub>、-NHR “或-NR<sup>2</sup>”等取代，这里，R<sup>n</sup>是烃基。例如，所加成的取代基中的一个可以是氢，另一个可以是卤素、羟基、低级烷氧基、氨基，或酰氨基、巯基或有机硫化物或另外的氢。本发明的化合物包括作为R<sup>5</sup>的各种基团，这些基团包括能提供另外的卟啉或与卟啉有关的环系统的取代基。

5 因此，R<sup>5</sup>可以是乙烯基、-CHOR'、-CHO、-COOR'、-CH(OR')CH<sub>3</sub>、-CH(OR')CH<sub>2</sub>OR'、-CH(SR')CH<sub>3</sub>、-CH(NR')<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CN)CH<sub>3</sub>、-CH(COOR')CH<sub>3</sub>、-CH(OOCR')CH<sub>3</sub>、-CH(NR'COR')CH<sub>3</sub>、-CH(CONR'<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>、-CH(卤素)CH<sub>3</sub>或-CH(卤素)CH<sub>2</sub>(卤素)，其中R'为H或可任意地被杂原子取代基取代的C<sub>1-6</sub>烃基，或其中R<sup>5</sup>是从乙烯基直接或间接衍生化而来的少于12个碳原子的有机基团，或其中R<sup>5</sup>是含有1-3个四吡咯型核的基团。

应注意的是，本发明化合物可含一个或多个手性中心，因此可以各种对映体或非对映异构体的形式存在。因此，作为代表本发明化合物的式1-4代表光学纯对映体或非对映异构体，或者可以是外消旋混合物或非对映异构体的混合物这些手性异构体的混合物，根据具体情况而定。

15 视需要，本发明化合物可通过用合适的离子（如镁离子、锌离子、亚锡离子等）处理四吡咯型核而制成金属取代的形式，得到金属配合物。金属离子也可以是放射标记。一般在本领域标准的条件下用合适的盐插入金属离子。例如，在二氯甲烷/甲醇（1/1）中用醋酸锌处理化合物可引入锌离子。

20 化合物还可包含标记物，包括放射性同位素、发色团和荧光标记物。当化合物准备用于体内跟踪或用于标记特定部分时，放射性同位素标记一般是有用的。有用的阳离子部分（为放射性同位素）包括镓、镥和铟。另外，杂原子的同位素（如<sup>131</sup>I或<sup>32</sup>P）在分子自身中或包结<sup>14</sup>C在内可用来标记分子。

25 如上述有关BPD的专利中进一步描述的，视需要，可将本发明的化合物与靶向剂偶联，使分子指向特定的组织或器官。这样的靶向剂包括抗体、受体、受体-配体等。靶向剂与化合物的连接用标准技术进行。在本文中，“轭合型”是指当任选地通过连接基团与这些靶特异性试剂偶联时的式1-4化合物。

30 本发明的各种形式的化合物可用于本领域周知的光动力学治疗技术。如在上面的背景部分中所述的，可用大量方案进行光动力学治疗，并可用于各种适应症。另外，这类化合物在某些情况下在没有光时也显示药理学活性。当需要时，可将标准药物组合物（包括脂质体组合物）用于这样的应用。

在这些技术方案中，特别有用的是式14-16化合物〔其中，式14的R<sup>5</sup>是乙烯基，尤其是其中的R<sup>1</sup>和R<sup>6</sup>为甲基，或者相应的A环被取代的形式（13），

也尤其是其中的  $R^1$  和  $R^6$  为甲基], 尤其是下面的实施例 3 的化合物 B3。

### 三元酸的制备

5 合成本发明化合物的关键是制备式 1 - 4 化合物的三元酸, 即, 其中的 X 和 Y 为 OH。在该制备中, 用在乙烯基羧基和丙酸羧基方面比三元酸自身更高度酯化的形式的式 1 - 4 化合物作为起始物质。通常, 乙烯基羧基为酯的形式 (通常是烷基酯), 也可将丙酸羧基酯化。或者, 可用被取代的烃基酯 (也可用相应的酰胺) 作为起始物质。

10 由于在丙酸羧基上的反应比在乙烯基羧基上的反应更容易, 典型的起始物质包括这样的式 1 - 4 化合物: 式中, 乙烯基羧基为酯或酰胺, 而丙酸羧基可能已经完全或部分水解。因此, 典型的起始物质将包括这样的通式 1 - 4 的化合物: 其中的乙烯基羧基和丙酸羧基均为酯化或酰胺化形式, 或者那些其中的乙烯基羧基和丙酸羧基均为酰胺形式的化合物, 或者那些其中的丙酸羧基完全或部分水解的相应化合物。也可用混合的酰胺和酯作为起始物质。

15 这些起始物质溶解在合适的溶剂 [如二甲基甲酰胺 (DMF)、二甲亚砜 (DMSO) 或四氢呋喃 (THF) 或它们的混合物] 中, 用合适的碱 (如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、氢氧化钙、氢氧化钡、氢氧化铬或氢氧化四烷基铵或任何合适的其它强碱处理。也可用固体、树脂型碱性试剂。在反应混合物中可以有水, 也可以有低分子量的醇。碱的浓度范围通常为 0.1 - 1M。较好的是, 反应在氧化性情性条件下 (如在氮、氩或氦气氛下) 进行。反应混合物的温度范围为 0 - 60 °C, 但反应通常在室温下进行。反应时间应足以使乙烯基羧基水解, 通常为 2 - 48 小时。这取决于反应温度, 但通常, 如果反应在室温下进行, 则反应将在约 18 小时内完毕。水解进展可通过通过色谱法 (如 TLC 或 HPLC) 进行跟踪, 以便能选择合适的反应时间。

25 三元酸型反应产物在反应条件下往往会沉淀, 但可通过加水而再溶解。较好的是, 接着, 通过用任何适宜的酸 (通常为硫酸、硝酸、盐酸或三氟甲磺酸) 将 pH 降低至约 3 - 4 而使产物再沉淀。沉淀的三元酸可用合适的溶剂重结晶。特别优选的溶剂是含水甲醇。

30 一旦得到纯的重结晶产物, 则可在前面的反应图 1 - 4 中所述的标准反应条件下处理三元酸, 制备各种式 1 - 4 的光活性剂。  $R^5$  表示的基团可根据任何中间体或根据起始物质和产物进行转化。



下面的实施例是为了举例说明而不是为了限定本发明。

### 实施例 1

#### 式 6 的三元酸的制备

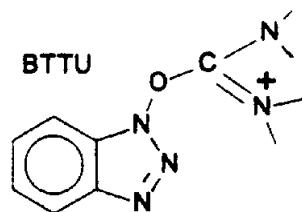
5 将 1.0g (1.37mM) 由原卟啉 IX 的 B 环 Diels-Alder 加成物 (即, 式 2 化合物, 其中,  $R^1$  为甲基, Y 和 X 为 -OMe, n 为 2,  $R^5$  为乙烯基) 得到的四酯加入到 LiOH (1.0g, 41mM) 在 50mL 四氢呋喃、10mL 甲醇和 5.0mL 水中的已通过氮气氛下搅拌 1 小时而脱气了的悬浮液中。在徐徐吹入的氮气流下将反应混合物搅拌 18 小时。以二氯甲烷/甲醇为展开剂, 用硅胶 TLC 检测反应。先加入 100mL 水, 然后  
10 后用 5% 盐酸将 pH 降低至 3-4, 使反应终止。滤去固体, 用己用乙酸缓冲至 pH3.5 的水清洗。用含水甲醇将式 6 三元酸固体重结晶, 得到 770mg (82%)。三元酸熔融时分解。用 C/H 和 N 分析与 NMR 鉴定结构。NMR 显示, 丙酸侧链中的甲酯的共振及归属于乙烯基上的酯的低磁场共振消失。为验证结构, 用重氮甲烷处理式 6 三元酸, 再生起始物质。

15

### 实施例 2

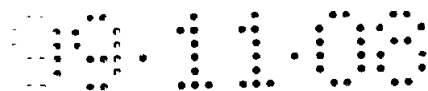
#### 乙二醇三酯的制备

将 50mg (72 $\mu$ M) 在实施例 1 中制得的三元酸溶解在无水二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 并在三乙胺 (50 $\mu$ L) 的存在下用四氟硼酸 1-苯并三唑基·四甲基脲阳离子 (BTTU) (Aldrich 公司产品) (100mg, 310 $\mu$ M) 进行活化。BTTU 是下式所示的羧基活化剂。  
20



将反应混合物搅拌 6 小时, 然后依次加入 250 $\mu$ L 乙二醇和 20 $\mu$ L DBU。30 分钟后, 将反应混合物加入到 20mL 二氯甲烷和 10mL 水的搅拌着的溶液中。分出有机层, 用水洗 3 次, 每次 5mL。除去溶剂, 得到深绿色油状物。以 5% 甲醇/氯代甲烷为洗脱液, 用制备性薄层色谱法分离出产物, 即 27mg 乙二醇三酯 (38%)。  
25

### 实施例 3



### 实施例 3

#### B3 的制备

往 200mg ( 0.289 mmol ) 在实施例 1 中制得的三元酸在 10.0 mL 甲醇中的溶液中加入 ~ 100 $\mu$ L ( 1mmol ) 硫酸。2 小时后, 加入 5 % 乙酸铵和 20mL 二氯甲烷, 使反应终止。用水清洗有机层 2 次。往产物溶液中加入 10mL 乙腈。通过旋转蒸发除去溶剂, 得到深绿色粉末。用甲醇/氯仿将产物 ( B3 ) 重结晶并在真空下于 60  $^{\circ}$ C 干燥 4 小时后得到 140mg ( 67 % ) 深绿色固体。产物熔融时分解。用 C/H 和 N 分析、质谱分析及质子 NMR 确证为式 14 结构, 其中 R<sup>5</sup> 为乙烯基, R<sup>1</sup> 和 R<sup>6</sup> 为甲基。

10

### 实施例 4

#### 细胞体外光敏化

将鼠白血病细胞 ( L1210 ) 在含或不含血清的各种量的药物 B3 的合适缓冲液中温育 1 小时。除去药物之后, 将细胞暴露于 9 J/cm<sup>2</sup> 的广谱光下。20 小时后, 用 MTT 比色分析法测定细胞成活率。结果以仅暴露于光下的细胞中被杀死的百分比示于图 2A 和 2B 中。LD<sub>50</sub> ( 将 50 % 细胞杀死的剂量 ) 在没有 10 % 血清时为 7ng/mL, 在有 10 % 血清时为 35ng/mL。因此, B3 是非常强效的细胞光敏化剂并在血清的存在下保持该性能。

20

### 实施例 5

#### 细胞药物动力学

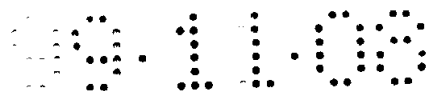
B3 在体外被细胞摄取: 将 L1210 细胞 ( 5  $\times$  10<sup>6</sup>/小瓶 ) 在 10 % 血清的存在下与 3  $\mu$ g/mL 一起温育达 100 分钟。在温育过程中的不同时间, 抽取二份小瓶, 将细胞清洗后使其溶解, 在 1 % Triton X-100 的存在下用荧光测定 B3 在提取物中的量。

25

B3 在体外被细胞释放/保持: 将 L1210 细胞在 10 % 血清的存在下与 B3 ( 3  $\mu$ g/mL ) 温育 1 小时, 然后清洗, 置于含 10 % 血清但不含药物的培养基中。在不同时间, 按上述方法对二份相同试样中的 B3 细胞含量进行评价。

示于图 3 和图 4 的结果表明, B3 在体外具有非常迅速的细胞动力学。化合物迅速进入细胞, 在 20 分钟内达到最大浓度。从培养基中除去 B3 之后, 释放变快并几乎在 30 分钟后完毕。根据由其它药物得到的经验, 预期 B3 具有非常快速的体内药物动力学, 从而可避免长时间的皮肤光敏性。

30



### 实施例 6

#### 体内组织分布和清除率

5 将配制成含 DMSO 的水溶液的 B3 以 4mg/kg 的剂量注射到小鼠（健康正常，有 M1 肿瘤）静脉中。在注射 B3 后的不同时间将小鼠宰杀，按前述方法用荧光在组织提取物中测定不同组织中的 B3 浓度。

结果见图 5。约 5 分钟之后，受试组织中的药物被清除。因此，B3 在体内具有非常迅速的药动力学，证实了当将药物用于治疗时不会产生长时间的皮肤光敏性。

10

### 实施例 7

#### 体内选择性

还在不同时间对由有 M1（横纹肌肉瘤）肿瘤的小鼠得到的 B3 生物分布数据（肿瘤：组织比）进行评价。在静脉注射 4mg/kg B3 的最初 1 小时内，肌肉和皮肤的肿瘤：组织比分别为 1.5 - 2.0 和 3.1 - 3.9。淋巴结的比率为 0.7。结果显示，与正常的非增殖性组织相比，B3 优先积聚于肿瘤和其它快速增生的组织（淋巴结）。由于在注射 B3 之后不久即观察到这种优先积聚，该光敏化剂可在其注射后不久用光活化，而这在临床应用中是方便的。

说明书附图

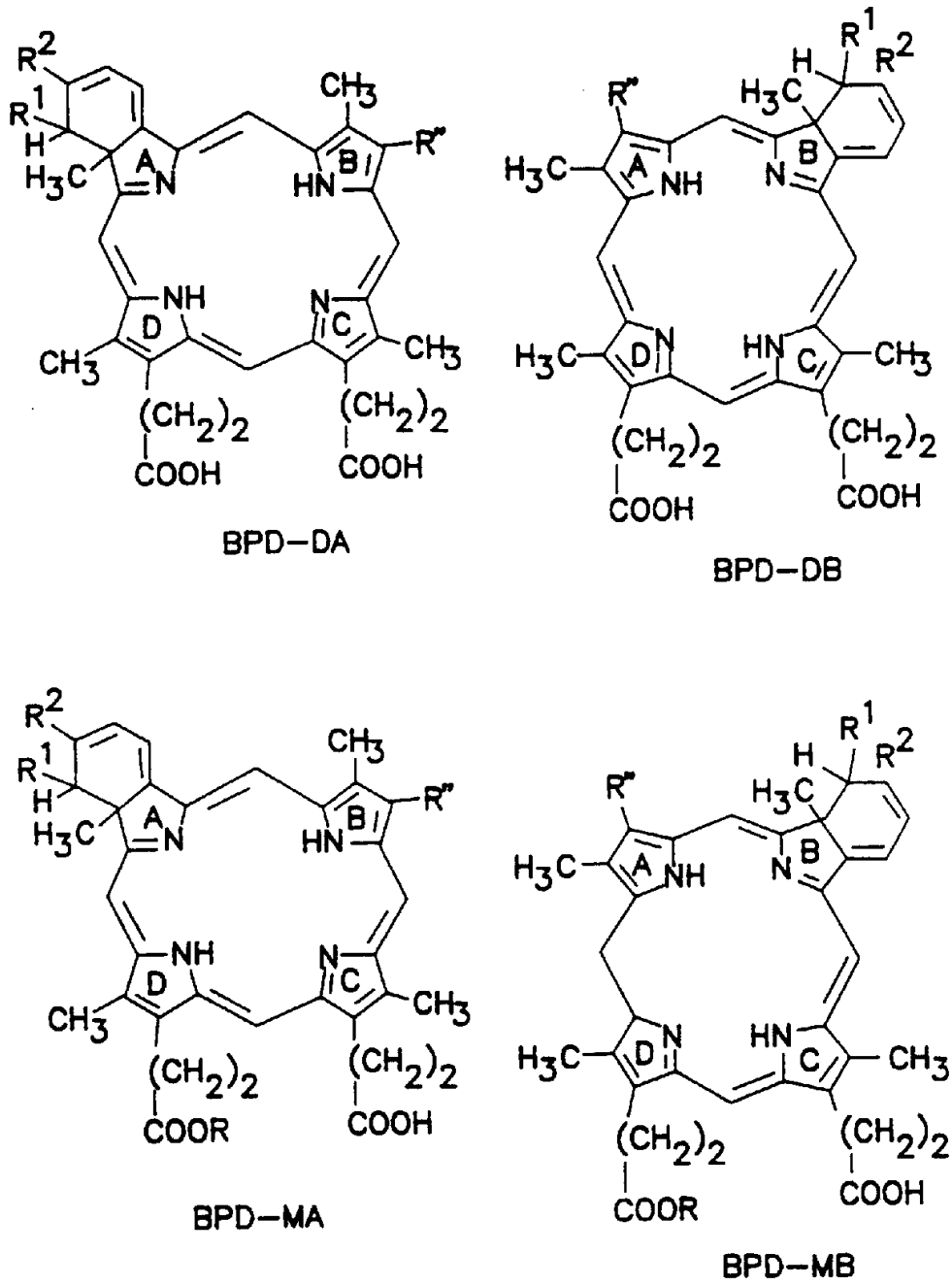


图 1

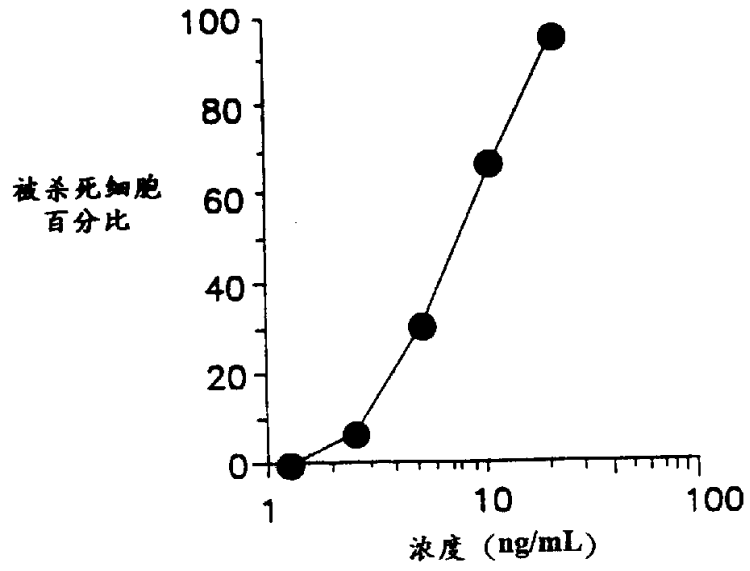


图 2 A

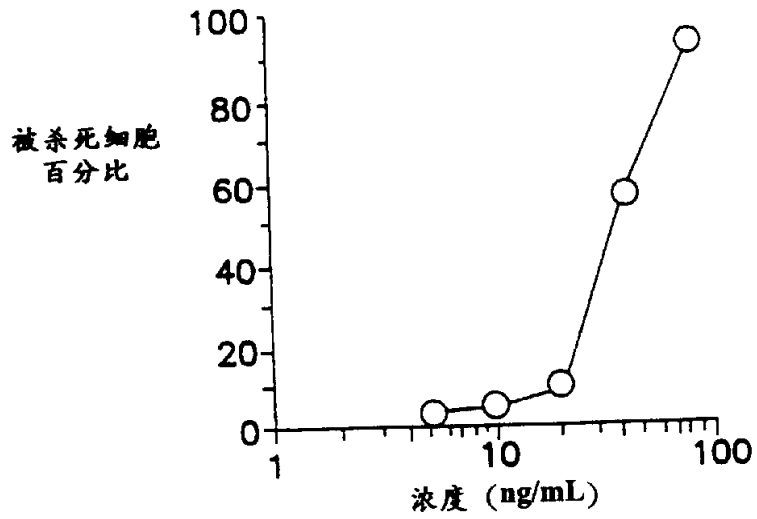


图 2 B



B3水平 (ng/10<sup>6</sup> 细胞)

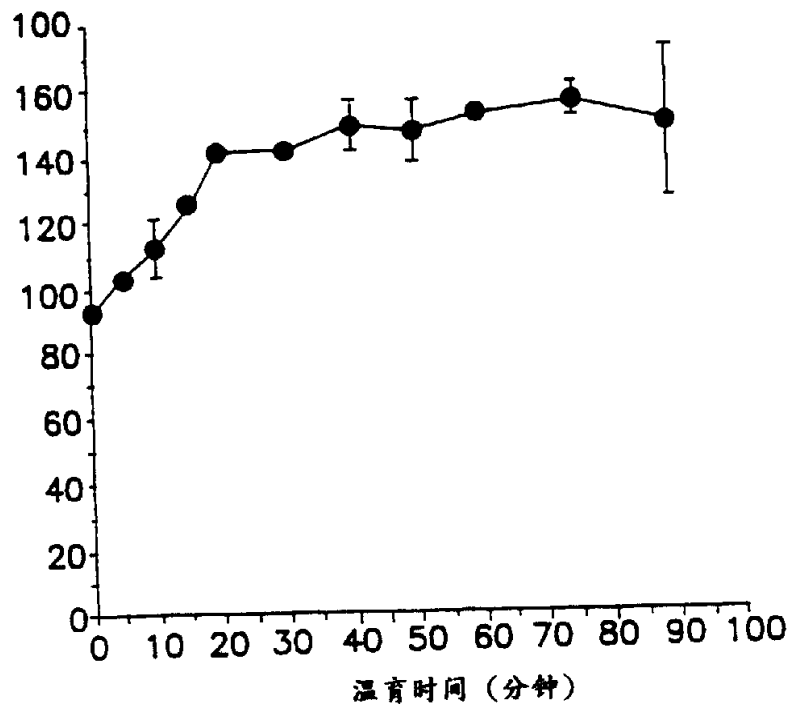


图 3

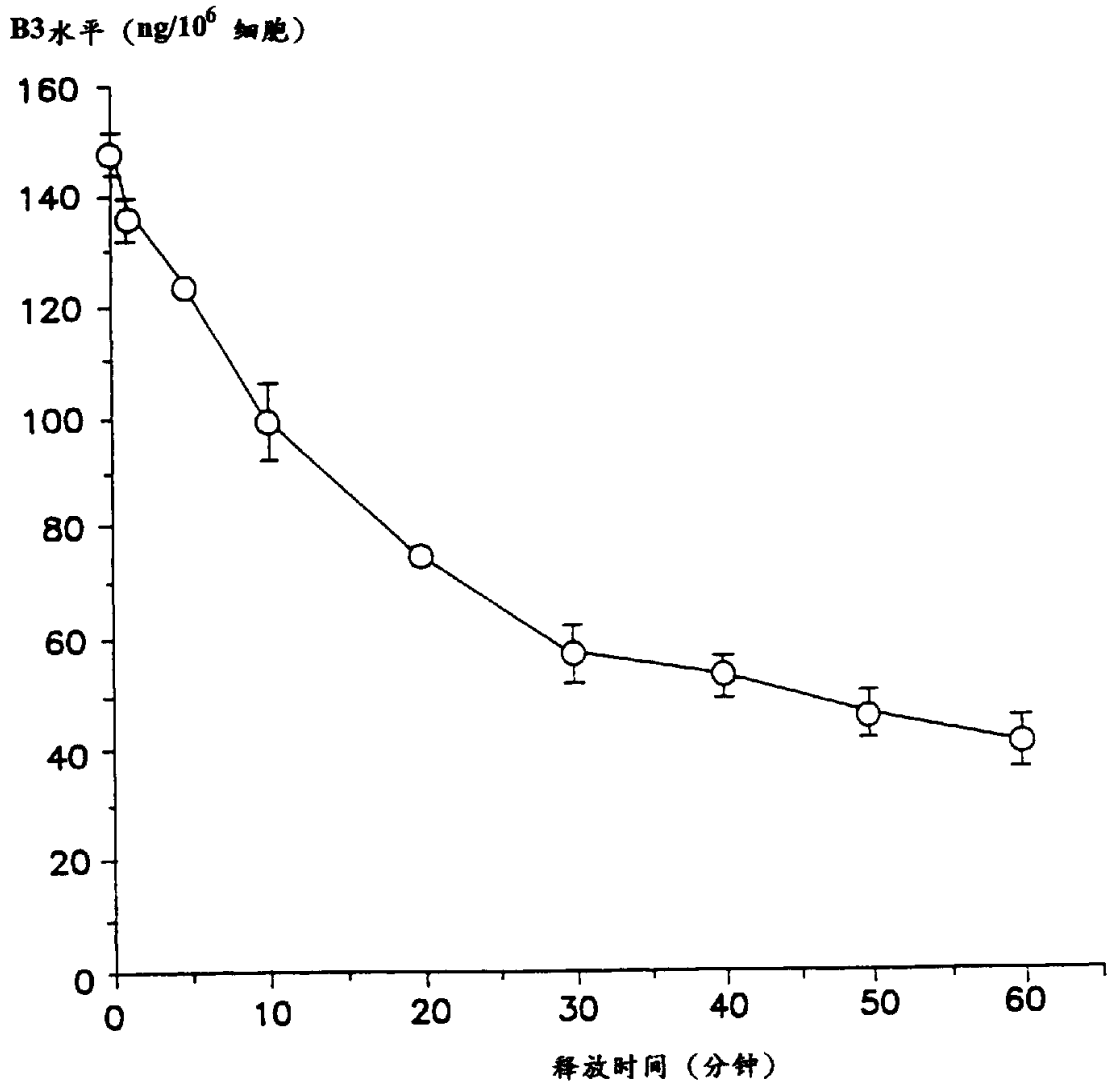


图 4

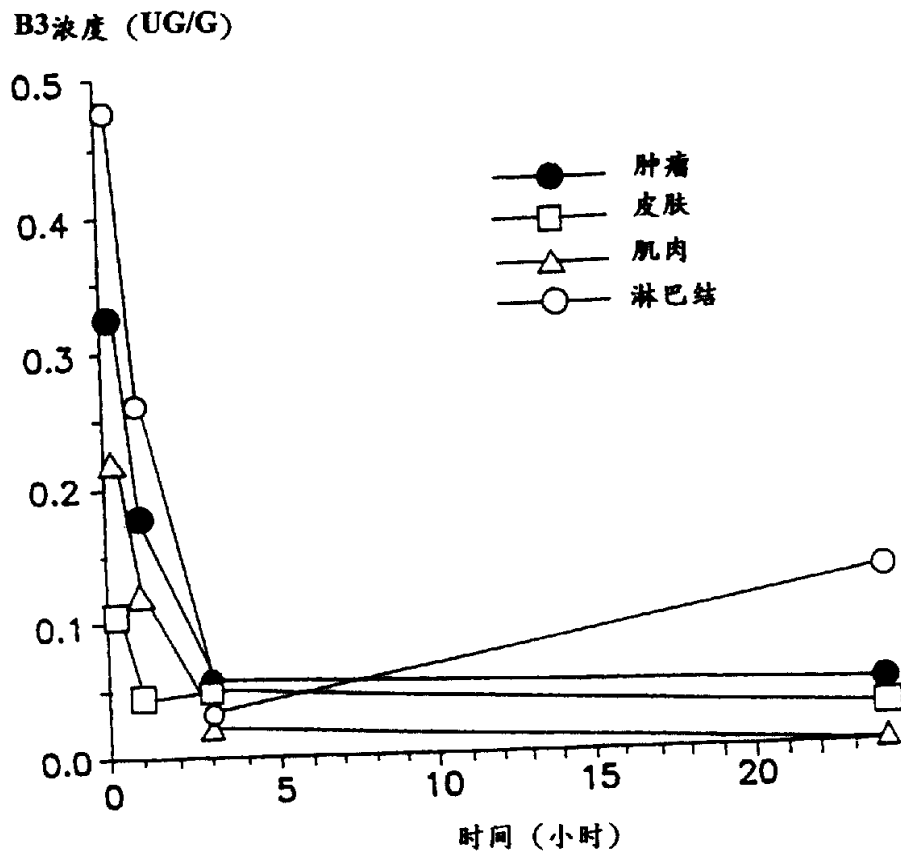


图 5