



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114835753 A

(43) 申请公布日 2022.08.02

(21) 申请号 202210595752.1

A61P 35/00 (2006.01)

(22) 申请日 2022.05.27

(66) 本国优先权数据

202210495843.8 2022.05.07 CN

(71) 申请人 厦门大学

地址 361000 福建省厦门市思明南路422号

(72) 发明人 严晓文 谢鹏

(74) 专利代理机构 厦门市首创君合专利事务所

有限公司 35204

专利代理师 姜谧

(51) Int. Cl.

C07F 9/80 (2006.01)

A61K 31/285 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

A61P 39/02 (2006.01)

权利要求书3页 说明书10页 附图30页

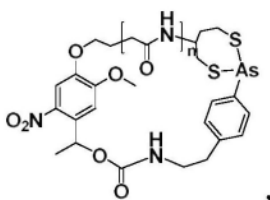
(54) 发明名称

一种光裂解砷-巯基标签化合物及其应用

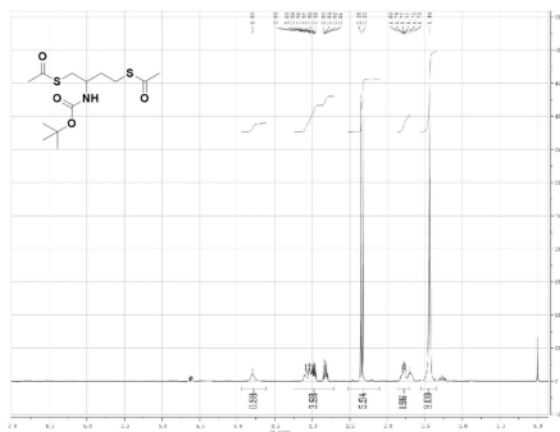
(57) 摘要

本发明公开了一种光裂解砷-巯基标签化合物及其应用,其结构式为

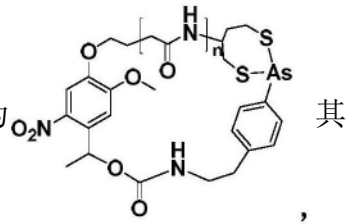
物及其应用,其结构式为



其中,n为1至4。本发明以光可裂解基团邻硝基苄醇为桥梁,将苯砷酸与巯基偶联,合成光裂解砷-巯基标签化合物。其中,苯砷酸与巯基形成稳定的分子内砷硫键,因而难以与其它巯基分子结合。在紫外光照下,标签的苄醇键断裂,砷与巯基的相互作用变为分子间结合,其稳定性降低,砷硫键断裂,从而释放出苯砷酸,游离的苯砷酸便可与小分子巯基化合物如GSH、DTT以及细胞中含巯基的蛋白质反应,实现砷毒性的光控释放。



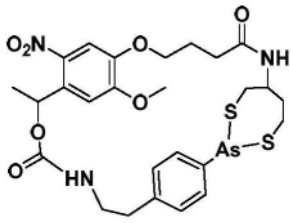
1. 一种光裂解砷-巯基标签化合物, 其特征在于: 其结构式为



其

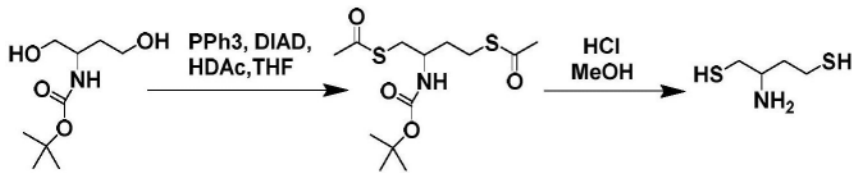
中, n为1至4。

2. 如权利要求1所述的一种光裂解砷-巯基标签化合物, 其特征在于: 其结构式为

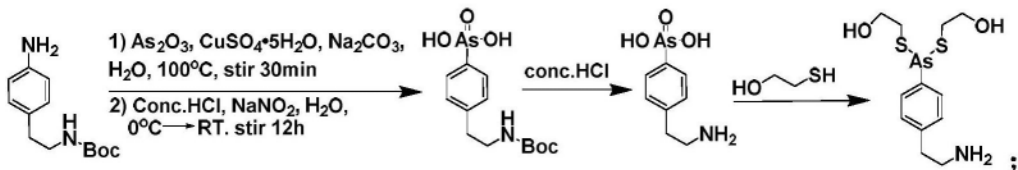


3. 如权利要求2所述的一种光裂解砷-巯基标签化合物, 其特征在于: 其合成路线包括:

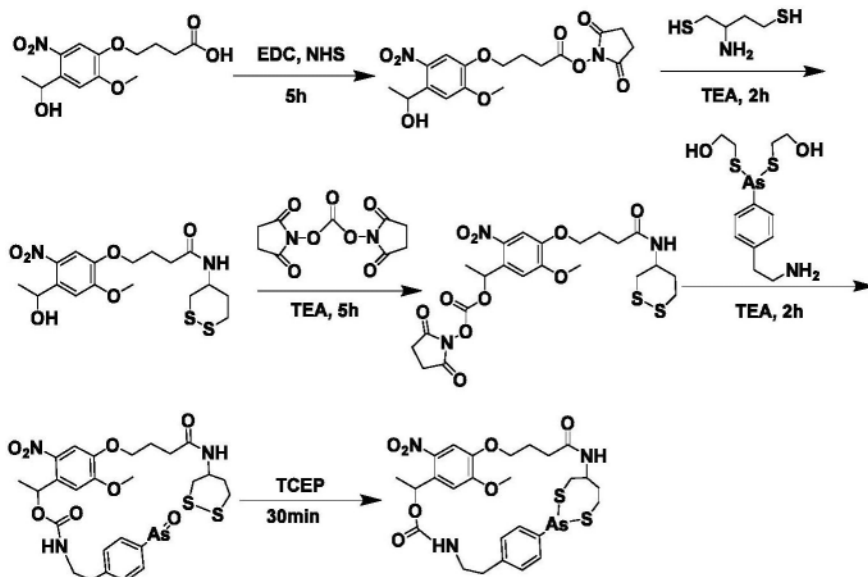
(1)



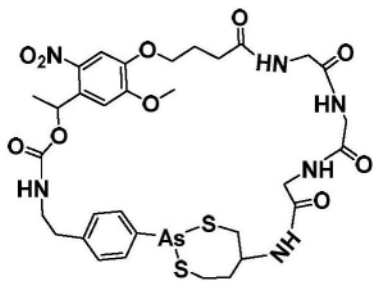
(2)



(3)

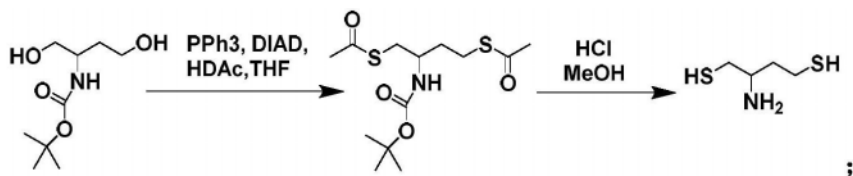


4. 如权利要求1所述的一种光裂解砷-巯基标签化合物, 其特征在于: 其结构式为

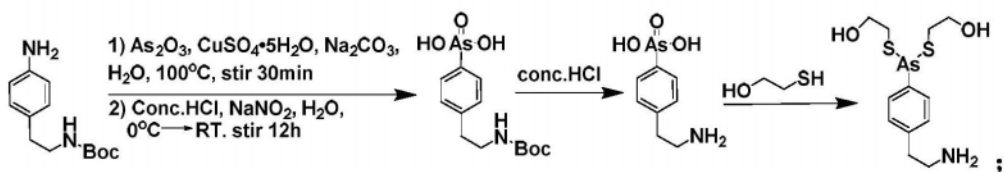


5. 如权利要求4所述的一种光裂解砷-巯基标签化合物,其特征在于:其合成路线包括:

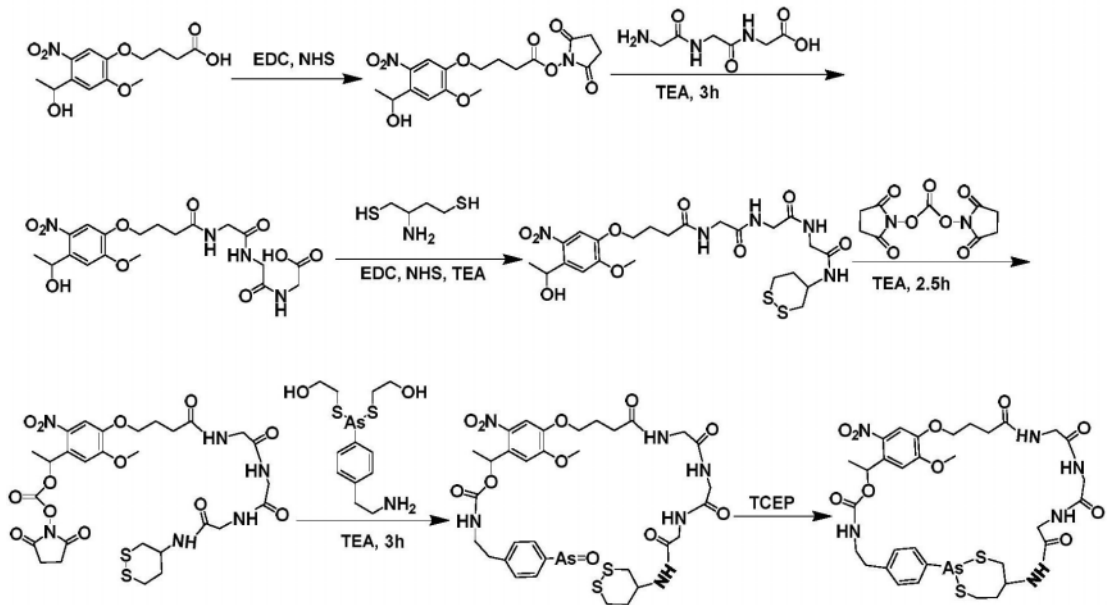
(1)



(2)



(3)



6. 权利要求1至5中任一权利要求所述的光裂解砷-巯基标签化合物在制备砷毒性可控释放组合物中的应用。

7. 如权利要求6所述的应用,其特征在于:其光裂解的有效波长为紫外光波长。

8. 如权利要求7所述的应用,其特征在于:其光裂解的有效波长为250nm-365nm。

9. 一种砷毒性可控释放组合物,其特征在于:其有效成分包括权利要求1至5中任一权利要求所述的光裂解砷-巯基标签化合物。

10. 如权利要求9所述的一种砷毒性可控释放组合物,其特征在于:其有效成分为权利

要求1至5中任一权利要求所述的光裂解砷-巯基标签化合物。

一种光裂解砷-巯基标签化合物及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于砷可控释放技术领域,具体涉及一种光裂解砷-巯基标签化合物及其应用。

背景技术

[0002] 砷(As)是一种环境污染物,饮用水、空气、食物等来源的砷暴露影响人类健康。砷的毒性主要来源于三价砷(As^{III})与蛋白质巯基有较高的亲和力,砷的结合会抑制蛋白质活性,导致蛋白质构象变化,影响蛋白质正常功能。充分了解砷与巯基的相互作用对于理解砷的作用机制拥有重要的意义。

[0003] 另一方面,砷也用于疾病治疗,其中以砒霜(三氧化二砷)治疗急性早幼粒细胞白血病(Acute Promyelocytic leukemia, APL)最为著名。但是,砷对于其他癌症的治疗效果并不显著,其主要原因是传统砷药物缺乏靶向性和毒性调控能力,导致毒副作用大,难以应用于实体肿瘤治疗。目前砷药物的探索仍然停留在不同砷形态的选择及剂量优化阶段,而砷与巯基相互作用方面的研究仍然十分不足。

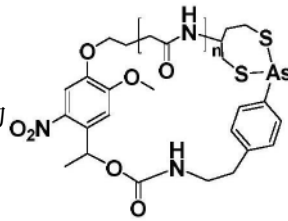
发明内容

[0004] 本发明目的在于克服现有技术缺陷,提供一种光裂解砷-巯基标签化合物。

[0005] 本发明的另一目的在于提供该光裂解砷-巯基标签化合物的应用。

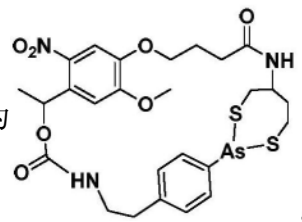
[0006] 本发明的技术方案如下:

[0007] 一种光裂解砷-巯基标签化合物,其结构式为



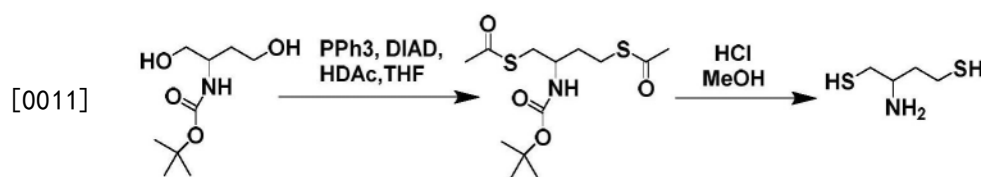
4。

[0008] 在本发明的一个优选实施方案中,其结构式为

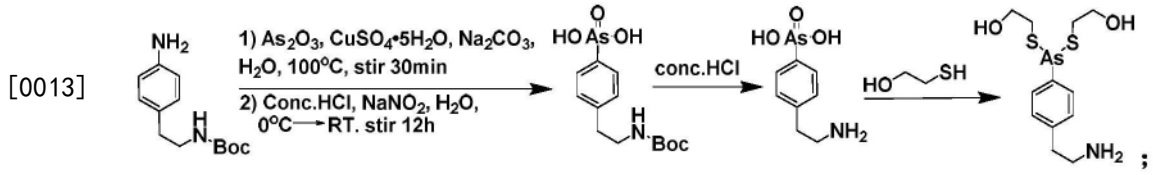


[0009] 进一步优选的,其合成路线包括:

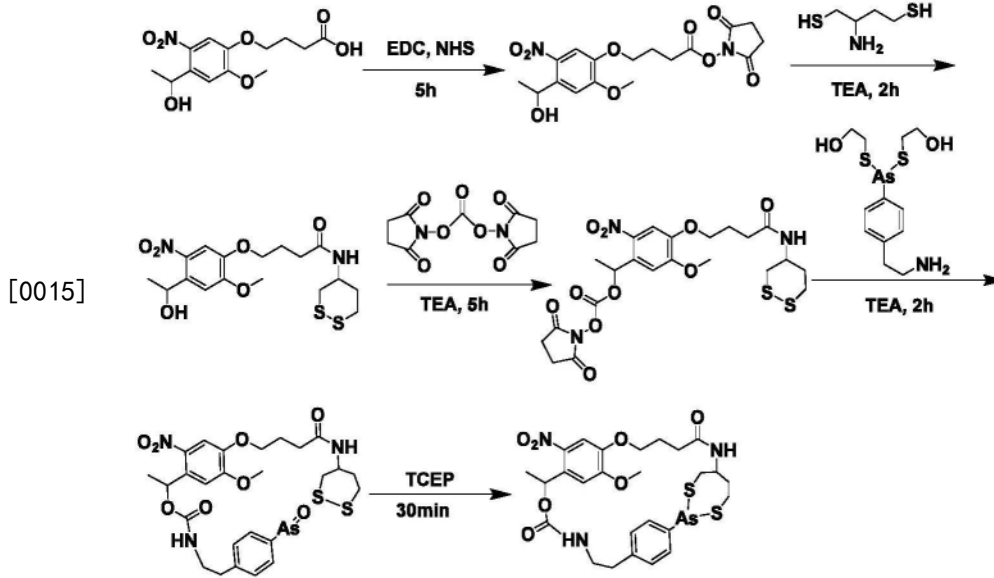
[0010] (1)

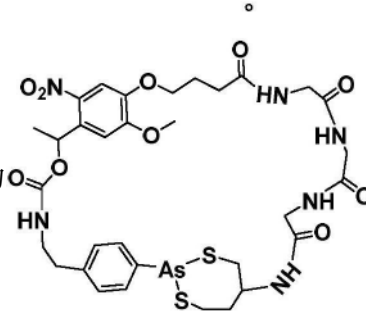


[0012] (2)



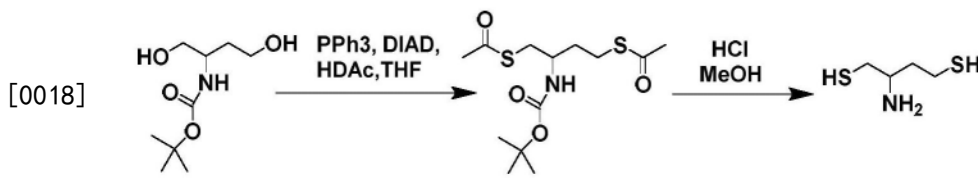
[0014] (3)



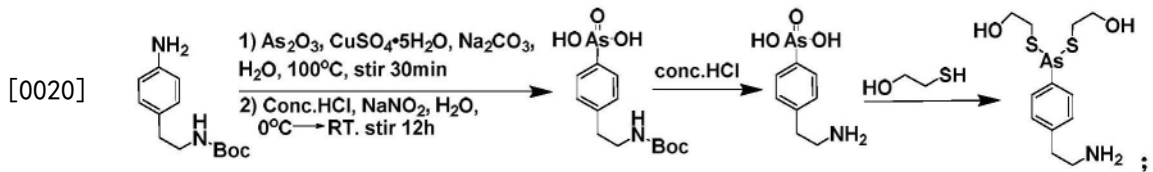
[0016] 在本发明的一个优选实施方案中,其结构式为  进一步

优选的,其合成路线包括:

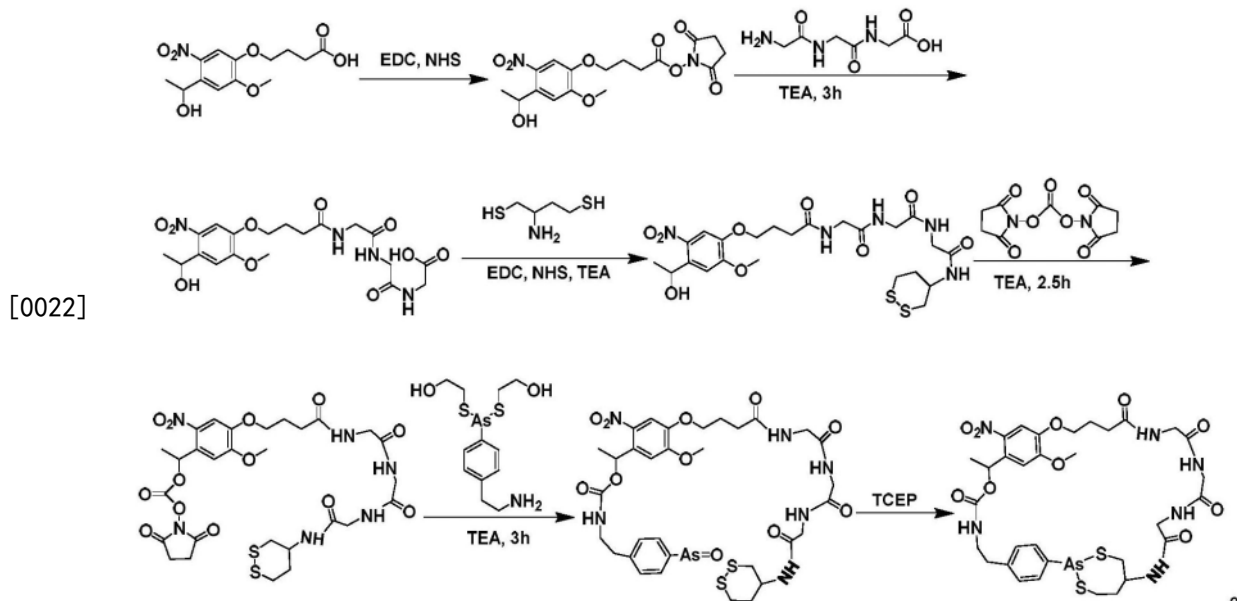
[0017] (1)



[0019] (2)



[0021] (3)



[0023] 上述光裂解砷-巯基标签化合物在制备砷毒性可控释放组合物中的应用。

[0024] 在本发明的一个优选实施方案中,其光裂解的有效波长为紫外光波长。

[0025] 进一步优选的,其光裂解的有效波长为250nm-365nm。

[0026] 一种砷毒性可控释放组合物,其有效成分包括上述光裂解砷-巯基标签化合物。

[0027] 在本发明的一个优选实施方案中,其有效成分为上述光裂解砷-巯基标签化合物。

[0028] 本发明的有益效果是:本发明以光可裂解(photo-cleavable,PC)基团邻硝基苄醇为桥梁,将苯砷酸与巯基偶联,合成光裂解砷-巯基标签化合物。其中,苯砷酸与巯基形成稳定的分子内砷硫键,因而难以与其它巯基分子结合。在紫外光照下,标签的苄醇键断裂,砷与巯基的相互作用变为分子间结合,其稳定性降低,砷硫键断裂,从而释放出苯砷酸,游离的苯砷酸便可与小分子巯基化合物如GSH、DTT以及细胞中含巯基的蛋白质反应,实现砷毒性的光控释放。

附图说明

[0029] 图1为本发明实施例1中化合物A1在 CD_3CN-D_3 中的核磁共振 1H 谱图。

[0030] 图2为本发明实施例1中化合物A1在 CD_3CN-D_3 中的核磁共振 ^{13}C 谱图。

[0031] 图3为本发明实施例1中纯化后的化合物A1的ESI-MS质谱图。

[0032] 图4为本发明实施例1中化合物A2在 $MeOD-D_4$ 中的核磁共振 1H 谱图。

[0033] 图5为本发明实施例1中化合物A2在 $MeOD-D_4$ 中的核磁共振 ^{13}C 谱图。

[0034] 图6为本发明实施例1中纯化后的化合物A2的ESI-MS质谱图。

[0035] 图7为本发明实施例1中化合物B1在 $DMSO-D_6$ 中的核磁共振 1H 谱图。

[0036] 图8为本发明实施例1中化合物B1在 $DMSO-D_6$ 中的核磁共振 ^{13}C 谱图。

[0037] 图9为本发明实施例1中纯化后的化合物B1的ESI-MS质谱图。

[0038] 图10为本发明实施例1中化合物B2在 $MeOD-D_4$ 中的核磁共振 1H 谱图。

[0039] 图11为本发明实施例1中化合物B2在 $MeOD-D_4$ 中的核磁共振 ^{13}C 谱图。

[0040] 图12为本发明实施例1中纯化后的化合物B2的ESI-MS质谱图。

[0041] 图13为本发明实施例1中化合物B3在 $DMSO-D_6$ 中的核磁共振 1H 谱图。

- [0042] 图14为本发明实施例1中化合物B3在DMSO-D₆中的核磁共振¹³C谱图。
- [0043] 图15为本发明实施例1中纯化后的化合物B3的ESI-MS质谱图。
- [0044] 图16为本发明实施例1中化合物C1在DMSO-D₆中的核磁共振¹H谱图。
- [0045] 图17为本发明实施例1中化合物C1在DMSO-D₆中的核磁共振¹³C谱图。
- [0046] 图18为本发明实施例1中纯化后的化合物C1的ESI-MS质谱图。
- [0047] 图19为本发明实施例1中化合物C2在DMSO-D₆中的核磁共振¹H谱图。
- [0048] 图20为本发明实施例1中化合物C2在DMSO-D₆中的核磁共振¹³C谱图。
- [0049] 图21为本发明实施例1中纯化后的化合物C2的ESI-MS质谱图。
- [0050] 图22为本发明实施例1中化合物C3在DMSO-D₆中的核磁共振¹H谱图。
- [0051] 图23为本发明实施例1中化合物C3在DMSO-D₆中的核磁共振¹³C谱图。
- [0052] 图24为本发明实施例1中纯化后的化合物C3的ESI-MS质谱图。
- [0053] 图25为本发明实施例1中纯化后的化合物C4 (a) HPLC/UV (0-25min, 5-90% ACN) 色谱图和 (b) ESI-MS质谱图。
- [0054] 图26为本发明实施例1中纯化后PC-As (a) HPLC/UV (0-25min, 5-90% ACN) 色谱图和 (b) ESI-MS质谱图。
- [0055] 图27为本发明实施例2中化合物C6在DMSO-D₆中的核磁共振¹H谱图。
- [0056] 图28为本发明实施例2中化合物C6在DMSO-D₆中的核磁共振¹³C谱图。
- [0057] 图29为本发明实施例2中纯化后的化合物C6的ESI-MS质谱图。
- [0058] 图30为本发明实施例2中化合物C7在DMSO-D₆中的核磁共振¹H谱图。
- [0059] 图31为本发明实施例2中化合物C7在DMSO-D₆中的核磁共振¹³C谱图。
- [0060] 图32为本发明实施例2中纯化后的化合物C7的ESI-MS质谱图。
- [0061] 图33为本发明实施例2中化合物C8在DMSO-D₆中的核磁共振¹H谱图。
- [0062] 图34为本发明实施例2中化合物C8在DMSO-D₆中的核磁共振¹³C谱图。
- [0063] 图35为本发明实施例2中纯化后的化合物C8的ESI-MS质谱图。
- [0064] 图36为本发明实施例2中纯化后的化合物C9 (a) HPLC/UV (0-25min, 5-90% ACN) 色谱图和 (b) ESI-MS质谱图。
- [0065] 图37为本发明实施例2中PC-As在DMSO-D₆中的核磁共振¹H谱图。
- [0066] 图38为本发明实施例2中PC-As (a) HPLC/UV (0-25min, 5-90% ACN) 色谱图和 (b) ESI-MS质谱图。
- [0067] 图39为本发明实施例3中PC-As (a) 及光裂解产物 (b) 的EIC色谱图; (c) 为光裂解产物的ESI-MS质谱图。
- [0068] 图40为本发明实施例3中PC-3Gly-As (a) 及光裂解产物 (b) 的EIC色谱图; (c) 为光裂解产物的ESI-MS质谱图。
- [0069] 图41为本发明实施例3中PC-As (a) 和PC-3Gly-As (b) 光裂解机理。
- [0070] 图42为本发明实施例4中 (a) PC-As与GSH反应路线、(b) HPLC/UV (0-25min, 5-90% ACN) 色谱图、(c) EIC图、(d) 产物的MS质谱图。
- [0071] 图43为本发明实施例4中 (a) PC-3Gly-As与GSH反应路线、(b) HPLC/UV (0-25min, 5-90% ACN) 色谱图、(c) EIC图、(d-f) 产物的MS质谱图。
- [0072] 图44为本发明实施例4中PC-As (a) 和PC-3Gly-As (b) 与不同浓度GSH结合的关系谱

图。

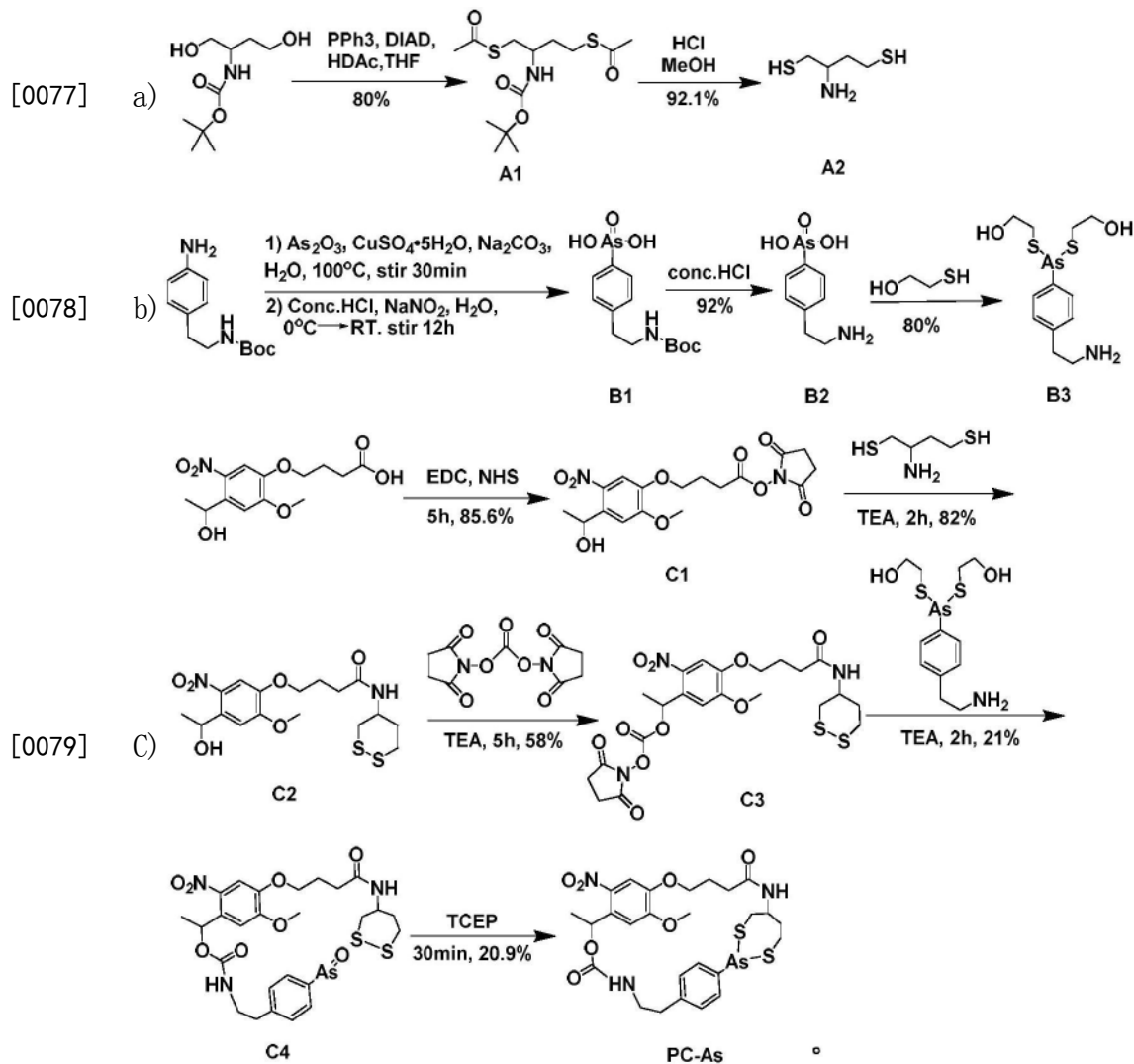
[0073] 图45为本发明实施例5中光裂解砷-巯基标签光照前后孵育HepG₂细胞生存率结果图。

具体实施方式

[0074] 以下通过具体实施方式结合附图对本发明的技术方案进行进一步的说明和描述。

[0075] 实施例1

[0076] 本实施例合成光裂解砷-巯基标签所设计的单元有：(1) 一个能与光裂解基团及苯砷酸偶联的双巯基化合物(化合物A2)；(2) 一个能与光裂解基团反应而带有氨基的三价苯砷酸(化合物B3)；(3) 一个功能化的光裂解基团(化合物C3)；以此为基础，本实施例设计了光裂解砷-巯基标签-1(PC-As)，其合成路线如下：



[0080] 具体合成步骤如下：

[0081] (S)-2-Boc-氨基-1,4-二乙酸丁二硫酯(化合物A1)的合成：在一个干燥的250ml圆底烧瓶中加入三苯基膦(1.711g, 6.523mmol)，置于干燥的N₂保护中。然后加入无水四氢呋喃(27mL)，将溶液置于冰浴中冷却至0℃。滴加偶氮二甲酸二异丙酯(1.3mL, 6.6mmol)到烧瓶中，加入完成后，混合物再搅拌反应20min。然后于10mL无水四氢呋喃中加入硫代乙酸

(0.47mL, 6.6mmol) 和 (s)-2-Boc-氨基-1,4-丁二醇 (0.559g, 2.72mmol), 将此混合溶液加入到烧瓶中。混合物在 0℃ 下搅拌 1h, 然后在室温下搅拌 16h。混合物减压浓缩。利用层析色谱法 (30% v/v 乙酸乙酯/正己烷) 纯化产物得到白色固体 (0.700g, 80%)。利用核磁共振 ^1H 谱 (图1) 和 ^{13}C 谱 (图2) 和 HPLC-ESI-MS ($m/z = 344.20$) (图3) 对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR (500MHz, $\text{CD}_3\text{CN}-\text{D}_3$) δ 3.76 (s, 1H), 3.20-2.90 (br, 4H), 2.50-2.30 (br, 6H), 1.81-1.70 (m, 2H), 1.55-1.40 (br, 9H), ^{13}C NMR (500MHz, $\text{CD}_3\text{CN}-\text{D}_3$) δ 196.10, 158.00, 79.10, 34.50, 34.40, 30.55, 29.10, 26.00.

[0082] (S)-2-氨基丁烷-1,4-二巯基 (化合物A2) 的合成及表征: 将 (s)-2-Boc-氨基-1,4-二甲酸丁二硫酯 (0.700g, 2.17mmol) 加入火干圆底烧瓶中, 置于干燥的 N_2 保护中。加入 20mL 无水甲醇溶解, 然后缓慢加入 5mL 乙酰氯。混合物于 70℃ 回流加热 3h, 减压浓缩, 产物由反相色谱柱纯化, 利用乙醚重结晶, 而后真空过滤得到白色固体 (0.320g, 2mmol) 产率为 92.1%。利用核磁共振 ^1H 谱 (图4) 和 ^{13}C 谱 (图5) 和 HPLC-ESI-MS ($m/z = 138.0350$) (图6) 对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR (500MHz, $\text{MeOD}-\text{D}_4$) δ 3.20-2.91 (br, 1H), 2.85-2.75 (m, 1H), 2.75-2.52 (br, 2H), 1.95-2.13 (m, 2H), ^{13}C NMR (500MHz, $\text{MeOD}-\text{D}_4$) δ 52.20, 35.10, 26.00, 19.50.

[0083] 4-(3-Boc-氨基丙基) 苯硼酸 (化合物B1) 的合成: 于 50mL 烧瓶中加入无水碳酸钠 (500mg, 4.67mmol)、三氧化二砷 (250mg, 1.26mmol) 和五水合硫酸铜 (20mg, 0.075mol), 再加入 8mL 水, 搅拌加热。当大部分固体溶解后, 停止加热, 溶液静置冷却, 得到亚硼酸盐混合物。于 50mL 烧杯中, 加入 4-(3-Boc-氨基丙基) 苯胺 (472.9mg, 2mmol), 再加入 10mL H_2O 促进溶解, 而后缓慢加入浓盐酸 (200 μL), 加入冰块得到 15mL 的溶液, 缓慢加入亚硝酸钠 (139mg, 2mmol) 的饱和水溶液。缓慢加入亚硝酸钠 (139mg, 2mmol) 的饱和水溶液, 将得到无色重氮盐溶液, 接着缓慢加入到亚硼酸盐混合物中, 置于冰浴中搅拌 1 小时。进一步将产生的浆液搅拌过夜得到棕色混合液。往以上溶液中添加 8mL 浓盐酸酸化直到棕黑色油状沉淀产生, 混合物通过离心去除沉淀。产物由反相色谱柱纯化, 旋蒸后得到 323mg 黄色固体, 产率为 46.8%。利用核磁共振 ^1H 谱 (图7) 和 ^{13}C 谱 (图8) 和 HPLC-ESI-MS ($m/z = 346.0800$) (图9) 对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-\text{D}_6$) δ 7.15 (d, 2H), 6.90 (d, 2H), 6.37 (d, 1H), 2.65 (t, 2H), 2.25-2.21 (br, 2H), 0.83-0.71 (s, 9H), ^{13}C NMR (500MHz, $\text{DMSO}-\text{D}_6$) δ 155.50, 130.20, 130.00, 129.80, 77.50, 41.00, 35.10, 27.70.

[0084] 4-(氨基丙基) 苯硼酸 (化合物B2) 的合成及表征: 于 25mL 烧瓶中加入 4-(3-Boc-氨基丙基) 苯硼酸 (162mg, 0.5mmol), 加入 5mL 水溶解, 接着加入 5mL 浓盐酸对产物进行脱 Boc 保护。反应在室温下搅拌 30min, 溶液由棕色变为棕红色。产物由反相色谱柱纯化, 旋蒸后得到 112.7mg 黄绿色固体, 产率为 92%。利用核磁共振 ^1H 谱 (图10) 和 ^{13}C 谱 (图11) 和 HPLC-ESI-MS ($m/z = 246.00$) (图12) 对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR (500MHz, $\text{MeOD}-\text{D}_4$) δ 7.90 (d, 2H), 7.70 (d, 2H), 6.35 (d, 1H), 3.43-3.30 (d, 2H), 3.20-3.30 (d, 2H), ^{13}C NMR (500MHz, $\text{MeOD}-\text{D}_4$) δ 144.52, 131.99, 130.21, 41.08, 33.10.

[0085] 巯基乙醇还原 4-(氨基丙基) 苯硼二巯基 (化合物B3): 于 25mL 容量瓶中加入 4-(氨基丙基) 苯硼酸 (98mg, 0.4mmol), 加入 5mL 乙腈溶解, 而后加入 1mL 巯基乙醇, 反应在室温下搅拌 30 分钟。产物由反相色谱柱纯化, 旋蒸后得到 110mg 黄色油状物, 产率为 80%。利用核磁共振 ^1H 谱 (图13) 和 ^{13}C 谱 (图14) 和 HPLC-ESI-MS ($m/z = 349.9877$) (图15) 对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-\text{D}_6$) δ 7.70 (d, 2H), 7.45 (d, 2H), 3.50-3.73 (t, 4H), 3.04-2.75 (br,

8H), ^{13}C NMR (500MHz, DMSO- D_6) δ 132.51, 131.24, 129.50, 128.57, 74.81, 63.03, 35.12, 34.52, 33.05.

[0086] PC-NHS (化合物C1) 的合成: 于50mL烧瓶中加入PC (300mg, 1mmol) 后, 加入7mLACN和7mL MeOH溶解, 将烧瓶置于冰浴条件下搅拌, 随后加入EDCI (289mg, 1.5mmol) 活化20min, 再加入N-羟基琥珀酰亚胺 (173mg, 1.5mmol), 反应自然升温到室温下搅拌5h, 产物由反相色谱柱纯化, 旋蒸后得到340mg淡黄固体, 产率为85.6%。利用核磁共振 ^1H 谱 (图16) 和 ^{13}C 谱 (图17) 和HPLC-ESI-MS ($m/z=379.1095$) (图18) 对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR (500MHz, DMSO- D_6) δ 7.60 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 5.25 (t, 1H), 4.15 (d, 2H), 3.90 (t, 3H), 2.80-2.75 (m, 4H), 2.15-2.10 (m, 4H), 1.45-1.35 (t, 3H), ^{13}C NMR (500MHz, DMSO- D_6) δ 169.06, 168.52, 151.99, 144.71, 137.57, 137.07, 108.83, 108.70, 65.10, 62.53, 25.15, 24.85, 22.52.

[0087] PC-DTBA (化合物C2) 的合成: 于50mL烧瓶中加入PC-NHS (300mg, 0.75mmol) 后, 加入10mLACN溶解, 称量化合物A2 (195mg, 1.125mmol) 加入1mL MeOH溶解, 随后将其加入至溶解好的PC-NHS中, 再加入400 μL TEA调节pH至8左右, 反应于室温下搅拌2h, 产物由反相色谱柱纯化, 旋蒸后得到258mg黄色固体, 产率为82%。利用核磁共振 ^1H 谱 (图19) 和 ^{13}C 谱 (图20) 和HPLC-ESI-MS ($m/z=399.1114$) (图21) 对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR (500MHz, DMSO- D_6) δ 7.60 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 6.70-6.55 (br, 1H), 5.45 (t, 1H), 4.10 (q, 2H), 3.90 (t, 3H), 3.55 (d, 1H), 3.05-2.95 (dd, 2H), 2.75-2.70 (m, 1H), 2.30 (t, 2H), 2.25-2.20 (d, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 1.45 (t, 3H), ^{13}C NMR (500MHz, DMSO- D_6) δ 171.03, 152.32, 146.50, 139.85, 139.56, 69.12, 64.80, 56.13, 38.11, 32.52, 25.31, 25.17.

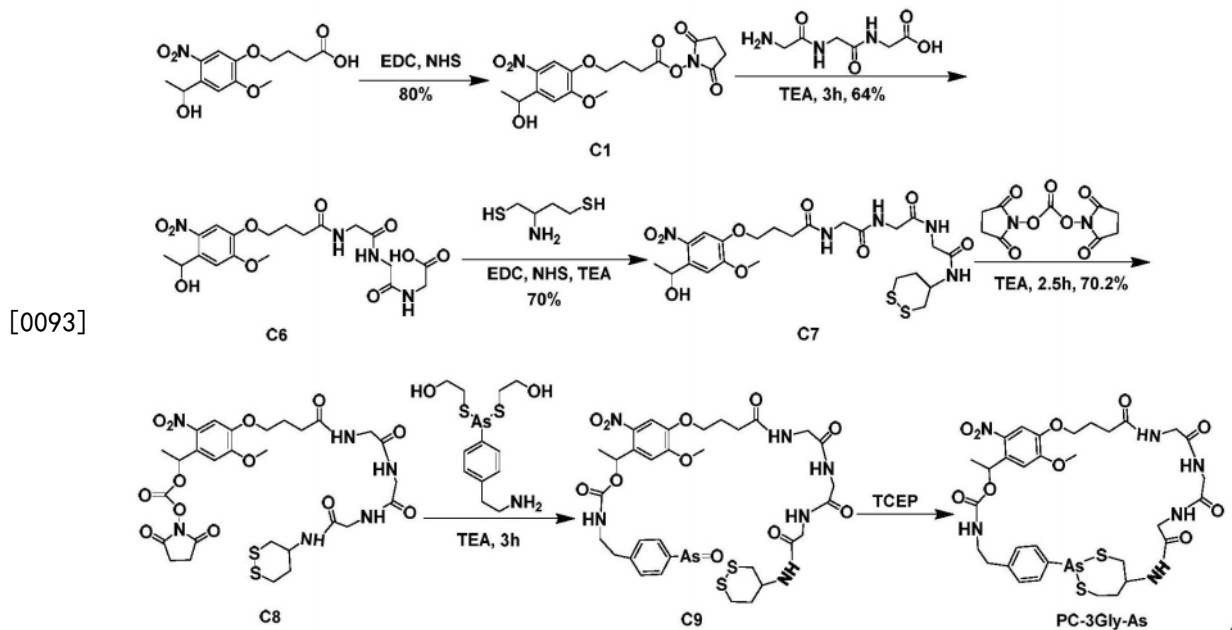
[0088] PC-DTBA-DSC (化合物C3) 的合成: 于100mL烧瓶中加入固体粉末PC-DTBA (250mg, 0.6mmol) 后, 加入5mL无水ACN溶解, 称量DSC (1.23g, 4.8mmol) 加入8mL无水DMSO溶解, 随后将其加入至溶解好的PC-DTBA中, 再加入200 μL TEA调节pH至8左右, 反应于室温下搅拌5h, 产物由反相色谱柱纯化, 旋蒸后得到194mg黄色固体, 产率为58%。利用核磁共振 ^1H 谱 (图22) 和 ^{13}C 谱 (图23) 和HPLC-ESI-MS ($m/z=558.1210$) (图24) 对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR (500MHz, DMSO- D_6) δ 8.17 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.28 (d, 1H), 6.38-6.34 (m, 1H), 4.12 (t, 2H), 3.99 (t, 3H), 3.85-3.75 (br, 3H), 3.15-3.05 (m, 1H), 2.99-2.81 (br, 2H), 2.78-2.74 (t, 4H), 2.71-2.63 (m, 1H), 2.31-2.25 (t, 2H), 2.17-2.00 (d, 2H), 1.93 (t, 1H), 1.75 (t, 3H), ^{13}C NMR (500MHz, DMSO- D_6) δ 169.80, 169.30, 152.30, 149.23, 146.50, 139.82, 128.70, 73.80, 66.11, 54.90, 36.12, 30.27, 24.30, 24.06, 19.97.

[0089] PC-DTBA-DSC-As^(III) (化合物C4) 的合成: 于50mL烧瓶中加入PC-DTBA-DSC (194mg, 0.35mmol) 后, 加入5mL DMF溶解, 称量化合物B3 (147mg, 0.42mmol) 加入5mL ACN溶解, 随后将其加入至溶解好的PC-DTBA-DSC中, 再加入600 μL TEA调节pH至8左右, 反应于室温下搅拌2h, 产物由反相色谱柱纯化, 旋蒸后得到48mg黄色产物, 产率为21%。利用HPLC-ESI-MS ($m/z=654.0544$) (图25) 对产物进行结构鉴定。

[0090] PC-As的合成: PC-DTBA-DSC-As^(III) 加入至25mL烧瓶 (40mg, 0.06mmol) 中, 再加入5mL DMF溶解, 称量TCEP (75mg, 0.3mmol), 加入5mL 100mM的 NH_4HCO_3 , 再加入100 μL TEA使TCEP完全溶解, 随后将其与溶解好的PC-DTBA-DSC-As^(III) 混合, 反应于室温下搅拌30min, 产物由反相色谱柱纯化, 冻干后得到8mg淡黄色固体产物, 产率为20.9%。利用HPLC-ESI-MS ($m/z=638.0688$) (图26) 对产物进行结构鉴定。

[0091] 实施例2

[0092] 本实施例在邻硝基苄基和巯基之间引入了三甘氨酸(Gly-Gly-Gly,简称3Gly),将标签分子延长,设计了光裂解砷-巯基标签-2(PC-3Gly-As),其合成路线如下:



[0094] 具体合成步骤如下:

[0095] PC-3Gly (化合物C6)的合成:于50mL烧瓶中加入PC-NHS (300mg,0.75mmol)后,加入10mL ACN溶解,称量Gly-Gly-Gly (213mg,1.125mmol)加入15mL H₂O溶解,随后将其加入至溶解好的PC-NHS中,再加入600μL TEA调节pH至8左右,反应于室温下搅拌2h,产物由反相色谱柱纯化,旋蒸后得到300mg黄色固体,产率为85%。利用核磁共振¹H谱(图27)和¹³C谱(图28)和HPLC-ESI-MS (m/z=453.1616) (图29)对产物进行结构鉴定。¹H NMR (500MHz, DMSO-D₆) δ 8.26 (s, 3H), 7.60 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 5.27 (t, 1H), 4.10 (q, 2H), 3.90 (t, 3H), 3.81-3.69 (br, 6H), 2.33-2.40 (d, 2H), 2.06-1.92 (d, 2H), 1.45 (t, 3H), ¹³C NMR (500MHz, DMSO-D₆) δ 171.53, 169.99, 169.87, 152.32, 146.50, 139.85, 139.56, 139.55, 69.12, 64.80, 56.13, 55.07, 45.16, 32.83, 25.31, 25.17, 24.99。

[0096] PC-3Gly-DTBA (化合物C7)的合成:于50mL烧瓶中加入PC-3Gly (300mg,0.65mmol)后,加入10mL LACN溶解,将烧瓶置于冰浴条件下搅拌,随后加入EDCI (192mg,1mmol)活化20min,再加入N-羟基琥珀酰亚胺 (116mg,1mmol),反应自然升温到室温下搅拌5h后,称量化合物A2 (139mg,0.8mmol)加入1mL MeOH溶解,随后将其加入至反应液PC-3Gly-NHS中,再加入400μL TEA调节pH至8左右,反应于室温下搅拌2h,产物由反相色谱柱纯化,旋蒸后得到295mg黄色固体,产率为77%。利用核磁共振¹H谱(图30)和¹³C谱(图31)和HPLC-ESI-MS (m/z=590.2018) (图32)对产物进行结构鉴定。¹H NMR (500MHz, DMSO-D₆) δ 8.26 (br, 3H), 7.60 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 5.27 (t, 1H), 4.50-4.01 (br, 3H), 3.95-3.67 (m, 9H), 3.66-2.11 (br, 5H), 1.92-1.74 (br, 3H), 1.45 (t, 3H), ¹³C NMR (500MHz, DMSO-D₆) δ 173.23, 171.53, 169.99, 154.12, 146.50, 139.85, 139.56, 119.56, 109.77, 69.12, 64.80, 56.13, 50.07, 37.52, 28.88, 26.31, 25.17, 20.99。

[0097] PC-3Gly-DTBA-DSC (化合物C8)的合成:于100mL烧瓶中加入PC-3Gly-DTBA (295mg,

0.5mmol)后,加入5mL无水DMSO溶解,称量DSC(1.02g,4mmol)加入7mL无水DMSO溶解,随后将其加入至溶解好的PC-3Gly-DTBA中,再加入200 μ L TEA调节pH至8左右,反应于室温下搅拌5h,产物由反相色谱柱纯化,旋蒸后得到189mg黄色固体,产率为52%。利用核磁共振 ^1H 谱(图33)和 ^{13}C 谱(图34)和HPLC-ESI-MS($m/z=729.1680$)(图35)对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR(500MHz,DMSO- D_6) δ 8.26(br,3H),7.60(d,1H),7.45(d,1H),5.27(t,1H),4.50-4.21(br,3H),4.05-3.97(s,3H),3.85-3.75(br,6H),3.01-2.72(br,4H),2.48-2.39(t,2H),2.09-1.93(m,2H),1.78-1.74(t,2H),1.45(t,3H), ^{13}C NMR(500MHz,DMSO- D_6) δ 173.23,173.10,171.53,169.99,168.90,159.83,154.12,146.50,139.85,139.56,109.56,109.47,69.12,64.80,56.13,41.07,32.52,26.28,25.17。

[0098] PC-3Gly-DTBA-DSC-As^(III)(化合物C9)的合成:于50mL烧瓶中加入PC-3Gly-DTBA-DSC(180mg,0.25mmol)后,加入5mL DMF溶解,称量化合物B3(105mg,0.3mmol)加入5mL ACN溶解,随后将其加入至溶解好的PC-DTBA-DSC中,再加入500 μ L TEA调节pH至8左右,反应于室温下搅拌2h,产物由反相色谱柱纯化,旋蒸后得到60mg黄色产物,产率为28%。利用HPLC-ESI-MS($m/z=825.1667$)(图36)对产物进行结构鉴定。

[0099] PC-3Gly-As标签的合成:于25mL烧瓶中加入PC-DTBA-DSC-As^(III)(60mg,0.07mmol)后,加入5mL DMF溶解,称量TCEP(88mg,0.35mmol),加入5mL 100mM的 NH_4HCO_3 ,再加入100 μ L TEA使TCEP完全溶解,随后将其与溶解好的PC-3Gly-DTBA-DSC-As^(III)混合,反应于室温下搅拌30min,产物由反相色谱柱纯化,冻干后得到6mg淡黄色固体产物,产率为10.6%。利用核磁共振 ^1H 谱(图37)和HPLC-ESI-MS($m/z=809.1641$)(图38)对产物进行结构鉴定。 ^1H NMR(500MHz,DMSO- D_6) δ 8.57-7.96(br,3H),7.95-7.39(br,5H),7.37-6.93(m,3H),6.11(d,1H),4.19-3.93(d,3H),3.90-3.66(br,9H),3.18-2.56(br,8H),2.45(t,2H),2.01(t,3H),1.52(s,3H),1.38(s,3H)。

[0100] 实施例3

[0101] 邻硝基苄基由于具有光裂解速度较快,在生理条件下稳定等优点,已经成为一种广泛应用硝基类光裂解模块。通过比较两种标签在紫外光下照射不同的时间,本实施例发现光照30分钟,标签分子完全裂解生成苯砷酸分子(图39、40)。根据邻硝基化合物的光裂解机理,本发明推测了标签的光裂解过程(图41),得到了实验结果的验证。

[0102] 实施例4

[0103] 谷胱甘肽(glutathione,GSH)广泛存在于动、植物中,是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸结合而成的含有巯基的三肽,其中半胱氨酸上的巯基为GSH活性基团。GSH不仅具有调节细胞氧化还原平衡和抗氧化等重要生理作用,而且易与某些药物(如扑热息痛)和一些毒素(如砷、铅、汞、等重金属)结合,从而具有解毒功能。因此,本实施例对光裂解砷-巯基标签和GSH的相互作用情况进行了考察。本实施例使用HPLC-UV/ESIMS考察了1mM PC-As和PC-3Gly-As与不同浓度的GSH(0.5-250mM)的相互作用情况,由质谱信号可知,PC-As与GSH反应得到复合产物PC-As(GS)₂(图42),而PC-3Gly-As与GSH反应得到产物PC-3Gly-As(GS)和PC-3Gly-As(GS)₂(图43)。

[0104] 本实施例以GSH的浓度为横坐标,以标签和复合产物的HPLC-UV(254nm)色谱峰面积为纵坐标作图(图44),比较不同GSH浓度下的反应程度。本实施例发现随着GSH浓度的提高,两种标签分子的峰面积逐渐减少,复合产物的信号逐渐增加,当GSH浓度增加至50mM时,

PC-As的峰面积不再减少,PC-As (GS)₂的信号达到平台,PC-As与GSH基本完全结合,大部分PC-As的分子内砷硫键被完全打开,与GSH形成分子间的砷硫键;对于PC-Gly-As,当GSH浓度增加至250mM时,只有80%的PC-Gly-As与GSH结合,仍有少部分PC-3Gly-As的分子内砷硫键未被打开。说明PC-3Gly-As的砷与分子内巯基的结合强度比PC-As的更高。因此,通过增长碳链,三价砷更稳定地被分子内巯基保护。

[0105] 实施例5

[0106] 本实施例采用了细胞活力法分析光裂解砷-巯基标签对HepG 2细胞增殖的抑制活性(图45),结果显示,各化合物对HepG 2细胞株增殖均有抑制作用,PC-As光照前的IC50值为15.8 μ mol/L,光照后为10.2 μ mol/L;PC-3Gly-As光照前的IC50值为27.9 μ mol/L,光照后为10.3 μ mol/L,说明光照前短链的PC-As比长链的PC-3Gly-As毒性更大,而光照后两种毒性都得到增强,这是由于光照后毒性更高的苯砷酸分子被释放出来,对细胞增殖的抑制作用加大。

[0107] 以上所述,仅为本发明的较佳实施例而已,故不能依此限定本发明实施的范围,即依本发明专利范围及说明书内容所作的等效变化与修饰,皆应仍属本发明涵盖的范围内。

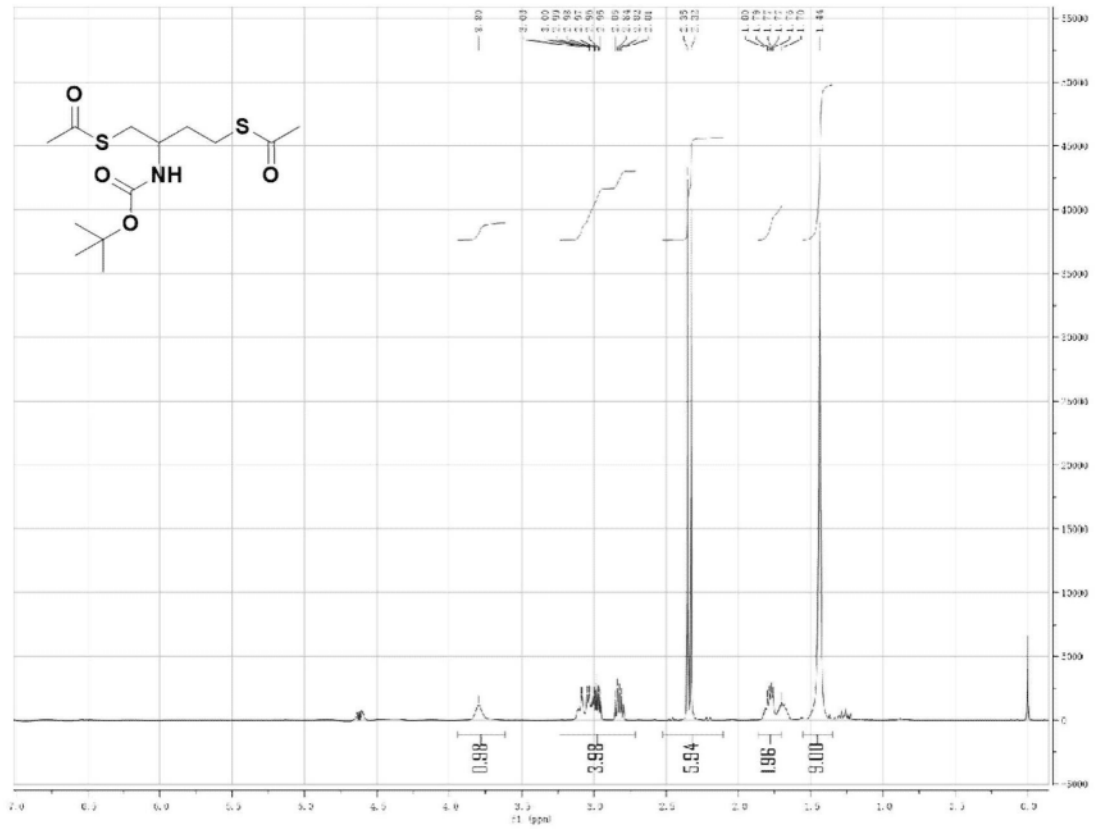


图1

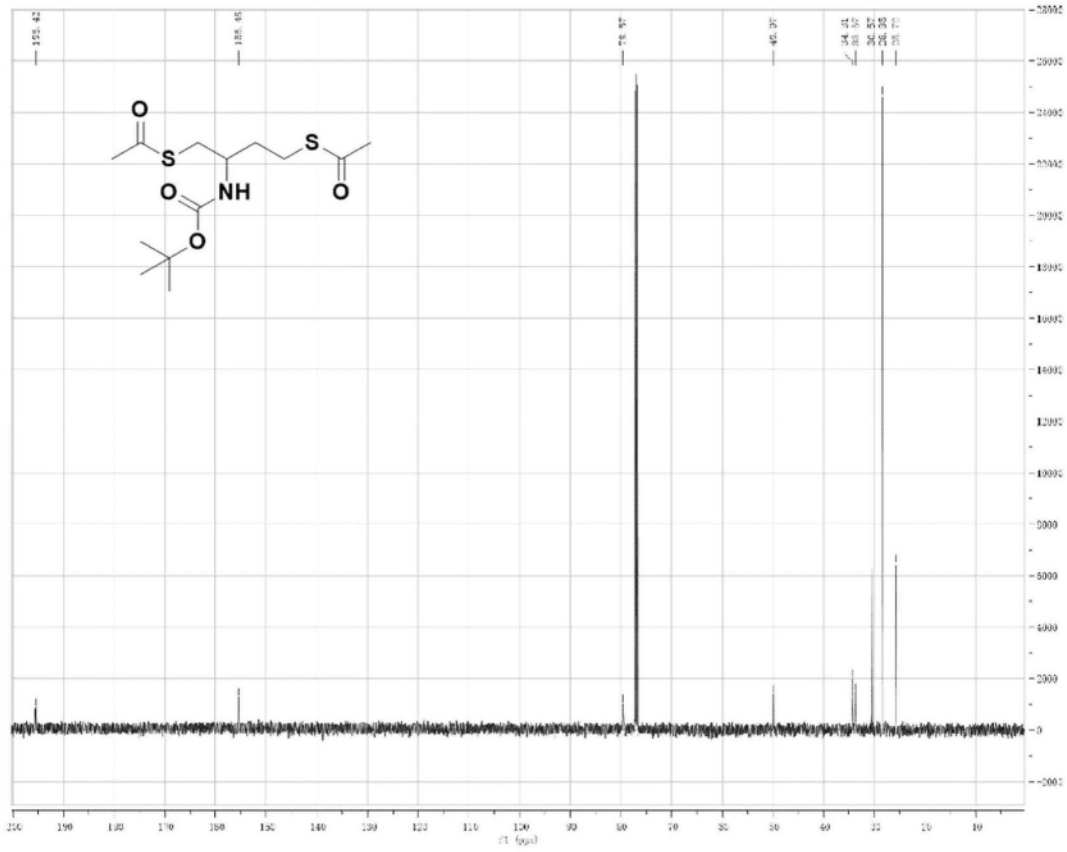


图2

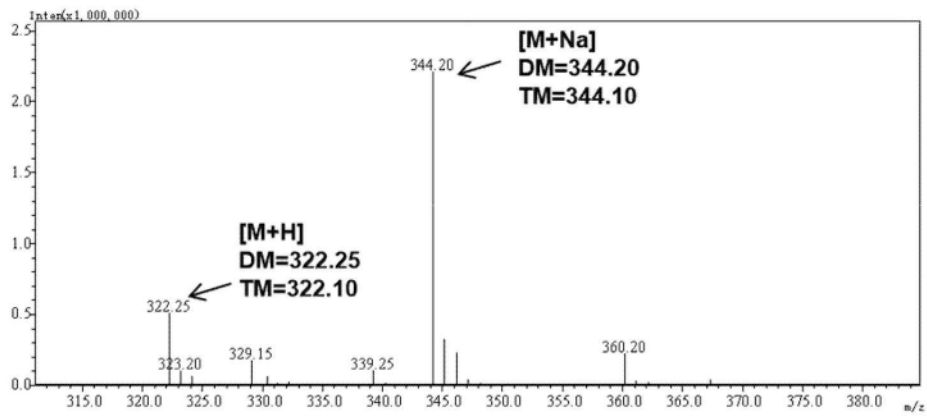


图3

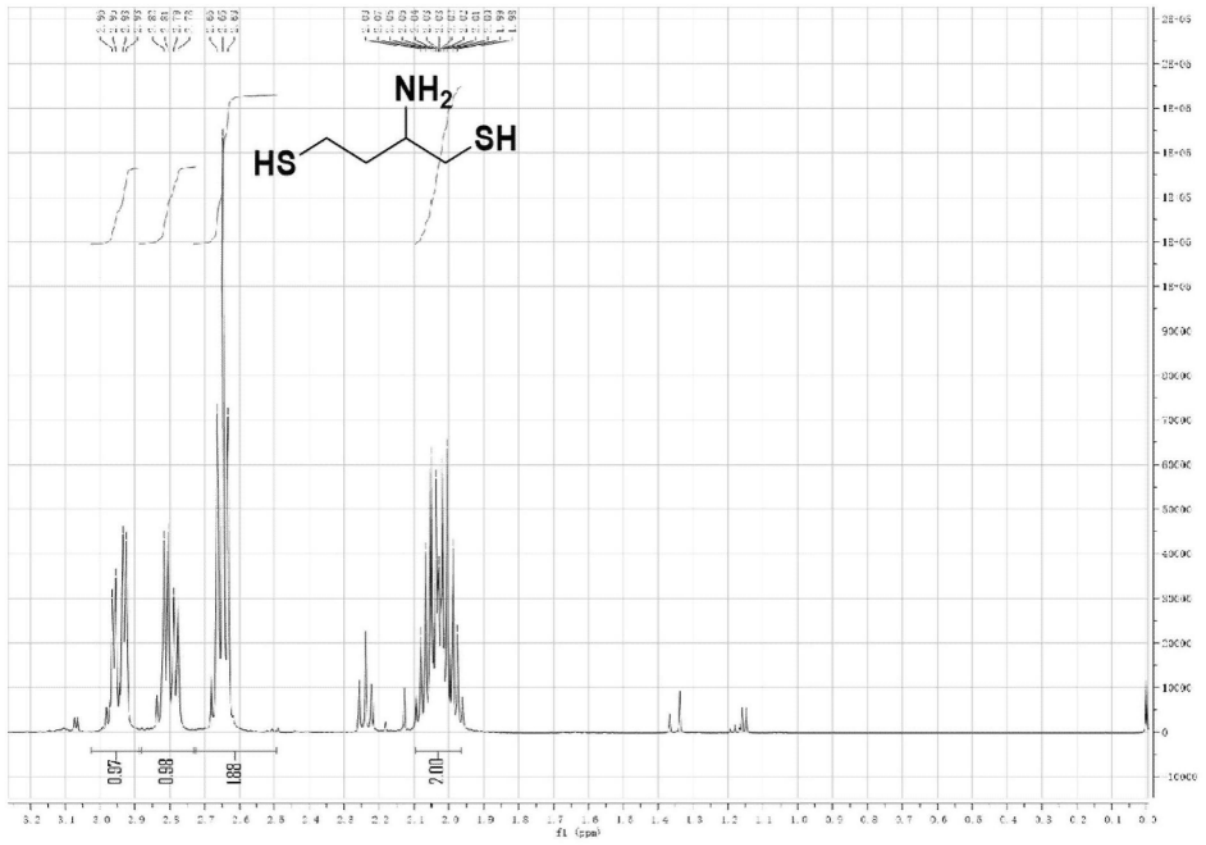


图4

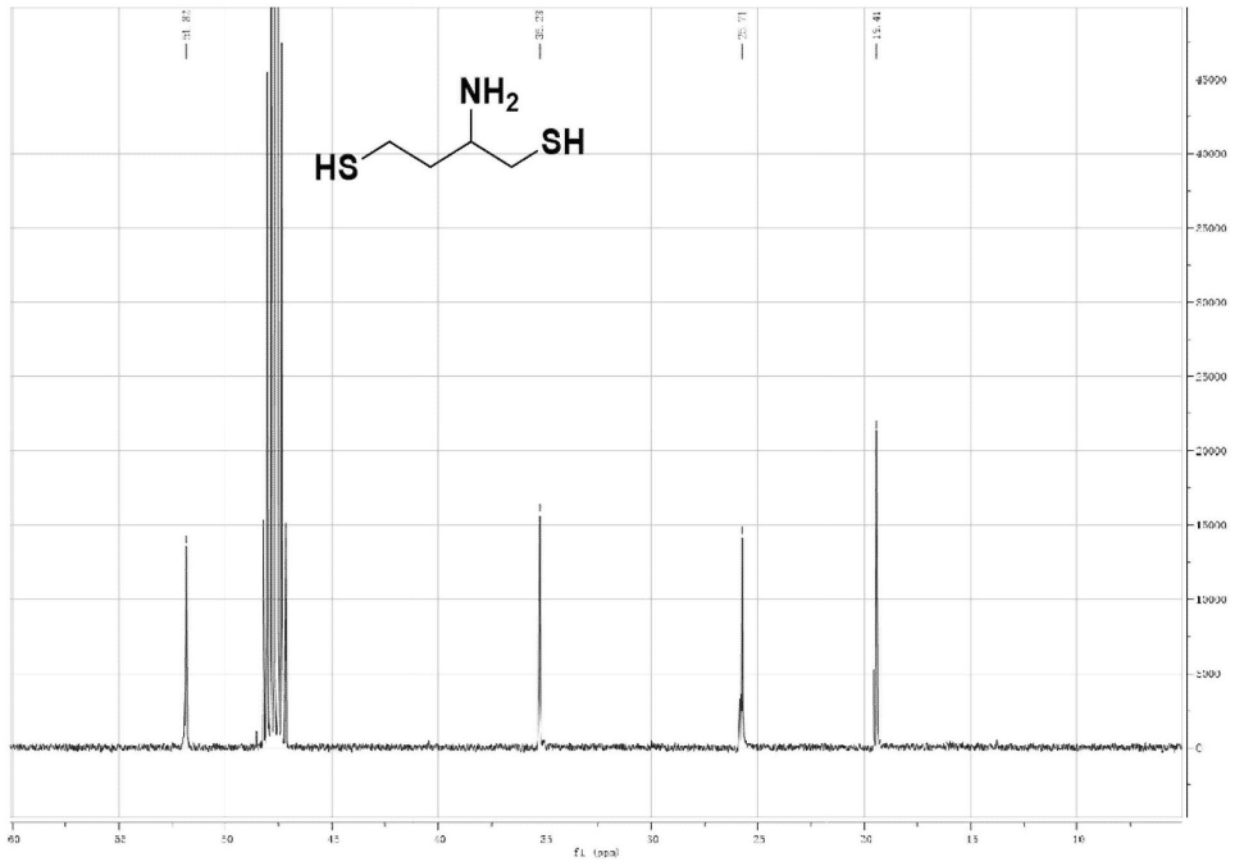


图5

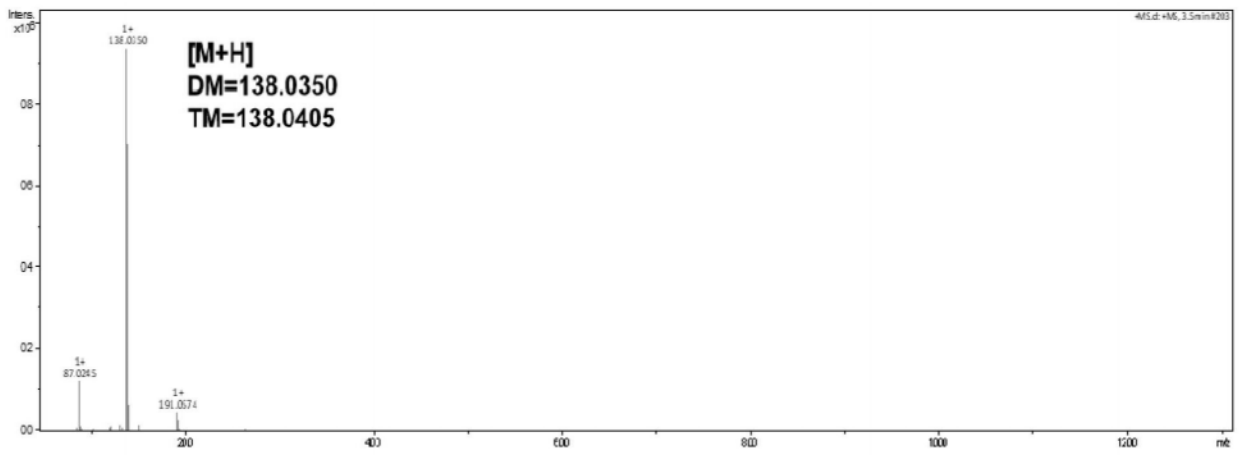


图6

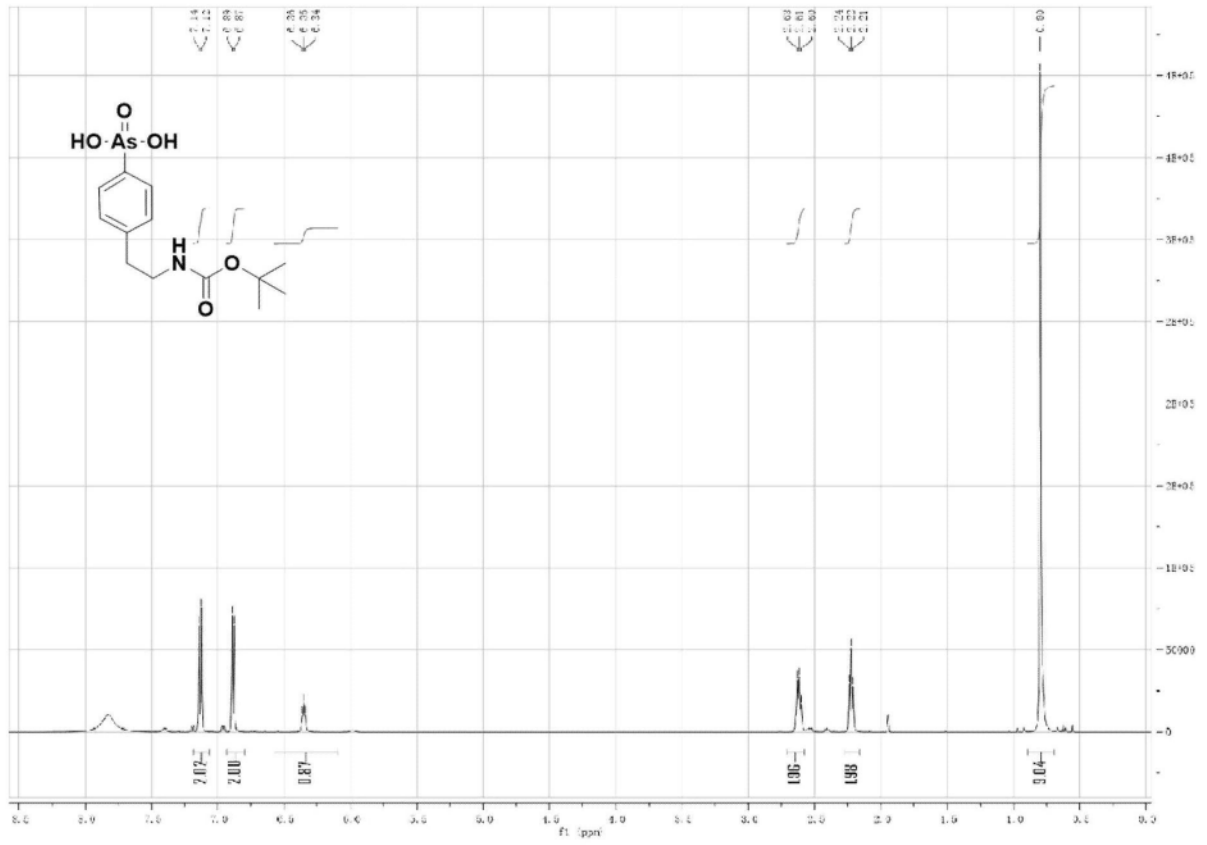


图7

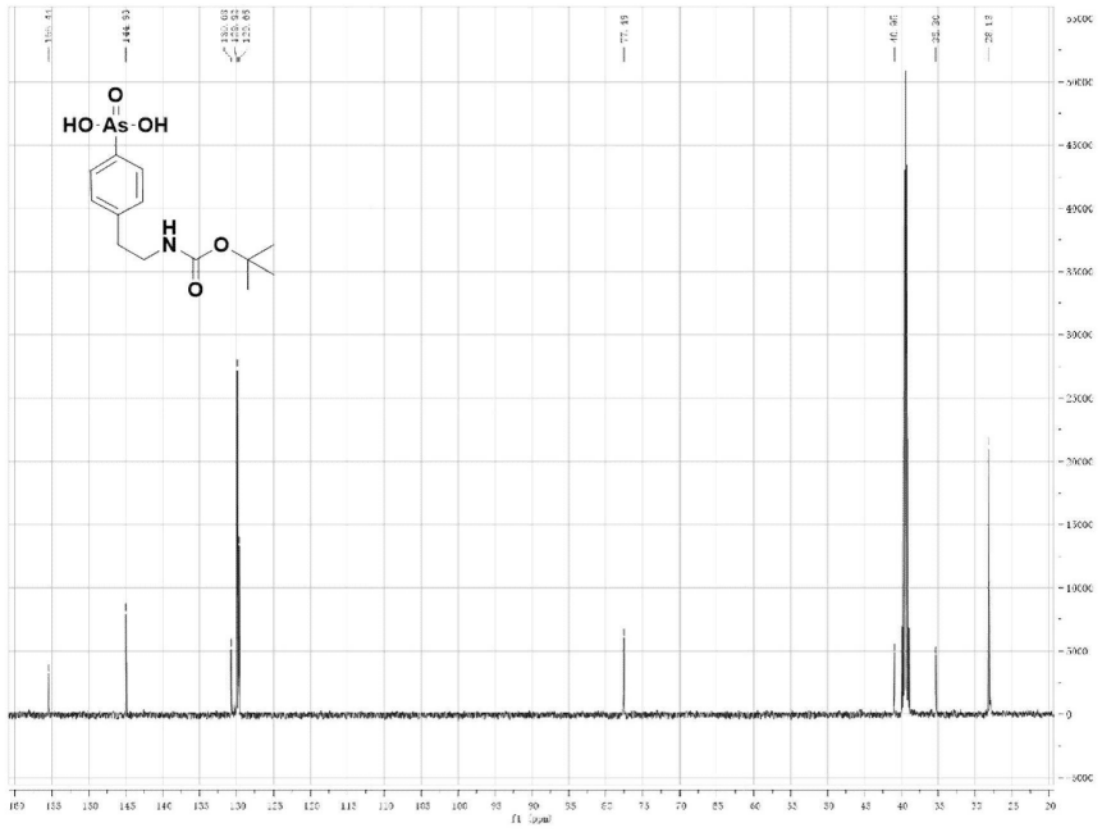


图8

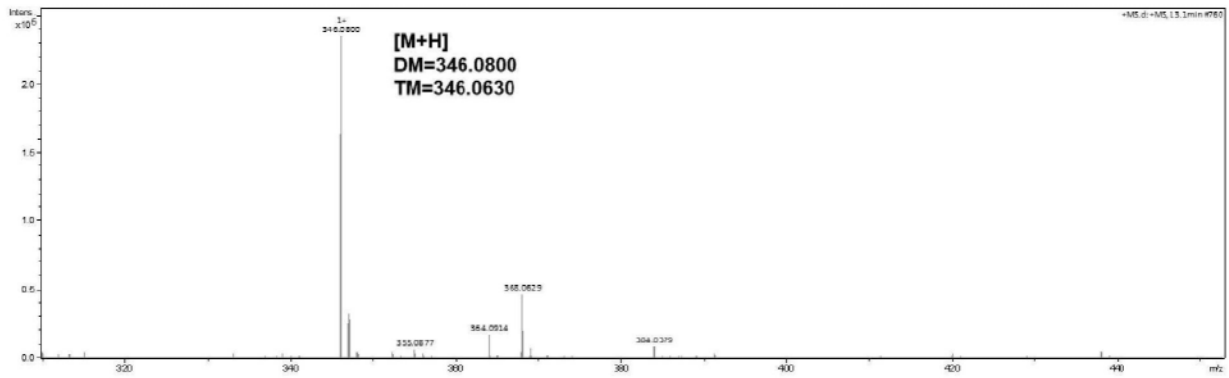


图9

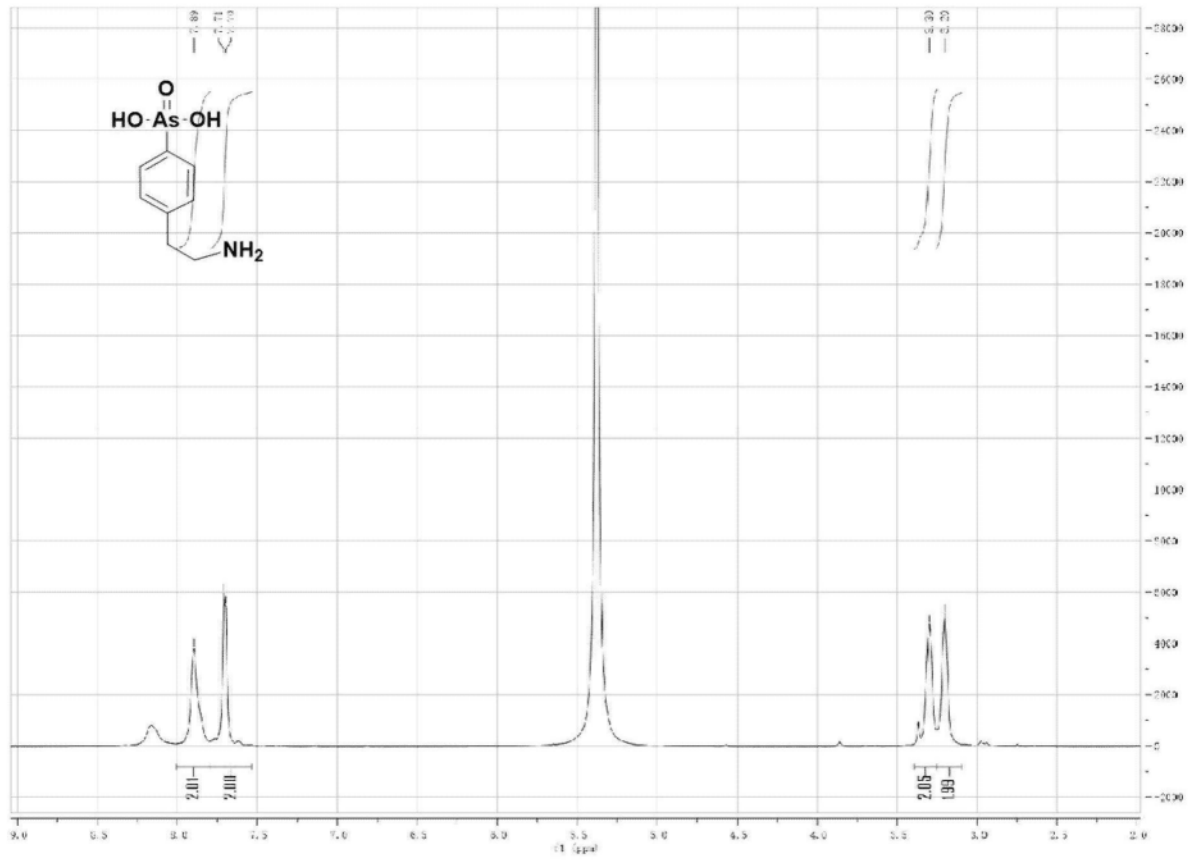


图10

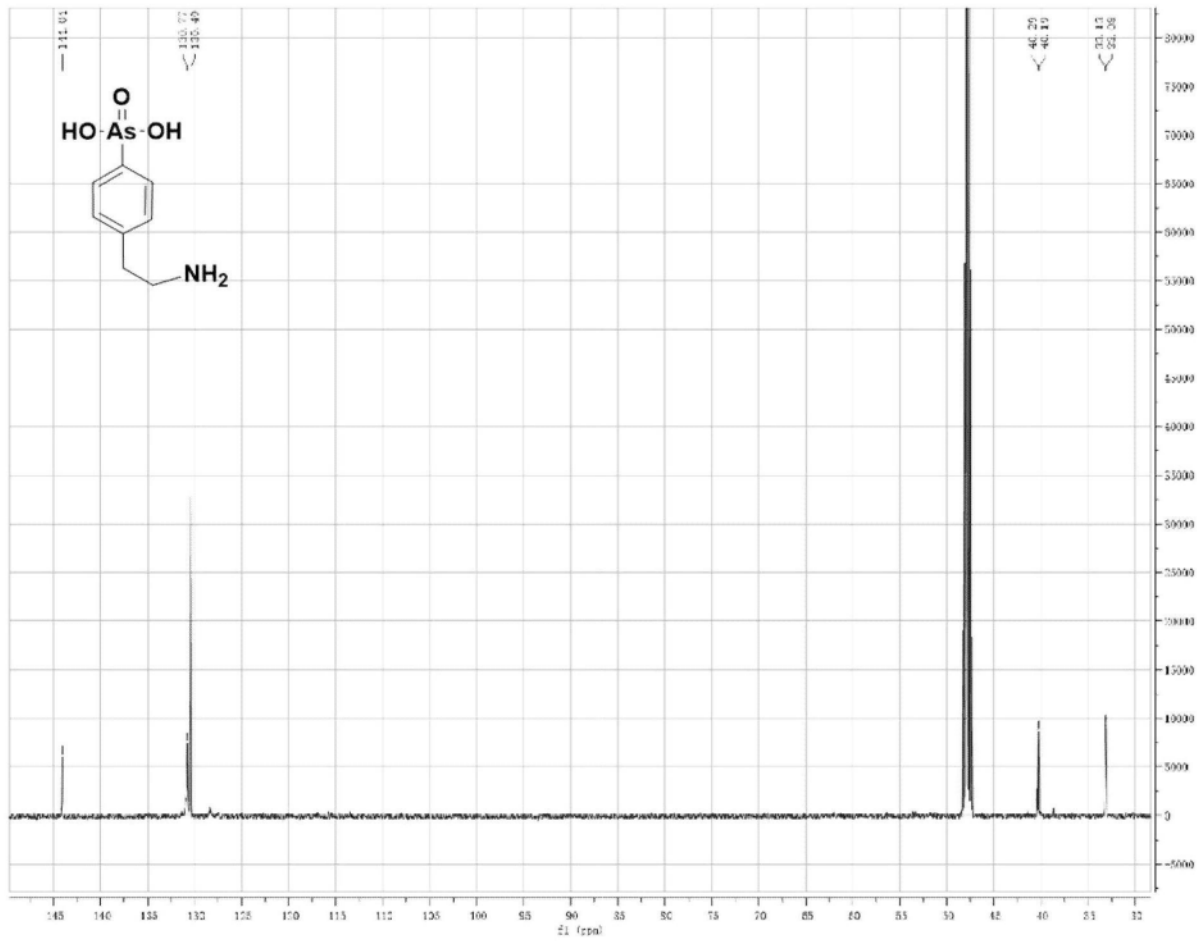


图11

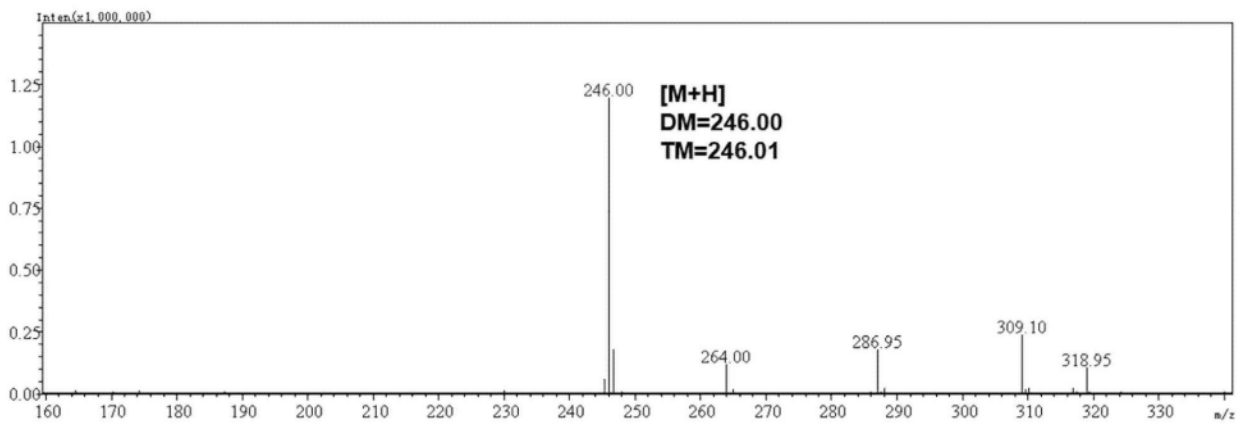


图12

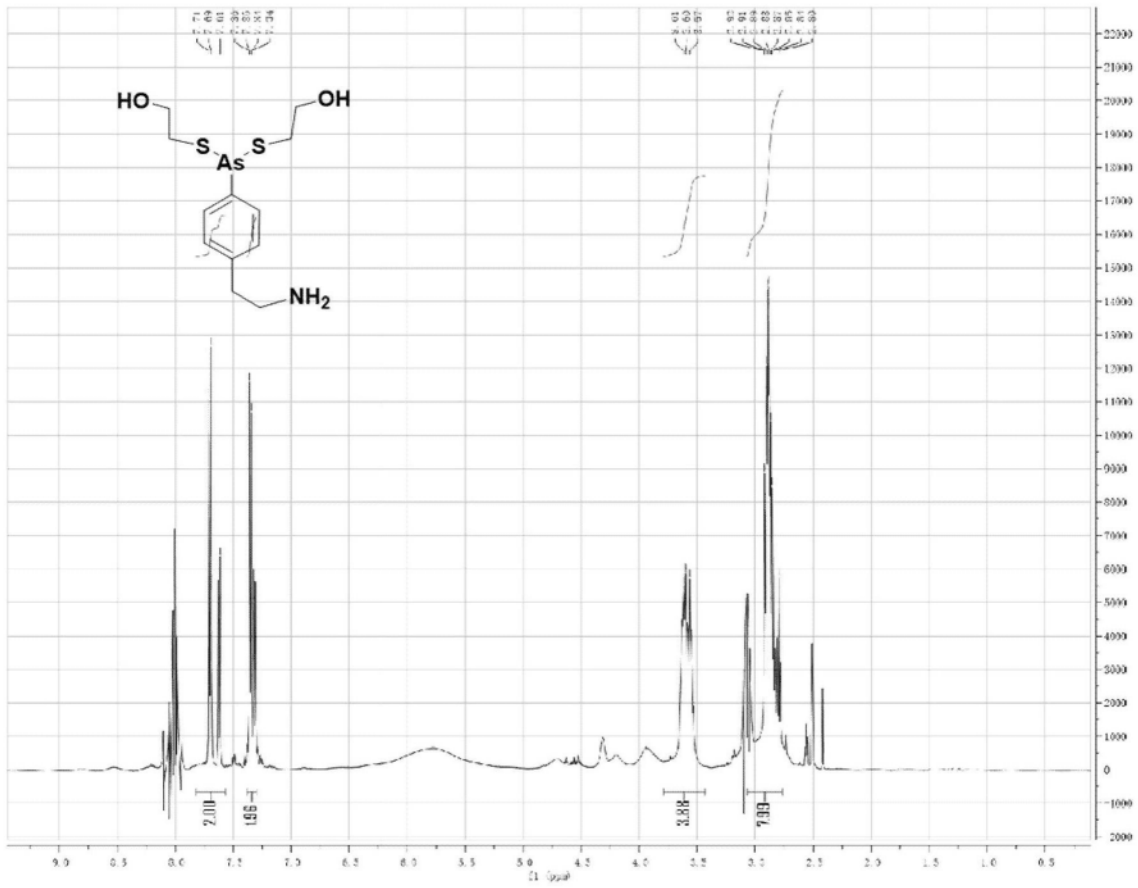


图13

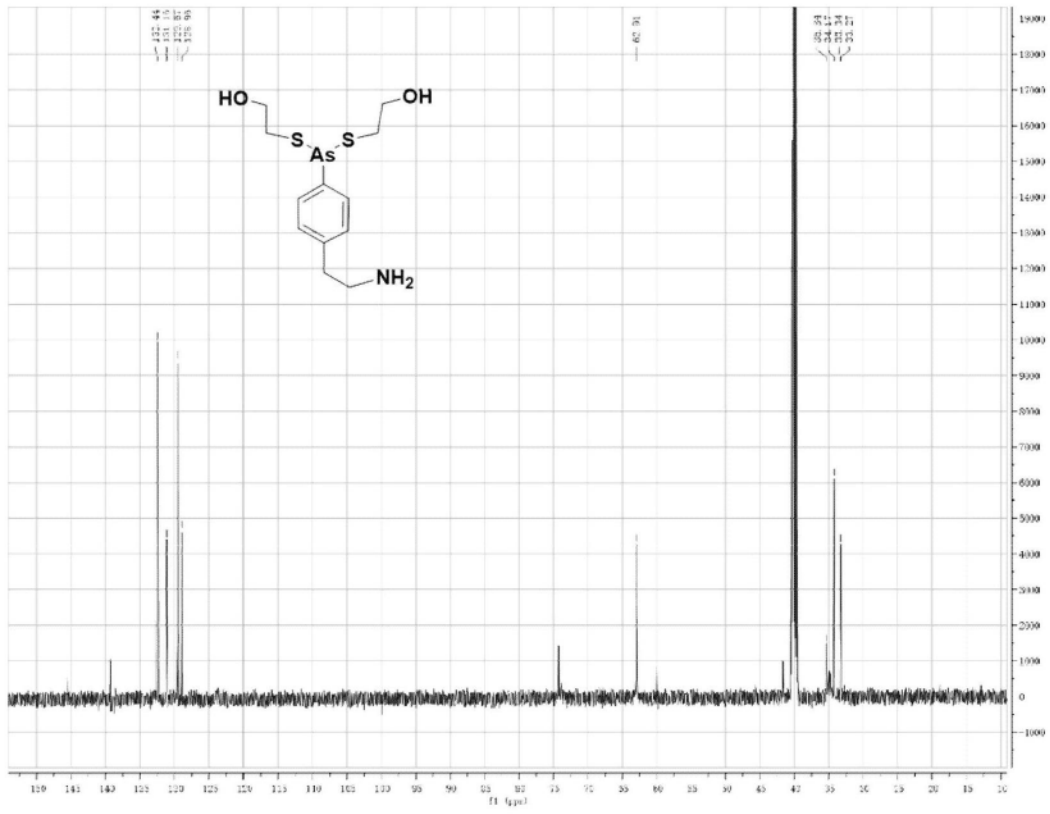


图14

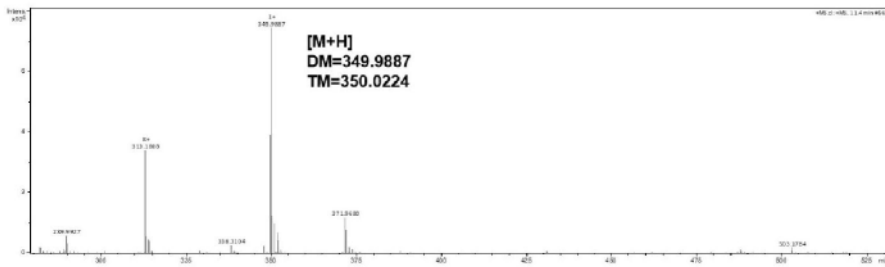


图15

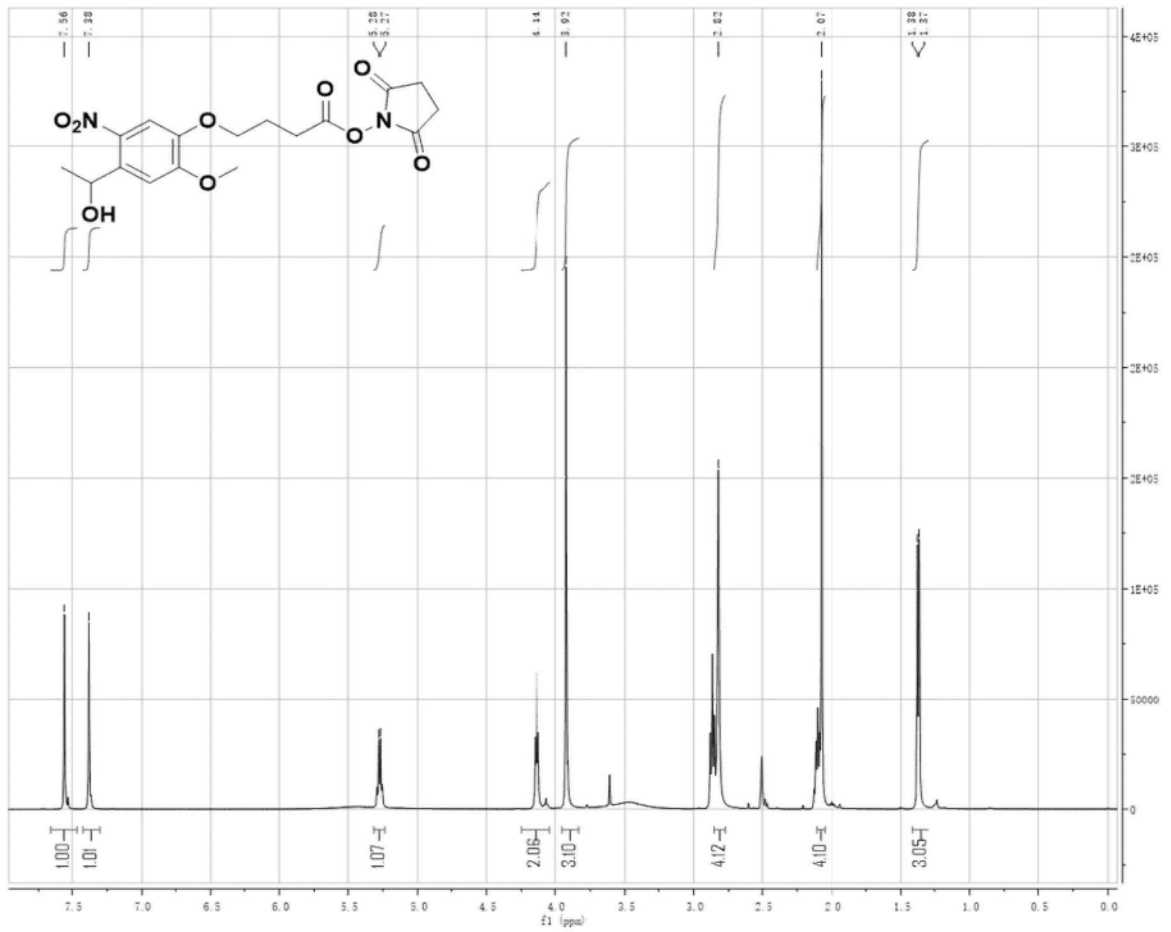


图16

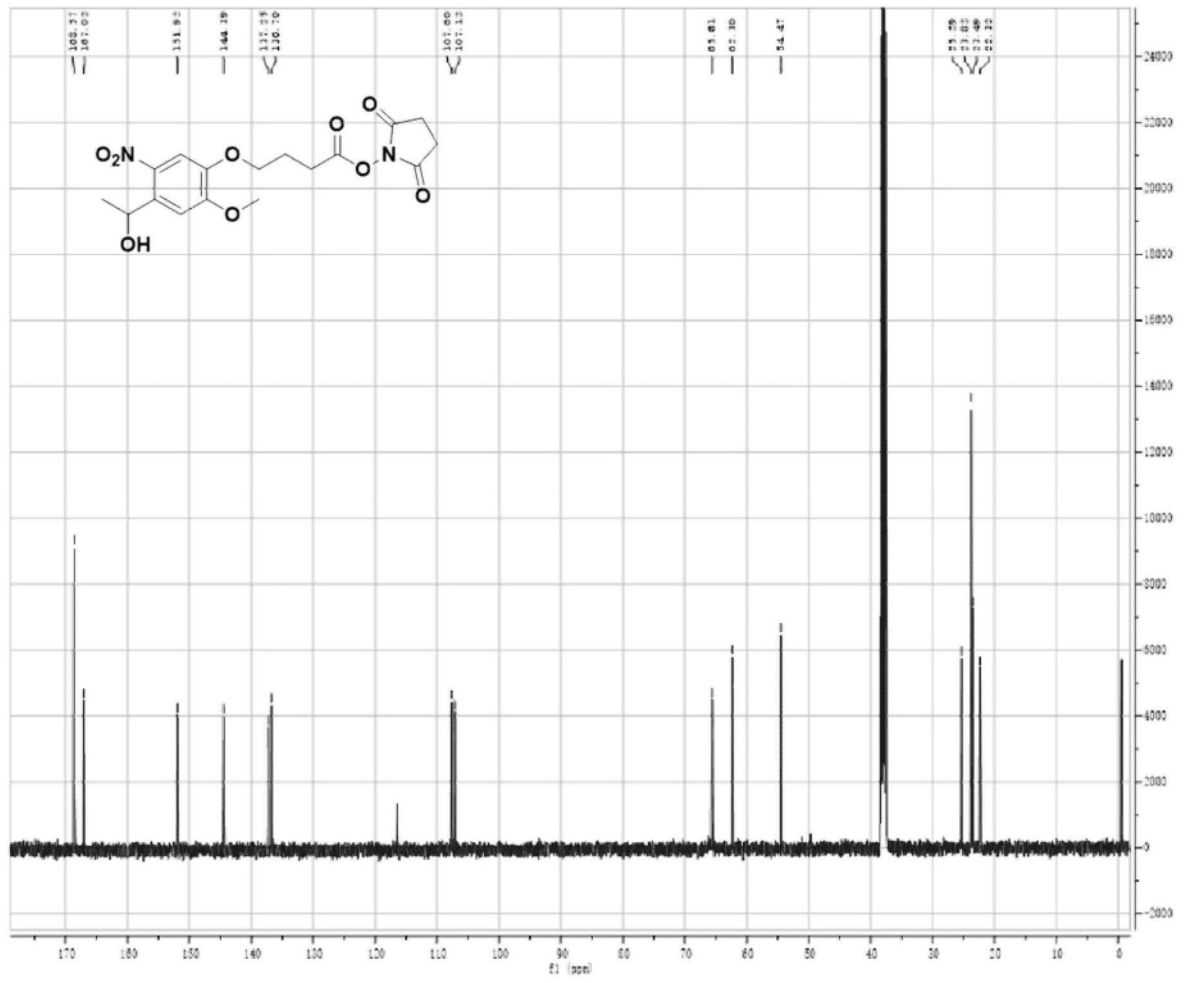


图17

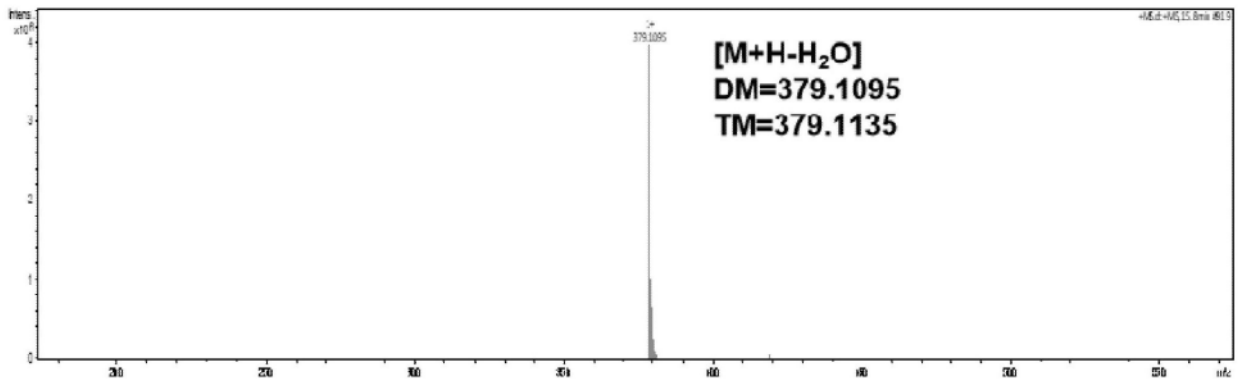


图18

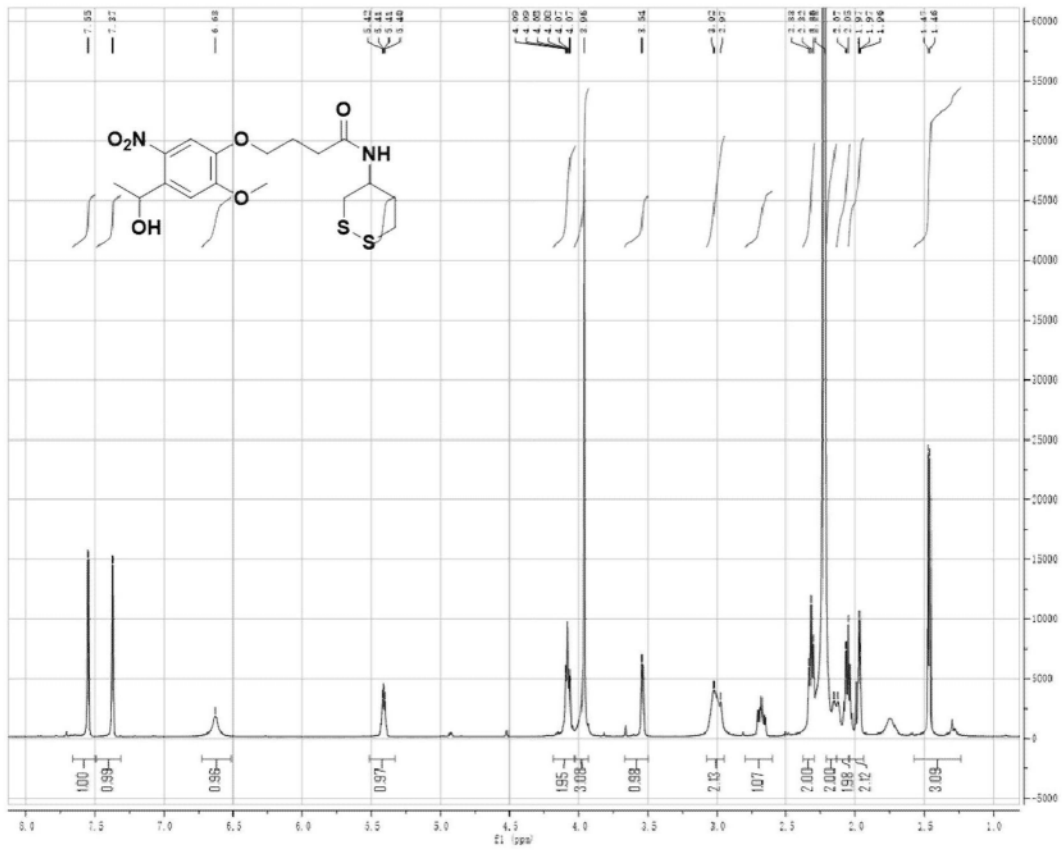


图19

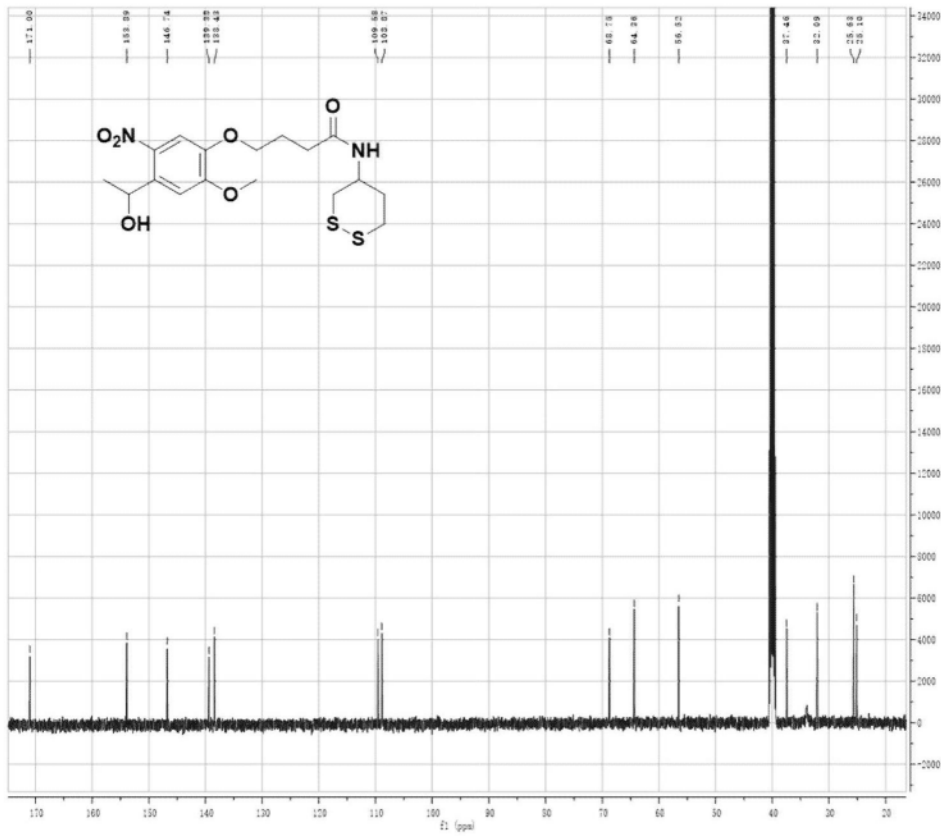


图20

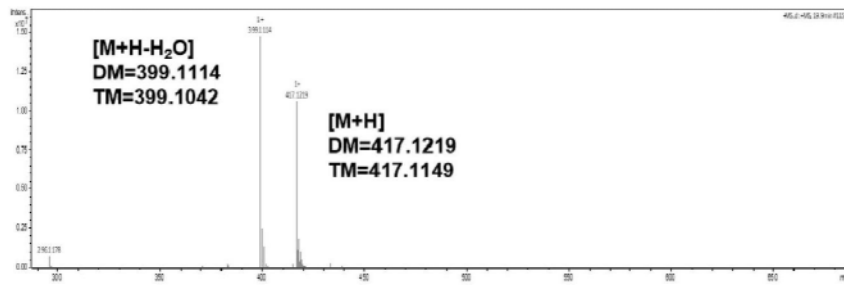


图21

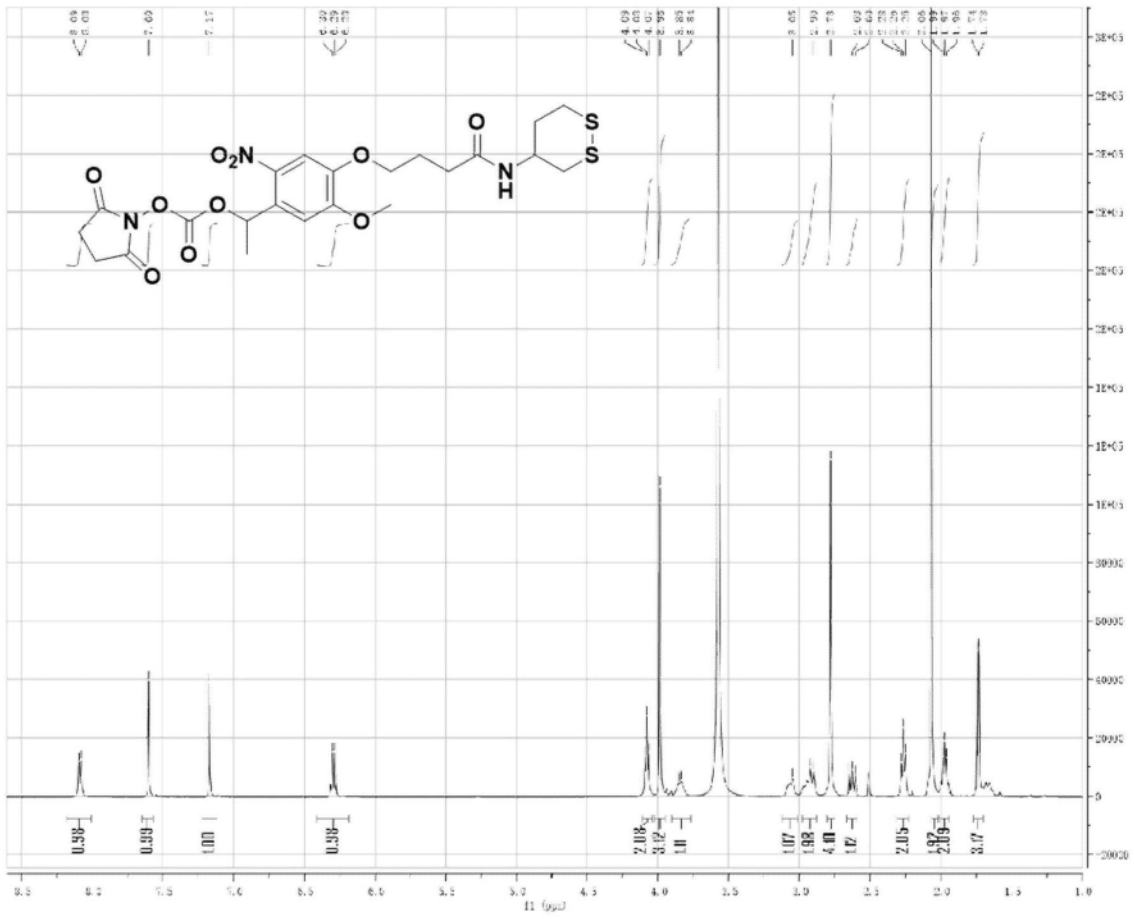


图22

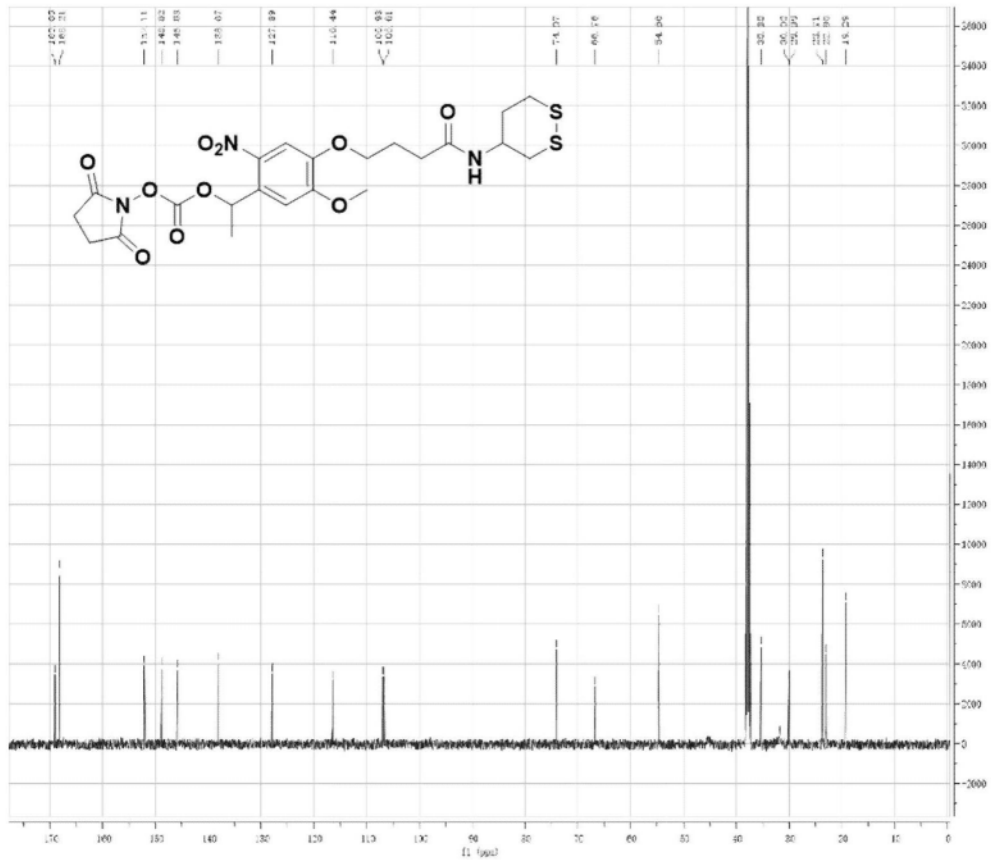


图23

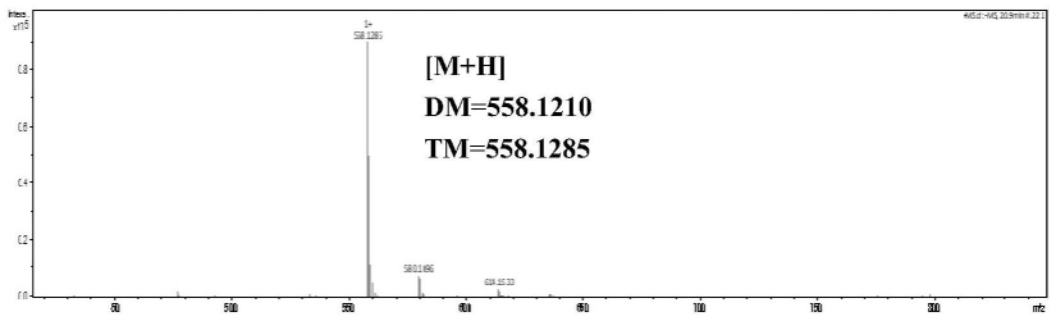


图24

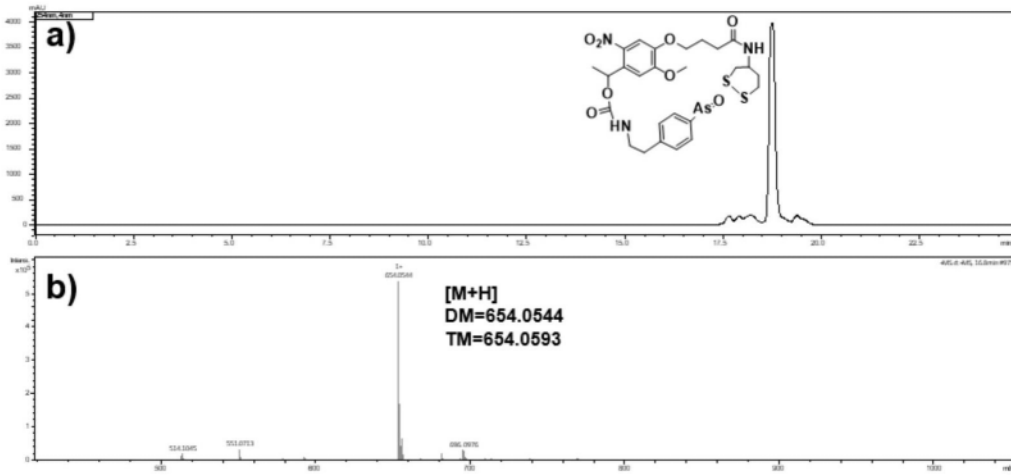


图25

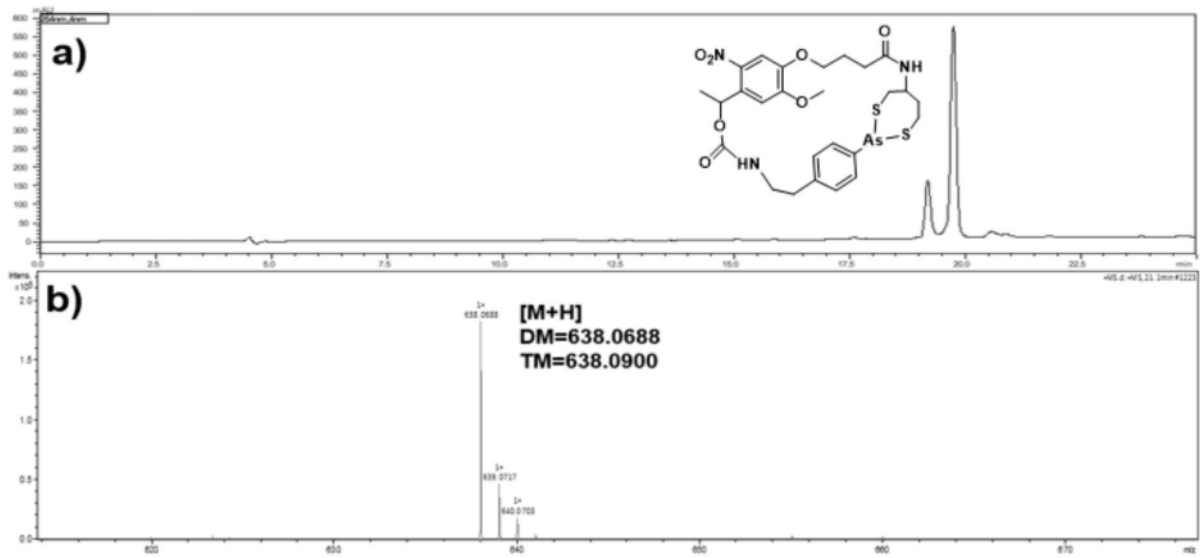


图26

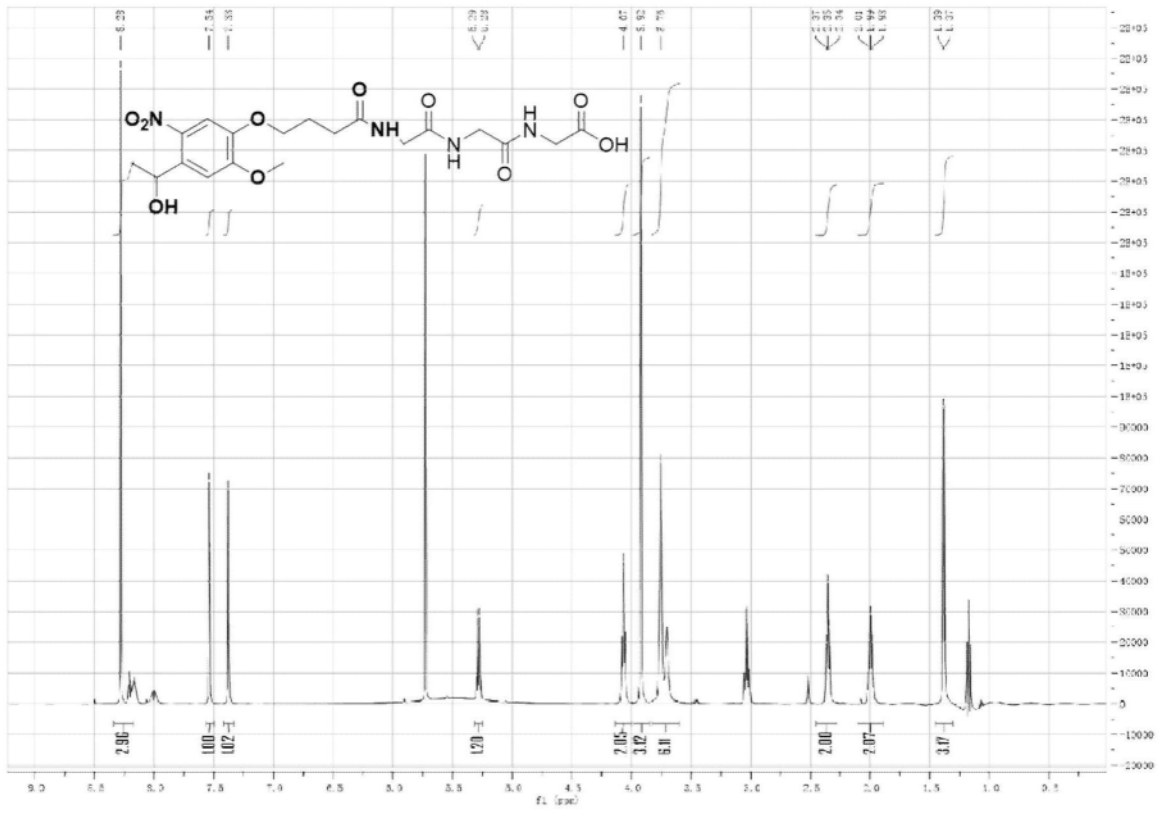


图27

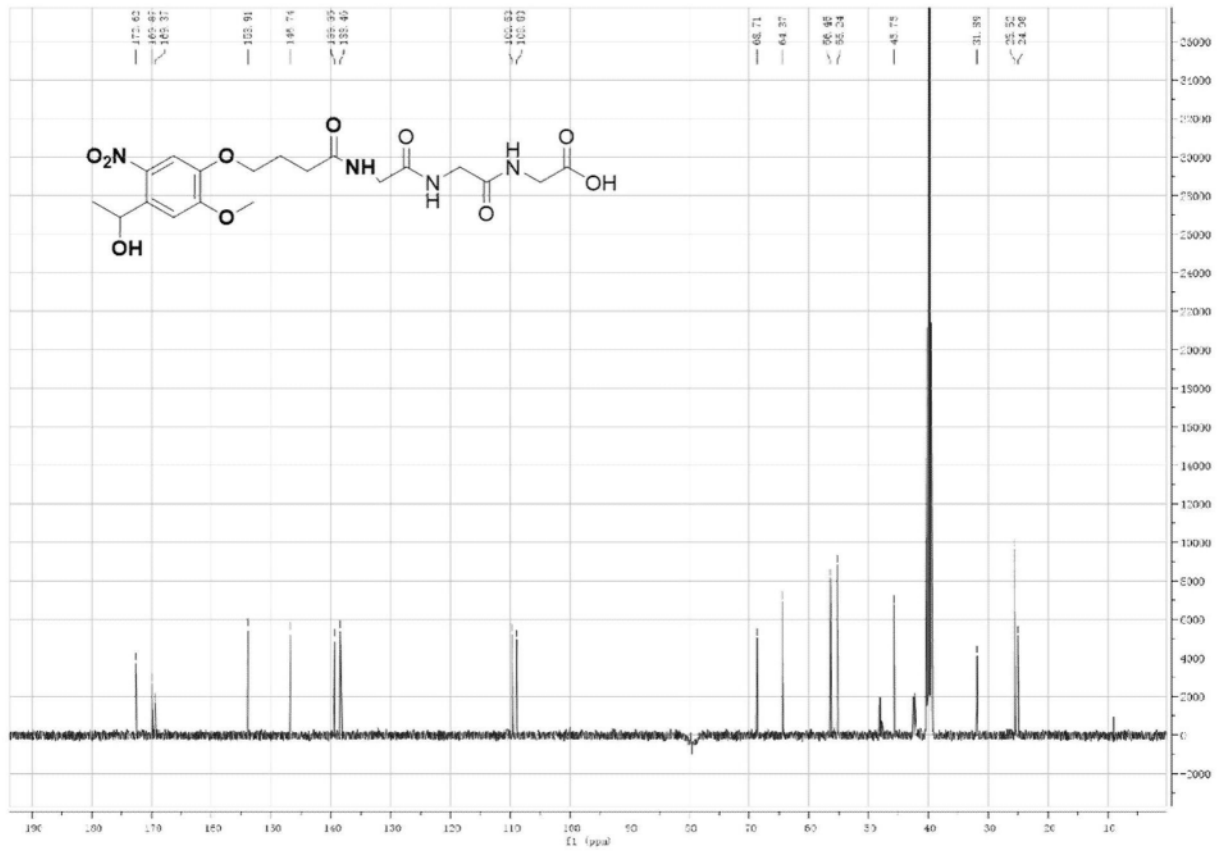


图28

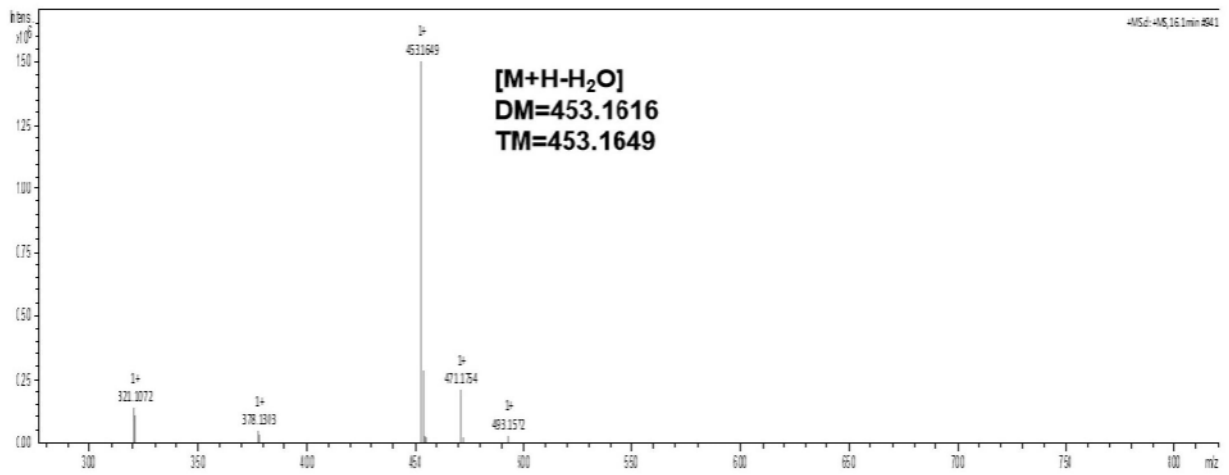


图29

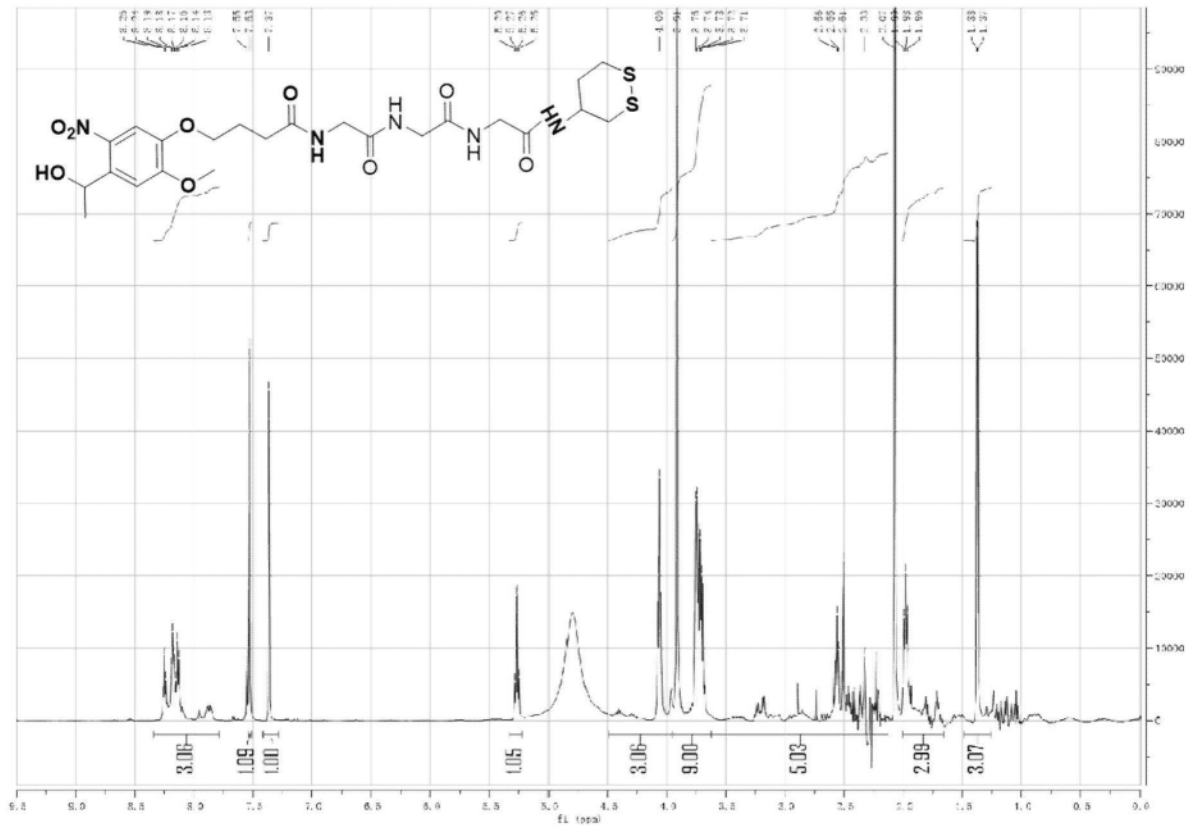


图30

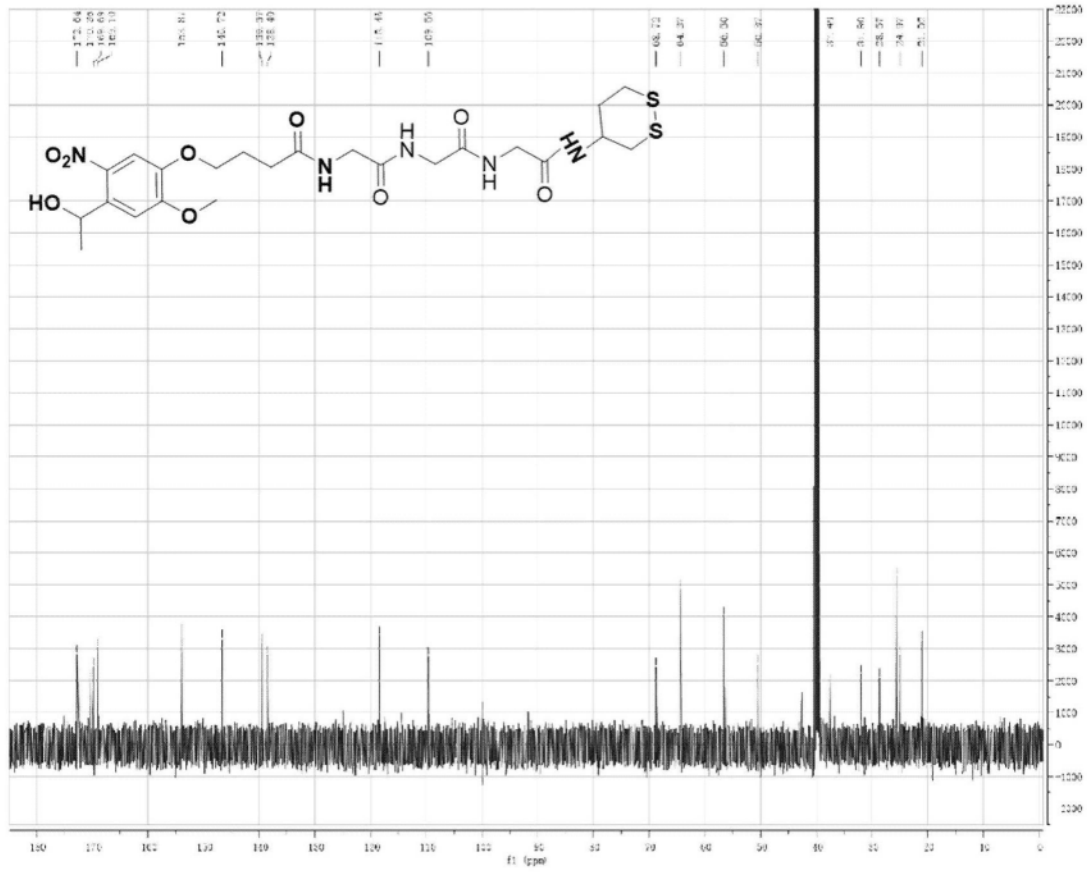


图31

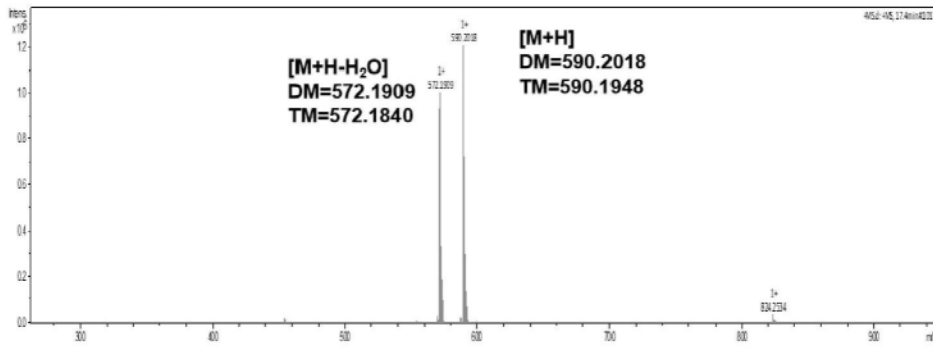


图32

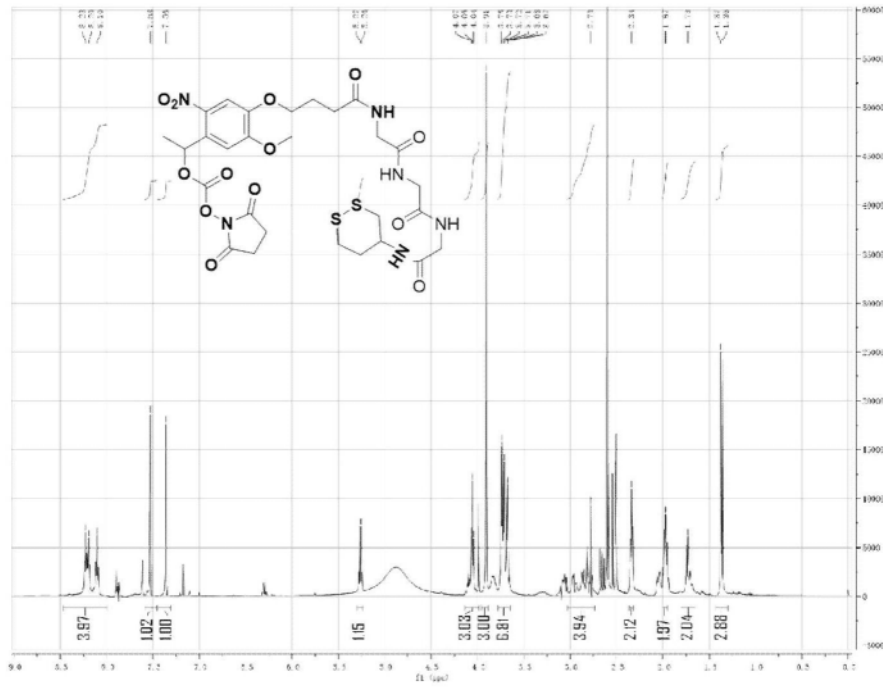


图33

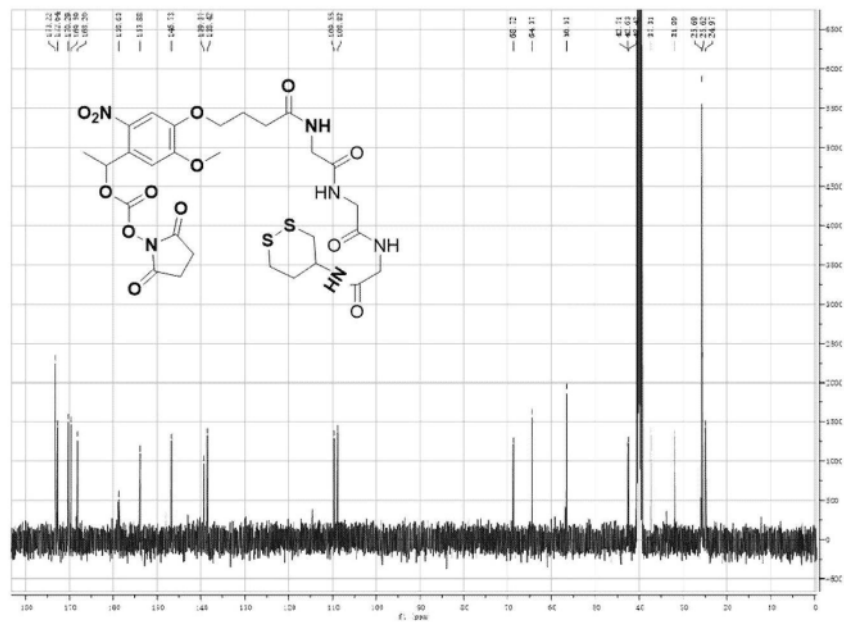


图34

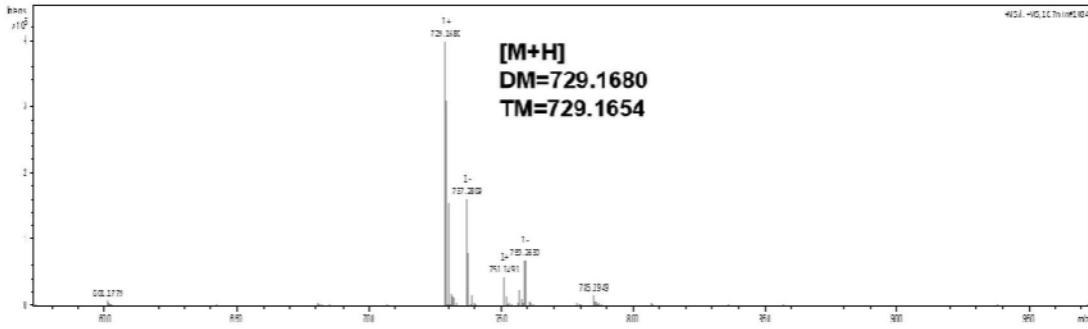


图35

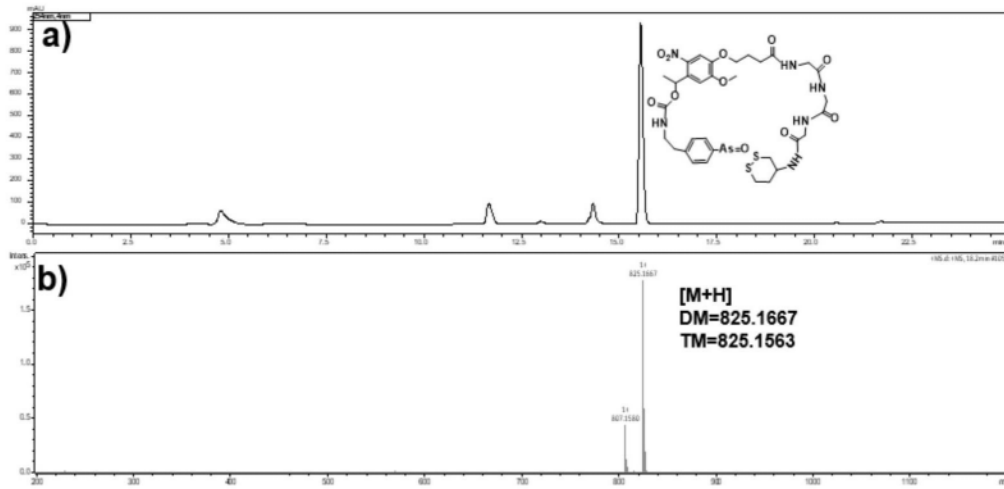


图36

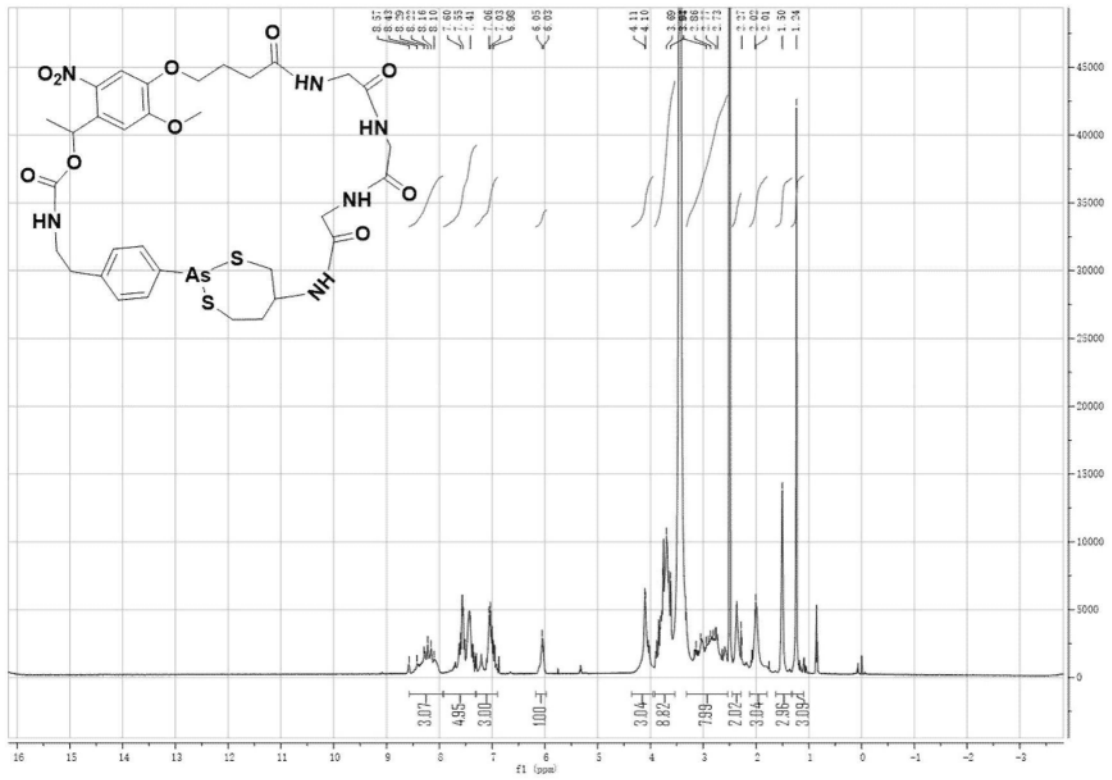


图37

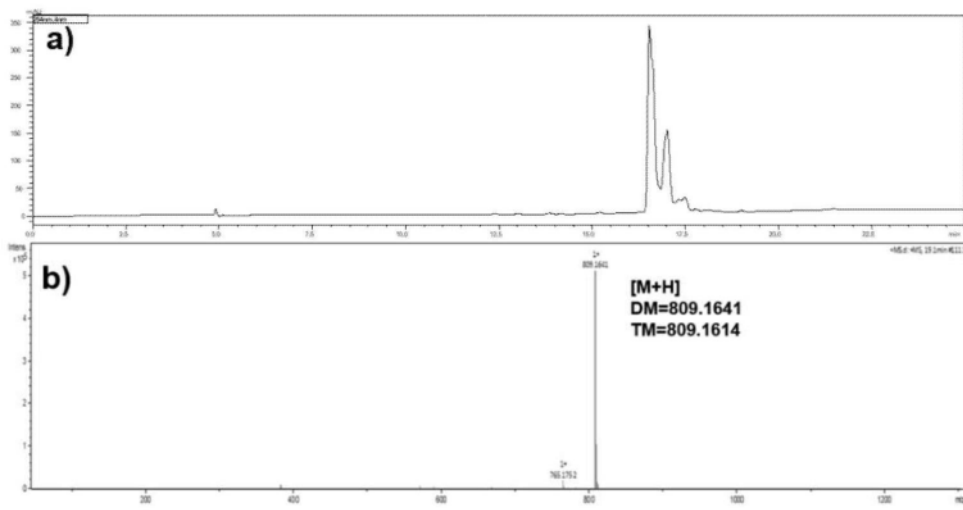


图38

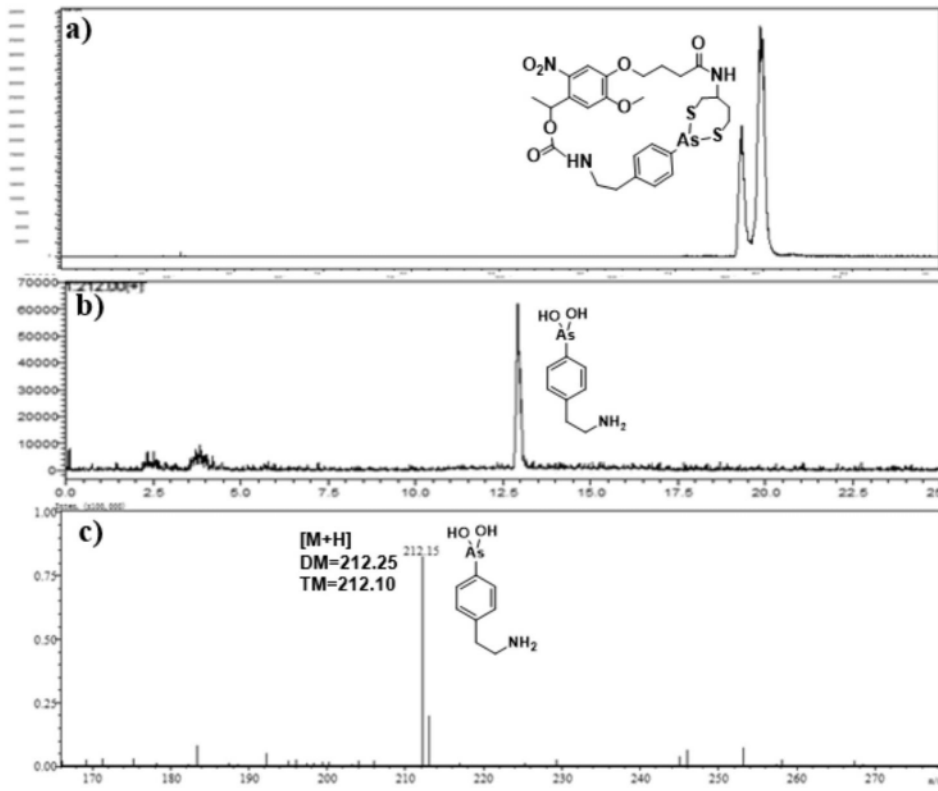


图39

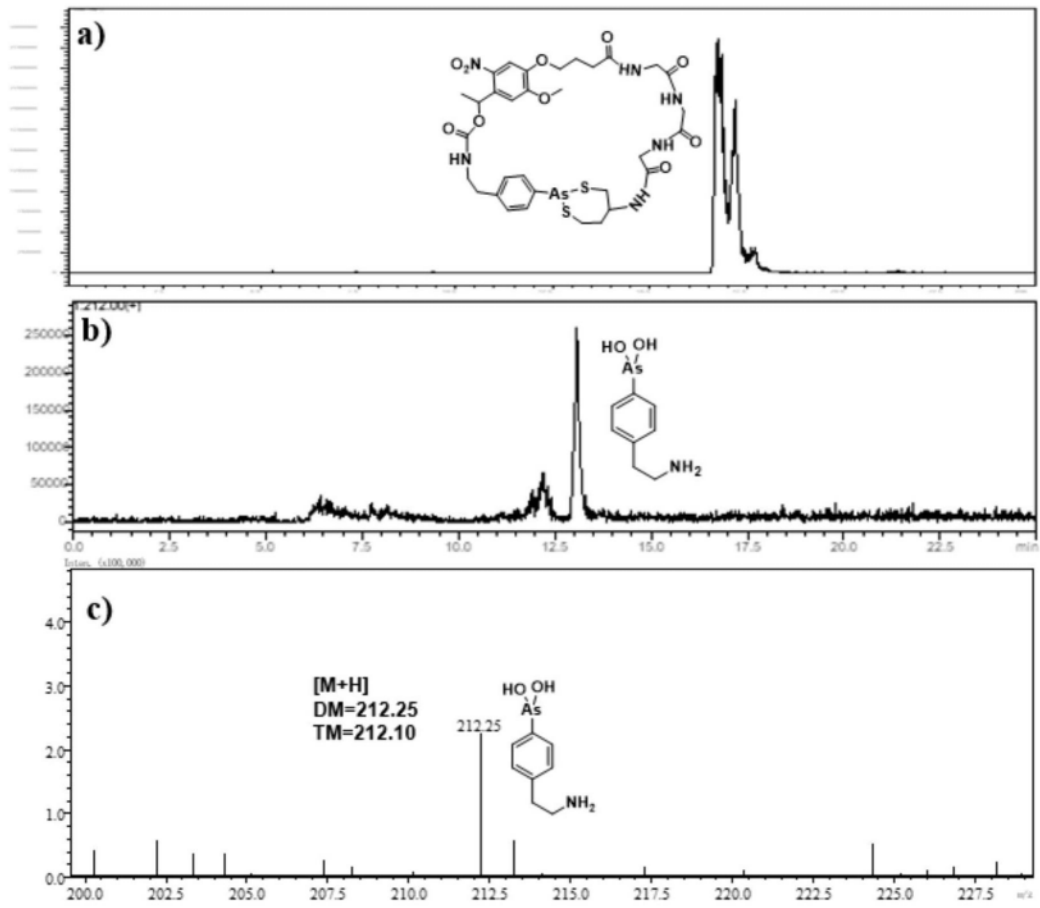


图40

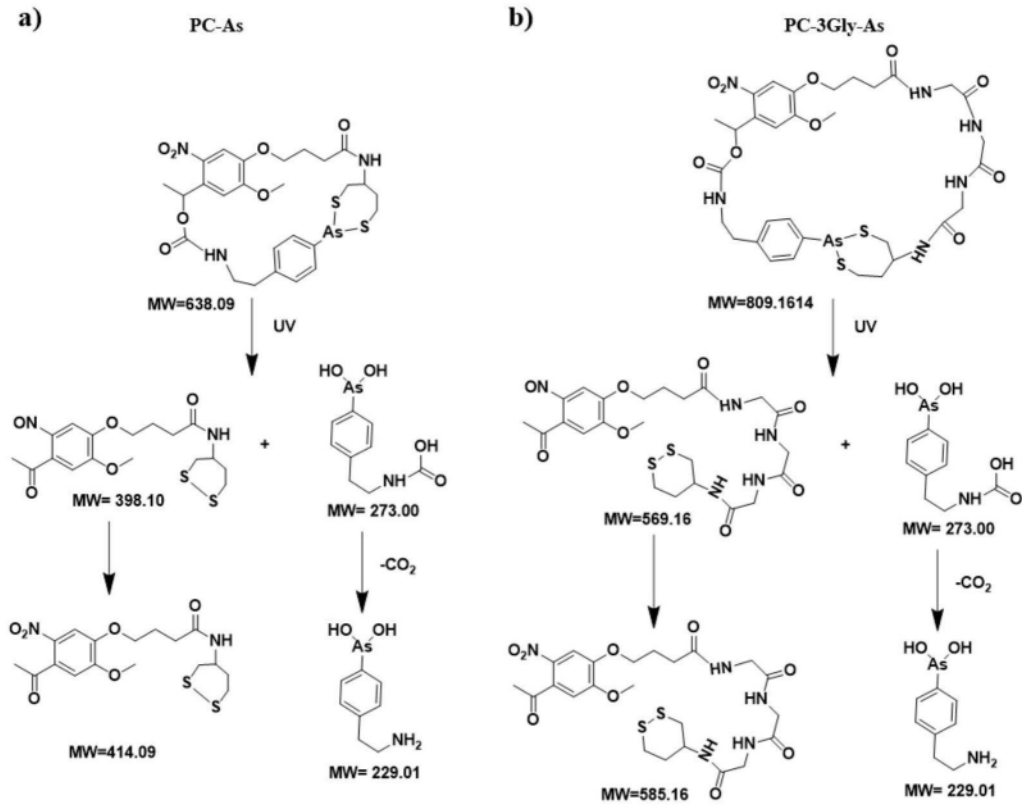


图41

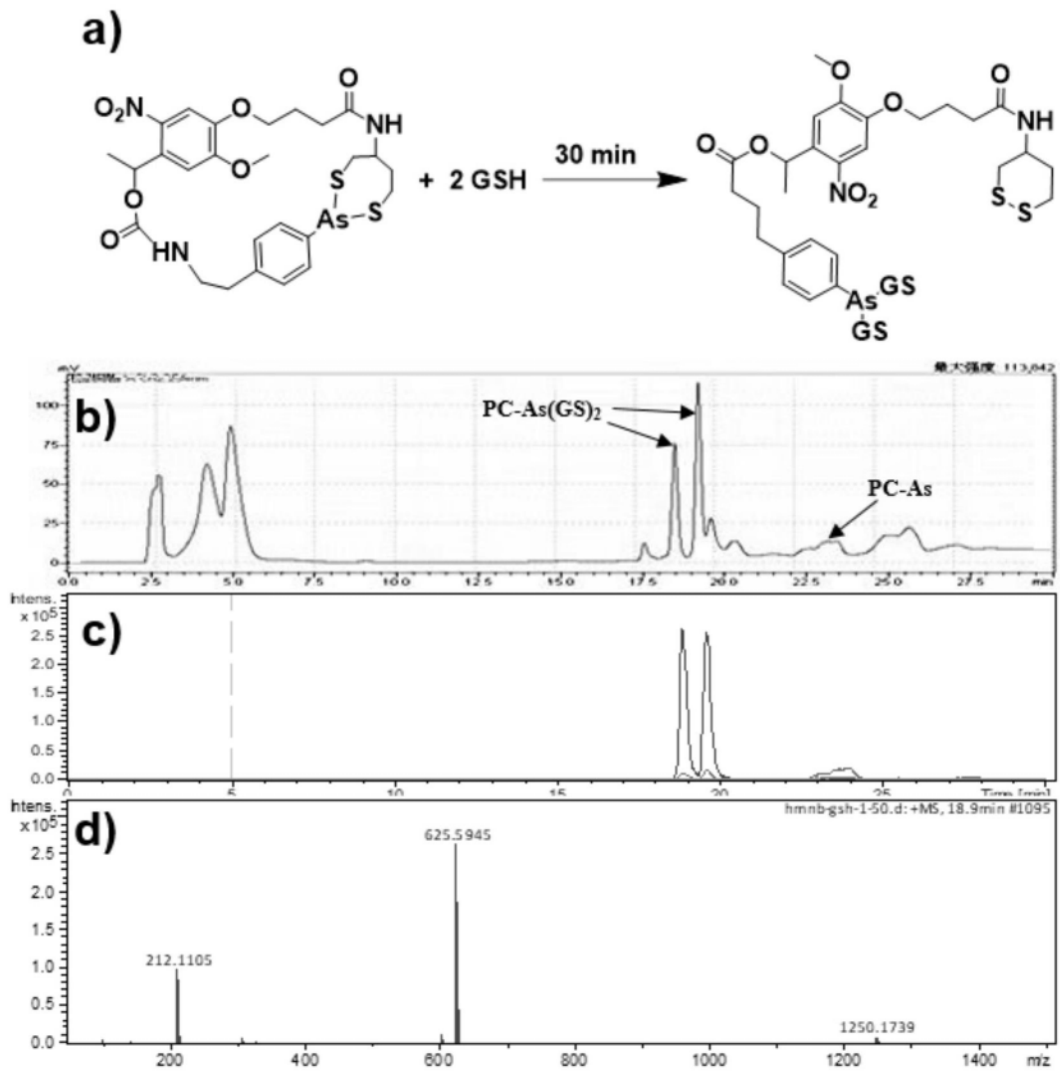


图42

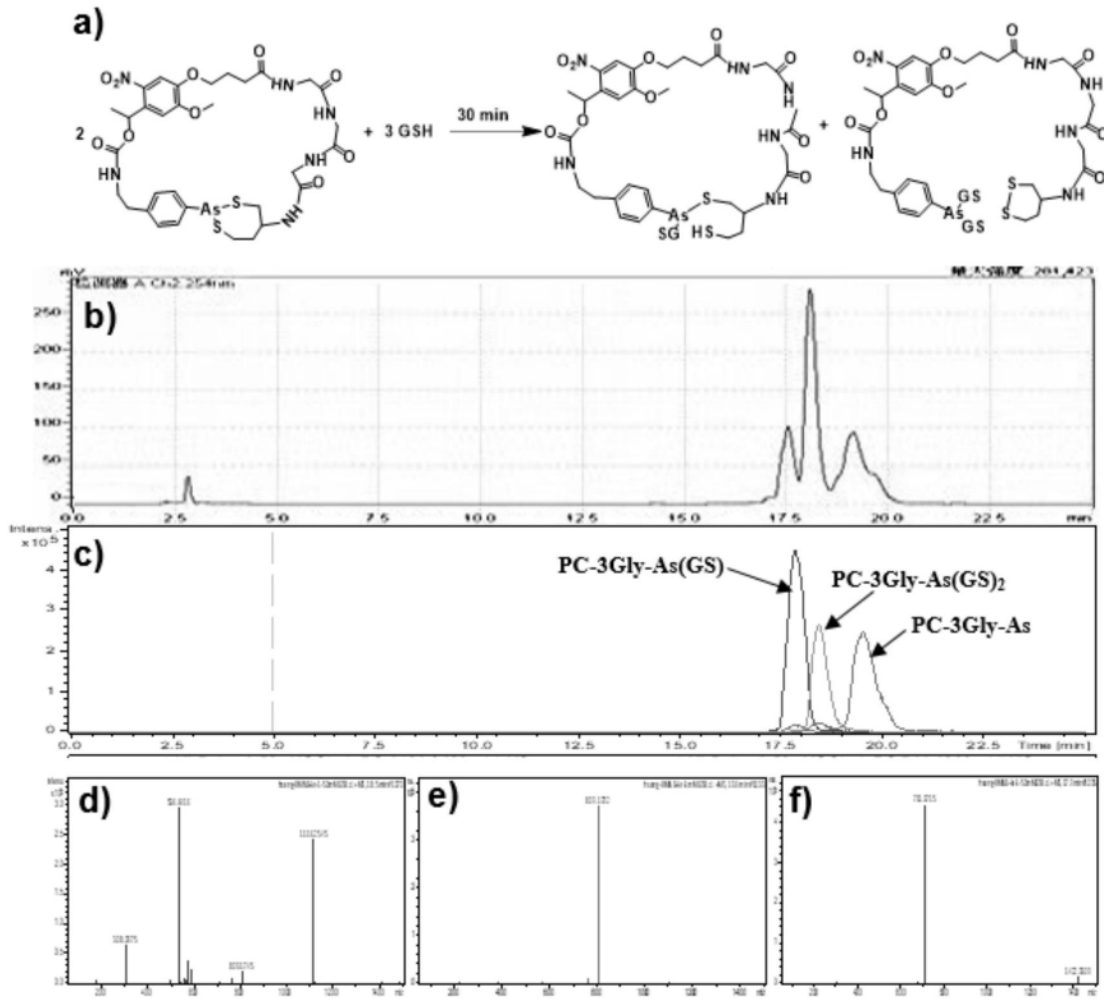


图43

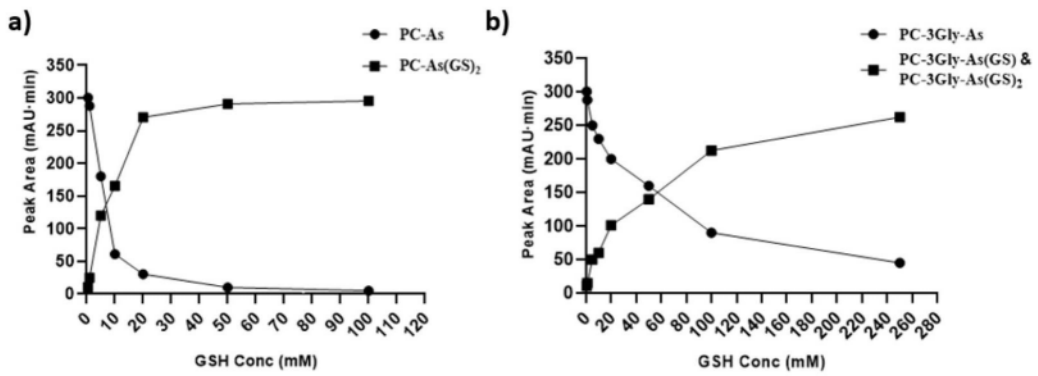


图44

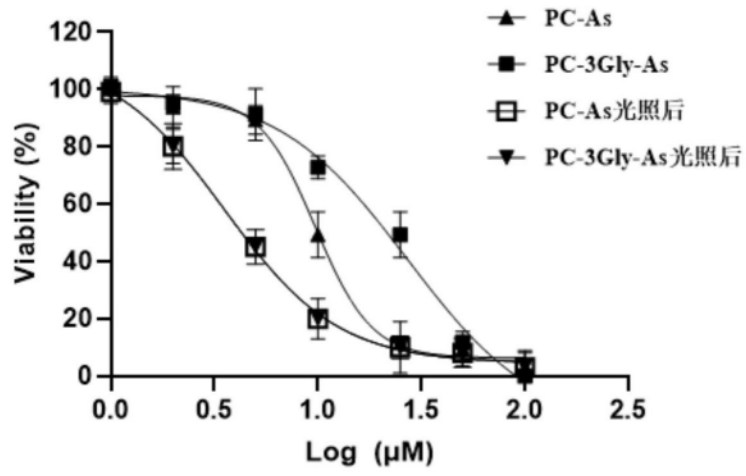


图45