文章编号:1000-5404(2010)01-0041-05

论著

新型阳离子卟啉的设计合成与抗微生物活性

于克贵[1,2],李东红[1],周成合[2],刁俊林[1] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所第二研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[1];400715 重庆,西南大学化学化工学院[2])

[摘要] **目的** 探讨新型阳离子卟啉化合物及其金属络合物的合成及光动力抗菌活性。**方法** 由缩合反应得到的四吡啶卟啉与一系列苄卤反应得到10个新型的阳离子卟啉化合物;采用琼脂双倍稀释法考查上述化合物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌和白色念珠菌的光动力抑菌活性。**结果** 合成得到10个新的阳离子卟啉化合物对革兰阳性金黄色葡萄球菌均表现出显著的光抑制作用,尤其是化合物3a、4a的MIC_{80}分别为2 μg/ml和0.5 μg/ml;对真菌白色念珠菌也有一定的抑菌活性;而对革兰阴性大肠杆菌的抑制作用较低,绿脓杆菌则表现出对所有化合物的耐药性。阳离子卟啉的光抑菌活性随苯环上取代基吸电子能力的增强而降低。**结论** 新型阳离子卟啉化合物对金黄色葡萄球菌有良好的光抑制活性。

[关键词] 阳离子卟啉;合成;抗微生物活性;革兰阳性菌;革兰阴性菌;真菌
[中图法分类号] R914.5; R965; R978.1 **[文献标志码]** A

Synthesis and antimicrobial activity of a novel cationic porphyrins

Yu Kegui[1,2], Li Donghong[1], Zhou Chenghe[2], Diao Junlin[1] ([1]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 2, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; [2]School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing, 400715, China)

[Abstract] Objective To synthesize novel cationic porphyrin derivatives and investigate the photodynamic antimicrobial activities of these new compounds. Methods Tetrapyridyl-porphyrin obtained from condensation reaction was reacted with a series of benzyl halides to get 10 novel cationic porphyrin compounds. The photodynamic antimicrobial activities of these new compounds *in vitro* against *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, and *C. albicans* were evaluated respectively using twofold serial dilution technique. Results Ten new cationic porphyrin derivatives and their metal compounds were obtained. All these 10 compounds displayed satisfactory photodynamic antibacterial activity against Gram-positive bacteria, *S. aureus*, especial compounds 3a and 4a with MIC_{80} at 2 and 0.5 μg/ml respectively, and showed moderate photodynamic antifungal activity against *C. albicans*. Unfortunately, their photodynamic antibacterial activities against Gram-negative bacteria *E. coli* were very weak, and *P. aeruginosa* was resistant to all compounds. The antimicrobial activity was decreased with the increase of electron-withdrawing capability of the functional groups attached on the aromatic ring. Conclusion These preliminary results suggest that the remarkable antibacterial efficiency against *S. aureus* make these substances promising microbial agents.

[Key words] cationic porphyrin; synthesis; antimicrobial activity; gram-positive bacteria; gram-negative bacteria; fungus

Corresponding author: Li Donghong, Tel: 86-23-68757423, E-mail: lqs_cq@yahoo.com.cn

近年来微生物感染呈现上升趋势,并且在临床上表现为耐药性,传统的放疗、化疗等治疗方法虽然起到一定的作用,但选择性差、不良反应较大,疗效不尽人意。光动力抗微生物化学治疗(photodynamic antimicrobial chemotherapy,PACT)是近年来发展起来的一种利用光敏剂和可见光诱导微生物病原体发生氧化灭活的治疗手段[1]。相对于其他方法,该法具有非特异性和高效性,使病原菌很难产生抗药性,特别是处置方便、副作用小、见效快的优点,因而受到人们的关注[2-4]。而PACT的疗效主要取决于光敏剂。现已批准使用和正在临床试验的绝大多数光敏剂为卟啉类化合物,有的已运用于治疗各种细菌感染的疾病,如妇科炎症、口腔及牙周炎,以及用于手术中的灭菌与消毒等[5]。为明确卟啉中位芳环上取代基电性对卟啉光

[通信作者] 李东红,电话:(023)68757423,E-mail: lqs_cq@yahoo.com.cn

敏剂抑菌性能的影响,本研究设计、合成了一系列中位芳环上带有不同吸电子取代基的阳离子卟啉,考查其对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌和白色念珠菌的抗菌活性,以期为研制新型、高效的卟啉光敏剂提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

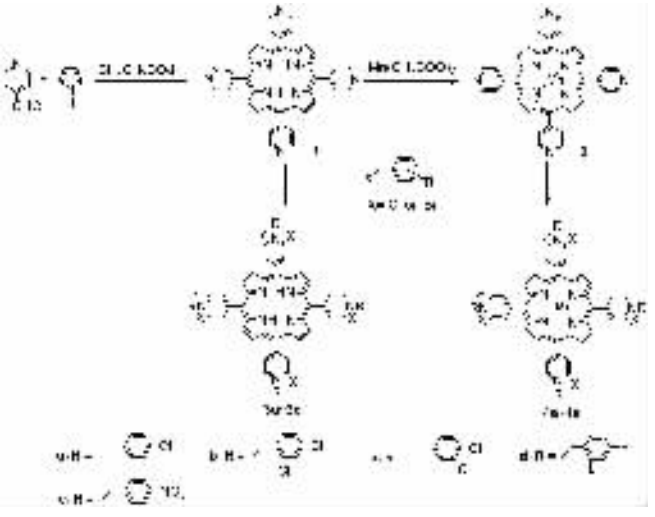
N,N-二甲基甲酰胺(DMF)加氢化钙回流后减压蒸出,吡咯使用前减压蒸馏,二甲基亚砜(DMSO, Sigma),中性氧化铝(100~200目)和柱层析用硅胶(300~400目)为安徽良辰硅源材料有限公司产品,其他试剂均为分析纯,未作进一步处理。

金黄色葡萄球菌(ATCC25922)、大肠杆菌(ATCC25923)、绿脓杆菌(ATCC27853)、白色念珠菌(ATCC90028)均由第三军医大学大坪医院野战外科研究所检验科提供。血琼脂平板(BA)(直径为70 mm,重庆庞通医疗器械有限公司)。

AV 400 MHz 核磁共振仪(Bruker),FTS-185 红外光谱仪(Bio-Rad),TRACE DSQ 气质联用仪(Thermo Finigan),DU-7500 紫外光谱仪(Beckman),X-6 型精密显微熔点测定仪(北京福凯仪器有限公司,温度未经校正),GNP-9270 隔水式恒温培养箱(上海精密实验设备有限公司产品),Sartouius 电子天平(德国,1/100 000),100 W 高压汞灯(菲利普,荷兰)。

1.2 合成实验

阳离子卟啉及金属阳离子卟啉的合成路线如图1所示。



1:5,10,15,20-四吡啶卟啉;2:5,10,15,20-四吡啶锰卟啉;3a:氯化{5,10,15,20-四[N-(4-氯苄基)吡啶]卟啉}阳离子;3b:氯化{5,10,15,20-四[N-(2,4-二氯苄基)吡啶]卟啉}阳离子;3c:氯化{5,10,15,20-四[N-(3,4-二氯苄基)吡啶]卟啉}阳离子;3d:溴化{5,10,15,20-四[N-(2,4-二氯苄基)吡啶]卟啉}阳离子;3e:溴化{5,10,15,20-四[N-(4-硝基苄基)吡啶]卟啉}阳离子;4a:氯化{5,10,15,20-四[N-(4-氯苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子;4b:氯化{5,10,15,20-四[N-(2,4-二氯苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子;4c:氯化{5,10,15,20-四[N-(3,4-二氯苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子;4d:溴化{5,10,15,20-四[N-(2,4-二氯苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子;4e:溴化{5,10,15,20-四[N-(4-硝基苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子

图1 阳离子卟啉的合成路线

1.2.1 5,10,15,20-四吡啶卟啉(1)的制备[6] 在装有回流冷凝装置、滴液漏斗的250 ml三口瓶中加入二甲苯90 ml、水杨酸2.0 g,回流溶解,将新蒸吡咯(2.4 ml, 0.035 mol)和吡啶甲醛(3.2 ml, 0.034 mol)分别溶于7 ml二甲苯中,同时滴加,30 min内加完,继续加热回流1.5 h,停止反应。减压蒸出二甲苯,加入等体积的甲醇,搅拌5 min,冷却静置,放冰箱过夜,析出紫色晶体,抽滤,甲醇洗涤数次,干燥后氯仿溶解,先氧化铝柱色谱分离,氯仿/甲醇混合液(130∶1,体积分数)洗脱,再硅胶柱色谱分离,氯仿/甲醇混合液(40∶1,体积分数)洗脱,收集主要色带,得产品1。

1.2.2 5,10,15,20-四吡啶锰卟啉(2)的制备 取240.0 mg水合醋酸锰溶于20 ml冰醋酸,加入化合物(1) 50.0 mg,100 ℃下搅拌回流6 h,减压蒸除冰醋酸后加入醋酸钠溶液,离心,干燥后用氯仿溶解,氧化铝柱色谱分离,氯仿/甲醇混合液(130∶1,体积分数)洗脱,收集主要色带,真空干燥,得目标物2。

1.2.3 阳离子卟啉(3a~3e)的制备 于50 ml干燥三口瓶中放入化合物(1) 0.048 mmol和DMF 10 ml,通氩气20 min后,加热溶解,冷却后加入4.6 mmol相应的苄基卤,在100 ℃氩气保护下反应,TLC(氯仿/甲醇=10∶1,体积分数)监测反应,待原料点消失后停止反应,冷却,加入30 ml乙醚进行结晶,抽滤、乙醚洗涤得到目标物阳离子卟啉(3a~3e)的红色固体。

1.2.4 金属阳离子卟啉(4a~4e)的制备 于50 ml干燥三口瓶中加入化合物(2) 0.04 mmol和DMF 10 ml,通氩气20 min后,加热溶解,冷却后加入1.9 mmol相应的苄基卤,在100 ℃氩气保护下反应,TLC(氯仿/甲醇=10∶1,体积分数)监测反应,待原料点消失后停止反应,冷却,加入30 ml乙醚进行结晶,抽滤、乙醚洗涤得到目标物金属阳离子卟啉(4a~4e)的绿色或紫红色固体。

1.3 抑菌实验

1.3.1 抑菌定性实验 培养好的实验菌用液体培养基稀释至10^8 CFU/ml左右,实验化合物用少量二甲亚砜溶解后,培养基稀释至10^{-5} mol/L,加5 μl细菌悬液,混合后涂板,一系列迅速置于37 ℃培养箱中暗处培养24 h,一系列置于高压汞灯下20 cm处照射30 min后,再置于37 ℃培养箱中培养24 h,观察细菌生长情况。

1.3.2 抑菌定量实验[7] 采用双倍稀释法测定。将菌株培养至对数生长期,用比浊法以LB液体培养基将上述菌株调整至浓度为10^5 CFU/ml的悬液,备用。化合物(3a~4e)分别用少量二甲亚砜溶解后与菌液混合,加入96孔板中,用培养液稀释使其在混合菌液中的终浓度分别为0、0.5、1、2、4、8、16、32、64、125、250 μg/ml和500 μg/ml,置于高压汞灯下20 cm处照射30 min,再置于37 ℃培养箱中培养24 h后显微镜下观察细菌生长情况,与对照组(未加卟啉组)比较,以80%同种菌株生长受到抑制的最低浓度为该药的抑菌浓度(MIC_{80})。上述实验均平行操作3次。

2 结果

2.1 合成部分

5,10,15,20-四吡啶卟啉(1):紫色晶体0.4 g,收率10%。mp>300 ℃;^{1}HNMR($CDCl_3$,400 Hz)δ_{ppm}:9.08-9.06(d, J=

8 Hz, 8H, pyridine α-H), 8.88(s, 8H, pyrrole C-H), 8.18 – 8.16(d, J=8 Hz, 8H, pyridine β-H), –2.92(s, 2H, porphyrin N-H); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 417, 512, 546, 588, 643; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 310(N–H), 3 031(Ar-H), 1 592, 1 467, 1 350(pyridine, C=C and C=N), 971(pyrrole N-H), 801, 723, 640(=C-H); MS(ESI^+, m/z): 620 $[M]^+$。

5,10,15,20-四吡啶锰卟啉(2): 绿色固体 57 mg, 收率 96%; mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.09 – 9.07(d, J=8 Hz, 8H, pyridine α-H), 8.89(s, 8H, pyrrole C-H), 8.19 – 8.17(d, J=8 Hz, 8H, pyridine β-H); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 477, 579, 612; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 031(Ar-H), 2 919, 2 849(C-H), 1 595, 1 467, 1 346(pyridine, C=C and C=N), 1 009(N-Mn), 802, 723, 640(=C-H); MS(ESI^+, m/z): 673 $[M]^+$。

氯化{5,10,15,20-四[N-(4-氯苄基)吡啶]卟啉}阳离子 3a: 收率 98%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.53 – 9.52(d, J=4 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.01 – 8.99(d, J=8 Hz, 8H, pyridine β-H), 7.89 – 7.87(d, J=8 Hz, 8H, Ar-H), 7.68 – 7.65(d, J=12 Hz, 8H, Ar-H), 6.23(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 429, 518, 552, 593, 648; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 310, 3 031, 2 982, 2 849, 1 633, 1 597, 1 560, 1 467, 1 357, 1 087, 1 047, 968, 809, 723, 638; MS(ESI^+, m/z): 1 260 $[M]^+$, 1 224 $[M]^+$ - Cl。

氯化{5,10,15,20-四[N-(2,4-二氯苄基)吡啶]卟啉}阳离子 3b: 收率 97%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.63 – 9.61(d, J=8 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.07 – 9.06(d, J=4 Hz, 8H, pyridine β-H), 8.04 – 8.01(s, 4H, Ar-H), 7.99 – 7.98(d, J=12 Hz, 4H, Ar-H), 7.77 – 7.74(d, J=12 Hz, 4H, Ar-H), 6.38(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 432, 519, 553, 589, 648; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 310, 3 031, 2 923, 2 852, 1 631, 1 597, 1 532, 1 469, 1 349, 1 109, 967, 801, 734, 639; MS(ESI^+, m/z): 1 395 $[M-1]^+$。

氯化{5,10,15,20-四[N-(3,4-二氯苄基)吡啶]卟啉}阳离子 3c: 收率 99%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.53 – 9.52(d, J=4 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.01 – 8.99(d, J=8 Hz, 8H, pyridine β-H), 8.13 – 8.12(m, 8H, Ar-H), 7.82 – 7.81(d, J=4 Hz, 4H, Ar-H), 6.22(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 426, 518, 553, 593, 648; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 310, 3 031, 2 923, 2 852, 1 634, 1 562, 1 456, 1 034, 969, 800, 722; MS(ESI^+, m/z): 1 395 $[M-1]^+$。

溴化{5,10,15,20-四[N-(2,4-二氟苄基)吡啶]卟啉}阳离子 3d: 收率 97%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.60 – 9.58(d, J=8 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.04 – 9.02(d, J=8 Hz, 8H, pyridine β-H), 8.16 – 8.10(m, 4H, Ar-H), 7.64 – 7.57(m, 4H, Ar-H), 7.48 – 7.39(m, 4H, Ar-H), 6.33(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 421, 518, 553, 589, 644; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 310, 3 032, 2 923, 2 852, 1 634, 1 560, 1 456, 1 360, 1 145, 970, 802, 728; MS(ESI^+, m/z): 1 444 $[M]^+$。

溴化{5,10,15,20-四[N-(4-硝基苄基)吡啶]卟啉}阳离子 3e: 收率 99%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.58 – 9.56(d, J=8 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.05 – 9.03(d, J=8 Hz, 8H, pyridine β-H), 8.51 – 8.49(d, J=8 Hz, 8H, Ar-H), 8.11 – 8.08(d, J=12 Hz, 8H, Ar-H), 6.38(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 460, 519, 558, 591; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 310, 3 034, 2 923, 2 852, 1 636, 1 560, 1 460, 1 350, 970, 802; MS(ESI^+, m/z): 1 400 $[M]^+$-Br。

氯化{5,10,15,20-四[N-(4-氯苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子 4a: 收率 98%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.69(br, 8H, pyridine α-H), 9.03(br, 8H, pyridine β-H), 7.98 – 7.96(d, J=8 Hz, 8H, Ar-H), 7.72 – 7.70(d, J=8 Hz, 8H, Ar-H), 6.24(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 431, 519, 552, 593; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 035, 2 982, 2 849, 1 633, 1 597, 1 492, 1 088, 1 002(N-Mn), 800, 723, 640; MS(ESI^+, m/z): 1 282 $[M]^+$-Cl。

氯化{5,10,15,20-四[N-(2,4-二氯苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子 4b: 收率 98%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.61 – 9.60(d, J=4 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.07 – 9.05(d, J=8 Hz, 8H, pyridine β-H), 8.02 – 7.99(m, 8H, Ar-H), 7.77 – 7.74(d, 4H, Ar-H), 6.36(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 431, 519, 554, 589; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 031, 2 923, 2 852, 1 632, 1 561, 1 474, 1 388, 1 100, 1 001(N-Mn), 810, 729; MS(ESI^+, m/z): 1 456 $[M]^+$。

氯化{5,10,15,20-四[N-(3,4-二氯苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子 4c: 收率 99%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.74 – 9.72(d, J=8 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.04 – 9.03(d, J=4 Hz, 8H, pyridine β-H), 8.32(s, 8H, pyrrole C-H), 7.99 – 7.85(m, 16H, Ar-H), 6.25(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 424, 518, 568; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 034, 2 923, 2 852, 1 634, 1 563, 1 458, 1 003(N-Mn), 970, 800, 722; MS(ESI^+, m/z): 1 421 $[M]^+$-Cl。

溴化{5,10,15,20-四[N-(2,4-二氟苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子 4d: 收率 96%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.58 – 9.57(d, J=4 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.01 – 8.99(d, J=8 Hz, 8H, pyridine β-H), 8.14 – 8.09(m, 4H, Ar-H), 7.58 – 7.39(t, 4H, Ar-H), 7.42 – 7.35(m, 4H, Ar-H), 6.30 – 6.27(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm): 431, 519, 554, 589; IR(KBr 压片, cm^{-1}): 3 024, 2 923, 2 852, 1 632, 1 457, 1 353, 1 002(N-Mn), 809, 730; MS(ESI^+, m/z): 1 497 $[M]^+$。

溴化{5,10,15,20-四[N-(4-硝基苄基)吡啶]锰卟啉}阳离子 4e: 收率 99%。mp>300 ℃; ^{1}HNMR($CDCl_3$, 400 Hz) δ_{ppm}: 9.71 – 9.69(d, J=8 Hz, 8H, pyridine α-H), 9.08 – 9.07(d, J=4 Hz, 8H, pyridine β-H), 8.49 – 8.47(d, J=8 Hz, 8H, Ar-H), 8.41(br, 8H, pyrrole C-H), 8.18 – 8.16(d, J=8 Hz, 8H,

Ar-H), 6.40(s, 8H, CH_2Ph); UV-Vis($CHCl_3$, nm):432, 517, 566, 640; IR(KBr 压片, cm^{-1}):3 034, 2 923, 2 852, 1 635, 1 562, 1 454, 1 346, 1 520, 1 002(N-Mn), 802, 736; MS(ESI^+, m/z):1 533 $[M]^+$。

2.2 抗微生物活性

2.2.1 光照的影响 此类卟啉阳离子化合物对微生物的抑制作用具有光照依赖性,光照下显示更好的抗菌作用。以化合物3a为例,光照下,在浓度为 10^{-5} mol/L时,就完全抑制了金黄色葡萄球菌的生长,部分抑制了白色念珠菌的生长;但无光照时,该浓度对2种菌的抑制效果都很不理想。其他化合物有类似的结果。

2.2.2 抗菌活性的比较 10个化合物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、白色念珠菌的 MIC_{80}见表1,因绿脓杆菌对所有化合物表现出耐受性,所以表中未列出它的数据。此类卟啉季铵盐对革兰阳性金黄色葡萄球菌有满意的光敏抑制活性,对真菌白色念珠菌有一定的光敏抑制活性,但对革兰阴性大肠杆菌的光敏抑菌活性较差,特别是绿脓杆菌对所有化合物均表现出耐受性。以化合物3a为例,在浓度为4 μg/ml时,可完全抑制金黄色葡萄球菌的生长,对白色念珠菌也有50%的抑制,而对大肠杆菌和绿脓杆菌的抑制效果却很差。见图2。

表1 卟啉季铵盐(3a~4e)的体外光敏抗微生物活性(MIC_{80}, μg/ml)

菌株	3a	3b	3c	3d	3e	4a	4b	4c	4d	4e
金黄色葡萄球菌	2	4	8	64	512	0.5	2	4	64	32
大肠杆菌	64	128	256	128	512	4	16	32	64	512
白色念珠菌	16	32	128	128	512	2	16	16	64	128

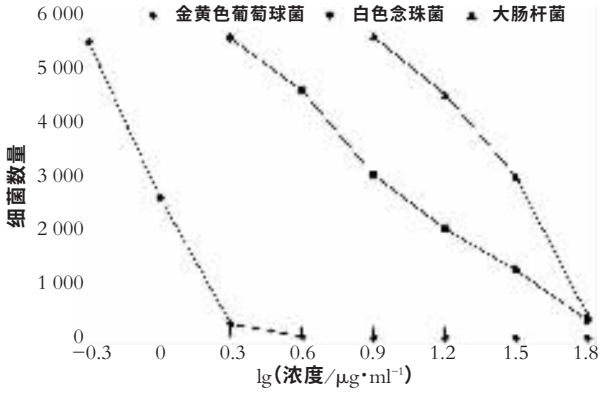


图2 化合物3a对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌的光动力抑制活性

3 讨论

文献报道的中位四吡啶卟啉季铵盐化合物大多数是以碘甲烷或碘乙烷来对吡啶环氮原子进行烷基化,这样的短链既保证了反应的顺利进行,又可避免由于链太长而发生重排以致于得不到目标物[8]。考虑到卤素取代的苄基是药物中常见的基团,如临床抗菌药氟康唑就存在2,4-二氟苄基,并且对它的替换、改变都会影响药物的效果,因此我们选用较为活泼的含有不同取代基的苄基化合物与四吡啶卟啉发生季铵化反应,得到带有不同取代基的苄基卟啉季铵盐,以考查它们的光敏抑菌效果。

卟啉化合物是由吡咯的α位与吡啶甲醛或其他衍生物的羰基发生亲核加成、环化等反应生成的,H^+的存在对反应至关重要。酸性较强的催化剂催化能力强,易使吡咯质子化,产生自聚,生成直链聚合物,不利于产率的提高;酸性弱的催化剂不利于羰基的活化,催化能力弱,反应速率慢,导致产率低或不能得到目标产物。一般选用 pK_a为2.0~4.0的酸作催化剂,meso-四-(4-吡啶基)卟啉的产率最高。因而在合成化合物(1)时,我们参照资料对标准的Adler法进行了改进,以二甲苯代替丙酸作溶剂,以水杨酸为催化剂,使反应较易控制,而且反应后粘稠状黑色聚合物减少,产品容易分离纯化。本实验发现,反应时间以1.5 h为宜,时间太短,产率低;太长则生成大量黑色聚合物,使得分离困难。

在季铵化反应时,我们考查了溶剂对反应的影响,结果发现,季铵化反应对溶剂的要求还是很高的,以非质子极性溶剂如干燥的DMF反应效果最好,反应后的产物粘度小,产品分离、纯化比较容易。在氯仿中几乎不发生反应,加入质子溶剂甲醇后,反应虽然发生,但产率很低。

本研究表明,光照对提高阳离子卟啉的抑菌活性起着决定性的作用,10种阳离子卟啉化合物的光敏毒性明显强于无光照条件下的固有毒性,这与光敏剂的抑菌机制有关。目前较为公认的PACT杀伤细菌的机制是单线态氧学说。光敏剂在特定波长光的激发下,吸收光子的能量并将能量传递给氧,生成具有亲电性并能高效氧化生物大分子的单线态氧,引起脂质过氧化酶的失活和蛋白质的变性、交联以至结构的改变,从而破坏细胞的结构和功能[9]。

光敏剂的作用机制还与其化学结构密切相关,卟啉与细胞质膜的结合是光敏抗菌的先决条件。Nitzan等[10]通过对3种位置异构的疏水卟啉和2种带不同电荷的亲水卟啉的抗菌性比较发现,电荷和聚集度是影响卟啉光敏活性的重要因素。阳离子和阴离子相比,阳离子卟啉与细胞膜负电荷之间的静电引力使得其能与细胞膜有效结合,在光作用下杀伤细胞,比阴离子或中性卟啉在抗菌方面具有更好的优势和潜能[11]。

本研究通过在芳环上引入不同的吸电子基团合成了一系列新型的四吡啶卟啉阳离子及其金属锰配合物,并发现这一系列新型的卟啉阳离子对革兰阳性金黄色葡萄球菌具有明显的杀伤效应,且活性随着芳环上取代基吸电性的增加而降低,这一结果表明光敏剂的抑菌活性不仅取决于光敏剂的电荷,同时光敏剂上取代基的电性对光敏剂活性也产生重要的影响。

本研究还发现,新型卟啉阳离子化合物对革兰阴性菌的抑菌效果明显低于革兰阳性菌,这与文献[4,8]报道的结果相似。这主要是因为革兰阴性菌细胞壁特有的脂质双层结构好似一个屏障,阻碍了细胞对光敏剂分子的吸收,抑制了光反应活性产物的生成。因此,针对革兰阴性菌特有双脂层结构研制有效的光敏剂将继续挑战着医药工作者。

参考文献:

[1] Banfi S, Caruso E, Buccafurni L, *et al*. Antibacterial activity of tetraaryl-porphyrin photosensitizers: an *in vitro* study on Gram negative and Gram positive bacteria[J]. J Photochem Photobiol B, 2006, 85(1): 28-38.

[2] Maisch T, Szeimies R M, Jori G, *et al*. Antibacterial photodynamic therapy in dermatology[J]. Photochem Photobiol Sci, 2004, 3(10): 907-917.

[3] Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art[J]. J Photochem Photobiol B, 2005, 79(2): 159-170.

[4] 陆蕾, 王宏, 李亚红, 等. 呫吨化合物对大肠埃希菌和金葡菌的光敏抗菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2005, 30(11): 682-685.

[5] 黄齐茂, 陈彰评, 陈世清, 等. 新型2-氢醌-多羟基卟啉的合成及其抗菌活性研究[J]. 化学学报, 2004, 62(21): 2182-2186.

[6] 高焕君, 韩士田, 刘彦钦. 几种新型吡啶卟啉季铵盐化合物的合成[J]. 化学试剂, 2005, 27(12): 757-758, 760.

[7] Sun Q Y, Xu J M, Cao Y B, *et al*. Synthesis of novel triazole derivatives as inhibitors of cytochrome P450 14alpha-demethylase (CYP51)[J]. Eur J Med Chem, 2007, 42(9): 1226-1233.

[8] 张建军, 杨惠芳, 何书美, 等. 等温热重法研究新型尾式卟啉季铵盐的热稳定性及寿命[J]. 理化检验: 化学分册, 2001, 37(9): 397-398.

[9] Reddi E, Ceccon M, Valduga G, *et al*. Photophysical properties and antibacterial activity of meso-substituted cationic porphyrins[J]. Photochem Photobiol, 2002, 75(5): 462-470.

[10] Nitzan Y, Dror R, Ladan H, *et al*. Structure-activity relationship of porphines for photoinactivation of bacteria[J]. Photochem Photobiol, 1995, 62(2): 342-347.

[11] Lazzeri D, Rovera M, Pascual L, *et al*. Photodynamic studies and photoinactivation of *Escherichia coli* using meso-substituted cationic porphyrin derivatives with asymmetric charge distribution[J]. Photochem Photobiol, 2004, 80(2): 286-293.

(**收稿**:2009-05-08;**修回**:2009-06-20)

(编辑 王 红)

(上接29页)

员及采集干细胞,准备行自体外周血造血干细胞移植。

2 讨论

EB病毒可引起多种疾病和肿瘤,如传染性单核细胞增多症、淋巴瘤、鼻咽癌等,其中由EB病毒引起的霍奇金淋巴瘤已被公认[1]。EB病毒与B细胞淋巴瘤发病有关,而致外周T细胞淋巴瘤发生少见。本例患者以反复颈部淋巴结肿大为主症,多次淋巴结活检均提示:EB病毒相关淋巴组织不典型增生;多次EB病毒DNA检查(+),前期抗炎、抗病毒治疗有效,且无消耗性疾病体征,提示为良性增生。后期患者因劳累后出现淋巴结进行性增大,抗炎治疗无效,再次活检,诊断为外周T细胞淋巴瘤,且已浸润至骨髓。因此,患者淋巴瘤的发生与EB病毒在体内长期存在及机体免疫力下降有关。

外周T细胞淋巴瘤起源于成熟的T细胞,为呈异质性表现的进展性新生物组,以广泛播散和侵袭习性为特征,预后很差。至今文献报道的5年总生存率为25%~45%[2-6]。患者对化疗敏感,联合化疗3个疗程后,肿大浅表淋巴结消失,骨髓完全缓解,无器官功能障碍。外周T细胞淋巴瘤属侵袭性淋巴瘤,分期晚。为提高长期无病生存率,异基因造血干细胞移植是最好的选择,但患者条件有限无法进行。为提高疗效,尽可能清除体内肿瘤细胞,本例患者已行自体外周血造血干细胞动员及采集,准备行自体外周造血干细胞移植,术后再行颈部局部放射,对疾病原发部位进行强化治疗。

参考文献:

[1] 靖彧, 于力. EB病毒与淋巴瘤相关性研究进展[J]. 山东医药, 2007, 47(32): 152-154.

[2] 王学文, 李锋. 外周T细胞淋巴瘤的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17(6): 1173-1178.

[3] Gall A, Stelitano C, Calvi R, *et al*. Peripheral T-cell lymphoma unspecified (PTCL-U): a new prognostic model from aretrospective multicentric clinical study[J]. Blood, 2004, 103(7): 2474-2479.

[4] Savage K J, Chhanabhai M, Gascoyne R D, *et al*. Characterization of eripheral T-cell lymphomas in a single North American Institution by the WHO classification[J]. Ann Oncol, 2004, 15(10): 1467-1475.

[5] Ascani S, Zinzani P L, Gherlinzoni F, *et al*. Peripheral T-cell lymphomas. Clinico-pathologic study of 168 cases diagnosed according to the R. E. A. L. classification[J]. Ann Oncol, 1997, 8(6): 583-592.

[6] 张明智, 孙振昌, 王桂叶, 等. B细胞淋巴瘤患者外周血免疫球蛋白重链基因重排检测[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2007, 42(2): 253-255.

(**收稿**:2009-10-23;**修回**:2009-11-11)

(编辑 王小寒)