竹红菌素类光敏剂的光物理、光化学及光生物

蒋丽金　何玉英

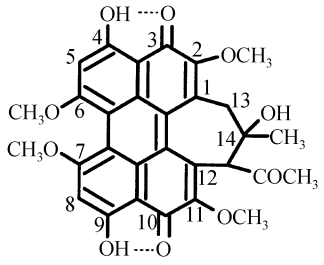
(中国科学院化学研究所分子科学中心，北京 100080. Email: yuyinghe@263.net)

摘要　竹红菌素是我国所特有的光敏剂，现已证明具有明显的抗肿瘤、抗病毒作用，是一种有潜在应用前景的光疗药物. 和现在惟一被批准临床使用的光疗药物血卟啉相比，具有原料易得、容易提纯、三重态量子产率高、单重态氧量子产率高、光毒性高而暗毒性低、体内清除速度快等优点. 在国内外研究的基础上，对竹红菌素的光物理、光化学、光生物性质作了简要的评述.

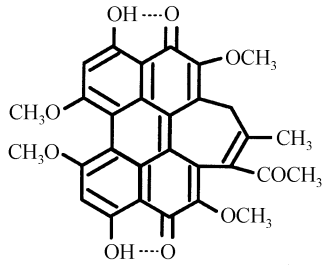
关键词　竹红菌素　光物理　光化学　光生物　光动力疗法

竹红菌素是从特产于我国云南箭竹上的一种寄生真菌—— 竹红菌中提取的天然光敏剂. 天然竹红菌素主要有两种组分：竹红菌甲素(hypocrellin A，简称 HA)和竹红菌乙素(hypocrellin B，简称 HB)；其中 95%以上为甲素. 但在碱性条件下，HA 可以脱水转化成 HB[1]. 自从 20 世纪 80 年代以来，我们开始竹红菌素这种新型光敏剂的研究，并对甲素和乙素的化学结构鉴定、光物理、光化学及光动力作用的分子机制作了系统的研究[2,3].

20 世纪 90 年代以来，竹红菌素的研究引起了国内外多个研究小组的兴趣，对竹红菌素的光物理、光化学及光生物性质做了有意义的研究. Lown 等[4]在竹红菌素的人工合成、同位素



竹红菌甲素



竹红菌乙素

标记竹红菌素的合成、氨基化竹红菌素的合成及其光生物学性质方面做了大量的工作. Petrich 等[5 ~ 12]开展了对竹红菌素抗病毒、细胞毒性及其机制方面的研究，并将竹红菌素和结构相似的金丝桃蒽酮(hypericin)作了对比. 国内一些研究组对竹红菌素的激发态性质、结构修饰、光敏机制、量化计算、对脂类及 DNA 等生物大分子的光动力损伤作了一些有意义的工作[13 ~ 25].

随着激光技术和光纤技术的发展和成熟，光动力疗法(photodynamic therapy，简称光疗或 PDT)中的光源问题和光的传导技术已得到较好的解决，使得光敏剂成为光疗领域的关键问题. 现在惟一被批准用于临床的 Photofrin Ⅱ®仍存在很多缺陷，如组分复杂、红光吸收弱、体内代谢慢、副作用大等；目前，高效、低毒、选择性好的理想光敏剂是人们大力寻求的目标. 竹红菌素是一种新型光敏剂，和血卟啉衍生物(haematoporphyrin derivatives，简称 HPD)相比，具有原料易得易纯化、三重态量子产率高、单重态氧量子产率高、光毒性高、暗毒性低、从正常组织的排出速度快等优点，是一种有应用前景的光疗药物. 众所周知，除了要求光敏剂有较高的光疗效率外，实体肿瘤的治疗还要求光敏剂在光疗窗口(600~900 nm)有强吸收[26]；光敏剂对肿瘤组织中的选择性和亲和力、适当的脂水兼溶性、保持或增强了光敏剂的光动力功能

的衍生物是近年来的研究重点. 因此, 以结构修饰的方法, 我们合成了一系列具有长波吸收和脂水兼溶的衍生物. 这些衍生物既证明了竹红菌素的可修饰性, 也提供了一系列性能更为优良的新型光敏剂. 我们在研究了竹红菌素本身的光物理和光化学性质的基础上, 对竹红菌素及其衍生物的光物理、光化学以及结构修饰与光动力活性的关系方面作简要的综述.

1 竹红菌素的光物理性质

1.1 竹红菌甲素(HA)纳秒级瞬态吸收光谱和三重态性质

用闪光光解法在二甲基亚砜(DMSO)或 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中检测到了竹红菌甲素的纳秒级瞬态吸收光谱[27], 发现在稀溶液中, 甲素有 3 个瞬态吸收带, 其中短波方向的两个吸收带是 HA 的 T-T 吸收, 长波方向(620 nm)左右的吸收带为 HA 负离子自由基的吸收峰. 其中 T-T 吸收的寿命为 4.2 μs 左右. 溶剂极性对 HA 瞬态光谱有很大影响.

若用环己烷作溶剂, 用纳秒级闪光光解法可观察到 HA 的三重态(T-T)吸收光谱, 吸收峰为 520, 550 和 600 nm[28]. 测得 HA 三重态能量为 178 kJ/mol 左右, 三重态量子产率为 0.78, 三重态的寿命为 4 ~ 6 μs. T-T 吸收的消光系数分别为 2.62×10^4 (520 nm), 1.34×10^4 (555 nm), 1.69×10^4 (600 nm) $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$. HA 的三重态量子产率远高于其荧光量子产率(0.14)[29], 表明 $S_1 \rightarrow T_1$ 的系间窜跃过程为 HA 的主要光物理过程. 高的三重态量子效率有利于三重态反应的进行. 当研究的波长范围再向短波方向扩展时, 发现 HA 和 HB 在 400 nm 处还有一个 T-T 吸收峰[23], 测得 HA 和 HB 的三重态量子产率分别为 0.80 和 0.76.

1.2 竹红菌乙素(HB)的激发态性质及外部重原子效应

由于竹红菌天然组分中主要是竹红菌甲素(HA), 乙素的天然含量很少, 因此长期以来对甲素的光物理和光化学性质研究得比较多. 而乙素(HB)作为甲素脱水后的又一种苝醌类光敏剂, 分子结构与 HA 分子存在着明显的差异[30]. 研究表明, HB 的荧光量子产率仅为 0.06, 明显低于 HA, 这可能是由于 HB 分子的平面性比 HA 差, 且 HB 分子中的醌羰基只有一端能与迫位的酚羟基形成分子内氢键的缘故. 用外部重原子效应测定了 HB 的三重态能量 E_T 为 180.75 kJ/mol, 三重态量子产率 F_T 为 0.77, 求得 HB 的荧光发射、内转换及系间窜跃的速率常数分别为 $k_f = 6 \times 10^7\ s^{-1}$, $k_{IC} = 1.7 \times 10^8\ s^{-1}$, $k_{ST} = 7.7 \times 10^8\ s^{-1}$. HB 的这些光物理数据的确定为研究竹红菌素及其衍生物的光物理和光化学性质提供了有效的方法和依据[31].

1.3 pH 值对 HB 光物理性质的影响

HA 和 HB 分子中都有两个迫位醌羰基和酚羟基, 很容易在酸性或碱性条件下发生醌羰基的质子化或酚羟基的解离, 使其光谱性质发生改变. 研究表明[32], 在酸性条件下(表 1), HB 的吸收光谱和荧光光谱均蓝移了 20 nm 左右, 荧光量子产率大大降低; 而在碱性条件下, HB 的吸收光谱和荧光发射光谱都发生了红移, 荧光量子产率与在中性溶液中相比有所下降. 求

表 1 HB 解离和质子化后的光谱变化

结构	l_A/nm (logε)	l_F/nm	F_F a)
YH_2 (HB)	458(4.33), 540(3.98), 580(3.14)	617	0.058
YH^-	478(4.27), 638(3.94)	680	0.000 34
Y^{2-}	480(4.30), 590(3.91), 638(4.13)	680	0.013
HBH^+	440(4.26)	600	0.001 2

a) F_F 为荧光量子产率

出了 HA 和 HB 在基态和激发态的质子化和解离常数 pK_a 和 pK_a^*(表 2). 由表 2 可以看出在激发态时 HA 和 HB 的酸性更强.

表 2 HA 和 HB 的 pK_a 和 pK_a^* 值

化合物		HA			HB	
pK_a	−0.3	8.1	10.8	−0.3	8.4	11.0
PK_a^*	−1.7	5.8	10.7	−1.8	6.0	10.9

1.4 分子内质子传递与构象的理论研究

用 AM1 方法计算了 HA 分子内质子传递过程的势垒[16], 并由此得出结论: (ⅰ) 在基态和激发态都存在着分子内质子传递过程, 但激发态的传递效率大大高于基态; (ⅱ) 几乎没有发生双质子传递的可能性; (ⅲ) 负离子及正、负离子自由基仍存在分子内质子传递; (ⅳ) HA 的七元环并未影响它的质子传递势垒. 此外, 用分子力学方法计算了 HA 和 HB 不同构象的生成热及酚羟基质子解离前后生成热的变化[17].

2 竹红菌素的光化学性质

2.1 竹红菌素与还原型底物分子的光诱导电子转移反应

激发态 HA 和 HB 很容易与电子给体发生电子转移反应, 生成 HA 或 HB 的单电子或两电子还原产物, 这两个产物可用吸收光谱检测. 单电子还原产物, 即半醌负离子自由基, 还可用电子顺磁共振(EPR)法检测. 在光照条件下, HA 或 HB 与半胱氨酸、抗坏血酸、还原型谷胱甘肽、BNAH 发生光化学还原反应[25,33 ~ 37]. 通过 EPR 和吸收光谱法, 证实了光照条件下竹红菌素被激发到激发态((1)式), 然后与电子给体(D)发生电子转移反应, 生成单电子还原产物—— 半醌负离子自由基((2)式); 半醌负离子自由基继续发生质子化和歧化反应((3)和(4)式), 生成两电子还原产物—— 氢醌[36, 38]:

$$\mathrm{Sens} \xrightarrow{h\nu} {}^1\mathrm{Sens} \xrightarrow{isc} {}^3\mathrm{Sens} \tag{1}$$

$${}^1\mathrm{Sens} + \mathrm{D} \rightarrow \mathrm{Sens}^{\bullet -} + \mathrm{D}^{\bullet +} \tag{2a}$$

或

$${}^3\mathrm{Sens} + \mathrm{D} \rightarrow \mathrm{Sens}^{\bullet -} + \mathrm{D}^{\bullet +} \tag{2b}$$

$$\mathrm{Sens}^{\bullet -} + \mathrm{H}^+ \rightarrow \mathrm{SensH}^{\bullet} \tag{3}$$

$$\mathrm{SensH}^{\bullet} + \mathrm{SensH}^{\bullet} \rightarrow \mathrm{Sens} + \mathrm{SensH}_2 \tag{4a}$$

或

$$\mathrm{Sens}^{\bullet -} + \mathrm{Sens}^{\bullet -} \rightarrow \mathrm{Sens} + \mathrm{Sens}^{2-} \tag{4b}$$

式中 Sens 代表光敏剂 HA 或 HB.

我们的研究澄清了在无电子给体时光照 HA 的无氧 DMSO 溶液产生的 EPR 信号应归属于 $HA^{\bullet -}$, 即负离子自由基, 而不是 $HA^{\bullet +}$[38]. EPR 和吸收光谱的研究结果都表明 $HA^{\bullet -}$ 的暗衰减符合二级反应动力学, 说明主要是 $HA^{\bullet -}$ 的湮灭过程((4)式). 在质子溶剂中, $HA^{\bullet -}$ 的质子化反应((3)式)加速了这一过程, 因此一般检测半醌负离子自由基的 EPR 波谱都在非质子极性溶剂(如 DMSO)中进行.

竹红菌素的光还原反应受反应介质 pH 值的影响[32]. 在酸性和强碱性(pH >10.3)时, 吸收

光谱只能检测到两电子还原产物氢醌的生成，而检测不到半醌负离子自由基的生成. 而在中性或弱碱性条件下，既能检测到半醌负离子自由基的生成，又能检测到氢醌的生成. 在酸性条件下，H^+浓度的增大加快了半醌负离子自由基的质子化以及歧化而生成氢醌的过程((3)和(4)式)；而在强碱性条件下，$HA^{\bullet-}$或 $HB^{\bullet-}$的分子内氢键因酚羟基的解离而被破坏，使其稳定性大大下降，在电子给体存在时迅速反应生成氢醌，因而只检测到了氢醌的生成. EPR 方法也很难检测到 $HA^{\bullet-}$和 $HB^{\bullet-}$的信号. 在中性或弱碱性条件下，$HA^{\bullet-}$和 $HB^{\bullet-}$中分子内氢键的存在稳定了其结构，使得用吸收光谱即能检测到它们的生成. 在酸性介质中，氢醌的吸收峰蓝移至 496 nm，在强碱性介质中，氢醌的吸收红移至 520 nm 左右. 在中性或弱碱性介质中，氢醌的吸收峰在 502 ~ 514 nm. 而半醌负离子自由基的吸收峰在 616 ~ 628 nm.

在研究竹红菌素衍生物的光还原反应时，还发现一个有趣的现象：竹红菌素衍生物氢醌的吸收峰位与竹红菌素本身的氢醌的吸收峰位几乎相同[39]. 5 位或/和 8 位的 H 被取代后对其氢醌的吸收光谱影响很小.

2.2 竹红菌素与胺类化合物之间的电子转移反应

胺类化合物是很好的电子给体，在光化学反应中易于与竹红菌素发生电子转移反应((2)式). 用 N, N-二乙基苯胺(DEA)作电子给体, HA, HB 与 DEA 之间能够发生电子转移作用[24,40]. DEA 能够猝灭 HA 和 HB 的荧光，在乙腈中对 HA 和 HB 的猝灭常数分别为 2.28×10^{10} $(mol\cdot L^{-1})^{-1}\cdot s^{-1}$ 和 $2.34\times10^{10}(mol\cdot L^{-1})^{-1}\cdot s^{-1}$，与由 Maucus 理论所计算的结果一致. 根据 Weller 公式求得 HA 和 HB 激发态与 DEA 之间电子转移的自由能变化ΔG 分别为–1.21 和–1.24 eV.

光照无氧的 HA(或 HB)与 DEA 的 DMSO 或乙腈溶液，能够检测到 HA(或 HB)的半醌负离子自由基的($HA^{\bullet-}$或 $HB^{\bullet-}$)EPR 信号，这表明，基态 DEA 与激发态 HA(或 HB)发生了电子转移相互作用. 用吸收光谱法也检测到了 HA(或 HB)的光还原过程和 $HA^{\bullet-}$或 $HB^{\bullet-}$的生成. 瞬态吸收光谱的研究结果表明，DEA 与 HA(或 HB)的光还原是电子转移反应，并观察到了 $HA^{\bullet-}$的瞬态吸收(l_{max} = 620 nm). 同时还用吸收光谱法、EPR 和荧光光谱法研究了 HA 与 N-乙基苯胺、苯胺之间的相互作用.

当用脂肪胺作电子给体时，光照前竹红菌素的吸收大大红移；当体系中预先加入自旋捕获剂 PBN 时，光照后除了 $HA^{\bullet-}$(或 $HB^{\bullet-}$)外，还检测到了 PBN 与胺生成的自由基加合物的 EPR 信号[41].

2.3 半醌负离子自由基的反应

光敏剂的光化学原初反应涉及到电子转移(类型Ⅰ)和能量转移(类型Ⅱ)过程. 若反应体系中存在电子给体则有利于类型Ⅰ反应，而抑制了类型Ⅱ反应[42]. 类型Ⅰ反应生成的半醌负离子自由基($Sens^{\bullet-}$)在无氧的非质子极性溶剂(如 DMSO)中非常稳定，但在有氧或/和有自由 H^+ 存在的反应体系中，$Sens^{\bullet-}$则很快发生反应：(a) 发生质子化及歧化反应，生成氢醌((3)和(4)式)；(b)与 O_2 反应，生成超氧阴离子自由基($O_2^{\bullet-}$)[43 ~ 45]：

$$Sens^{\bullet-}+O_2\rightarrow Sens+O_2^{\bullet-} \tag{5}$$

2.4 竹红菌素的自敏光氧化

竹红菌素的自敏光氧化经由两条途径和反应机制[46]，其一是先生成不稳定的氧化产物，然后放出 $^1O_2$，回到竹红菌素本身；其二是生成的不稳定氧化产物转化成稳定的氧化产物

HAO_2 (或 HBO_2), 这种过程在稠环醌类化合物中还是首次报道.

3 竹红菌素的光生物性质

3.1 对脂质体的光敏损伤

用 Raman 光谱法从分子水平研究和比较了竹红菌素及其衍生物对 DPPE 和 DPPC 混合脂质体的光敏损伤[18]. 光敏损伤后, 混合磷脂脂质体的结构发生了明显的改变, 反式构型减少, 而扭曲构型增加. 链间纵向有序度参数和侧向相互作用序参数明显下降. 结果表明, 经 HB 和 5-Br-HB 光敏损伤后, DPPE 和 DPPC 的碳氢链断裂; 产生光敏损伤的能力顺序为: 5-Br-HB > HB > HA. 而对 DPPC 脂质体空间结构的微观光敏损伤的 Raman 光谱特征的研究[19]也得到了相似的结果.

研究表明, 竹红菌乙素对人红细胞膜的光敏损伤能导致膜蛋白交联、脂质过氧化、膜的流动性和离子通透性增加, 从而使膜功能改变[20]. 这是由于竹红菌乙素产生的活性氧($^1O_2$, $O_2^{\bullet-}$和$^\bullet OH$)等破坏了红细胞的有序结构, 使膜蛋白主链结构的α-螺旋、β-折叠明显减少, 无规卷曲增加, 并使其侧链结构的巯基基团、吲哚环、对羟基苯环、单基取代苯环也明显减少. 与此同时, 随着光照时间的增加, 膜脂的反式构象呈先增加后减少的趋势, 它的扭曲构象正好相反. 膜蛋白和膜脂构象不灵敏的 CH_2 和 CH_3 弯曲振动谱线的明显下降提示它们有链的断裂.

3.2 对 DNA 分子的光敏损伤

在 HA 存在下, 光照 S180 肉瘤细胞将导致细胞存活能力下降和 ^{3}H-TdR 结合能力下降, 并引起 DNA 链断裂, 且选择性地损伤 DNA 中的鸟嘌呤基团. HA 的光敏损伤时体外 DNA 的圆二色谱的q_{260}/q_{280}比值增大. 在 4 种常见的 2′-脱氧核苷酸中, 2′-脱氧鸟苷酸最易受到 HA 的光敏损伤[21].

3.3 光敏恶性肿瘤细胞的凋亡

HA 对 3 种不同的人体恶性上皮癌细胞 HIC, MGC-803 和 HeLa 都有光动力作用[22]. 光敏损伤导致癌细胞的凋亡或坏死, 这可根据形态变化、DNA 碎裂及线粒体脱氢酶活性下降来判断. 3 种细胞株对 HA 细胞毒性的敏感顺序为: HIC > MGC-80C > HeLa. 细胞凋亡的程度取决于光剂量、后处理时间及细胞类型. 维生素 E 可明显保护细胞免于死亡, 这表明活性氧在细胞凋亡或细胞坏死中起重要作用.

4 脂质体包裹的竹红菌素的性质及光动力作用

4.1 竹红菌甲素-脂质体的制备及特性

我们用反相蒸发技术制备了竹红菌甲素-脂质体体系, 并测定了其光谱性质和稳定性[47]. 结果表明, 经脂质体包裹后, 竹红菌素的吸收光谱和荧光光谱均出现红移, 且有荧光增强效应. 此法制备的竹红菌甲素-脂质体(浓度 0.05 ~ 0.5 mg/mL)在 4℃下存放 2 ~ 3 d, 光密度下降 5%左右.

4.2 竹红菌甲素在脂质体中的光谱性质及结合能力

在用乙醇注射法制备的竹红菌甲素-脂质体体系中, HA 和脂质体结合后处在脂双层中[48]. 其吸收光谱除了短波吸收稍有红移外, 其他两个吸收峰基本无变化; 其荧光光谱和在氯仿中相比, 峰形和峰位都没有明显变化, 但荧光量子产率低 50%左右. 影响 HA 荧光的有 3 个因素: 脂质体浓度、HA 浓度及 pH 值. HA 和磷脂膜的结合常数为 7.01 mL/mg.

4.3 竹红菌甲素在脂质体溶液中的光动力作用

在脂质体溶液中, HA 也能光敏产生 $^1O_2$, $O_2^{\bullet-}$和 $HO^{\bullet}$[49], 测得 $^1O_2$ 产生的量子产率为 0.80, 与 HA 在苯中的 $^1O_2$ 量子产率[29]相近, 说明在脂质体中 HA 保持了 $^1O_2$ 的产生能力. 用自旋捕获法能够检测到 $O_2^{\bullet-}$和 $HO^{\bullet}$与 DMPO, $^1O_2$ 与 TEMP 形成的加合物的 EPR 信号. 若加入电子给体, 光照无氧的 HA-脂质体溶液, 用吸收光谱法能够检测到甲素氢醌(HAH_2)的生成, 用消自旋法((1)式)能够检测到 $HA^{\bullet-}$的生成, 但用吸收光谱法和 EPR 法则难以检测到 $HA^{\bullet-}$的 EPR 信号, 这可能是由于在脂质体溶液中不利于 $HA^{\bullet-}$的生成和稳定存在.

4.4 HA-脂质体对 pBR322 DNA 的光敏损伤

HA-脂质体体系提供了研究 HA 对 DNA 分子光敏损伤的一个有效的生物体系和模型. 研究表明[50], HA-脂质体能光敏导致 pBR322 DNA 分子的损伤和断链. 氧的存在有明显的增强作用, 这说明此损伤过程涉及到活性氧. 但在无氧条件下, 也能检测到 DNA 分子的损伤, 推测这可能是由于光敏剂和 DNA 直接作用的结果. DNA 的损伤与敏化剂的浓度有关; 随着 HA 浓度的增大, DNA 的损伤迅速增大且达到一个最大值. 当用另一种水溶性的竹红菌素衍生物 13-SO_3Na-DDHA 作敏化剂时, DNA 的损伤随着光敏剂浓度的增大而不断增大; 当浓度相同时, 13-SO_3Na-DDHA 在水溶液中对 DNA 的光敏损伤要比 HA-脂质体体系的效率高. 猝灭实验表明, $HO^{\bullet}$在 HA-脂质体导致的 DNA 光敏损伤中起主要作用, 而对于 13-SO_3Na-DDHA, $^1O_2$ 和 $HO^{\bullet}$都起明显作用.

4.5 HA-脂质体的药代动力学、组织分布与光疗效率

我们用脂质体作为药物载体, 研究了 HA 在动物体内的光疗作用以及药代动力学和组织分布[51], 并与二甲基亚砜(DMSO)促溶的 HA(HA-DMSO)体系作了对比. 结果表明, 除了肾、肝、肺和脾之外, HA 在肿瘤中的浓度要比在其他正常组织中的浓度高. 对于 HA-脂质体体系, 药物注射后 12 h HA 在肿瘤中的聚集浓度最高, 肿瘤/周边正常皮肤或肌肉的聚集浓度比达到最大值; 而对于 HA-DMSO 体系, 这些峰值出现得比较早, 在注射后 6 h. 经脂质体包裹后, HA 在肿瘤中聚集的最大浓度和肿瘤/周边正常皮肤或肿瘤/周边正常肌肉的最大比值都比 HA-DMSO 体系的高, 说明脂质体作为药物载体提高了 HA 在肿瘤中的选择性富集. 在脑中很难检测到 HA, 说明 HA 未能穿过血脑屏障. 通过测定肿瘤体积的变化, 我们研究了 HA-脂质体体系的光疗效率, 并与 HA-DMSO 和血卟啉单甲醚(HMME)作了对比, 结果发现, HA-脂质体在药物注射后 12 h 进行光照所获得的光疗效率最高, 而 HA-DMSO 的最佳光照时间是药物注射后 6 h; 这与前面测定的药代动力学结果是一致的. 而且 HA-脂质体的最大光疗效率要远高于 HA-DMSO 和 HMME 的最大光疗效率.

5 竹红菌素的结构修饰

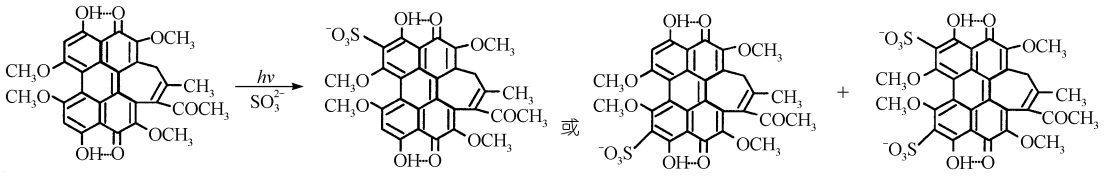
5.1 溴代

将溴的氯仿溶液滴入 HB 的氯仿溶液, 在室温下搅拌 40 min, 即可得到 HB 的溴代产物: 5-Br-HB(**1**)和 5,8-di-Br-HB(**2**)[52]. 这种方法实现了在温和反应条件下的溴代反应.

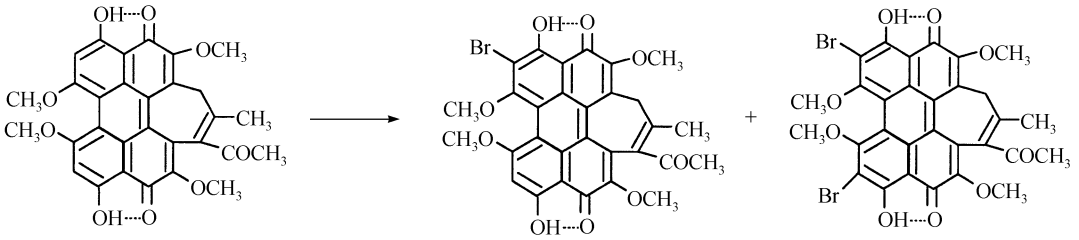
5.2 磺化

光照竹红菌素(以 HB 为例)和磺酸钠(Na_2SO_3)的溶液, 可生成 5 或/和 8 位磺化的竹红菌素衍

生物(3 和 4)[53].



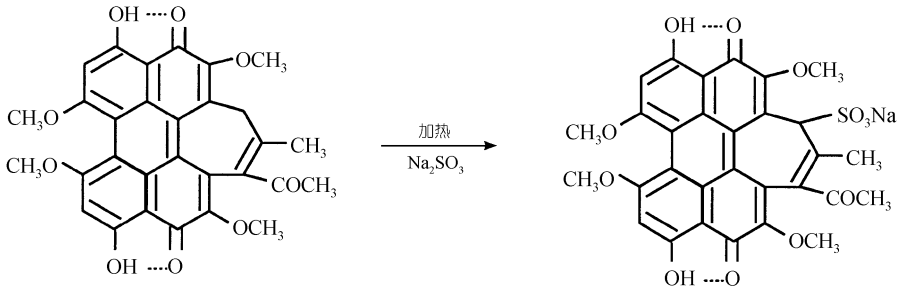
HB　　3　　4



HB　　1　　2

猝灭实验研究的结果表明，反应的机制是$^{\bullet}SO_3^-$进攻 HB 的 5 或/和 8 位，生成了化合物 3 和 4. 氧的含量、溶液的 pH 和溶剂极性都影响反应的产率[53, 54].

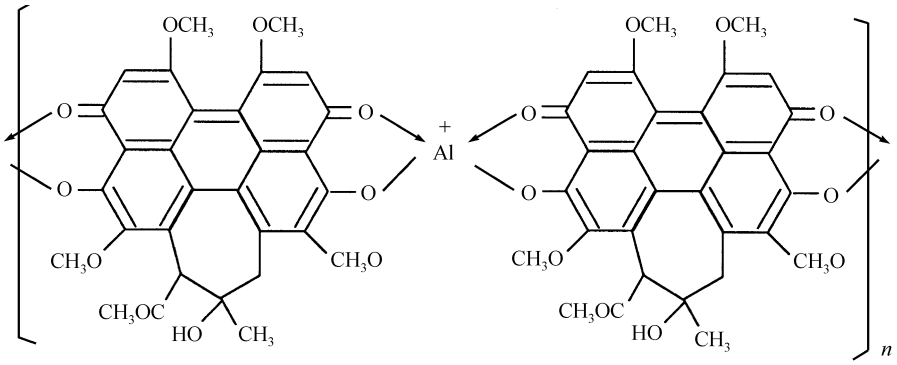
在通空气条件下，加热回流竹红菌素(以 HA 为例)和 Na_2SO_3 的含 1%NaOH 强碱水溶液，可生成 14-脱羟基-15-脱乙酰基-13-磺酸钠竹红菌素(5)[55, 56].



HB　　5

5.3　HA 与铝离子(Al^{3+})络合

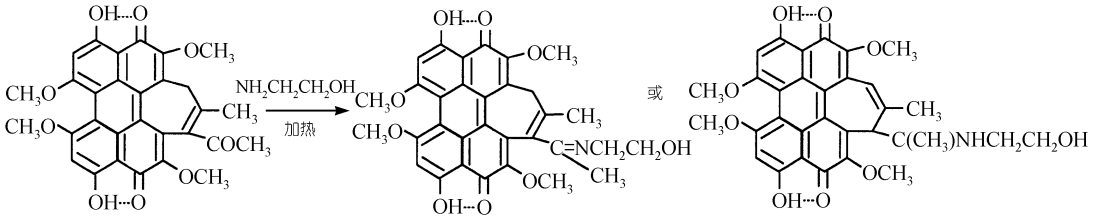
HA 和 Al^{3+}络合形成 1∶1 的络合物(Al^{3+}-HA)(6)[57]. 该络合物形成一个长链聚合体，但链长未能测定；它易溶于极性有机溶剂，如 N,N-二甲基甲酰胺, DMSO，乙醇和水.



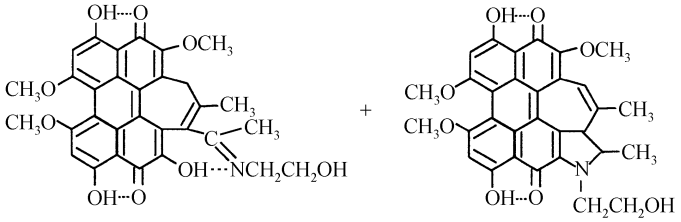
6

5.4 竹红菌乙素与乙醇胺的反应

用吡啶作溶剂，将 HB 与乙醇胺的溶液加热到 50℃，反应 5 h，即可生成七元环氨基取代的衍生物(7, 8, 9)[58]. 但反应产物多，产率较低.



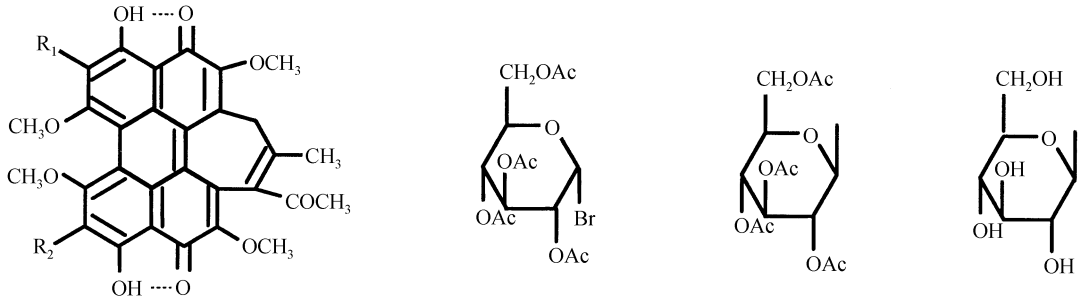
7



8 9

5.5 糖苷化

我们通过多步反应在竹红菌素上引入糖基，合成了竹红菌素糖苷(11)[59, 60]. 其水溶性有明显提高，红光吸收也有所增强. 而且为其他苝醌类光敏剂的糖苷化提供了一条可行的途径.



竹红菌素衍生物 (DHB) 乙酰溴代葡萄糖 (ABG) 乙酰化糖基 (AG) 糖基 (G)

HB + $HSCH_2CH_2OH$ + $h\nu$ → 5 或 8-$HOCH_2CH_2S$-HB + 5,8-di-$HOCH_2CH_2S$-HB (**化合物 10**)

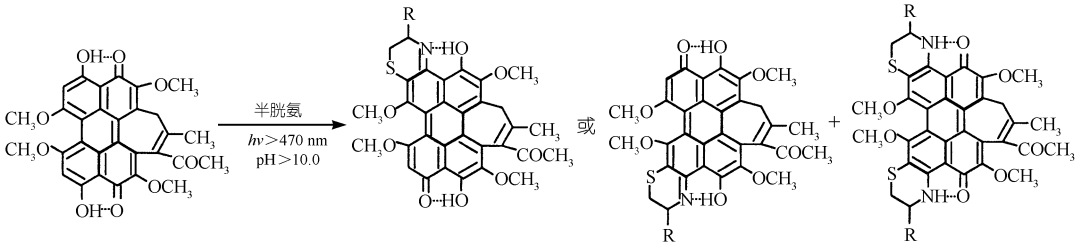
化合物 10+ ABG → 5,8-di-$AGOCH_2CH_2S$-HB

5,8-di-$AGOCH_2CH_2S$-HB + $NaOCH_3$ → 5,8-di-$GOCH_2CH_2S$-HB (**化合物 11**)

5.6 竹红菌素与半胱胺、半胱氨酸的光反应

以前用热反应的方法曾研究过竹红菌素与半胱氨、半胱氨酸的反应[61]，得到了 5 位或/和 8 位半胱氨(酸)取代的产物和 5 位(或/和 8 位)半胱氨(酸)取代-4(或/和 9 位)氨基环合的衍生物. 后者的红光吸收明显增强. 但这种方法的产率很低，而且副产物多，分离纯化繁琐. 我们用光

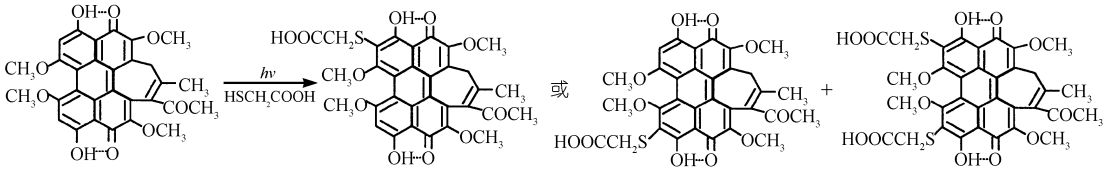
化学方法，使竹红菌素(以 HB 为代表)和半胱氨或半胱氨酸在乙醇-缓冲溶液(pH>10.0)中反应，主要得到 5 或/和 8-巯基取代-4 或/和 9-氨基环化的竹红菌素衍生物(化合物 **12** ~ **16**)[62, 63], 1).



HB　　**12**,**14**　　**13**,**15**,**16**

化合物 12, **13**: R = H; **化合物 14**, **15**: R = COOH; **化合物 16**: R = COONa

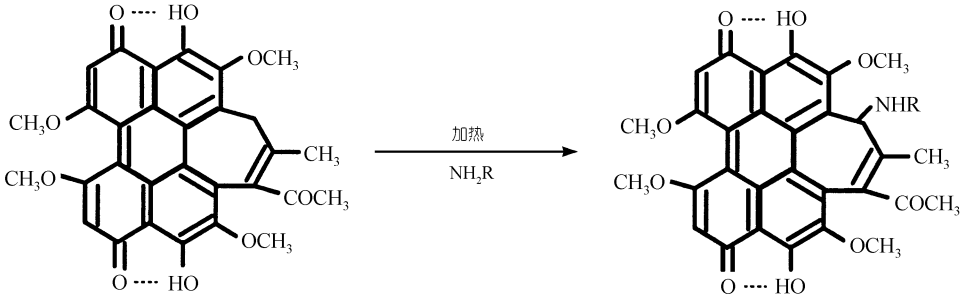
我们还用光化学方法合成了巯基乙酸取代的竹红菌素衍生物(**17**，**18**)[62]. 和热化学方法相比，光化学合成方法具有反应速度快、产物单一、副产物少等优点.



HB　　**17**　　**18**

5.7　竹红菌素与甘氨酸、丙氨酸的反应

甘氨酸和丙氨酸是最简单、氨基化反应位阻最小的氨基酸. 加热竹红菌素和甘氨酸(或丙氨酸)的 DMF-1%NaOH 溶液，可得到化合物 **19** ~ **21**2).



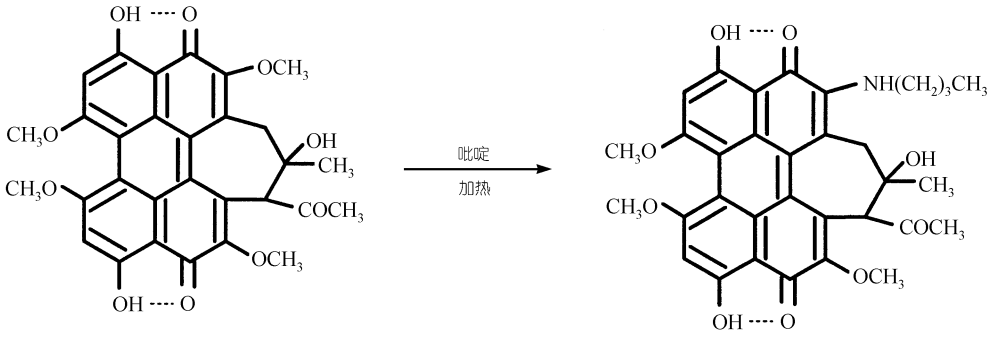
19: R = CH_2COOH; **20**: R = $CH(CH_3)COOH$; **21**: R = CH_2CH_2COOH

5.8　竹红菌素与正丁胺的反应

加热竹红菌素(以 HA 为例)与正丁胺的吡啶溶液，在通空气条件下，反应 15 h 左右，即可分离纯化出化合物 22[13]. 正丁胺也可以用其他正烷基胺代替(如正戊胺).

1) He Y Y, Jiang L J. Synthesis and EPR investigations of new aminated hypocrellin derivatives. Free Radic Biol & Med, 2000(待发表)

2) 宋钰珠. 竹红菌素的结构修饰、光物理及光化学. 博士论文. 中国科学院感光化学研究所, 1999



HA 22

6 竹红菌素衍生物的光动力作用

6.1 竹红菌素衍生物半醌负离子自由基的产生

光照无氧的竹红菌素衍生物的 DMSO 浓溶液，可用 EPR 方法检测到衍生物半醌负离子自由基的信号[55, 57, 64 ~ 74]. 信号的产生被认为是激发态光敏剂与基态光敏剂之间的电子转移造成的. 检测到的 EPR 信号能被 O_2 猝灭；在还原剂存在下，得到的 EPR 信号与无还原剂时相同，但强度明显增大；证明检测到的 EPR 信号来源于半醌负离子自由基的推断. 还可以用 TEMPO 消自旋法检测这些自由基的产生.

6.2 活性氧的产生

超氧阴离子自由基($O_2^{\bullet-}$)可用 DMPO 自旋捕获法和细胞色素 C 还原法检测，再用超氧化物歧化酶(SOD)猝灭法加以验证. 羟基自由基用 DMPO 自旋捕获法检测，再用乙醇或甘露醇猝灭法验证. 单重态氧用 TEMP 自旋捕获法或用 9,10-二苯基蒽漂白法测定其产生及量子产率，再用阻氨酸或 DABCO 的猝灭作用和氘代溶剂的增强作用加以验证. 研究表明，竹红菌素衍生物能够光敏产生活性氧[55,57, 64 ~ 72, 75, 76].

6.3 修饰对衍生物光动力作用的影响

在对竹红菌素的结构修饰中，有的只是增加了助色团，有的则改变了发色团，使其光物理、光化学及光动力性质同时也发生了变化. 表 3 中列出了我们已经测定的衍生物的吸收光谱性质、单重态氧量子产率(F_Δ)，以及半醌负离子自由基($Sens^{\bullet-}$)、超氧阴离子自由基($O_2^{\bullet-}$)、羟基自由基($HO^{\bullet}$)产生的相对效率(RE).

由表 3 中的数据可以看出，对竹红菌素的结构修饰明显影响了所得衍生物的吸收光谱和光动力性质[72,74,75]. 除此之外，我们还在表 3 中列出了一些衍生物对口腔上皮癌细胞的光动力半致死量(IC_{50})[77]. 对竹红菌素 4 或/和 9 位的氨基化使衍生物的吸收光谱明显红移，且使衍生物保持了较高的单重态氧量子产率；但对细胞光毒性来讲，除了单重态氧量子产率有影响外，脂/水溶性也有明显影响. 对于我们用的离体细胞体系，单重态氧量子产率高的脂溶性和脂水兼溶的衍生物呈现出高的细胞光毒性. 对于水溶性衍生物，体外离体细胞实验结果都不好，但这并不能说明体内实验的结果；因为水溶性的光敏剂损伤的靶体可能不是肿瘤细胞本身，而是肿瘤组织的血管，从而切断对肿瘤组织的给养，使其慢慢因饥饿而自亡，应该用体内实验来检测. 从细胞实验的结果来看，半胱氨一取代和二取代的衍生物、半胱氨酸一取代的衍生物

及甘氨酸取代的衍生物呈现出和竹红菌素本身更高或相近的细胞光动力作用. 从化合物 22(正丁胺取代的竹红菌甲素衍生物)对人体胃癌细胞(MGC 803)的光毒性实验结果来看[13], 和 HA 相比, 化合物 22 不仅降低了暗毒性, 而且光毒性明显增强. 在光强为 4 J/cm^2 情况下, 母体 HA 对 MGC 803 细胞的光增强因子(photopotentiation factor)为 4, 而化合物 22 则达到 300 左右. 同时化合物 22 能导致细胞中 DNA 的碎裂, 而 HA 却观察不到这种现象. 这些结果表明胺基竹红菌素衍生物有可能成为很有前途的光敏剂.

表 3 竹红菌素衍生物的吸收光谱、单重态氧量子产率以及半醌负离子自由基、超氧阴离子自由基、羟基自由基产生的相对效率(RE)和细胞半致死量

化合物	l_{max}/nm	RE[a](Sens$^{\bullet-}$)	RE[a]($O_2^{\bullet-}$)	RE[a](HO$^{\bullet}$)	F_Δ	IC_{50}/μg · mL^{-1}
HA	464, 538, 580	-	-	-	0.80	0.28
HB	458, 546, 580	1	1	1	0.76	0.95
1	484, 580	-	-	-	0.93	-
2	508, 592	-	-	-	0.93	-
3	464, 570	-	-	-	0.62	3.81
4	480	-	-	-	0.77	-
5	444	-	-	-	0.70	>20
6	492, 550, 592	-	-	-	0.31[b]	-
7	492, 586, 632	-	-	-	0.78	-
8	456, 560, 576	-	-	-	0.25	-
9	398, 474, 596	-	-	-	0.15	-
10	512, 580	3.02	2.91	2.87	0.19	1.58
11	512, 582	2.86	2.92	2.96	0.18	>20
12	532, 598, 652	0.36	0.31	0.29	0.71	0.09
13	580, 684	2.80	2.64	2.70	0.64	0.27
14	532, 598, 652	0.32	0.28	0.30	0.60	0.87
15	580, 684	2.90	2.96	3.05	0.58	-
16	580, 684	2.86	2.92	2.93	0.54	>20
17	490, 580	1.84	1.92	1.89	0.25	3.02
18	512, 582	2.93	3.02	2.98	0.19	>20
19	464, 582	-	-	-	0.65	0.23
20	462, 580	-	-	-	0.51	5.34
21	466, 586	-	-	-	0.57	2.18
22	467, 538, 577, 628	-	-	-	0.60	-

a) 将竹红菌乙素(HB)的 Sens$^{\bullet-}$, $O_2^{\bullet-}$, HO$^{\bullet}$产生的相对效率(RE)设为 1, 其他衍生物的 RE 值是以此为参照的结果

b) 化合物 6(Al^{3+}-HA)在乙醇中的F_Δ为 0.31, 而在 $CHCl_3$-CH_3OH 中为 0.24

7 结论与展望

竹红菌素作为一种苝醌类化合物, 其光敏性质受其结构和反应介质的影响[78]. 最近的研究还表明竹红菌素类光敏剂也能导致细胞凋亡, 并且通过与基因疗法相结合, 使 MGC803 细胞对光疗的敏感性增加, 这为提高光疗效率、加快光疗的临床应用呈现了一个有效的途径和新的思路[79].

竹红菌素是我国特有的一种有潜在应用前景的光敏剂, 它已经被证明具有明显的光动力活性. 我们在竹红菌素的光物理、光化学方面做了系统的研究工作, 又为寻找适用于肿瘤光疗的光敏药物作了大量的结构修饰, 并详细地研究了这些衍生物的光物理及光化学性质. 但作为面向光疗的药物, 竹红菌素用于临床还有很长的距离. 细胞实验和动物实验仍做得很少,

虽已做了一些工作，但有关其药代动力学、药理学和毒理学还没有系统的研究，至今未见关于体内实验结果的定量数据，这些方面的研究仍进展很慢. 要真正实现竹红菌素的临床应用，必须寻求广泛的合作，使化学领域、生物领域和医学领域的研究者们都参与进来；将竹红菌素或其衍生物的光疗定量化、规范化、标准化，而不是仅仅停留在基础研究阶段，当然大规模的投入是竹红菌素药物开发的首要前提.

致谢 本工作为国家自然科学基金资助项目(批准号: 39830090).

参 考 文 献

1 赵开弘，蒋丽金. 竹红菌甲素在碱性和中性溶液中的结构变化. 有机化学, 1989, 9: 252 ~ 254
2 蒋丽金. 竹红菌素的结构，性质，光化学反应及反应机制（Ⅰ）——竹红菌素的结构和性质. 科学通报，1990, 35(21): 1608 ~ 1616
3 蒋丽金. 竹红菌素的结构，性质，光化学反应及反应机制(Ⅱ)——竹红菌素的反应. 科学通报，1990, 35 (22): 1681 ~ 1690
4 Lown J W. Photochemistry and photobiology of perylenequinones. Can J Chem, 1997, 75: 99 ~ 119
5 Das K, English D S, Petrich J W. Solvent dependence on the intramolecular excited-state proton or hydrogen atom transfer in hypocrellin. J Am Chem Soc, 1997, 119: 2763 ~ 2764
6 Das K, English D S, Fehr M J, et al. Excited-state processes in polycyclic quinones: the light-induced antiviral agent, hypocrellin, and a comparison with hypericin. J Phys Chem, 1996, 100: 18275 ~ 18281
7 Das K, English D S, Petrich J W. Deuterium isotope effect on the excited-state photophysics of hypocrellin: evidence for proton of hydrogen atom transfer. J Phys Chem A, 1997, 101: 3241 ~ 3245
8 Das K, Dertz E, Paterson J, et al. Hypericin, hypocrellin, and model compounds: steady-state and time-resolved fluorescence anisotropies. J Phys Chem B, 1998, 102: 1479 ~ 1484
9 Chaloupka R, Sureau F, Kocisova E, et al. Hypocrellin A photosensitization involves an intracellular pH decrease in 3T3 cells. Photochem Photobiol, 1998, 68: 44 ~ 50
10 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. Biochem, 1995, 34: 15845 ~ 15848
11 Park J, English D S, Wannemuehler Y, et al. The role of oxygen in the antiviral activity of hypericin and hypocrellin. Photochem Photobiol, 1998, 68: 593 ~ 597
12 Das K, Smirnov A V, Wen J, et al. Photophysics of hypericin and hypocrellin A in complex with subcellular components: interactions with human serum albumin. Photochem Photobiol, 1999, 69: 633 ~ 645
13 Zhang W G, Weng M, Pang S Z, et al. A novel photosensitizer, 2-butylamino-2-demethoxy-hypocrellin A (2-BA-2-DMHA) 1. Synthesis of 2-BA-2-DMHA and its phototoxicity to MGC803 cells. J Photochem Photobiol B: Biol, 1998, 44: 21 ~ 28
14 Wang N H, Zhang Z. Relationship between photosensitizing activities and chemical structures of hypocrellins A and B. J Photochem Photobiol B: Biol, 1992, 14: 207 ~ 217
15 Zhang Z Y, Wang N H, Wan Q, et al. EPR studies of singlet oxygen and free radicals generated during photosensitization of hypocrellin B. Free Radic Biol & Med, 1993, 14: 1 ~ 9
16 张红雨，张志义. 花醌分子内质子传递过程的理论研究. 中国科学, B 辑, 1998, 28(1): 91 ~ 96
17 张红雨，张志义. 花醌类光敏剂构象的分子力学研究. 中国科学, B 辑, 1997, 27(4): 357 ~ 361
18 Xu Y M, Zhao H X, Zhang Z Y. Raman spectroscopic study of microcosmic and photosensitive damage on the liposomes of the mixed phospholipids sensitized by hypocrellin and its derivatives. J Photochem Photobiol B: Biol, 1998, 43: 41 ~ 46
19 许以明，张志义，张 伟. 竹红菌素及其衍生物对脂质体空间结构的微观光敏损伤的 Raman 光谱特征. 中国科学, C 辑, 1998, 28(5): 417 ~ 422
20 许以明，杨红英，张志义. 竹红菌乙素敏化的人红细胞膜结构光损伤的 Raman 光谱特征. 中国科学, C 辑, 1999, 29(2): 138 ~ 144
21 Cao E H, Xin S M, Cheng L S. DNA damage induced by hypocrellin A photosensitization. Int J Radiat Biol, 1992, 61: 213 ~ 219
22 Zhang J, Cao E H, Li J F, et al. Photodynamic effects of hypocrellin A on three human malignant cells by inducing apoptotic cell death. J Photochem Photobiol B: Biol, 1998, 43: 106 ~ 111
23 Weng M, Wang W Q, Zhang M H, et al. An investigation of triplet states, and radical anion produced by laser photoexcitation of hypocrellins. J Chem Soc, Faraday Trans, 1997, 93(19): 3491 ~ 3495

24 Weng M, Zhang M H, Shen T. Study on the singlet and triplet state electron transfer between hypocrellin A and aromatic amines in solvents of various polarity. Chin Chem Lett, 1996, 7(10): 924 ~ 927

25 Weng M, Zhang M H, Shen T. Interaction between hypocrellin A and some biological substrates with emphasis on electron transfer mechanism. J Photochem Photobiol A: Chem, 1997, 108: 160 ~ 173

26 Bonnett R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. Chem Soc Rev, 1995, 24: 19 ~ 33

27 **夏万林, 张曼华, 蒋丽金, 等. 竹红菌甲素**(HA)**纳秒级瞬态吸收光谱研究. 中国科学**, B **辑**, 1992, (3): 230 ~ 235

28 Hu Y Z, An J Y, Qin L, et al. Structures of the triplet state properties of hypocrellin A by nanosecond flash photolysis. J Photochem Photobiol A: Chem, 1994, 78: 247 ~ 251

29 Diwu Z J, Lown J W. Photosensitization of anticancer agents. 12. Perylenequinonoid pigments, a novel type of singlet oxygen sensitizer. J Photochem Photobiol A: Chem, 1992, 64: 273 ~ 287

30 **梁 丽, 竺西珏, 张曼华. 竹红菌乙素晶体和分子结构. 科学通报**, 1987, 32(1): 56 ~ 59

31 **胡义镇, 蒋丽金. 竹红菌乙素的光物理性质及外部重原子效应. 科学通报**, 1996, 41(3): 229 ~ 232

32 He Y Y, An J Y, Jiang L J. pH effect on the spectroscopic behavior and photoinduced generation of semiquinone anion radical of hypocrellin B. Dyes and Pigments, 1999, 41: 79 ~ 87

33 **安静仪, 赵开弘, 蒋丽金. 竹红菌甲素的光化学 Ⅶ. 光敏化竹红菌素的单电子还原. 中国科学**, B **辑**, 1991, (3): 233 ~ 238

34 **安静仪, 蒋丽金. 竹红菌甲素的光化学 Ⅷ. 甲素与半胱氨酸的光结合及敏化氧化半胱氨酸的研究. 科学通报**, 1991, 36(10): 748 ~ 751

35 **王能辉, 安静仪, 鲁崇贤, 等. 竹红菌甲素敏化氧化还原型谷胱甘肽中的类型Ⅰ和类型Ⅱ反应. 感光科学与光化学**, 1992, 10(4): 347 ~ 353

36 **安静仪, 蒋丽金. 光诱导的竹红菌素和** BNAH **的电子转移. 科学通报**, 1992, 37(20): 1855 ~ 1858

37 **李 滨, 胡义镇, 邹 伟, 等. 竹红菌乙素与** BNAH **及** AcrH2 **的光化学反应. 中国科学**, B **辑**, 1998, 28(3): 211 ~ 217

38 Hu Y Z, An J Y, Jiang L J, et al. Spectroscopic study on the photoreduction of hypocrellin A: generation of semiquinone radical anion and hydroquinone. J Photochem Photobiol A: Chem, 1995, 89: 45 ~ 51

39 **安静仪, 蒋丽金, 赵开弘. 竹红菌甲素及衍生物的电子转移还原和亲核加成反应. 科学通报**, 1992, 37(1): 39 ~ 42

40 Zhang M H, Weng M, Chen S, et al. Study of electron transfer interaction between hypocrellin and N,N-diethylaniline by UV-visible, fluorescence, electron spin resonance spectra and time-resolved transient absorption spectra. J Photochem Photobiol A: Chem, 1996, 96: 57 ~ 63

41 **张曼华, 陈 申, 夏万林, 等. 竹红菌素与脂肪胺作用的研究. 中国科学**, B **辑**, 1996, 26(4): 325 ~ 331

42 **王能辉, 安静仪, 蒋丽金. 某些还原性生物分子对竹红菌甲素敏化产生** $^1O_2$ **的抑制作用. 化学学报**, 1992, 50: 905 ~ 909

43 Hu Y Z, Jiang L J. Characteristics of the reaction between semiquinone radical anion of hypocrellin A and oxygen in aprotic media. J Photochem Photobiol A: Chem, 1996, 94: 37 ~ 41

44 **王能辉, 安静仪, 蒋丽金. 竹红菌甲素半醌负离子自由基的变化特点. 化学学报**, 1992, 50: 702 ~ 707

45 An J Y, Hu Y Z, Jiang L J. Reactivity of semiquinone radical anions of hydroxylperylenequinone with oxygen. J Photochem Photobiol B: Biol, 1996, 33: 261 ~ 266

46 **陈 申, 张曼华, 蒋丽金. 竹红菌素自敏光氧化反应机制的研究. 感光科学与光化学**, 1993, 11(2): 1 ~ 7

47 **林启山, 曾繁杰, 蒋丽金. 竹红菌素-脂质体的制备及其特性. 生物化学与生物物理进展**, 1992, 19(3): 225 ~ 228

48 **邹 伟, 安静仪, 蒋丽金. 竹红菌甲素在脂质体中的光谱性质和结合能力研究. 生物化学与生物物理学报**, 1995, 27(6): 685 ~ 689

49 **邹 伟, 安静仪, 蒋丽金. 竹红菌素在脂质体溶液中的光动力作用研究. 中国科学**, B **辑**, 1996, 26(3): 206 ~ 213

50 Zou W, An J Y, Jiang L J. Damage to pBR322 DNA photosensitized by hypocrellin A in liposomes and its derivatives in solution. J Photochem Photobiol B: Biol, 1996, 33: 73 ~ 78

51 Wang Z J, He Y Y, Huang C G, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution and photodynamic therapy efficacy of liposomal-delivered hypocrellin A, a potential photosensitizer for tumor therapy. Photochem Photobiol, 1999, 70 (5): 773 ~ 780

52 **姜 颖, 安静仪, 蒋丽金. 竹红菌乙素溴代物的光动力作用. 科学通报**, 1993, 38(9): 797 ~ 800

53 Hu Y Z, An J Y, Jiang L J. Studies on the photoinduced sulfonation of hypocrellins. J Photochem Photobiol A: Chem, 1993, 70: 301 ~ 308

54 **胡义镇, 安静仪, 蒋丽金. 光诱导的竹红菌素磺化反应——反应条件对乙素**(HB)**光磺化反应的影响. 感光科学与光化学**, 1995, 13(1): 35 ~ 41

55 Hu Y Z, An J Y, Jiang L J. Studies of sulfonation of hypocrellin A and the photodynamic actions of the product. J Photochem Photobiol B: Biol, 1993, 17: 195 ~ 201

56 **胡义镇, 安静仪, 蒋丽金. 竹红菌素的** 13 **位磺化反应和反应机理. 有机化学**, 1993, 13: 597 ~ 603

57 Hu Y Z, An J Y, Jiang L J. Studies on the chelation of hypocrellin A with aluminum ion and the photodynamic action of the resulting complex. J Photochem Photobiol B: Biol, 1994, 22: 219 ~ 227

58 **夏万林，张曼华，蒋丽金．竹红菌乙素与乙醇胺的作用．有机化学**, 1992, 12: 618 ~ 623

59 He Y Y, An J Y, Jiang L J. Synthesis and ESR investigation of hypocrellin glycoside. Tetrahedron Lett, 1998, 39: 5069 ~ 5072

60 He Y Y, An J Y, Jiang L J. Glycoconjugated hypocrellin. Synthesis of [(β-D-Glucosyl) ethylthiyl] hypocrellins and photosensitized generation of singlet oxygen. Biochim Biophis Acta, 1999, 1472: 232 ~ 239

61 **马 良，张曼华，蒋丽金．竹红菌乙素与巯基化合物的反应(Ⅱ)——与半胱氨酸或半胱氨的反应．科学通报**, 1991, 35(20): 1551 ~ 1554

62 He Y Y, An J Y, Zou W, et al. Photochemical reactions of hypocrellin B with thiol compounds. J Photochem Photobiol B: Biol, 1998, 44: 45 ~ 52

63 He Y Y, An J Y, Jiang L J. Synthesis of a new water-soluble phototherapeutic sensitizer from hypocrellin B with enhanced red absorption. Dyes and Pigments, 1999, 41: 93 ~ 100

64 Hu Y Z, Jiang L J. Generation of semiquinone radical anion and reactive oxygen ($^1O_2$, $O_2^{\bullet-}$ and $^{\bullet}OH$) during the photosensitization of a water-soluble perylenequinone derivative. J Photochem Photobiol B: Biol, 1996, 33: 51 ~ 59

65 **胡义镇，安静仪，蒋丽金．水溶性竹红菌素及电子转移中间体的光谱研究．中国科学**, B **辑**, 1993, 23(5): 449 ~ 457

66 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 Photochem Photobiol A: Chem, 1999, 123: 39 ~ 46

67 Song Y Z, An J Y, Jiang L J. ESR and UV-Vis studies of semiquinone radical anion and hydroquinone generated by irradiation by 15-deacetyl-13-glycine-substituted hypocrellin B. Free Radical Res, 1999, 31: 477 ~ 486

68 Song Y Z, An J Y, Jiang L J. ESR evidence of the photogeneration of free radicals (GDHB$^{\bullet-}$, $O_2^{\bullet-}$) and siglet oxygen ($^1O_2$) by 15-deacetyl-13-glycine-substituted hypocrellin B. Biochem Biophys Acta, 1999, 1472: 307 ~ 313

69 He Y Y, An J Y, Jiang L J. EPR and spectrophotometric studies on free radicals ($O_2^{\bullet-}$, Cysa-HB$^{\bullet-}$) and singlet oxygen ($^1O_2$) generated by irradiation of cysteamine substituted hypocrellin B. Int J Radiat Biol, 1998, 74: 647 ~ 654

70 He Y Y, An J Y, Jiang L J. EPR and spectrophotometric evidences on the photosensitizing properties of a new perylenequinonoid pigment: generation of semiquinone anion radical, hydroquinone, and reactive oxygen species. J Photochem Photobiol B: Biol, 1999, 50: 166 ~ 173

71 He Y Y, An J Y, Jiang L J. Glycoconjugated hypocrellin. Photosensitized generation of free radicals ($O_2^{\bullet-}$, $^{\bullet}OH$ and GHB$^{\bullet-}$) and singlet oxygen. Free Radic Biol & Med, 1999, 27: 203 ~ 212

72 He Y Y, An J Y, Jiang L J. Effect of structural modifications on photosensitizing activities of hypocrellin dyes: EPR and spectrophotometric studies. Free Radic Med & Biol, 1999, 26: 1146 ~ 1157

73 He Y Y, An J Y, Jiang L J. Photodynamic action of a water-soluble hypocrellin derivative with enhanced absorptivity in the phototherapeutic window I: ESR and UV-Vis studies on the photogeneration of the semiquinone anion radical and hydroquinone. J Photochem Photobiol A: Chem, 1998, 115: 213 ~ 221

74 **何玉英，安静仪，蒋丽金．竹红菌素衍生物在缺氧条件下的光化学．科学通报**, 1999, 44(22): 2376 ~ 2383

75 **何玉英，安静仪，蒋丽金．竹红菌素衍生物在有氧条件下的光化学．科学通报**, 2000, 45(4): 365 ~ 372

76 He Y Y, An J Y, Jiang L J. Photodynamic action of a water-soluble hypocrellin derivative with enhanced absorptivity in the phototherapeutic window Ⅱ: photosensitized generation of active oxygen species. J Photochem Photobiol A: Chem, 1999, 120: 191 ~ 199

77 He Y Y, Liu H Y, An J Y et al. Photodynamic action of hypocrellin dyes: structure-activity relationships. Dyes and Pigments, 2000, 44: 63 ~ 67

78 **张红雨，赵红霞，张志义．用** ESR **方法研究光敏作用的动态过程．中国科学**, C **辑**, 1997, 27(5): 398 ~ 403

79 Zhang W G, Ma L P, Wang S W, et al. Antisense bcl-2 retrovirus vector increases the sensitivity of a human gastric adenocarcinoma cell line to photodynamic therapy. Photochem Photobiol, 1999, 69(5): 582 ~ 586

(2000-02-21 **收稿**, 2000-05-19 **收修改稿**)