

1-吲哚基取代 β -咔啉生物碱及其衍生物的合成和初步抗肿瘤活性

董肖椿, 闻 韧*, 郑剑斌

(复旦大学 药学院 药物化学教研室, 上海 200032)

摘要: 目的 设计合成 eudistomin U 及其 6 位甲氧基/溴取代衍生物和 5' 位溴取代衍生物并测试其抗肿瘤活性。方法 以吲哚-3-甲醛或 5-溴-吲哚-3-甲醛和色胺或取代色胺为原料先缩合, 再通过 Pictet-Spengler 反应环合得到四氢- β -咔啉, 然后用 DDQ 脱氢芳构化得到目标化合物。结果 合成了 eudistomin U 及其 6 位甲氧基/溴取代衍生物和 5' 位溴取代衍生物, 利用核磁共振、质谱、高分辨质谱确认结构。结论 合成了海洋生物碱 eudistomin U 及其一系列衍生物, 初步体外抗肿瘤试验结果表明它们均具有一定的抗肿瘤活性。

关键词: 合成; 抗肿瘤; eudistomin U; 衍生物

中图分类号: R916.2; R916.696

文献标识码: A

文章编号: 0513 - 4870(2004)04 - 0259 - 04

Synthesis of 1-indole substituted β -carboline alkaloid and its derivatives and evaluation of their preliminary antitumor activities

DONG Xiao-chun, WEN Ren*, ZHENG Jian-bin

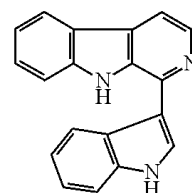
(Department of Medicinal Chemistry, College of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: **Aim** To synthesize eudistomin U and its 6-OCH₃/Br derivatives and 5'-Br derivatives as antitumor agents. **Methods** Using tryptamine and indole-3-aldehyde as starting materials, through condensation, Pictet-Spengler cyclization and dehydrogenation three steps, the alkaloids and its derivatives were prepared. **Results** The structures of the compounds were determined by ¹H NMR, MS and HRMS. Antitumor activity *in vitro* was tested. **Conclusion** Eudistomin U and its derivatives were synthesized. The results showed that they all showed antitumor activities against mouse P388 strain.

Key words: synthesis; eudistomin U; antitumor; derivatives

β -咔啉化合物是自然界存在的一大类吲哚生物碱, 由于其生物活性广泛而引起越来越多的关注。 β -咔啉类化合物除了作为苯并二氮杂䓬受体配体外, 还具有抗血小板聚集、抗肿瘤、抗病毒、抗菌、抗寄生虫、抗氧化、抑制磷酸二酯酶等多方面生物活性。如对冠心病有一定疗效的川芎碱(perlolyrine)、具有抗菌抗肿瘤和 HIV 逆转录酶抑制作用的 Lavendamycin、具有抗氧化作用的 Harmalo、具有抗肿瘤活性的骆驼蓬碱等。含有 β -咔啉结构的

eudistomin 类海洋生物碱中许多化合物具有较好的抗病毒、抗菌和抗肿瘤活性^[1], 因而受到人们的广泛关注。自 20 世纪 80 年代以来已分离得到 21 个此类海洋生物碱, 其中 1-吲哚基取代的 β -咔啉生物碱 eudistomin U (图 1) 于 1994 年从海鞘 *Lissoclium fragile* 中分离^[2], 初步生物试验表明其能与 DNA 结合并有很强的抗菌活性, 并可能具有抗肿瘤活性。



Scheme 1 Structure of eudistomin U

收稿日期: 2003-04-01.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(298 - 72029); 国际合作项目(20010140417).

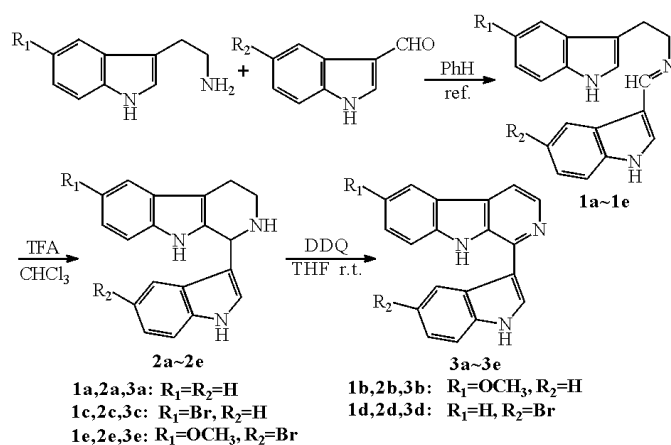
* 通讯作者 Tel: 86 - 21 - 54237365, E-mail: rwen@shmu.edu.cn

由于 β -咔啉的芳香平面结构可作为嵌入型 DNA 拓扑异构酶抑制剂的基本结构,而 edistomin U 又与 DNA 有结合作用,因此作者认为 edistomin U 可作为抗肿瘤药物的先导化合物进行研究。

其他 edistomin 类海洋生物碱的构效关系研究表明, β -咔啉 6,7,8 位有 Br, OH 和 OCH_3 取代时,生物活性明显增强^[1,3]。由于 edistomin U 发现较晚,目前对该生物碱的合成及进一步生物活性研究报道甚少^[4~6],而 edistomin U 的衍生物研究至今未见文献报道。本文为研究此类生物碱的合成及其生物活性,设计了以吲哚-3-甲醛和色胺、5- OCH_3 色胺或 5-Br 色胺为原料通过 Pictet-Spengler 反应得到四氢- β -咔啉 (2a ~ 2e),然后用 DDQ 脱氢芳构化得到 edistomin U 及其衍生物的合成路线(图 2)。另外,由于 5-溴吲哚本身具有一定的细胞毒性,且溴也是海洋天然产物中常见的取代基团,因此本文还以 5-Br 吲哚-3-甲醛和色胺或 5- OCH_3 色胺为原料通过相同路线设计合成了 5'-位由溴取代的 edistomin U 衍生物(3a ~ 3e)(图 2),以期获得活性更好的化合物。所合成化合物结构和理化光谱数据见表 1 和表 2。

合成 edistomin U (3a) 时本文采用色胺与吲哚-3-甲醛在苯中回流分水,直接获得亚胺 1a 的固体粗品。另外,本文采用先得到亚胺固体 1a 再合成四氢- β -咔啉 2a 的方法,可以将粗品用苯重结晶直接得到四氢- β -咔啉 2a 晶体,避免了用柱色谱纯化的过程,可大量制备,为衍生物的合成及研究提供方便。

制备 2b,2d 和 2e 时采用了与制备 2a 相同的反



Scheme 2 Route of synthesis of the compounds 3a - 3e

应条件,获得成功。而制备 2c 时相同反应条件下 Pictet-Spengler 环合反应进行得很慢且不完全。尝试增加三氟醋酸量至原来的 3 至 4 倍,反应才获得较理想的结果,收率 70%。反应进行不完全的原因可能是由于吲哚环上溴的取代使得吲哚环的电子云密度降低而使 Pictet-Spengler 反应中亚胺 C 原子对吲哚的亲电进攻变得困难^[7]。

本文合成的 edistomin U 衍生物(3b ~ 3e)及其四氢- β -咔啉中间体(2b ~ 2e)均为新化合物,未见文献报道。

本文合成的 edistomin U (3a) 和设计合成的 edistomin U 新衍生物(3b ~ 3e)及其四氢- β -咔啉中间体(2a ~ 2e)经四氮唑盐还原法(MTT 法)体外抗肿瘤试验,结果表明它们均对小鼠白血病(P388)细胞株具抑制活性,其在 $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下抑制率数据分别见表 1 和表 2。进一步的研究正在进行。

Table 1 Structure, physical and spectra data and biological activities of compounds 2a - 2e

No.	Structure	MP/ °C	Yield/ %	¹ H NMR(δ)	Inhibition to P388 strain in $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ / %
2a	$R_1 = H$ $R_2 = H$	142 - 144	58	(CDCl_3) 8.46(s, 1H, Ph-NH), 7.86(s, 1H, Ph-NH), 7.59 - 7.01(m, 9H, Ar-H), 5.50(s, 1H, C ₁ -H), 3.39(m, 1H, C ₃ -H), 3.10(m, 1H, C ₃ -H), 2.88(m, 2H, C ₄ -H), 2.54(brs, 1H, N ₂ -H)	17.8
2b	$R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = H$	202 - 204	42	(CDCl_3) 8.93(s, 1H, Ph-NH), 7.73(s, 1H, Ph-NH), 7.28 - 6.80(m, 8H, Ar-H), 5.72(s, 1H, C ₁ -H), 3.92(s, 3H, CH ₃ -O), 3.35(m, 1H, C ₃ -H), 3.26(m, 1H, C ₃ -H), 3.11(m, 1H, C ₄ -H), 2.89(m, 1H, C ₄ -H)	37.4
2c	$R_1 = Br$ $R_2 = H$	196 - 197	70	($\text{DMSO}-d_6$) 10.98(s, 1H, Ph-NH), 10.59(s, 1H, Ph-NH), 7.58 - 6.84(m, 8H, Ar-H), 5.40(s, 1H, C ₁ -H), 3.18(m, 1H, C ₃ -H), 2.95(m, 1H, C ₃ -H), 2.85(m, 2H, C ₄ -H), 1.86(brs, 1H, N ₂ -H)	92.2
2d	$R_1 = H$ $R_2 = Br$	206 - 208	63.4	($\text{DMSO}-d_6$) 11.78(s, 1H, Ph-NH), 10.88(s, 1H, Ph-NH), 7.64 - 7.01(m, 8H, Ar-H), 6.20(s, 1H, C ₁ -H), 3.48 - 3.37(m, 2H, C ₃ -H), 3.12 - 2.98(m, 2H, C ₄ -H)	94.4
2e	$R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = Br$	172 - 174	30	($\text{DMSO}-d_6$) 11.28(s, 1H, Ph-NH), 10.32(s, 1H, Ph-NH), 7.58 - 6.64(m, 7H, Ar-H), 5.58(s, 1H, C ₁ -H), 3.75(s, 3H, CH ₃ -O), 3.20(m, 1H, C ₃ -H), 3.05(m, 1H, C ₃ -H), 2.85 - 2.70(m, 2H, C ₄ -H), 1.89(brs, 1H, N ₂ -H)	92.0

Table 2 Structure, physical and spectra data and biological activities of compounds 3a - 3e

No.	Structure	MP/ °C	Yield/ %	¹ HNMR(δ)	MS/ %	HRMS	Inhibition to P388 strain in 10 ⁻⁵ mol•L ⁻¹ / %
3a	R ₁ = H R ₂ = H	217 - 219	55	(CDCl ₃) 8. 88(brs ,1 H , NH) ,8. 55(d ,1 H , C ₃ - H , J = 5. 1 Hz) , 8. 43(brs ,1 H , NH) ,8. 16(d ,1 H , C ₅ - H , J = 8. 0 Hz) ,7. 94(s , 1 H , C ₂ - H) ,7. 90(d ,1 H , C ₄ - H , J = 5. 1 Hz) ,7. 72(d ,1 H , C ₈ - H , J = 8. 6 Hz) ,7. 46 - 7. 54(m ,3 H) ,7. 22 - 7. 32(m ,3 H)	284 , 283 , 282 (100) , 255 , 254 , 253 ,141 ,127	-	37. 6
3b	R ₁ = OCH ₃ R ₂ = H	226 - 228	50. 2	(CDCl ₃) 8. 28(d ,1 H , J = 5. 6 Hz) ,7. 84(d ,1 H , J = 5. 6 Hz) , 7. 74(d ,2 H , J = 7. 0 Hz) ,7. 51(d ,1 H , J = 2. 5 Hz) ,7. 45 - 7. 39 (m ,2 H) ,7. 20 - 7. 15(m ,2 H) ,7. 10(m ,1 H) ,3. 95(s ,3 H , CH ₃ O)	313 (100) , 312 , 298 , 269 , 268 , 134 ,43 ,41	313. 121 36 (C ₂₀ H ₁₅ N ₃ O)	94. 7
3c	R ₁ = Br R ₂ = H	255 - 256	40. 6	(DMSO- d ₆) 11. 74(s ,1 H , Ph- NH) ,11. 43(s ,1 H , Ph- NH) ,8. 50 (d ,1 H , J = 7. 4 Hz) ,8. 44(d ,1 H , J = 5. 2 Hz) ,8. 25(d ,1 H , J = 2. 8 Hz) ,8. 0(d ,1 H , J = 5. 2 Hz) ,7. 63(m ,2 H) ,7. 50(d ,1 H , J = 7. 9 Hz) ,7. 34(s ,1 H) ,7. 20 - 7. 10(m ,2 H)	363 , 362 (100) , 361 , 360 , 281 , 280 ,141 ,127	361. 019 34 (C ₁₉ H ₁₂ N ₃ Br)	87. 9
3d	R ₁ = H R ₂ = Br	258 - 260	50. 6	(DMSO- d ₆) 11. 95(s ,1 H , Ph- NH) ,11. 37(s ,1 H , Ph- NH) ,8. 78 (s ,1 H) ,8. 46(d ,1 H , J = 5. 2 Hz) ,8. 38(s ,1 H) ,8. 22(d ,1 H , J = 7. 7 Hz) ,7. 98(d ,1 H , J = 5. 2 Hz) ,7. 68(d ,1 H , J = 8. 2 Hz) , 7. 56(m ,1 H) ,7. 48(d ,1 H , J = 8. 8 Hz) ,7. 33(d ,1 H , J = 8. 8 Hz) ,7. 25(m ,1 H)	363 , 362 , 361 (100) ,360 ,282 , 281 ,141 ,127	361. 022 87 (C ₁₉ H ₁₂ N ₃ Br)	79. 6
3e	R ₁ = OCH ₃ R ₂ = Br	236 - 238	67	(DMSO- d ₆) 11. 92(s ,1 H , Ph- NH) ,11. 18(s ,1 H , Ph- NH) ,8. 77 (s ,1 H) ,8. 41(d ,1 H , J = 5. 5 Hz) ,8. 35(s ,1 H) ,7. 96(d ,1 H , J = 5. 2 Hz) ,7. 78(d ,1 H , J = 2. 4 Hz) ,7. 58(d ,1 H , J = 8. 8 Hz) , 7. 48(d ,1 H , J = 8. 6 Hz) ,7. 33(dd ,1 H , J = 8. 7 ,2. 0 Hz) ,7. 18 (dd ,1 H , J = 8. 8 ,2. 7 Hz) ,3. 85(s ,3 H ,CH ₃ O)	393 , 391 (100) , 378 , 376 , 297 , 268 ,134 ,83	391. 032 46 (C ₂₀ H ₁₄ N ₃ OBr)	70. 1

实验部分

熔点用毛细管法测定 ,温度未经校正。 ¹HNMR 用 AM-400 MHz 型仪器测定。 质谱用 HP5989A 型仪器测定。 原料色胺 ,5- OCH₃ 色胺按文献[8]方法合成 ,咪唑-3- 甲醛按文献[9]方法合成 ,5- Br 色胺按文献[10]方法合成 ,5- Br 咪唑-3- 甲醛按文献[11 ,12]方法合成。

1 N-(3-咪唑次甲基)-色胺(1a)的合成

在 100 mL 圆底烧瓶中加入色胺 1.1 g(6. 8 mmol) ,咪唑-3- 甲醛 0. 9 g(6. 2 mmol) 和苯 60 mL ,氮气保护下加热回流 2 h ,分水器去水。 停止反应 ,蒸去大部分溶剂 ,冷至室温后析出固体 ,抽滤 ,固体用少量苯洗涤 ,真空干燥后得浅黄色固体 1. 7 g ,收率 94. 8 % ,mp 146 ~ 148 °C。

化合物 1b 按类似方法合成 :浅黄色固体 ,收率 91. 3 % ,mp 145 ~ 147 °C。

化合物 1c 按类似方法合成 :浅黄色固体 ,收率 88. 9 % ,mp 144 ~ 146 °C。

化合物 1d 按类似方法合成 :浅黄色固体 ,收率 89. 2 % ,mp 140 ~ 142 °C。

化合物 1e 按类似方法合成 :浅黄色固体 ,收率

87. 9 % ,mp 141 ~ 143 °C。

2 1-(3-咪唑基)-1,2,3,4-四氢-β-咔啉(2a)的合成

在 50 mL 圆底烧瓶中加入 1a 0. 7 g(2. 4 mmol) 、氯仿 5 mL ,冰浴冷却下滴加三氟醋酸的氯仿溶液 (1. 96 mL TFA 溶于 4 mL CHCl₃) ,氮气保护下室温搅拌 22 h。 反应完毕 ,加乙酸乙酯 15 mL 稀释 ,用 1 mol•L⁻¹ 碳酸钠水溶液调 pH 9 ~ 10 ,分液 ,水相用乙酸乙酯提取 ,合并有机相。 饱和食盐水洗涤 ,无水硫酸镁干燥。 过滤 ,蒸干溶剂后得固体 0. 66 g。 苯重结晶后得淡黄色固体 0. 4 g。

化合物 2b,2d,2e 以类似方法合成 ,经硅胶柱色谱纯化 ,氯仿-甲醇(10: 1) 为洗脱剂。

3 1-(3-咪唑基)-6-溴-1,2,3,4-四氢-β-咔啉(2c)的合成

在 50 mL 圆底烧瓶中加入 1c 1. 3 g(3. 1 mmol) 、氯仿 6 mL ,冰浴冷却下滴加三氟醋酸的氯仿溶液 (TFA 6. 8 mL 溶于 CHCl₃ 5 mL) ,氮气保护下室温搅拌 48 h。 反应完毕 ,加乙酸乙酯 30 mL 稀释后用 10 %碳酸钠水溶液调至 pH 9 ~ 10 ,分液 ,水相用乙酸

乙酯提取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥。过滤,蒸干溶剂后得固体粗品 1.3 g。经硅胶柱色谱纯化,氯仿-甲醇(10:1)为洗脱剂得浅黄色固体 0.9 g。

4 Eudistomin U(3a)的合成

将 **2a** 250 mg(0.87 mmol)溶于四氢呋喃 20 mL 中,室温搅拌下滴加 DDQ 的四氢呋喃溶液(1 g DDQ 溶于四氢呋喃 6 mL),室温搅拌 24 h。将反应液蒸干,固体用 EtOAc 40 mL 溶解,1 mol·L⁻¹碳酸钠水溶液 40 mL 洗涤,再用饱和食盐水洗至中性,无水硫酸镁干燥,过滤,蒸干,得粗品 180 mg。经硅胶柱色谱纯化,氯仿-甲醇(30:1)为洗脱剂,得黄色固体 130 mg。

化合物 **3b~3e** 以类似方法合成。

致谢:本文中四氮唑盐还原法(MTT法)体外抗肿瘤试验由国家新药筛选中心完成。

References:

- [1] McNulty J, Still I WJ. Synthetic approaches to the eudistomin marine alkaloids [J]. *Curr Org Chem*, 2000, **4**(2): 121 - 138.
- [2] Badre A, Boulanger A, Mansour EA, *et al.* Eudistomin U and isoeudistomin U, new alkaloids from the Caribbean *Lissoclinum Fragile* [J]. *J Nat Prod*, 1994, **57**(4): 528 - 533.
- [3] Waarseveen JHV, Hans WS, Clerq ED. Antiviral and tumor cell antiproliferative SAR studies on tetracyclic Eudistomins II [J]. *Bioorg Med Chem*, 1997, **5**(5): 955 - 970.
- [4] Massiot G, Nazabadioko S, Bliard C. Structural revision of isoeudistomin U by total synthesis [J]. *J Nat Prod*, 1995, **58**(10): 1636 - 1639.
- [5] Molina P, Fresneda PM, Zafra SG. An iminophosphorane-mediated efficient synthesis of the alkaloid eudistomin U of marine origin [J]. *Tetrahedron Lett*, 1995, **36**(20): 3581 - 3582.
- [6] Rocca P, Marsais F, Godard A, *et al.* New synthesis of the marine alkaloids eudistomins D and U [J]. *Tetrahedron Lett*, 1995, **36**(39): 7085 - 7088.
- [7] Cox ED, Cook JM. The Pictet-Spengler condensation: a new direction for an old reaction [J]. *Chem Rev*, 1995, **95**: 1797 - 1842.
- [8] Szantay C. Process for the preparation of tryptamine or its derivatives [P]. *US pat*: 3910953, 1975-10-07.
- [9] James PN, Snyder HR. *Organic Syntheses* [M]. Coll Vol 4. New York: John Wiley & sons Inc, 1963. 539 - 542.
- [10] Szantay C, Szabo L, Kalaus G. Process for the preparation of 10-bromo-vincaminic acid esters thereof and novel intermediates therefor [P]. *GB* 2036732, 1979-06-12.
- [11] Russell HF, Harris BJ, Hood DB, *et al.* 5-Substituted indoles via sodium indoline-2-sulfonate are examination [J]. *Org Prep Proced Int*, 1985, **17**(6): 391 - 399.
- [12] Still I WJ, Strautmanis JR. Approaches to the tetracyclic eudistomin: the synthesis of N(10)-acetyleudistomin L [J]. *Can J Chem*, 1990, **68**(8): 1408 - 1419.