

放 线 菌 素 类 似 物 的 合 成 IV

2-氨基-4,6-二甲基吩噁嗪酮-(3)-1,9-双多肽的合成

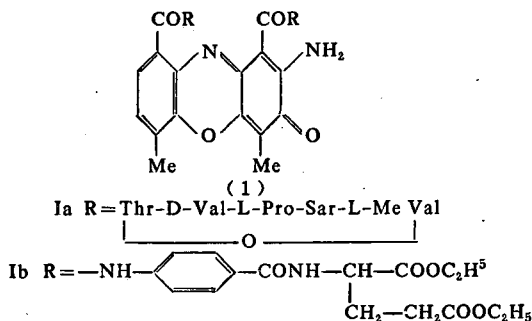
李述文 郑亚平 高怡生

(中国科学院上海药物研究所)

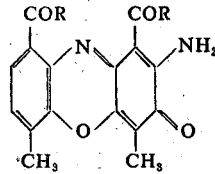
提要 放线菌素是一类具有良好抗肿瘤作用而有较大毒性的抗菌素。作者等推测放线菌素的抗癌作用与其共有的色基结构有较为密切的关系，而环肽部分可能起一种载体作用。基于上述设想，我们曾合成了一系列有关化合物试验其抗肿瘤作用。其中发现放线菌素色基与叶酸的二肽部分结合的化合物具有明显的抗肿瘤作用。本文继续报道将放线菌素的环肽部分调换为简单的二肽、三肽或五肽的化合物；用丝氨酸代替苏氨酸，用甘氨酸和 N-甲基甘氨酸代替其他氨基酸。共合成了七个化合物(2~8)。

关键词 抗肿瘤作用；放线菌素；多肽；吩噁嗪酮

放线菌素 (Actinomycins) 是一类具有良好的抗肿瘤作用的抗菌素，但均有较大的毒性^(1,2)。通过结构改造企图降低其毒性的工作，受到各方面的重视^(3,8)。作者等前曾报道⁽⁴⁾，放线菌素的抗癌作用可能与其所共有的色基(1)结构有较为密切的关系，而环肽部分 (Ia, R) 可能起一种载体的作用。基于上述设想，作者等合成制备了一系列有关化合物，以进行抗动物肿瘤的筛选试验。实验结果发现，放线菌素色基与叶酸的二肽部分结合的衍生物(Ib)对肉瘤-180 具有明显的抑制作用⁽⁵⁾。



近年来有关放线菌素抗癌作用机制的研究指出，放线菌素的色基插入 DNA 双螺旋中与鸟嘌呤相结合而形成一个复合体。这样就抑制了从属于 DNA 的 RNA 聚合酶而阻断了信息 RNA 的合成⁽⁷⁾。这一实验结果支持了认为环肽部分起载体作用的设想⁽⁴⁾。本文继续从上述设想出发，将放线菌素的环肽部分调换为简单的二肽，三肽或五肽。用苏氨酸的同系物丝氨酸代替苏氨酸，保留羟基氨基酸的特点，用 N-甲基甘氨酸代替 N-甲基缬氨酸，保留 N-取代的特征。放线菌素系一个色基接两个环状多肽，我们将其并为一个环，合成了化合物(9)以观察它对色基的影响。这些类似物均较放线菌素本身的结构为简单。希望获得有较高效力和较低毒性并经济有利的化合物用于肿瘤治疗。合成的化合物如下所示：



- (2) R=Ser-OH (3) R=Ser-OEt (4) R=Ser-GlyOEt (5) R=Ser-Gly-GlyOEt (6) R=Ser-Gly-Gly-SarOEt
 (7) R=Ser-Gly-Gly-GlyOEt (8) R=Ser-Gly-Gly-Gly-SarOEt (9) R=R=-NH(CH₂)₆-NH-

上述化合物的合成是以 2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰氯(10)为起始原料。肽链的延长根据不同情况分别采用二环己基碳二亚胺法或叠氮化方法⁽⁶⁾。主要的反应如下所示:

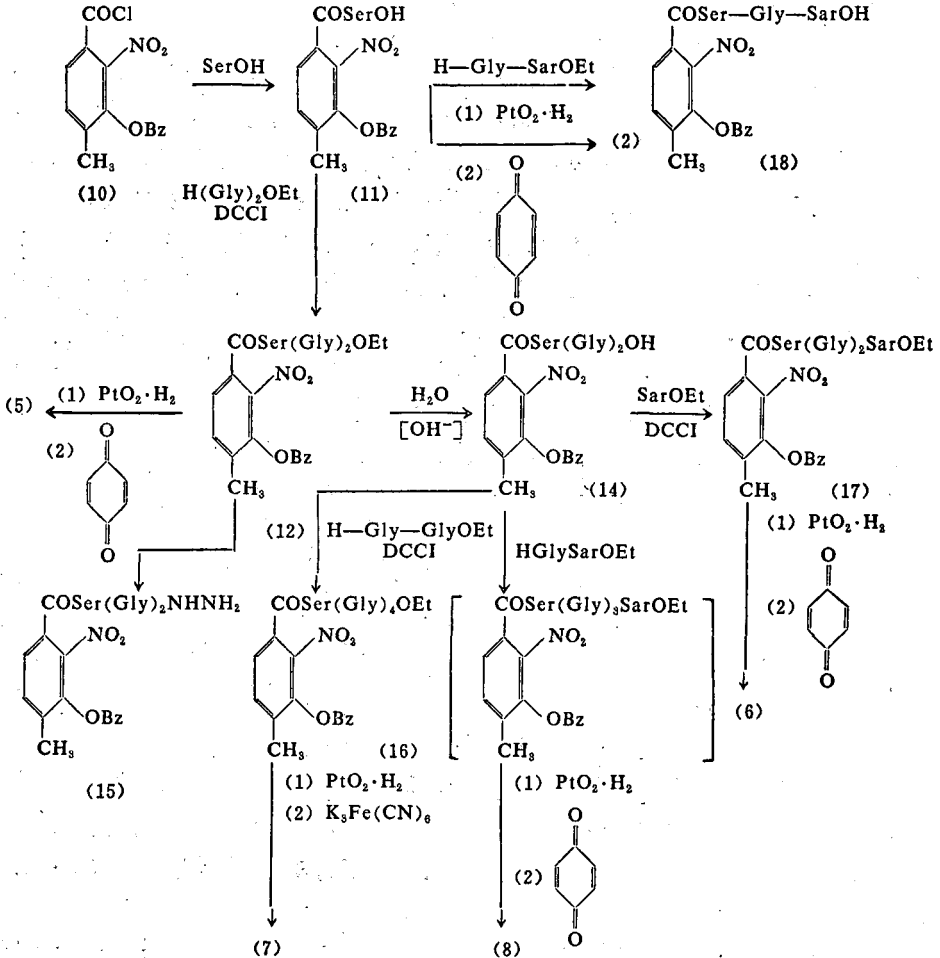


图 1

化合物(9)是以一分子己二胺和二分子 2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰氯作用得到 N, N'-双酰基化合物(19)。最后,是在稀酒精中,通氧气进行氧化的。

有关药理实验结果将另行发表。

实 验 部 分*

N-(2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸(11)

丝氨酸**180 mg 溶于 1 N 氢氧化钠 1.8 ml 和 3 ml 四氢呋喃溶液中, 冷至 3~5°C, 搅拌下分别同时滴加 2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰氯(10, 500 mg) 溶于 5 ml 干燥四氢呋喃和 2 N 氢氧化钠溶液。调节氢氧化钠溶液的滴加速度, 控制反应物的 pH 8~9。加完后在 3~5°C 搅拌 45 分钟, 升至 18°C 再搅 45 分钟。用 6 N 盐酸酸化至刚果红变蓝, 室温减压除去四氢呋喃, 残余物用乙醚提取, 水洗, 无水硫酸镁干燥, 蒸去乙醚, 得 490 mg。产率 79.8%。用稀酒精重结晶, 熔点 169~170°C (文献值 L 型 139~141°C⁽³⁾)。分析 C₁₈H₁₈N₂O₇ 计算值, % C 57.55, H 4.85, N 7.48; 实测值, % C 57.69, H 5.00, N 7.27。

N-(2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸乙酯(12)

甘氨酸-甘氨酸乙酯盐酸盐 180 mg 悬浮于 10 ml 二氧六环中, 加入 0.15 ml 三乙胺, 室温搅拌 10 分钟, 再加化合物(11) 300 mg, 振摇使之溶解, 冷却到 5~10°C, 加入二环己基碳二亚胺 170 mg, 继续搅拌 4 小时, 室温放置过夜。加数滴醋酸, 滤除二环己基尿素 (170 mg), 室温减压蒸去溶剂, 残余物加 130 ml 乙酸乙酯溶解, 依次用 1 N 盐酸, 5% 碳酸氢钠溶液和水洗, 加无水硫酸镁干燥, 蒸去溶剂得油状物, 加石油醚和乙醚研磨后固化, 滤集得 300 mg, 产率 73%, 用二氧六环-酒精重结晶, 熔点 171~171.5°C。分析 C₂₄H₂₈N₄O₉ 计算值, % C 55.81, H 5.46, N 10.85; 实测值, % C 56.00, H 5.30, N 10.72。

N-(2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸-甘氨酸乙酯(13)

按照制备化合物(12)的类似方法, 产率 81.5% 用酒精重结晶, 熔点 122~125°C。分析 C₂₂H₂₅N₃O₈ 计算值, % N 9.15; 实测值, % N 9.07。

N-(2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸(14)

化合物(12) 1.45 g 悬浮于 4 ml 酒精中, 冷却下加入 2 N 氢氧化钠溶液 1.5 ml。在 30°C 搅拌反应 2 小时, 用 6 N 盐酸中和, 滤集产品, 水洗, 得 1.3 g。产率 94.5%。用稀酒精重结晶, 熔点 188°C。分析 C₂₂H₂₄N₄O₉ 计算值, % C 54.09, H 4.95, N 11.47; 实测值, % C 54.30, H 5.20, N 11.12。

N-(2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸肼(15)

化合物(12) 430 mg 溶于 35 ml 无水酒精中, 加 50% 水合肼 2.3 ml, 加热回流 1 小时, 室温过夜, 浓缩, 滤集。得 330 mg, 产率 78.7%。用醋酸-酒精重结晶, 熔点 188.5~189.5°C。分析 C₂₂H₂₆N₆O₈ 计算值, % C 52.58, H 5.22, N 16.73; 实测值, % C 52.47, H 5.42, N 16.90。

N-(2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸乙酯(16)

化合物(15) 170 mg 悬浮于 1.5 ml 冰醋酸中, 加 6 N 盐酸 3 ml, 冷至 0~5°C, 搅拌下滴加亚硝酸钠溶液 (NaNO₂ 45 mg, 水 2 ml), 加完后再搅拌 10 分钟, 继续在冰冷下, 用乙酸乙酯 (10 ml × 4) 提取生成的叠氮化物, 提取液用预先冷却的 5% 碳酸氢钠液洗至刚果红试剂不变蓝, 加无水硫酸镁在冷却下干燥半小时。

另取甘氨酸-甘氨酸乙酯盐酸盐 190 mg 悬浮于 3 ml 氯仿中, 加入三乙胺 0.14 ml, 在 0~5°C 搅拌下, 加至上述叠氮化物溶液中, 继续冷却搅拌 4 小时, 置冰箱过夜。反应液用

* 熔点均未经校正。 ** 本工作所用丝氨酸皆为 DL 型。

1 N 盐酸酸化, 浓缩, 滤集产品得 90 mg, 产率 39.5%, 用甲醇-乙酸乙酯重结晶, 熔点 166.5~167.5°。分析 $C_{28}H_{34}N_6O_{11}$ 计算值, % C53.37, H5.44, N13.34; 实测值, % C53.11, H5.33, N13.05。

按照制备化合物(12)的类似方法, 自化合物(14)和甘氨酸甘氨酸乙酯以二环己基碳二亚胺为脱水剂, 产率 58%, 熔点 165~167°, 与叠氮化方法所得产品的混合熔点不降低。

N-(2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸-N-甲基甘氨酸乙酯(17)

N-甲基甘氨酸乙酯盐酸盐 0.21 g 溶于 3 ml 二甲基甲酰胺中, 冷却至 10°C, 加入三乙胺 0.19 ml, 搅拌 10 分钟滤除三乙胺盐酸盐, 滤液加至化合物(14)(0.5 g)的二甲基甲酰胺(3 ml)溶液中, 冷却至 0°C, 在搅拌下, 加入 0.23 g 二环己基碳二亚胺, 继续搅拌 2 小时, 10°C 放置过夜。加数滴醋酸, 滤除二环己胺, 滤液倾入冰水, 用乙酸乙酯提取, 提取液依次用 5% 碳酸氢钠溶液, 1 N 盐酸和水洗涤, 无水硫酸镁干燥。蒸除溶剂, 得 0.45 g。产率 75%, 用酒精重结晶, 熔点 147~150°C。分析 $C_{27}H_{31}N_5O_{10}$ 计算值, % C55.38, H5.34, N11.96; 实测值, % C55.16, H5.98, N11.71。

N-(2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸-甘氨酸-N-甲基甘氨酸乙酯(18)

甘氨酸-N-甲基甘氨酸乙酯溴化氢盐 0.75 g 溶解于 4 ml 二甲基甲酰胺中, 冷却下加入 0.41 ml 三乙胺, 室温搅拌 10 分钟, 过滤。滤液加至化合物(11)(1.10 g)的干燥四氢呋喃(6 ml)溶液中, 冷却到 0°C, 在搅拌下加入二环己基碳二亚胺 0.83 g, 继续冰冷搅拌 4 小时, 室温(10°C)过夜。加数滴醋酸, 滤除二环己胺(0.82 g), 滤液减压浓缩。残余物溶于 30 ml 乙酸乙酯中, 依次用 5% 碳酸氢钠, 1 N 盐酸和水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 蒸除溶剂, 得 1.1 g。产率 64.3%。用乙酸乙酯重结晶, 熔点 110~113°C。分析 $C_{25}H_{30}N_4O_9$ 计算值, % C56.60, H5.70, N10.56; 实测值, % C56.47, H5.84, N10.52。

N, N'-双-2-硝基-3-苄氧基-4-甲基苯甲酰己二胺(19)

己二胺 60 mg 溶于 6 ml 水中, 在 0~5°C 和搅拌下, 分别同时滴加化合物(10)(300 mg)的干燥四氢呋喃(5 ml)溶液和 1 N 氢氧化钠溶液(1 ml)。调节滴加速度, 控制反应液的 pH 7~8。加完后, 保持 5~7°C 搅拌反应 1.5 小时。滤集析出的固体, 水洗, 得 300 mg, 产率 93%, 用冰醋酸重结晶, 熔点 183~184°C。分析 $C_{36}H_{38}N_4O_8$ 计算值, % C66.04, H5.85; 实测值, % C66.13, H5.25。

吩噻嗪酮的制备

第一法 2-氨基-4,6-二甲基-3-吩噻嗪酮-1,9-二甲酰-双-N,N'-丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸乙酯(7)

N-(2-氨基-3-羟基-4-甲基苯甲酰)-丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸乙酯* 360 mg 置研钵中磨细后, 加热溶于 70 ml 磷酸缓冲液 pH 7.17, 在 40~45°C 和搅拌下, 滴加铁氰化钾溶液(530 mg 溶于 6 ml 水中), 加完后继续搅拌 2 小时, 室温过夜, 冷却, 滤集产品, 用蒸馏水洗涤得 200 mg, 产率 56%, 用二甲基甲酰胺-酒精重结晶, 熔点 204~207°C。

分析 $C_{42}H_{54}N_{12}O_{18} \cdot \frac{1}{2}H_2O$ 计算值, % C48.41, H5.51, N16.13; 实测值, % C48.67, H5.78, N16.30。

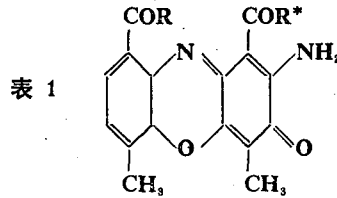
第二法 2-氨基-4,6-二甲基-3-吩噻嗪酮-1,9-二甲酰-双-N,N'-丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸

* 由化合物(16)室温常压下经氧化铂氢化还原而制得。

乙酯(5)

化合物(12)1 g 溶于 100 ml 无水酒精中, 加 50 mg 氧化铂, 在室温常压下进行氢化, 吸氢达理论量后, 滤除催化剂, 在氮气下浓缩, 滤集, 得 600 mg 氨基酚。

上述氨基酚溶于 6 ml 无水酒精中, 加入新精制的苯醌 350 mg。室温搅拌 3 小时, 放置过夜, 滤集产品, 用 95% 酒精洗涤, 得 360 mg, 产率 60.5%, 用二甲基甲酰胺—酒精重结晶, 熔点 244~246°。分析 $C_{34}H_{42}N_8O_{14} \cdot H_2O$ 计算值, % C 50.74, H 5.51, N 13.93; 实测值, % C 50.82, H 5.62, N 13.66。



编号	化 合 物 R	方法	熔 点 °C	分 子 式	分 析					
					计算值 %			实测值 %		
					C	H	N	C	H	N
2	N-SerOH	2	227~230	$C_{22}H_{22}N_4O_{10} \cdot H_2O$	50.77	4.65	10.77	51.06	4.71	10.10
3	N-Ser-OEt	2	210~215	$C_{28}H_{30}N_4O_{10} \cdot \frac{1}{2}H_2O$	55.02	5.51	9.87	55.02	5.52	10.04
4	N-Ser-Gly-OEt	1	170~172	$C_{30}H_{38}N_6O_{12} \cdot 3H_2O$	49.58	5.83	11.53	49.82	5.58	11.54
6	N-SerGlyGlySar-OEt	2	205~210	$C_{40}H_{52}N_{10}O_{16}$	51.72	5.64	15.08	51.50	5.81	14.93
8	N-SerGlyGlyGlySarOEt	2	200~204	$C_{44}H_{58}N_{12}O_{18} \cdot H_2O$	49.81	5.70	15.84	49.74	5.58	11.54

* 重结晶溶剂均为二甲基甲酰胺—酒精

参 考 文 献

- Hackmann C H: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Actinomycin C (HBF 386) bei bosartigen Geschwulsten, *Z Krebsforsch* 58: 607, 1952
- 胥彬等: 抗生素 23-21 和 1779 对小白鼠艾氏腹水瘤的作用. *实验生物学报* 5: 525, 1957
- Chowdhury A K, et al: Synthesis and evaluation of bis-dipeptide and bis-tripeptide analogues of actinomycin D. *J Med Chem* 21:607, 1978
- 赵树伟等: 肿瘤的化疗 XIV 与放线菌素有关的化合物-2-氨基-吩噻嗪酮-(3)-衍生物的合成. *化学学报* 28:212, 1962
李述文等: 肿瘤的化疗 I—与放线菌素有关化合物 1,9-二 [N-烷基-甲酰胺(或烷氧羰基)] -4,6-二取代基-2-氨基吩噻嗪酮-(3)的合成. 同上 34: 31, 1976
- 李述文等: 肿瘤的化疗 XXIII. 与放线菌素有关化合物的合成. *药学报* 待发表
- Власов Г П, и др: Синтез актиномицинад и его пептидных аналогов III, Синтез Актиномицинад *ж оп х* 14: 1961, 1978
цымба лова СС, и др: Синтез аналогов актиноцинад х. Актинодил вис-и-Аминоспирты. *ж оп х* 15: 1064, 1979
- Meienhofer J and Atherton E: *Structure-Activity Relationships among the Semisynthetic Antibiotics*, D. Perlman, Ed Academic press New York N Y, p427, 1977
- Brockmann H und Lackner H: Actinomycine XXXI, Synthesen von Actinomycinen und Actinomycinähnlichen Chromopeptiden V: Aufbau von Actinomycinen über Actinomycinsäuren, ein Zweiter Syntheseweg. *Chem Ber* 101:1312, 1968

SYNTHESIS OF ACTINOMYCIN ANALOGUES

IV. SYNTHESIS OF 2-AMINO-4, 6-DIMETHYLPHE- NOXAZONE-(3)-1, 9-BIS-PEPTIDES

LI Shu-wen, ZHENG Ya-ping and GAO Yi-sheng

(Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica)

ABSTRACT

In previous papers, we have reported the synthesis of several analogues of actinomycin, among which the bis-dipeptide (Ib) exhibited inhibitory action against sarcoma 180 in mice. On the basis of the concept that the antitumour action of the actinomycin may arise from the chromophore group and peptide moiety functions as a carrier, we have synthesized seven peptide analogues (2~8) of actinomycin.

The synthetic scheme is shown in figure 1. The starting material for all the compounds prepared was 2-nitro-3-benzyloxy-4-methylbenzoyl chloride (10). Treatment of DL-serine with benzoyl chloride (10) afforded the compound (11), which was coupled with ethyl glycyl-glycinate under the action of DCCI in dioxane to give tripeptide ester (12). Hydrazinolysis of (12) gave N-(2-nitro-3-benzyloxy-4-methylbenzoyl)-serinyl-glycyl-glycyl hydrazide (15). The azide generated from (15) was coupled with ethyl glycyglycinate to give the pentapeptide (16) which was reduced and oxidatively dimerized to yield (7). Similarly, the other bistrapeptide and pentapeptide were all prepared via intermediate (11).

Key words Anti-tumour action; Actinomycin; Peptide; Phenoxazone