

海洋环肽 Ascidiacyclamide 的全合成研究

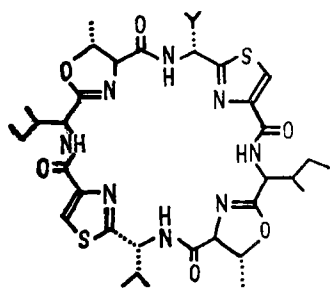
寒敦龙 简志刚 龙康侯
(化学系)

摘 要

从 D-缬氨酸, L-苏氨酸, L-异亮氨酸出发, 合成了海洋环肽 Ascidiacyclamide, 其中 D-(缬)噻唑氨基酸由亚胺酯方法合成, 最后用 DPPA 环二聚得最终产物。

关键词 海洋环肽, Ascidiacyclamide, 抗肿瘤活性, 噻唑啉, 噻唑氨基酸

近几年从海洋动植物中分离到近20个环肽, 它们结构新颖, 具有强烈的生物活性, 引起了人们的广泛研究^[1]。Ascidiacyclamide 是从海鞘中分离到的环肽, 结构式如下^[2]。



它对 PV₄ 细胞有很强的毒性, 100ug/ml 时 T/C 为 100%。我们曾合成了环肽 Patellamide A 的类似物^[3], 这里报导 Ascidiacyclamide 的全合成。

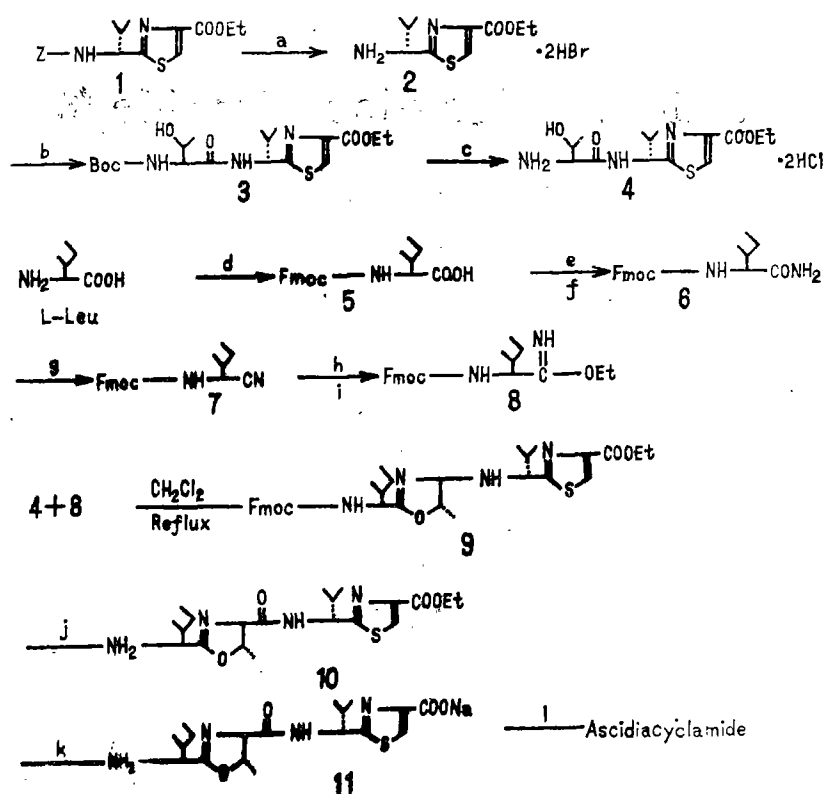
(D-缬)-噻唑氨基酸是全合成中的关键片断。我们设计了经过二氢噻唑的合成路线, 能得到光学活性产物^[4]。目标分子是一个对称结构, 我们先合成其一半的结构片断, 再用 DPPA 环二聚得到目标分子。

1 合成路线

苄氧羰基-D-(缬)噻唑氨基酸乙酯(1)用饱和 HBr-HOAc 处理生成 2, 2 与叔丁氧羰基-L-苏氨酸用 DCC/HOBT 方法缩合得 3, 其 ¹HNMR 谱中 Boc- 的 9 个 H 在 δ 1.47 处, 单峰, δ 5.60(d, 1H) 为 Boc-NH- 的酰胺质子峰, δ 7.32 为肽键 -NH- 质子信号。3 用 HCl-EtOAc 饱和溶液处理 15min 便生成 L-苏氨酸-D-(缬)噻唑氨基酸乙酯二盐酸盐 4, 其 ¹HNMR 谱图中 Boc- 的质子信号消失, δ 8.20 (brs, 3H) 是 N⁺H₃ 的质子信号, 噻唑质子信号移向更低场 (δ 8.5, s, 1H), 肽键 -NH- 质子信号 δ 9.3(d, 1H)。

由于噻唑啉对酸不稳定, 因而 9 中的保护基不能采用酸敏感保护基, 而选用弱碱能脱除的 9-苄甲氧羰基保护基^[5], 我们采用亚胺酯方法制噻唑啉。

本文 1989 年 3 月 27 日收到



a. HBr-HOAc, 90%, b. DCC/HOBT, Boc-L-Thr, 99%, c. HCl-EtOAc, 90.9%, d. Fmoc-Cl, 96.3%, e. ClCOOEt, f. $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 76.9%, g. $\text{POCl}_3 \cdot \text{Pyridine}$, 82.3%, h. $\text{HCl}(\text{g})/\text{EtOH}$, i. K_2CO_3 , (h, i, 93%), j. Piperidine, k. 0.1 N NaOH, DMF, i. DPPA, DMF, $(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$ ($4.8 \times 10^{-3}\text{M}$)

9-苄甲氧羰酰氯与L-异亮氨酸在碱介质中反应生成5, 5与氯代甲酸乙酯作用, 接着氨解得6, 6脱水得7. 7与乙醇在HCl(气)存在下反应生成对应的亚胺酯8. 在 CH_2Cl_2 中4与8回流反应4天形成9, 9水解去保护基得11. 11在高度稀释情况下用DPPA处理环二聚得目标分子. 产物的光谱数据与天然物的完全一致.

1985年, 日本研究人员报导了他们的合成路线^[6], 合成噻唑氨基酸1是由醛缩合方法得到的, 而噁唑啉用脱水方法制备.

2 实验部分

2.1 仪器

熔点用毛细管法测定, 温度计未经校正. 核磁共振谱用FX-90Q核磁共振仪测定, TMS作内标. 质谱用ZAB-HS质谱仪测定. 元素分析用240C型元素分析仪测定.

2.2 合成方法

2.2.1 1的制备 见前文^[4].

2.2.2 2 的制备 6.7g **1** 加入30ml饱和HBr-HOAc, 室温下搅拌反应2h, 加入300ml无水乙醚, 在冰浴上放置30min, 过滤, 固体用无水乙醚洗涤两次得浅桔色固体 **2**。在P₂O₅-H₂SO₄干燥器上真空干燥得6.5g, 产率90%。

2.2.3 3 的制备 7.7g **2** 溶于130ml THF中, 加入叔丁氧羰基-L-苏氨酸6.0g^[7], HOBT 7.0g, N-甲基吗啉 2.5g, 冰浴冷却下搅拌使其溶解。加DCC 5.8g, 冰浴上搅拌反应3h, 室温下反应1天。滤去固体, 少量乙酸乙酯洗涤, 合并滤液, 减压蒸除溶剂, 用150ml乙酸乙酯溶解, 5% NaHCO₃ 洗涤, 再用2N柠檬酸洗涤, 最后水洗至中性, 无水Na₂SO₄干燥, 减压除溶剂, 真空干燥得8.4g, 产率99%。

¹HNMR(CDCl₃) δppm: 0.92(d, 6H), 1.0~1.4(m, 6H), 1.47(s, 9H), 2.40(m, 1H), 3.70(s, 1H), 4.04~4.56(m, 4H), 5.22(m, 1H), 5.60(d, 1H), 7.32(d, 1H), 8.1(s, 1H)。

2.2.4 4 的制备 在冰盐浴冷却下于3.3g **3** 中加入9ml饱和HCl-EtOAc溶液, 反应30min, 加入100ml无水乙醚, 放置1h, 倒出液体, 固体用无水乙醚洗涤2次, 真空干燥得2.8g灰白色固体, 产率90.9%。¹HNMR(CDCl₃) δppm: 0.8~1.4(m, 12H), 2.28(m, 1H), 3.8(m, 2H), 4.32(q, 2H), 5.0(m, 1H), 8.20(brs, 3H), 8.5(s, 1H), 9.3(d, 1H, J=10Hz)。

2.2.5 5 的制备 将10g L-异亮氨酸加到200ml 10% Na₂CO₃ 和100ml 二氧环己烷中, 搅拌使其溶解, 冰浴冷却下滴加Fmoc-Cl的二氧环己烷液(Fmoc-Cl 19.6g, 150ml 二氧环己烷), 30min内加完, 再搅20min, 室温下搅拌2h。放置。过滤得白色固体, 水洗, 真空干燥得8.2g **5**。m.p. 147~148°C。水相用水稀释至1000ml, 乙醚萃取4次, 弃去乙醚液, 水相用稀HCl酸化至pH=1~2, 乙酸乙酯萃取3次, 水洗, 无水Na₂SO₄干燥, 减压除溶剂, 真空干燥固化得17.7g **5**。放置得白色针枝状结晶。产率96%。

¹HNMR(CDCl₃) δppm: 0.98(d, 6H), 1.24(m, 2H), 1.96(m, 1H), 4.19~4.44(m, 4H), 5.30(d, 1H, J=8Hz), 7.2~7.8(m, 8H)。

2.2.6 6 的制备 32.5g **5** 溶于200ml THF中, 加Et₃N 13ml, 冰盐浴冷至-8°C, 搅拌下滴加9ml ClCOOEt, 7min内加完, 继续搅拌20min, 加入氨水15.4ml, 搅拌40min, 放置过夜, 过滤得固体, 滤液减压除溶剂, 合并固体, 水洗至中性, 用95%的EtOH重结晶得雪白固体25.0g, 产率76.9%。m.p. 184~186°C, $[\alpha]_D^{20} = +93.5$ (THF, c=0.01)。

元素分析: C₂₁H₂₄O₃N₂。计算值(%): C71.57, H6.86, N7.95。实验值(%): C71.49, H6.76, N7.61。

2.2.7 7 的制备 11.3g **6** 溶于100ml干燥吡啶中, 冷却至-5°C, 搅拌下滴加POCl₃的CH₂Cl₂溶液(3.9ml POCl₃, 7ml CH₂Cl₂), 加完后继续搅30min。倒入500ml冷水中, 乙酸乙酯萃取4次, 2N HCl洗涤乙酸乙酯液4次, 水洗至中性, 无水Na₂SO₄干燥, 减压除溶剂。80% EtOH重结晶得8.8g白色针状结晶。产率82.3%。m.p. 124~126°C, $[\alpha]_D^{20} = -34.9$ (THF; c=0.017)。

元素分析: C₂₁H₂₂O₂N₂。计算值(%): C75.42, H6.63, N8.38。实测值(%): C75.12, H6.66, N8.37。¹HNMR(CDCl₃) δppm: 0.82~1.02(m, 6H), 1.33(m,

2H), 1.72(m, 1H), 4.2(m, 2H), 4.5(d, 2H), 5.2(d, 1H, $J=10\text{Hz}$), 7.26~7.82(m, 8H)

2.2.8 8 的制备 将1.2g 7溶于20ml CH_2Cl_2 中, 加入0.33g无水EtOH, 冰浴冷却下通HCl(气)5h后, 封好放于冰箱中24h. 10°C 下减压除溶剂得桔色糖浆状物, 冰盐浴冷却下加30ml CH_2Cl_2 , 搅拌下加入浓 K_2CO_3 溶液以游离出亚胺酯, 再搅拌4h分出有机相, 水洗. 无水 Na_2SO_4 干燥, 减压除溶剂, 在 $\text{P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{SO}_4$ 干燥器上真空干燥得1.27g淡黄色固体. 产率93%.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta_{\text{ppm}}$: 0.85~1.11(m, 8H), 1.19(t, 3H), 1.8(m, 1H), 4.11(g, 2H), 4.38~4.64(m, 4H), 5.02(d, 1H), 7.2~7.8(m, 8H).

2.2.9 9 的制备 2.8g 4溶于80ml CH_2Cl_2 中加3.99g 8, N-甲基吗啉0.71g, 加热回流反应4天, 滤去白色固体, 减压除去溶剂, 用100ml乙酸乙酯溶解, 水洗, 无水 Na_2SO_4 干燥. 减压除溶剂, 用200g硅胶(60~120目)柱层析分离, 石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, 在石油醚:乙酸乙酯为1:1时得一糖浆物, 真空干燥得3.36g, 产率74.2%. 丙酮-石油醚重结晶得白色针状结晶. m.p. $216\sim 217.5^\circ\text{C}$.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta_{\text{ppm}}$: 0.86~1.33(m, 12H), 1.20~1.38(m, 5H), 1.4(d, 3H), 2.05(m, 1H), 2.36(m, 1H), 4.0~4.5(m, 6H), 4.8(m, 2H), 5.2(m, 1H), 5.72(d, H, $J=9\text{Hz}$), 7.24~7.96(m, 9H), 8.10(s, 1H). MS: m/e (%): 6.45(m^++1 , 100), 423(10), 338(30).

2.2.10 10 的制备 0.90g 9在冰浴冷却下加入5.5ml哌啶, 在 0°C 下搅拌1h, 减压除去哌啶, 加入 $30^\circ\sim 60^\circ\text{C}$ 石油醚20ml, 再减压抽去, 重复2次, 真空干燥2h. 加入50ml石油醚洗1次, 真空干燥得0.37g. 产物10.

2.2.11 11 的制备 (接上面操作) 上面10溶于40ml DMF中, 冰浴冷却下加入1.0N 2NaOH 0.99ml, 搅拌2h, 加入4 Å分子筛10g干燥(分2次加入)得11.

2.2.12 Ascidiacyclamide 制备 上面产物用DMF稀至160ml, 冰盐浴冷却下搅拌, 滴加DPPA的DMF液(0.36g DPPA, 10ml DMF). 于1h内加完, 接着滴加二异丙基乙基胺0.17g的DMF液(10ml DMF), 搅拌反应. -5°C 下反应16h, $0\sim 5^\circ\text{C}$ 反应33h, 再加入DPPA 0.36g, 二异丙基乙基胺0.34g, $0\sim 5^\circ\text{C}$ 下搅拌3天. 在低于 50°C 上减压除溶剂, 用80ml EtOAc溶解, 水洗, 无水 Na_2SO_4 干燥, 减压除溶剂得0.31g, 用50g 60~120目硅胶柱层析分离, $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-EtOAc}$ 梯度洗脱. 在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{:EtOAc}=2\text{:}3\sim 1\text{:}4$ 时得一油状物, 真空干燥得30mg. 产率9.1%(从9开始计算). m.p. $238\sim 240^\circ\text{C}$ (苯重结晶), $[\alpha]_D^{20} +156$ (c 0.1, CHCl_3).

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta_{\text{ppm}}$: 0.7~1.5(m, 34H), 1.9~2.4(m, 4H), 4.20~4.8(m, 6H), 5.2(m, 2H), 7.40~8.1(m, 6H), MS: m/e: 756(M^+ . 5.9), 713(2.8), 181(100). 元素分析: $\text{C}_{28}\text{H}_{52}\text{N}_8\text{O}_6\text{S}_2$: 756.99, 计算值(%): C57.12, H6.92, N14.80. 实验值(%): C56.86 H6.89 N14.58.

参 考 文 献

- [1] 龙康侯等, 生物化学及生物物理进展, 15(1988), 8, 172
[2] Hamamoto Y et al., *J. Chem. Soc., Chem Commun.*, 1983, 323
[3] 龙康侯等, 中山大学学报(自然科学版), 28(1989), 1, 44
[4] 龙康侯等, 药学报, 23(1988), 316
[5] 龙康侯等, 化学试剂, 10(1988), 6, 378
[6] Hamada Y et al., *Tetrahedron Letters*, 26(1985), 27, 3223
[7] Miller M J et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 102(1980), 7026

A Study of Total Synthesis of Marine Cyclopeptide. Ascidiacyclamide

Jian Dunlong* Jian Zhigang Long Kanhou

Abstract

Ascidiacyclamide, isolated from an unidentified species of ascidian collected in Australia, is a cytotoxic cyclopeptide containing thiazole and oxazoline amino acids. We have synthesized it from D-valine, L-threonine and L-isoleucine. D-(val)Thiazole amino acid (1) was prepared by imino method from D-valine. 2 was obtained by Boc-cleavage of 1. Coupling of Boc-L-Thr with 2 was achieved by DCC/HOBT method to produce the dipeptide (3). Deprotection of 3 gave 4. Condensation of 4 with imino ether yielded oxazoline intermediate (9) in 74% yield. Deprotection and cyclodimerization of 9 with DPPA produced Ascidiacyclamide.

Keywords marine cyclopeptide ascidiacyclamide, antineoplastic activity, thiazole, oxazoline

*Guangzhou Pharmaceutical Industry Research Institute