

Patellamide A 类似物的全合成研究

龙康侯 简志刚 蹇敦龙
(化学系)

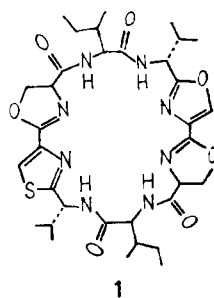
摘 要

本文从D-(缬)噻唑氨基酸、L-异亮氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸出发合成了Patellamide A 类似物环肽(1)。D-(缬)噻唑氨基酸由D-缬氨酸和L-半胱氨酸按亚胺酯法合成。丝氨酸噻唑啉(11)由三苯基膦法合成, 苏氨酸噻唑啉(17)由亚胺酯法合成。11和17去保护基后经DCC/HOBT法转变为线性肽(19a), 19a用五氟苯酯法环化得得1。1和其丝氨酸噻唑啉的开环产物环肽都具有抗肿瘤活性。

关键词 Patellamide A, 环肽, 噻唑, 噻唑啉, 抗肿瘤活性

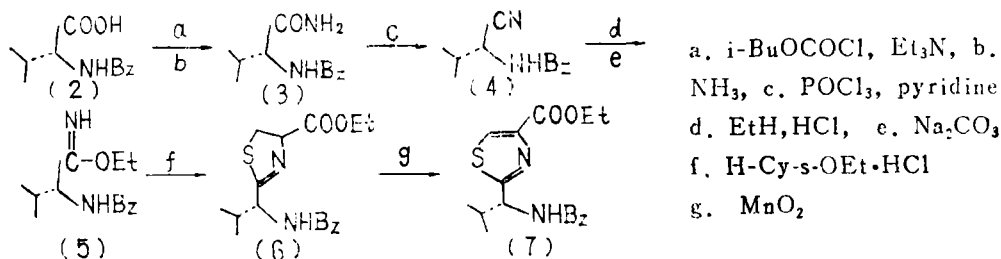
Patellamide A是从海鞘 *Lissoclinum patella* 中分离出的一个抗肿瘤活性环肽, 报道的结构如(1)所示^[1,2]。目前已从海鞘中分离出9个结构类似的环肽, 多具有较好的抗肿瘤活性^[3-5]。这些环肽分子中都含有噻唑和噻唑啉环, 是一类结构完全新型的化合物。为了进一步考察这类化合物分子结构与生物活性的关系, 我们进行了环肽1的全合成和抗肿瘤活性的研究。

合成中所需的D-(缬)噻唑氨基酸^[6]是全合成的关键中间物, 对整个分子的生物活性也可能起重要作用^[7]。我们按亚胺酯法合成了这个化合物, 所采用的合成路线尚未见文献报道。



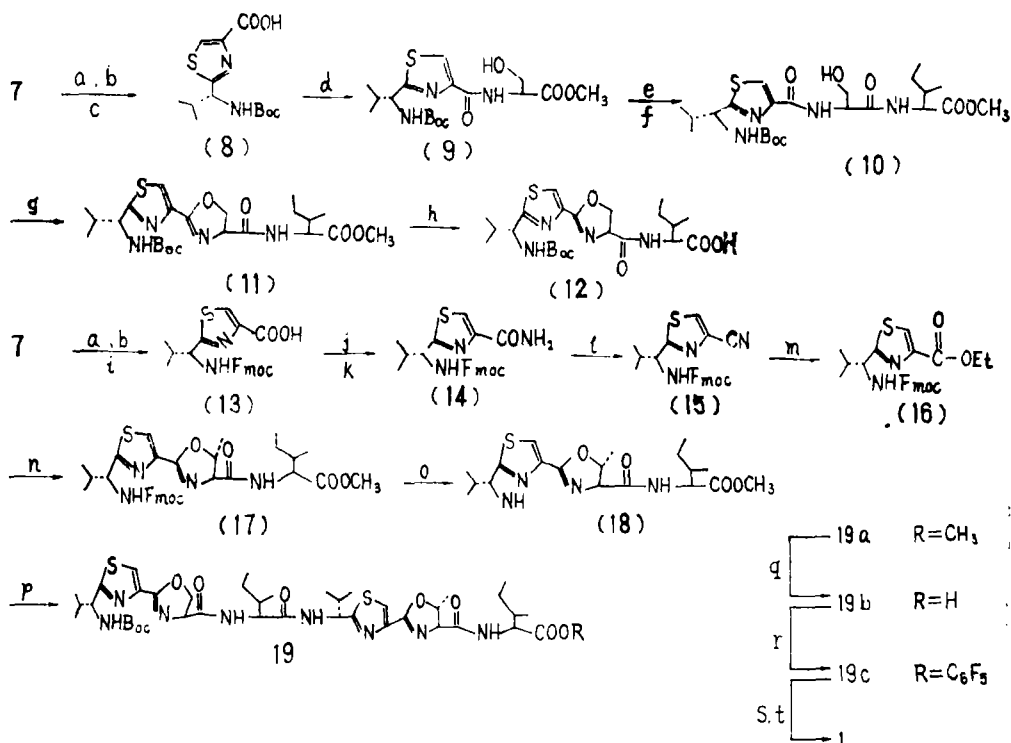
1 合成路线

1.1 Bz-D-(Val)Thz-OEt的合成



本文1988年3月21日收到

1.2 1的合成



a. NaOH, EtOH, H₂O, b. HBr-HOAc, c. Boc-N₃, Et₃N, d. H-L-Ser-OMe·HCl, DCC, HOBT, NMM, e. NaOH, EtOH, H₂O, f. H-L-Ile-OMe·HCl, DCC, HOBT, NMM, g. Ph₃P, Et₃N·CCl₄, h. NaOH, EtOH, H₂O, i. Fmoc-Cl, j. EtOCOC₂H₅, Et₃N, k. NH₃, l. POCl₃, 吡啶, m. EtOH, HCl, n. H-Thr-Ile-OMe·HCl, o. 六氯吡啶, t. (i-Pr)₂NEt, 二噁烷, 6.25 × 10⁻⁴M

苄氧羰基保护基需用氢解法或强酸脱除, 而关键中间物11, 17和19分子中都含有硫原子和对强酸敏感的噻唑啉环, 这两种脱除方法都不适用, 故首先将7中的苄氧羰基换为可在弱酸性条件下脱除的叔丁氧羰基保护基8和在碱性条件下可以脱除的9-苄氧羰基保护基13^[9]. 8经过两步DCC-HOBT缩合法得到三肽10. 室温下10用Ph₃P/Et₃N/CCl₄处理^[9]得到丝氨酸噻唑啉11. 将11在乙醇中用NaOH水解得到C端游离噻唑啉12.

16的合成与5的合成方法类似. 将16和L-苏氨酸-L-异亮氨酸甲酯盐酸盐溶于无水乙醇, 放置5天, 生成苏氨酸噻唑啉17. 17用哌啶处理生成N端游离的噻唑啉18.

12和18由DCC-HOBT结合法转变为19a, 19a经小心水解后得19b, 再与五氟苯酚缩合得19c. 19c在低温下用三氟乙酸脱除保护基, 然后在高度稀释下环化. 反应混合物用硅胶柱层析分离, 在CH₂Cl₂-Et-OAc = 4:6的流份收集到一粘稠物, 在乙醇中用石油醚反复沉淀得一无定形固体, 它的高分辨质谱为742.3281(C₃₅H₅₀N₈O₆S₂, 理论值742.3294), 产物¹H NMR谱中几个特征峰如下: δ7.93(s, 2H, 噻唑质子), δ7.59(d, 2H, J = 10Hz

酰胺质子信号), $\delta 8.01$ (d, 2H, $J = 9\text{Hz}$, 酰胺质子信号), $\delta 4.98 \sim \delta 4.38$ (m, 5H, 噁唑啉环质子信号). IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3430, 3400, 3020, 2960, 2920, 2865, 1665, 1660, 1530, 1488 cm^{-1} . 但是 **1** 的 NMR 谱及有关的物理常数却与文献报道的 Patellamide A 相应的数据有较大差别(见 Tab.1), 说明 Ireland 所提出的环肽 **1** 并不是 Patellamide A 的正确结构. 就在我们工作接近完成时, Y. Hamada 等人报道了他们关于 Patellamide A 全合成工作^[10]. 他们从一条不同的路线合成了 **1**. 同样发现 **1** 不是 Patellamide A 的正确结构. Y. Hamada 等通过合成方法证明 Patellamide A 应含有孤立噁唑和噁唑啉环的结构.

表1 环肽(**1**)和 Patellamide A 的 ^1H NMR 谱和物理常数

Tab.1 ^1H NMR and Physical Data for Cyclic Peptide(**1**) and Patellamide A

化合物	^1H NMR δ (ppm)			m.p. ($[\alpha]_D$) °C
	噁唑啉甲基	噁唑-5-H	酰胺N-H	
Patellamide A	1.47	7.83	7.95(m, 2H)	228- +113.7
	(d, 3H, $J = 6\text{Hz}$)	(S, 2H)	7.41(d, 2H)	229 (c 0.27, CHCl_3)
Cyclic Peptide 1 文献[10]	1.64	7.91		114-
	(d, 3H, $J = 6\text{Hz}$)	(S, 2H)		115
CyClC Peptide 1 实验	1.64	7.93	8.01(d, 2H)	116- +76
	(d, 3H, $J = 6\text{Hz}$)	(s, 2H)	7.59(d, 2H)	118 (c 0.01, CHCl_3)

1 是个不稳定的化合物, 在室温下可被溶剂或空气中的水分水解, 生成丝氨酸噁唑啉的开环产物(**20**). **1** 和 **20** 都具有抗肿瘤活性且存在明显的量效关系. 其对艾氏腹水瘤细胞的半数细胞抑制量分别为 **1**: $\text{IC}_{50} = 8.38\mu\text{g}/\text{ml}$; **20**: $\text{IC}_{50} = 14.57\mu\text{g}/\text{ml}$.

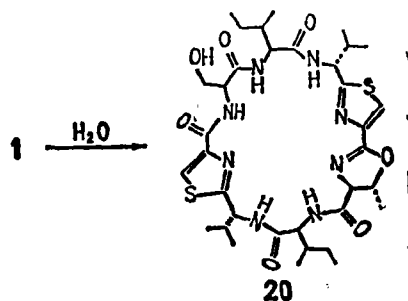
2 实验部分

熔点(未经校正)用毛细管法测定. 核磁共振谱用 FX-90Q 核磁共振仪测定, TMS 作内标. 质谱用 ZAB-HS 高分辨质谱仪测定. 红外光谱用 5 DX 红外光谱仪测定. 元素分析用 240C 型元素分析仪测定. 旋光度用 PE-241 型旋光仪测定.

3 的制备 **2** 113g 溶于乙腈 1500ml, 加入 Et_3N 68ml, 冷至 $-5 \sim -10^\circ\text{C}$, 滴加异乙氧碳酰氯 68ml, 搅拌 30min, 通入 NH_3 (气)

1 小时, 放置过夜, 过滤得固体, 滤液浓缩至干, 合并固体, 水洗, 用 95% Et-OH 重结晶, 得 78g **3**. 产率 69.3%. m.p. $206 \sim 208^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{25} -24.3$ (c 1.58, DMF).

4 的制备 **3** 78g 溶于 350ml 干燥吡啶中, 在 $-5^\circ\text{C} \sim -10^\circ\text{C}$ 下与 POCl_3 35.5ml 反



应得 453.8g, 产率74.3%。m.p. 52-53°C $[\alpha]_D^{20} + 60.9$ (c 0.665, 95% Et-OH)。

6的制备 4 52g和无水乙醇12.6g溶于190ml无水乙醚, 冰浴冷却下通入干燥HCl气至饱和, 室温静置2小时, 减压除溶剂。加入250ml乙醚, 冰浴冷却下滴加饱和K₂CO₃溶液, 充分搅拌后分出醚层, 用无水MgSO₄干燥, 减压除溶剂得38g 5。产率61.9%。

36.5g 5和29.2g L-半胱氨酸乙酯盐酸盐溶于300ml无水乙醇, 室温下放置18小时后减压除溶剂。用乙醚溶解, 水洗, 无水MgSO₄干燥, 除溶剂。剩余物用硅胶柱层析分离, 用石油醚-乙醚洗脱, 得16.8g 6。产率35.2%。

7的制备 6 16.8g溶于250ml C₆H₆, 加入活性 MnO₂56g, 60°C下反应6小时, 滤去固体, 滤液减压除溶剂后用石油醚-乙醚重结晶, 得12.18g 7, 产率72.9%, m.p. 66~68°C, $[\alpha]_D^{20} + 6.77$ (c 0.73, 95% EtOH)。

元素分析 C₁₈H₂₂N₂O₄S, 理论值% C59.67, H6.75, N7.74; 实验值% C59.53, H6.12, N7.48。¹H NMR(CDCl₃) 0.92(d, 3H), 0.97(d, 3H), 1.40(t, 3H), 2.40(m, 1H), δ (ppm) 4.42 (q, 2H), 4.95(dd, 1H), 5.15(s, 2H), 5.70(d, 1H), 7.35(s, 5H), 8.10 (s, 1H)。MS: m/z(%) 362(2.5, m⁺), 49(100)。

8的制备 7 4.2g在25ml EtOH中用1N NaOH水解得3.5g 苜氧羰基-D-(缬)噻唑氨基酸。接着用15ml饱和HBr-HOAc在冰浴上处理得3.26g D-(缬)噻唑氨基酸二氢溴酸盐, 产率86.6%。

2.7g D-(缬)噻唑氨基酸三氢溴酸盐和6ml Et₃N溶于15ml水, 搅拌下加入含有1.7ml BOC-N₃的15ml二乙烷, 室温下搅拌24小时, 减压除二噁烷后加入10ml水, 用乙醚洗涤, 水层用1NHCl酸化, 置于冰箱中结晶, 晶体用水洗涤。干燥后得0.96g 8。产率42.4%, m.p. 178-180°C。MS m/z(%): 300(0.8m⁺), 57(100)。

9的制备 8 0.96g和丝氨酸甲酯盐酸盐0.5g用DCC-HOBT法缩合得1.25g 9。产率96.9%。

¹H NMR(CDCl₃) 0.93(d, 3H), 1.02 (d, 3H), 1.47 (s, 9H), 2.4 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.04 (d, 2H), 4.84(m, 2H), 5.24(d, 1H), 8.05(s, 1H), 8.12(d, 1H), MS m/z(%) 401 (1.2, m⁺), 383(15), 56(100)。

10的制备 1.25g 9溶于8ml EtOH, 用3.3ml 1N NaOH水解得1.12g C端游离产物。接着和0.53g L-异亮氨酸甲酯盐酸盐用DCC-HOBT法缩合得1.45g 10。产率87.3%。

11的制备 1.45g 10, 1ml乙基二异丙基胺, 0.85ml CCl₄溶于15ml乙腈, 室温下加1.14g Ph₃P的30ml无水CH₃CN溶液, 2.5小时内加完。静置21小时后减压浓缩至干, 加入50ml乙醚和15ml水, 充分摇匀后分出水层。用水洗涤醚层, 再用无水Na₂SO₄干燥后减压除溶剂, 剩余物用硅胶柱层析分离, 石油醚-乙醚梯度洗脱, 得0.8g 11。产率57.2%, $[\alpha]_D^{20} + 10.98$ (c 0.51, CHCl₃)。

元素分析 C₃H₃₆N₄O₆S, 理论值(%): C55.64, H7.25, N11.29; 实验值(%): C55.33, H7.24, N10.96, MS: m/z(%): 4.96(2, m⁺), 324(28), 84(100)。¹H NMR(CDCl₃): 0.7~1.08(m, 12H), 1.26(m, 2H), 1.44(s, 9H), 1.88(m, 1H), 2.40 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 4.48~5.00(m, 5H), 5.36(d,

1H), 7.05(d, 1H), 7.92(s, 1H).

12的制备 11的水解得12。方法与7的水解类似。由0.78g11水解得0.70g12, 产率91.8%。

13的制备 129.39D-(缬)噻唑氨基酸二氢溴酸盐溶于50ml二噁烷和125ml10% Na₂CO₂中, 冰浴冷却下慢慢加入8.64gFmoc-Cl的90ml二噁烷溶液, 室温下搅拌3小时, 反应混合物倒入1500ml水中, 乙醚洗涤后用浓盐酸酸化, 乙酸乙酯抽提。抽提液用水洗涤, 无水Na₂SO₄干燥。减压除剂得9.4g13, 产率86.2%, $[\alpha]_D^{20} + 10.47$ (C 0.86 CHCl₃)。MS: m/z(%): 422(4.8m⁺), 178(100)。

14的制备 14的制备与3的制备方法类似。由7g13得6.2g糖浆状14。产率89.1%, $[\alpha]_D^{20} + 18.08$ (c 0.968, CHCl₃)。

15的制备 15的制备与4的制备方法类似。由6.2g14得4.8g15, m.p.96~98°C, 产率79.8%。

元素分析: C₂₃H₂₁N₃O₂S: 理论值%; C68.48, H5.21, N10.42; 实验值: C68.00, H5.28, N10.36。¹HNMR(CDCl₃): 0.6~1.16(m, 6H), 2.32(m₁, 1H), 4.20(m₁, 1H), 4.51(d, 2H), 4.92(m, 1H), 5.44(d, 1H), 7.2~7.87(m, 8H), 7.89(s, 1H)。

16的制备 16的制备与5的制备方法类似。由4.75g15得4.66g糖浆状16。产率77.9%。

17的制备 17的制备方法与6的类似。由2.45g16和1.7g L-苏氨酸-L-异亮氨酸甲酯盐酸盐得1.81g糖浆状17。产率52.7%, $[\alpha]_D^{20} + 16.9^\circ\text{C}$ (c 1.24, CH₃OH)。

元素分析C₃₄H₄₀N₄O₆S₁: 理论值% C64.56, H6.33, N8.84; 实验值%; C64.75, H6.66, N8.41。¹HNMR(CDCl₃): 0.7-1.08(O, 12H), 1.28(m, 2H), 1.62(d, 3H, J = 6Hz), 1.88(m, 1H), 2.44(m, 1H), 3.75(S, 3H), 4.25(m, 1G), 4.44(m, 3H), 4.54(dd, 1H), 4.96(m, 2H), 5.70(d, 1H), 7.14(d, 1H), 7.2~7.84(m, 8H), 7.95(S, 1H)。MS m/z(%): 632(3, m⁺), 367(100), 178(92)。

18的制备 1.35g17溶于6ml哌啶, 室温下搅拌1小时, 减压抽去小部分哌啶, 剩余物直接用200ml石油醚重结晶, 得0.73g18, 产率83.2%, m.p.104~106°C。

19a的制备 19a的制备方法与9的类似。由0.66g12和0.57g18得1.12g19a, 产率93.5%。

¹HNMR 0.76~1.06(m, 24H), 1.20(m, 4H), 1.44(S, 9H), 1.60(d, 3H), 2.0(m, 2H), 2.4(m, 2H), 3.75(s, 3H), 4.36(m, 2H), 4.52~4.72(m, 3H), 4.96~5.04(m, 3H), 5.20(m, 2H), 7.40(d, 1H), 7.92(s, 1H), 7.96(s, 1H), 7.24(m, 2H)。

19c的制备 1.12g 19a在二噁烷中用0.1N NaOH水解得0.67g19b, 产率61.6%。

将0.67g19b、0.195g五氟苯酚溶于10ml EtOAc, 冰浴冷却下加入0.223g二环己基碳二酰亚胺, 冰浴冷却下搅拌2小时, 室温下反应36小时。沉淀过滤。滤液浓缩至干, 直接用硅胶柱层析分离, 用CH₂Cl₂-EtOAc梯度洗脱得273mg19c。产率34%。

¹HNMR(CDCl₃): 0.6~1.08(m, 24H), 1.20(m, 4H), 1.43(S, 9H), 1.60(d, 3H), 1.88(m, 2H), 2.40(m, 2H), 4.25(m, 1H), 4.40(a, 1H), 4.68(m, 2H), 4.88(m, 4H), 5.12(m, 1H), 5.28(a, 1H), 7.20(d, 1H), 7.30(d, 1H), 7.90(S, 1H), 7.93(S, 1H)。MS m/z(%): 1027(6.9, M⁺+1), 926(6.9), 562(4.16), 546(3.47), 57(100)。

1的合成 207mg**19C**中加入2ml冰冷的三氟乙酸,在冰浴上搅拌40min后真空抽除大部分三氟乙酸,剩余物中加入30ml CCl_4 ,再减压除溶剂。 P_2O_5 上真空干燥1小时得N端去保护基的线性肽。

于500ml三个瓶中放入200ml二噁烷,0.34ml(i-Pr)₂NEt,95℃下强烈搅拌,6小时内滴加N端去保护基的线性肽的120ml二噁烷溶液,加完后室温下静置2天,减压浓缩至干,用40mlEtOAc溶解,水洗,无水 Na_2SO_4 干燥。减压除去EtOAc后用硅胶柱层析分离。用 CH_2Cl_2 -EtOAc梯度洗脱。得18mg**1**,产率12.02%,m.p.116~118℃,

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 7.6 (c 0.1 \text{CHCl}_3)$$

$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: 0.52~1.12(m,24H),1.20(m,4H),1.64(d,3H),1.8~2.4(m,4H),4.36~4.52(m,3H),4.54~5.09(m,2H),5.00~5.24(m,2H),5.20~5.52(m,2H),7.59(d,2G),7.93(S,2H),8.01(d,2H),MSm/z(%): 742(870M⁺),699(100),685(13),614(6),306(60),223(9),154(6),55(96)。

环肽 20 将作过测试的环肽**1**样品用乙醚重新溶解,部分不溶,过滤得固体物环肽**20**。m.p.149~151℃。

MS m/z(%): 760(3.8m⁺),742(10.45,m-H₂₀),699(169)。 $^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$: 0.52~1.16(m,24H),1.26(m,4H),1.63(d,3H),1.8~2.48(m,4H),4.76(m,1H),3.98(m,1H),4.28~4.64(m,3H),4.68~5.00(m,1H),5.04~5.60(m,3H),7.44(d,1H),7.52(d,1H),7.88(1H),7.92(S,1H),8.08(S,1H),8.12(1H),8.38(d,1H)。

参 考 文 献

- [1] Chris M. Ireland, et al., *J. Org. Chem.*, 47(1982), 1807
- [2] J. E. Biskupiak and Chris M. Ireland, *J. Org. Chem.*, 48(1983), 2302
- [3] Chris Ireland and P. J. Scheuer, *J. Amer. Chem. Soc.*, 102(1980), 5688
- [4] J. M. Wasyluk, et al., *J. Org. Chem.*, 48(1983), 4445
- [5] Y. Hamamoto, et al., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1983, 323
- [6] G. R. Pettit, et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 104(1982), 905
- [7] G. R. Pettit, et al., *J. Nat. Prod.*, 44(1981), 482
- [8] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.*, 37(1972), 5748
- [9] M. J. Miller, et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 102(1980), 7026
- [10] Y. Hamada, et al., *Tetrahedron Letters*, (1985), 6501

Studies on the Synthesis of Patellamide-A Derivatives

Long Kanghou Jian Zhigang Jian Denlong*

Abstract

The reported patellamide-A(1) was synthesized from D-(Val)Thz-OH, L-isoleucine, L-threonine, and L-serine. Bz-D-(Val)-Thz-OEt(7) was synthesized by imino ester method. The serine derived oxazoline methylester(11) was produced by the $\text{ph}_3\text{P} \cdot \text{Et}_3\text{N} \cdot \text{CCl}_4$ procedure and hydrolysis of 11 yielded the oxazoline acid(12). The threonine derived oxazoline(17) was synthesized by imino ester method and deprotection of 17 gave rise to the N-deblocked oxazoline(18). The coupling of 12 with 18 yielded linear peptide methyl ester(19a), which was then converted to pentafluoro phenyl ester(19c). Deprotection and cyclization of 19c produced 1. 1 is an unstable compound and can be hydrolyzed to cyclic peptide-(20) by water in solvents. Both 1 and 20 showed antineoplastic activity.

Keywords patellamide-A, cyclic peptide, thiazole, oxazoline, antineoplastic activity

*Department of Chemistry