

文章编号:1000-582X(2002)04-0148-03

苯乙酰异谷氨酰胺类化合物合成及抗肿瘤活性^{*}

李勤耕¹, 骆永鹏¹, 陈捷¹, 吉庆刚¹, 杨善彬², 金初熔²

(1.重庆医科大学药学院,重庆 400016;2.四川大学药学院,四川成都 610041)

摘要:苯乙酰异谷氨酰胺作为抗癌酮(Antineoplaston A10)在体内的一种降解产物,具有一定程度的抗肿瘤活性。为此设计并合成了一些新的苯乙酰异谷氨酰胺类化合物以测试其抗肿瘤活性。合成中采用在酸性条件下,先选择性地对L-谷氨酸 γ 位羧基进行酯化,再进一步合成目标化合物,反应条件温和,收率好。所合成化合物结构经IR、¹HNMR及元素分析鉴定。对所合成的目标化合物的抗肿瘤活性采用MTT法对体外培养的乳腺癌细胞成活率进行了测试,初步结果显示有一定抑制肿瘤细胞存活的作用。

关键词:苯乙酰异谷氨酰胺;合成;抗肿瘤

中图分类号:R914

文献标识码:A

寻找高效低毒及组织特异性抗肿瘤药物一直是人们努力的方向,Greenstein等人发现肝癌的谷氨酰胺酶活性较正常组织高^[1],Eagle等人的实验证明谷氨酰胺是某些肿瘤细胞生长的必需物质,人体正常细胞能够合成谷氨酰胺,而肿瘤细胞生长必需的谷氨酰胺则须依赖宿主供给^[2];美国Burzynski研究所发现了3-苯乙酰胺基-2,6-哌嗪二酮(Antineoplaston A₁₀)具有显著的抗肿瘤活性,并显示低毒性^[3-4]。进一步研究发现,A₁₀的降解产物苯乙酰谷氨酰胺和苯乙酰异谷氨酰胺也具有不同程度的抗肿瘤活性^[5]。我们也曾对此类化合物进行了部分研究^[6]。作为谷氨酰胺类似物的苯乙酰谷氨酰胺及苯乙酰异谷氨酰胺类化合物可能抑制谷氨酰胺酶活性,从而对肿瘤细胞的生长起选择性抑制作用。

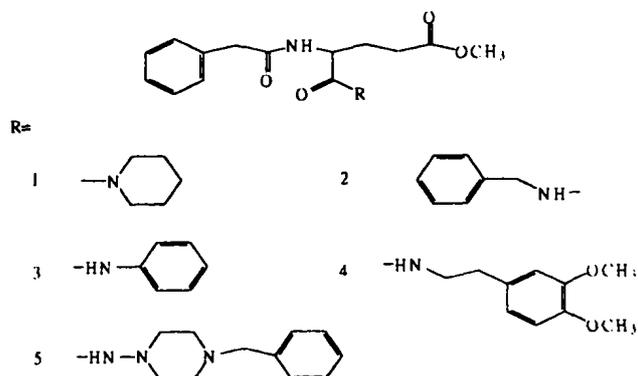


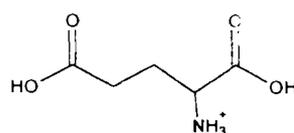
图1 苯乙酰异谷氨酰胺类化合物的分子结构

有关该类化合物的数目和种类的报道有限,不便对该类药物作系统的研究,我们设计并合成了一类新的苯乙酰异谷氨酰胺类化合物(图1),并进行了初步药效实验。

1 合成路线

1.1 谷氨酸 γ 甲酯的合成路线^[7]

在酸性条件下:



这使得 α 位的羧基亲核能力下降,因而可选择性地对 γ 位进行酯化,采用下述路线很容易制得高纯度谷氨酸 γ 甲酯。

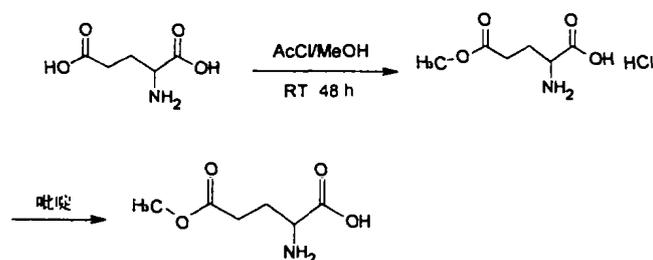


图2 谷氨酸- γ -甲酯合成路线

1.2 目标化合物的合成路线

• 收稿日期:2002-01-31

作者简介:李勤耕(1954-),男,重庆人,重庆医科大学副教授,硕士。研究方向:药物合成与设计。

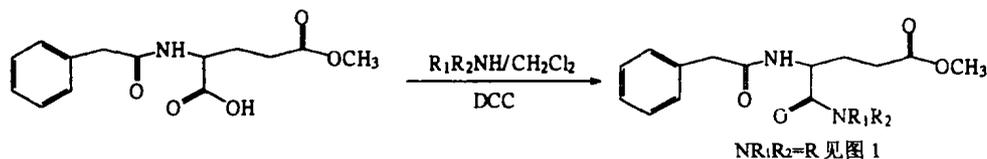


图 3 目标产物的合成

2 实验部分

2.1 苯乙酰氯的制备

在 100 mL 圆底烧瓶中,加入苯乙酸 54.4 g(0.40 mol),氯化亚砷 60 mL(0.83 mol),装带有氯化钙干燥管的回流冷凝管,搅拌,油浴中加热回流,反应完毕,回收过量氯化亚砷,减压蒸馏,收集 98 ~ 102 °C/1.3 kPa(9 mmHg)的馏分,得苯乙酰氯 60.0 g(微黄色),收率 97.1%,文献报道收率 89.5%^[8]。

2.2 L-谷氨酸 γ -甲酯的制备

在 500 mL 圆底烧瓶中,加入甲醇 250 mL,乙酰氯 20 mL,室温搅拌 0.5 h,然后缓缓加入 L-谷氨酸 36.8 g(0.25 mol),溶解后,静置 48 h,用吡啶中和,放置 20 h 后过滤,固体用乙醇、乙醚洗涤后抽干,干燥,得粗品。粗品用 70% 甲醇重结晶,得精制品 21.0 g,收率 52.1%,熔点 180 ~ 181 °C(文献报道,熔点 182 °C,粗品收率 42.0% ~ 54.7%)。元素分析:C:44.52%; H:7.02%; N:8.51%(计算值:C:44.72%; H:6.88%; N:8.69%)。IR: ν_{N-H} 3 460 cm^{-1} , ν_{O-H} 3 140 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ 1 730 cm^{-1} , 1 640 cm^{-1} , 1 620 cm^{-1} 。

2.3 N-苯乙酰-L-谷氨酸 γ -甲酯的制备

在 500 mL 的三颈瓶中,加入 L-谷氨酸 γ -甲酯 23.0 g(1.43 $\times 10^{-2}$ mol),蒸馏水 310 mL,碳酸氢钠 42.0 g(0.5 mol),搅拌,在冰浴冷却下,加入 32.8 g 苯乙酰氯,反应完成后,用二氯甲烷萃取(25 mL \times 2),然后调节 pH = 2,结晶,冰箱中放置 3 h。过滤,固体用蒸馏水洗涤 3 次,抽干,干燥,得粗品 33.2 g,收率 83.0%。粗品在乙酸乙酯中重结晶得精制品,熔点 134.5 ~ 135.0 °C, $[\alpha]_D^{27} = -9.37^\circ$ (EtOH, C = 1.6)元素分析 C:60.42%; H:6.29%; N:4.91%(计算值 C:60.21%, H:6.14;

N:5.02%)。IR: ν_{N-H} 3 336 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ 1 720 cm^{-1} , 1 702 cm^{-1} 。

2.4 目标化合物的合成(N-苯乙酰-N',N'-(1,5-戊二基)-L-异谷氨酰胺 γ -甲酯)

在 50 mL 的三颈瓶中,加入 1.0 g(6.2 $\times 10^{-3}$ mol) N-苯乙酰-L-谷氨酸 γ -甲酯,20 mL 二氯甲烷,冰浴,搅拌,加入 0.35 mL 哌啶,0.8 g DCC(二环己基碳二酰亚胺),于 3 °C 以下反应 3 h,搅拌过夜,加入少许稀乙酸,室温搅拌 1 h。过滤,固体用少许二氯甲烷洗涤。洗液与滤液合并后,置于分液漏斗中,先用稀乙酸洗涤 3 次,然后用稀碳酸氢钠溶液洗涤 3 次,最后用水洗至中性。挥尽溶剂,剩余物用乙酸乙酯结晶,得白色固体,在冰箱中放置 3 h,过滤,固体用乙酸乙酯洗涤,抽干,干燥,得粗品 0.7 g,收率 56.0%,熔点 124.5 ~ 127 °C,用乙酸乙酯重结晶,得精制品,熔点 124.5 ~ 125.0 °C, $[\alpha]_D^{24} = -6.96^\circ$ (丙酮, C = 1.08),元素分析 C:65.78%; H:7.88%; N:8.22%(计算值 C:65.87%; H:7.57%; N:8.09%)。IR: ν_{N-H} 3 280 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ 1 740 cm^{-1} , 1 670 cm^{-1} 。NMR $\delta_{8.23}$ (d, -NH), $\delta_{7.25}$ (s, 芳香氢), $\delta_{4.70}$ (m, CH), $\delta_{3.63}$ (s, OCH₃) $\delta_{3.28}$ (s, C₆H₅CH₂-) $\delta_{2.25}$ (q, -CH₂-N-CH₂-) $\delta_{2.00-1.25}$ (m, 甲基或次甲基上的氢)。

采用同样的方法合成其他 4 种物质,其收率、熔点、 $[\alpha]_D^{20}$ (EtOH)、元素分析及光谱数据如表 1 所示。

表 1 样品的收率及物理性质

样品号	收率/%	熔点/°C	$[\alpha]_D^{20}$ (EtOH)
1	56.0	124.5 ~ 125.0	-6.96(1.08)
2	43.4	157.0 ~ 158.0	-34.40(0.97)
3	34.0	162.0 ~ 163.0	-15.00(1.52)
4	54.0	119.0 ~ 120.0	-13.60(1.84)
5	52.6	137.0 ~ 138.0	-15.30(1.03)

表 2 样品的元素分析及红外数据

样品	ν/cm^{-1} (IR)				元素分析(括号为计算值)/%		
	C=O	N-H	C-H	C=C	C	H	N
1	1 740	3 280	2 980	1 550	65.78	7.88	8.22
	1 670		2 940	1 495	(65.87)	(7.57)	(8.09)
2	1 720	3 275	3 020	1 540	68.33	6.49	7.44
	1 620		2 970	1 520	(68.40)	(6.51)	(7.60)
3	1 720	3 280	3 040	1 600	67.58	6.17	7.70
	1 660		3 020	1 530	(67.80)	(6.21)	(7.91)

续表 2

样品	ν/cm^{-1} (IR)				元素分析(括号为计算值)/%		
	C=O	N-H	C-H	C=C	C	H	N
4	1 730	3 280	3 080	1 590	62.29	6.97	6.80
	1 620		3 020	1 505	(62.20)	(6.79)	(6.33)
5	1 738	3 288	3 074	1 540	61.69	7.48	8.00
	1 664	3 218	2 951	1 495	(61.97)	(7.80)	(8.37)

3 初步药理实验

合成的化合物体外抗肿瘤活性采用 MTT 法进行测试,测定对乳腺癌瘤株 100% 减少时所需化合物的浓度,实验结果如表 3。

表 3 样品对乳腺癌瘤株活性

样品	对乳腺癌瘤株 100% 减小的浓度/ $(\mu\text{mol/L})$
1	14.4
2	13.2
3	5.2
4	2.5
5	11.7

结果分析表明,各化合物对乳腺癌瘤株 100% 减少的浓度均较低,特别是化合物 3、4,其抑制能力更强,有待进一步研究并探讨构效关系。

参考文献:

[1] GREENSTEIN J P. The neoplastic transformation as biological

fractionation of related enzyme system[J]. Naal Cancer Inst, 1949, 10: 271.

- [2] EAGLE H. Amino acid requirement of normal and malignant human cell in tissue culture[J]. Arch Bilphys, 1957, 67: 432.
- [3] BURZYNSKI S R. Purification, Structure determination, synthesis and animal toxicity studies of antineoplaston A10 [A]. 13th Int Cong, Chemother[C]. Vienna: 1983, 11 - 14.
- [4] BURZYNSKI S R. Toxicology studies on oral formulation of antineoplaston A10 in cancer patients[J]. Drugs Exptl Clin Res, 1984, 10: 611 - 619.
- [5] KHALID M. N', N' - disubstituted l - isoglutamines as novel cancer chemotherapeutic agents [J]. Drugs Exptl Clin Res, 1987, 13(Suppl. 1): 57 - 60.
- [6] 李勤耕, 付渝滨, 金初熔, 等. 抗肿瘤药物 Antineoplaston A10 新合成方法的研究[J]. 药物化学杂志, 1997, 7(2): 112 - 114.
- [7] HANBY W E. Synthetic Polypeptides Part II Polyglutamic Acid [J]. J Chem Soc, 1950, 3 239.
- [8] RONWRIN S A. Synthesis of γ - methyl N - benzoyl - l - glutamic acid ester[J]. J Org Chem, 1957, 22: 1 180.

The Studies of Syntheses of Phenylacetyl Isoglutamines Derivatives and their antineoplastic activity

LI Qing - geng¹, LUO Yong - peng¹, CHEN Jie¹, JI Qing - gang¹, YANG Shan - bin², JIN Chu - rong²

(1. Dept. Pharmacy, Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, China;

2. School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: As one of degradation products of Antineoplaston A10 in vivo, Phenylacetyl isoglutamine shows some antitumor activities. According to these, we designed and synthesized some novel phenylacetyl isoglutamine derivatives for researching their antitumor activity. In the syntheses of these compounds, in the acid condition, the γ - carboxyl group of L - glutamic acid was selectively transformed to carboxylic ester first, which was then transformed continually to the target molecule. The mild reaction conditions and good yields are the merits of this method. Evaluation of antitumor activity of the target molecules was carried out by MTT method to breast cancer cell strains. The results showed some compounds can inhibit growth of the cancer cells.

Key words: Isoglutamines; Synthesised; Antitumor

(责任编辑 张 苹)