

癌细胞极性平面分化诱导剂的研究

——六亚甲基二甲酰胺芳香族化合物的合成

康建功 (潍坊医学院附属医院, 潍坊 261031)

王慧才 吴敬德 (山东医科大学药系, 济南 250012)

摘要 研究表明: 芳香环与极性功能基相连时, 诱导活性增强, 芳香环上带有吸电子取代基时, 吸电子能力愈强, 分化诱导活性愈强。尤其是与六亚甲基链相连的两个酰胺基上一个连有羟基, 另一个连有带吸电子基的芳环时, 分化诱导活性为最强。根据极性平面化合物构效关系, 设计合成六个六亚甲基二甲酰胺芳香族化合物。

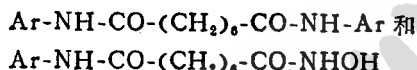
关键词 诱导分化 极性平面分化诱导剂 人早幼粒白血病细胞 六亚甲基二甲酰胺芳香族化合物 小鼠红白血病细胞株

恶性肿瘤是人体某种组织的细胞过度生长引起的。以往癌症的治疗一直采用手术切除、放疗、化疗、免疫治疗等方法, 往往因技术条件及毒副反应的限制难以提高疗效, 分化诱导剂的发现, 可使癌细胞分化成正常细胞而无需直接杀伤它, 从而使恶性肿瘤逆转为正常分子的梦想得以实现, 这是对肿

瘤防治理论的更新。它具有毒副作用小, 乐于被病人所接受的特点从而成为今天癌症研究的“热点”。

1971年 Friend 等建立了小鼠红白血病细胞株 (MELC), 并观察到二甲亚砜 (DMSO) 对此细胞株有诱导分化作用⁽¹⁾。此后人们逐渐发现许多恶性肿瘤细胞如白血病、结肠癌、肺癌、肝癌、畸胎癌、

淋巴瘤、多形性胶质瘤等都可被某些化学物质诱导分化成正常或近似正常细胞而停止恶化⁽²⁾。诱导分化过程中,癌细胞的生长受到抑制或发生逆转,抑制癌前病变过程,无细胞毒性⁽³⁾。目前分化诱导剂的研究最活跃的有极性平面化合物、维甲酸类和维生素D₃类。极性平面化合物中,先导物为DMSO,这类物质的代表物为六亚甲基双乙酰胺(HMBA)。据报道DMSO的有效浓度较高(280 mM),Reuben报道极性平面化合物六亚甲基双乙酰胺(HMBA)在5 mM时能诱导99%以上的小鼠红白血病细胞分化。但HMBA用于体内有明显的毒性⁽⁴⁾,Breslow等报道六亚甲基双羟肟酸对MELC的诱导活性为HMBA的100倍,1993年Marks等报道一种HMBA的衍生物在0.8 μm时可使30%的细胞发生联苯胺反应⁽⁵⁾,我们根据构效关系,在前人研究的基础上,设计合成了六个六亚甲基二甲酰胺芳香族化合物,此类化合物结构如下:



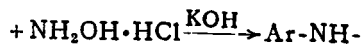
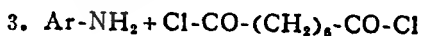
1 仪器与试剂

熔点测定用Kofler微量熔点仪,温度计读数未校正;红外光谱仪(Perkin-Elmer 783, KBr压片);元素分析测定仪,ZFQ 85A旋转蒸发仪。

2-氨基苯并噻唑,DMF,吡啶,2-氨基苯甲酸,2-氨基-5-硝基苯并噻唑,甲醇,2-氨基噻唑,盐酸胍,四氢呋喃。以上试剂均为AR。辛二酰氯为自制,硅胶为青岛海洋化工厂生产。

2 化合物的制备

合成路线



3 实验部分

3.1 N, N'-双(2-苯并噻唑)-1,6-六亚甲基二甲酰胺(a)的合成

将3 g 2-氨基苯并噻唑(0.02 mol)溶于20 ml干燥吡啶中,冰浴下逐渐滴加2.11 g 辛二酰氯

(0.01 mol),室温搅拌4 h,过滤得乳白色固体,以DMF重结晶得白色针状晶体,产率为58%,熔点200—202°C。元素分析:C₂₂H₂₂N₄O₂S₂,计算值%: C, 60.27; H, 5.02; N, 12.78; S, 14.61, 实测值%: C, 60.13; H, 5.27; N, 12.54; S, 14.56。IR(KBr)cm⁻¹: 3248m, 3053m, 2900m, 2858m, 1696s, 1546s, 1599s, 1638m, 2584m, 730 m。

3.2 N, N'-双(2-羧基苯基)-1,6-六亚甲基二甲酰胺(b)的制备

参照(a)的制法,得(b)的白色针状晶体,收率72%, mp, 176—177°C。元素分析:C₂₂H₂₂N₄O₆,计算值%: C, 64.07; N, 5.82; H, 6.79, 实测值%: C, 64.15; N, 6.11; H, 7.05。IR(KBr)cm⁻¹: 3386m, 3248m, 3183m, 3105m, 2938m, 2867m, 1679s, 1644s, 1614s, 1608m, 1528s, 1231s, 747s。

3.3 N, N'-双[2-(5-硝基苯并噻唑基)]-1,6-六亚甲基二甲酰胺(c)的制备

3.9 g 2-氨基-5-硝基苯并噻唑(0.02 mol)溶于干燥吡啶中,搅拌下慢慢滴加2.11 g 辛二酰氯(0.01 mol),室温搅拌2 h后,50°C水浴下再反应2 h,滤出黄色固体,少量乙醚洗涤,用甲醇重结晶得淡黄色针状晶体。收率为55.9%, mp 138—140°C。元素分析:C₂₂H₂₀N₆O₆S₂,计算值%: C, 50.00; H, 3.78; N, 15.91; S, 12.12, 实测值%: C, 50.12; H, 3.92; N, 15.85; S, 11.98。IR(KBr)cm⁻¹: 3281m, 3217m, 3091w, 3062w, 2929m, 2855m, 1681s, 1614m, 1590s, 1540s, 1482m, 1351s, 732m。

3.4 N, N'-双(4-乙酰苯基)-1,6-六亚甲基二甲酰胺(d)的合成

参照(c)的制法,得(d)的白色晶体,收率54%, mp, 246—248°C。元素分析:C₂₄H₃₀N₄O₄,计算值%: C, 70.58; N, 6.86; H, 6.86, 实测值%: C, 70.67; N, 6.80; H, 6.95。IR(KBr)cm⁻¹: 3317m, 3281m, 3099m, 3065m, 2932m, 2847m, 1701s, 1656s, 1595s, 1525s, 1378w, 1361m, 735m。

3.5 N-羟基-N'-(2-噻唑基)-1,6-六亚甲基二甲酰胺(e)的合成

1 g 2-氨基噻唑(0.01 mol)溶于50%的100 ml

四氢呋喃中, 再加入0.7 g 盐酸羟胺(0.01 mol)和1.68 g 氢氧化钾(0.03 mol)得一混合物, 搅拌下向此混合物中滴加2.11 g 辛二酰氯(0.01 mol), 室温下搅拌30 min, 将蒸发溶剂得到的固体加到甲醇中(100 ml), 用无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液经旋转蒸发得淡黄色物质。然后以硅胶为固定相, 以乙酸乙酯、四氢呋喃(3:1)为洗脱液进行纯化, 产率为15%。元素分析: $C_{11}H_{17}N_3O_3S$, 计算值%, C, 48.71, H, 5.27, N, 15.49, S, 11.31, 实测值%, C, 47.98, H, 6.33, N, 14.89, S, 10.97。IR(KBr) cm^{-1} : 3367m, 3209m, 3095m, 2970m, 2857m, 1643s, 1631s, 1601m, 1553m, 1338s, 705m。

3.6 N-羟基-N'-[2-(6-硝基苯并噻唑基)]-1,6-六亚甲基二甲酰胺的合成(f)的合成

参照(e)的制法, 得(f)的淡黄色浆状物, 收率14%, 元素分析: $C_{15}H_{18}N_4O_3S$, 计算值%, C, 49.18, H, 4.92, N, 15.30, S, 8.74, 实测值%, C, 49.29, H, 4.82, N, 14.98, S, 7.95。

4 实验讨论

4.1 聚亚甲基二甲酰胺类的合成, 以 Marks⁽⁶⁾的方法用氯仿作溶剂, 并加入三乙胺, 结果未能得到满意的结果, 我们改用吡啶或四氢呋喃作溶剂, 不必加入三乙胺, 效果十分理想。

4.2 反应过程需要无水操作, 仪器、试剂必须干燥, 否则极易失败。

5 结果与讨论

近年来, Marks等对癌细胞分化诱导剂及其作用机理的研究有较大突破, 出现了大量的化学合成分化诱导剂。极性平面分化诱导剂是其中研究较活跃的一类。虽然诱导分化的确切机理仍不太清楚, 但研究表明: 分化诱导剂首先作用于细胞膜, 引起细胞内信息传递系统的改变, 直接影响胞质膜上蛋白激酶C(PKC)活性^[7,8], 从而控制着特殊基因的表达, 包括原始基因和肿瘤基因, 改变了核染色体结构^(9,10), 影响了DNA和蛋白质的合成, 引起形态上的变化, 使肿瘤细胞逐渐呈现出正常细胞的生理功能。

鉴于上述原因, 理想的分化诱导剂应兼有合适的水溶性和脂溶性, 能顺利穿过细胞膜到达靶部位。因此, 有效的分化诱导剂结构中必须有极性亲水基和非极性疏水基, 这种双亲结构有利于分化诱导剂

分子顺利到达细胞靶部位⁽¹¹⁾。引入酰胺基后, 诱导活性大大增强, 表明酰胺基为功能基。作为有效的极性平面诱导剂必须具有相对的弹性, 研究表明两个极性功能基间的弹性链为六个亚甲基时分化诱导活性最强^[12]。与极性功能基相连的基团为芳香环时, 诱导活性增强。芳香环上带有吸电子取代基时诱导活性更强, 取代基吸电子能力愈强, 其诱导活性愈强。可能是酰胺基上 Lewis 碱孤电子对离域程度大, 酰胺基上的氢易形成氢键。尤其是与六个亚甲基链相连的两个酰胺基上一个连有羟基, 另一个与带吸电子基的芳香环相连时, 分化诱导活性空前的高。可能与此类物质兼有合适的水溶性和脂溶性有关。

我们根据以上构效关系, 设计合成了六个六亚甲基二甲酰胺芳香族化合物, 这些芳环是苯环、噻唑环、苯并噻唑环、硝基苯并噻唑环。期望筛选出新颖高效低毒分化诱导剂。元素分析值与理论值基本符合, 并经红外光谱证实。

参考文献

- 1 Friend C, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1971, 68: 378—382
- 2 Marks, P. A., et al. Cancer 1984, 54: 2766—2769.
- 3 Sporn, M. B., et al. Principles of cancer biology, growth factors and differentiations. cancer: principles and practices of oncology ED₂. 1985, 49—65.
- 4 Reuben, R. C., et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1976, 73: 862—866.
- 5 Young, C. W., et al. Cancer Res. 1988, 48: 7304—7309.
- 6 Marks, P. A. et al PCT Int. Appl. WO 9307. 148 (Cl. C07D473/02) 15 Apr 1993. US APPL. 771, 760 04 Oct 1991, 80PP
- 7 Melloni, E. et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1987, 84: 5282—5286.
- 8 Melloni, E. et al. J. Biol. Chem. 1989, 264: 18414—18418.
- 9 Tanaka, M., et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1975, 72: 1003—1006.
- 10 Sheffery, M., et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1983, 80: 3349—3353.
- 11 Rueben, R., et al. J. Biol Chem. 1978, 253: 4214—4218.
- 12 Sartorell, A. C., et al. J. Med. Chem. 1978, 21: 874—877.

收稿日期: 1996—07—01