

恩其明(AT-1840)开环类似物的合成和抗癌作用

1. 通过光化反应合成取代-2-羟基-菲啉溴烷季铵盐

翁尊尧 张广荣*

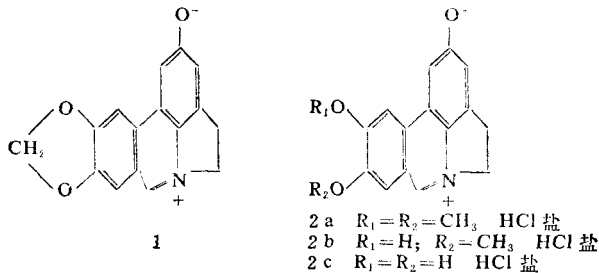
(中国科学院上海药物研究所; *复旦大学化学系, 上海)

提要 根据恩其明 (ungeremine, 1.) 分子中存在次甲基 N-O-O 三角和内铵盐结构, 这可能与它的抗肿瘤活性有密切关系的设想, 合成了它的开环类似物 2-羟基-8,9-次甲二氧基菲啉溴甲(或乙)烷季铵盐 (3 a 和 3 b) 和 2-羟基-8,9-二甲氧基菲啉甲(或乙)烷季铵盐 (4 a 和 4 b) 等有关化合物, 作为抗肿瘤作用的比较, 以探讨恩其明的构效关系。

动物试验表明: 化合物 3 a 对小鼠艾氏腹水癌有明显抑制作用, 小鼠生命时间延长 130~140%, 其它化合物则无明显活性。

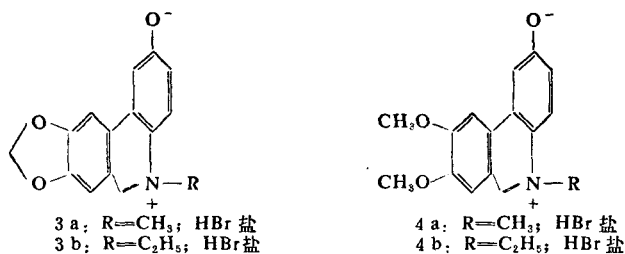
关键词 恩其明 (曾使用石蒜碱内铵盐的名称); 抗癌作用; 艾氏腹水癌; 构效关系; 光化反应。

恩其明 (ungeremine, 1) 是一个从 *Ungernia minor* 植物中分离而得的生物碱⁽¹⁾, 我所发现其醋酸盐对小鼠艾氏腹水癌、L₁₂₁₀、P₃₈₈、Lewis 肺癌以及大鼠吉田肉瘤腹水型都有明显抑制作用^(2,3a)。此化合物已推荐临床试用, 对中晚期卵巢癌、胃癌等有较好的疗效。副作用低, 对血象、心、肝、肾等主要脏器无不良反应。鉴于化合物 1 是一个新型的抗肿瘤化合物。它与酸成盐后虽不是内铵盐, 在体液 (pH=7.4) 情况下, 可能由于酸被中和而成为内铵盐化合物。从化学结构看来, 它具有次甲基 N-O-O 三角和可以形成内铵盐结构的酚羟基和季铵基。作者曾合成了一些类似物进行抗肿瘤试验以研究其构效关系。改变酚羟基或季铵基使其不能形成内铵盐, 其抗癌活性亦随之消失⁽²⁾。保留化合物 1 的基本化学结构, 改变次甲二氧基使之成为二甲氧基化合物 2 a, 或一个羟基一个甲氧基的化合物 2 b, 或二个羟基的化合物 2 c, 其抗癌活性亦随之消失^(3b)。在总结上述构效关系的基础上, 作者形成一个设想: 化合物 1 分子中次甲基 N-O-O 三角及可能形成内铵盐的季铵基和酚羟基结构及其抗肿瘤活性有密切关系。N-O-O 三角和抗肿瘤活性有密切关系文献中已有报道⁽⁴⁾。

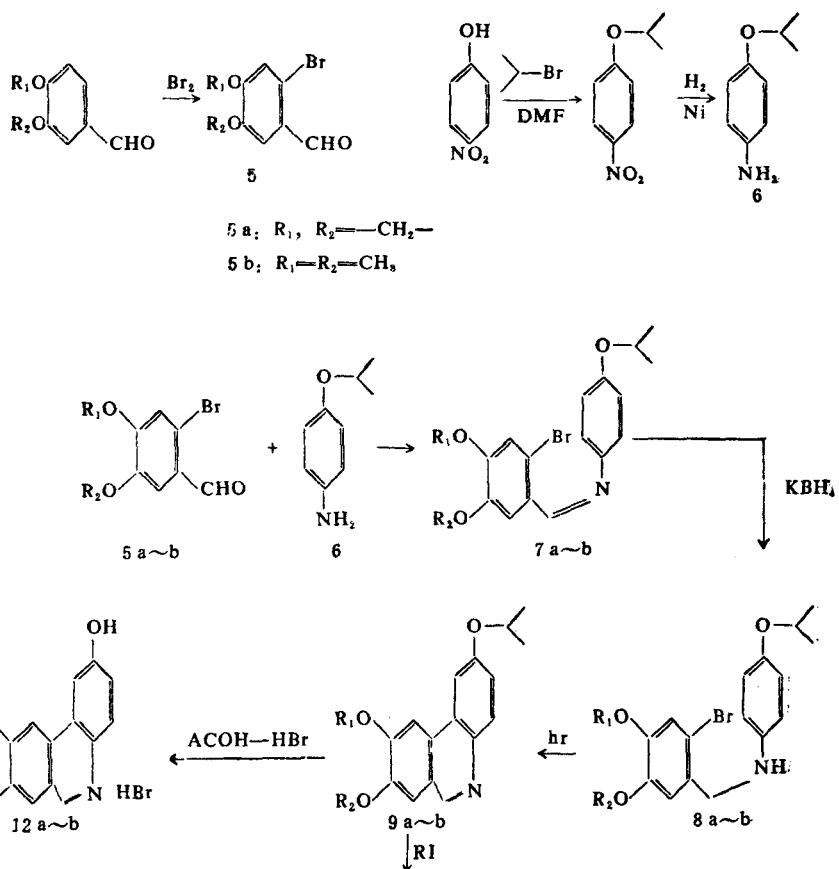


为了进一步研究化合物 1 的构效关系, 探讨上述设想, 从而寻找疗效好、毒性低的抗肿瘤药物, 本文合成了化合物 1 的开环类似物——2-羟基-8,9-次甲二氧基菲啉溴甲烷季铵盐 (3

a) 和其溴乙烷季铵盐 (3 b) 以及相应的二甲氧基溴乙烷季铵盐 (4 a 和 4 b) 以及与其有关的化合物。



化合物 3a 的合成步骤如下: 相应的溴代苯甲醛(5a)和对-异丙氧基苯胺(6)在无水乙醇中缩合得希夫碱(7a)。后者以硼氢化钾或硼氢化钠还原其亚胺键得相应的仲胺(8a),再在具有氢氧化钠的乙腈中用高压汞灯照射进行光环合反应制得相应的菲啶化合物(9a)。9a 与碘甲烷或碘乙烷反应得相应的菲啶碘甲烷(或乙烷)季铵盐(10a 或 10b), 后者以氢溴酸乙酸混合液脱去异丙基, 并以溴离子交换碘离子得化合物 3a 或 3b。化合物 10a 在盐酸乙醇溶液中或在 10% 氯化钠水溶液中进行离子交换可得相应的菲啶氯乙烷季铵盐(11a)。化合物 9a 用氢溴酸乙酸混合液脱去异丙基可得 2-羟基-8,9-次甲二氧基菲啶氢溴酸盐(12a)。化合物 4a 和 4b 可用合成 3a 和 3b 的相同步骤合成之。



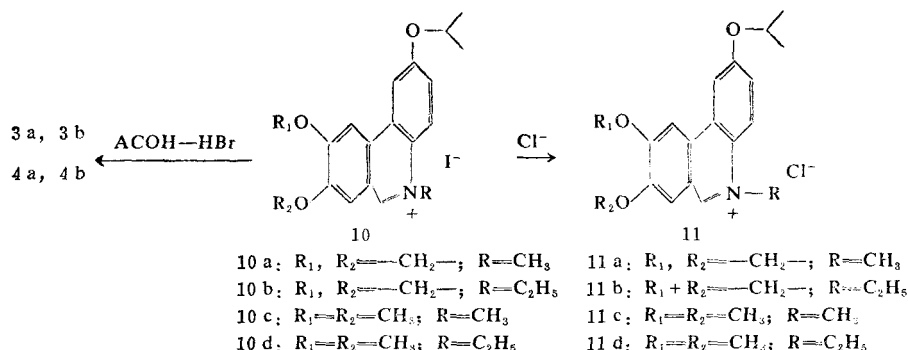


Fig 1. Synthetic route

上述各化合物都进行了抗肿瘤筛选试验，结果表明化合物 3a 对小鼠艾氏腹水癌有明显疗效，40 mg/kg，腹腔注射，每日一次，共七次，可使艾氏腹水癌小鼠生命时间延长 130~140%。其余化合物无明显疗效。

1. 化合物 9a、9b、10b、11a、11b、12a 和 12b 等分子中虽然都有次甲基 N-O-O，但酚羟基有保护基或缺少季铵基都不能形成内铵盐，这些化合物无抗肿瘤活性。

2. 化合物 4a 和 4b 的分子中虽然都有羟基和季铵基，有可能形成内铵盐，但不具有次甲基 N-O-O 结构，此二个化合物无抗肿瘤活性。

3. 化合物 3a 和 3b 是本文的主要化合物。它们的分子既有可以形成内铵盐的酚羟基和季铵基又有次甲基 N-O-O 结构。3a 有明显活性，但 3b 则无明显活性。季铵基上乙基远比甲基容易脱落，因此 3b 可能在体内由于乙基的脱落而变为化合物 12a，失去形成内铵盐所必需的季铵基，从而失去抗癌活性。

从上述化合物的构效关系看来，如果把化合物 1 分子中五员环打开，保留其次甲基 N-O-O 和内铵盐结构，仍能保留其抗癌活性。这一结果符合作者上述的设想。

实 验 部 分

各化合物的物理常数及 NMR 数据列于表 1 和表 2 中。熔点和沸点均未校正。

对硝基苯异丙基醚

硝基苯酚、溴代异丙烷和碳酸钾混合在 DMF 溶剂中，于 100~120° 加热搅拌 3 小时制得，产率略高于文献^(5,6)。

对异丙氧基苯胺(6)

以对硝基苯异丙基醚为原料，兰尼镍为接触剂在常压进行氢化，产率为 97.5%，沸点 142~3°/23 mm。(产率 87~90%⁽⁷⁾，沸点 125/12 mm)⁽⁶⁾

N-(取代苯亚甲基)-对异丙氧基苯胺(7)

取代溴代苯甲醛(0.1 mol)和化合物 6(0.1 mol)在无水乙醇(200 ml)中回流 4 小时。适当浓缩后静置。引进晶种即有结晶析出，过滤，粗产品用 95% 乙醇重结晶得化合物 7。

N-(取代苯甲基)-对异丙氧基苯胺(8)

将硼氢化钾(18 g, 0.33 mol)分批加到化合物 7(0.04 mol)的甲醇(400 ml)溶液中，加完后放置半小时，在 60° 水浴上温热 2 小时，并不断搅拌，以后再回流 2 小时。适当浓缩后倾入冷水中，即有白色沉淀产生，过滤。固体用 95% 乙醇重结晶得化合物 8。

Tab 1 Analytical data of substituted N-alkyl phenanthridinium bromides

Compound	Formula	MP °C	Yield %	Elemental analysis					
				Calcd			Expt		
				C %	H %	N %	C %	H %	N %
3 _a	C ₁₅ H ₁₂ NO ₃ Br	>300(dec)	74.5	53.91	3.62		53.68	3.82	
3 _b	C ₁₆ H ₁₄ NO ₃ Br	294-6 (dec)	73.1	55.19	4.05	4.02	55.18	4.07	3.97
4 _a	C ₁₆ H ₁₆ NO ₃ Br	244-5 (dec)	78.8	54.87	4.61		54.66	4.59	
4 _c	C ₁₇ H ₁₈ NO ₃ Br·H ₂ O	234-6 (dec)	79.7	53.41	5.27	3.66	53.58	4.98	3.60
7 _a	C ₁₇ H ₁₆ NO ₃ Br	85-6	91	56.37	4.45	3.86	56.08	4.77	3.84
7 _b	C ₁₈ H ₂₀ NO ₃ Br	93-4	91	57.15	5.32	3.71	56.81	5.33	3.60
8 _a	C ₁₇ H ₁₈ NO ₃ Br	74-5	86	56.06	4.70	3.77	56.11	4.54	3.85
8 _b	C ₁₈ H ₂₂ NO ₃ Br	52-3	84	56.85	5.83	3.68	56.71	5.90	3.60
9 _a	C ₁₇ H ₁₅ NO ₃	131-2	33	72.58	5.37	4.98	72.63	5.16	5.14
9 _b ·HCl	C ₁₈ H ₁₉ NO ₃ ·HCl	239-45(dec)	41	64.76	6.04	4.20	64.55	6.09	4.28
10 _a	C ₁₈ H ₁₈ NO ₃ · $\frac{1}{2}$ H ₂ O	275 (dec)	95	50.01	4.43	3.24	50.22	4.66	3.06
10 _c	C ₂₂ H ₂₄ NO ₃ I	228 (dec)	85	52.98	5.34	3.09	53.17	4.94	3.27
11 _a	C ₁₈ H ₁₈ NO ₃ Cl·2H ₂ O	263 (dec)	68	58.77	6.03	3.81	58.41	6.00	3.86
11 _b	C ₁₈ H ₂₀ NO ₃ Cl· $2\frac{1}{2}$ H ₂ O	261 (dec)	77	58.38	6.44	3.58	58.76	6.06	3.66
11 _c	C ₁₈ H ₂₂ NO ₃ Cl· $2\frac{1}{2}$ H ₂ O	184-90(dec)	70	58.08	6.93	3.56	57.66	7.13	3.38
12 _a	C ₁₄ H ₁₀ NO ₃ Br	>300(dec)	78	52.52	3.15		52.71	3.32	
12 _b	C ₁₈ H ₁₄ NO ₃ Br	241-3 (dec)	78	53.59	4.20	4.17	53.94	4.23	4.04
8 _a ·HCl	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃ BrCl	191-3 (dec)	77	50.95	4.78	3.50	50.87	4.74	3.47
8 _b ·HCl	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃ BrCl	176-7 (dec)	78	51.88	5.56	3.36	52.06	5.66	3.35

取代菲啶(9a)

用 125W 高压汞灯照射含有化合物 8 (0.5 g) 和氢氧化钠 (0.5 g) 的乙腈水溶液 (9:1) (600 ml) 并不断通入氮气。1.5 小时后再加氢氧化钠 (4 g)，继续滴入含有化合物 8 (4 g) 的乙腈水溶液 200 ml。滴完后继续光照 6 小时。蒸去乙腈水溶液，残余物中加入水 (150 ml)，用 2 × 150 ml 氯仿萃取。氯仿提取液以水洗之，干燥 (K₂CO₃) 后过滤，蒸去氯仿得棕色物，用硅胶柱层析，乙醚洗脱。固体用乙醇重结晶得化合物 9a。化合物 9b 如上法制备但不易提纯，因此制取其盐酸盐，方法如下：柱层析所得油状 9b 溶于丙酮 (40 ml) 中，加盐酸乙醇溶液 (2 ml)，放置得固体，甲醇重结晶。

取代菲啶碘甲烷季铵盐(10a)

化合物 9a (300 mg) 溶于苯 (7 ml) 中，加碘甲烷 (7 ml)。振摇后放置过夜，过滤。固体用乙醚洗涤后在甲醇中重结晶得产品 10 a。10 c 可以用相同方法制备。

取代菲啶碘乙烷季铵盐(10b)

化合物 9a (300 mg) 和碘乙烷 (8 ml) 混合后回流 36 小时，有结晶析出，过滤。粗制品以乙醚洗涤，在甲醇中重结晶得化合物 10 b。化合物 10 d 可以用相同方法制备之。

取代菲啶氯烷季铵盐(11a)

A 法：将化合物 10 a (100 mg) 溶于盐酸乙醇溶液 (5 ml) 和甲醇 (5 ml) 中，回流半小时后徐徐蒸去溶剂。残余物再以盐酸乙醇处理一次。所得固体用乙醇重结晶得 11 a。化合物 11 b、11 c 和 11 d 可用上述方法制备。

B 法⁽⁸⁾：将化合物 10 a (100 mg) 分批加入 10% 氯化钠水溶液 (20 ml) 中，搅拌之，约半小时加完，继续搅拌半小时，过滤。固体从稀盐酸中重结晶后再以适当溶剂中重结晶，得化合物 11 a。化合物 11 b、11 c 和 11 d 也可用 B 法制备。

Tab 2 NMR Data (100MC, TMS, TFA)

Compound 化 合 物	δ ($\text{CH} \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$)	$\delta(\text{OCH}_3)$	δ (other protons)
3 _a			4.21(s, 3H, NCH ₃) 8.70(s, 1H, CH=N)
3 _b			1.46(t, J=6, 3H, CH ₃) 8.76(s, J=6 1H, CH=N ⁺) 4.62(q, J=6, 2H, CH ₂)
4 _a *		3.92(s) 4.10(s)	4.24(s, 3H, -NCH ₃) 9.56(s, 1H, -CH=N ⁺ <)
4		3.76(s) 3.88(s)	8.90(s, 1H, -CH=N ⁺ <)
7 _a	1.02(d, J=6) 4.40(m)		8.68, 8.84 (t, 1H, -CH=N-)
7 _b	1.00(d, J=6) 4.30(m)	3.56(s) 3.64(s)	8.64 8.82(t, 1H, -CH=N-)
9 _a	1.10(d, J=6) 4.53(m)		8.58 (d, J=8, 1H -CH=N-)
9 _b	1.06(d, J=6) 4.50(m)	3.76(s) 3.88(s)	8.78 (s, 1H, -CH=N-)
10 _a	1.06(d, J=6) 4.50(m)		4.16 (s, 3H, -NCH ₃) 8.68 (s, 1H, CH=N ⁺ <)
10 _b	1.12(d, J=6) 4.54(m)	3.77(s) 3.88(s)	1.44 (t, J=6, 3H, CH ₃) 8.94(s, 1H, CH=N ⁺ <) 4.60 (m, 3H, NCH)
11 _a	1.06(d, J=6) 4.50(m)		4.16 (s, 3H, -NCH ₃) 4.60(m, 3H, NCH ₂ , -CH< 8.68 (s, 1H, -CH=N ⁺ <)
11 _b	1.14(d, J=6) 4.43(m)		8.74 (s, 1H, -CH=N ⁺ <)
11 _c	1.36(d, J=6) 5.14(m)	3.98(s) 4.18(s)	4.52 (s, 3H, -N-CH ₃) 9.72 (s, 1H, -CH=N ⁺ <)
12 _a			8.70 (d, J=6, 1H, -CH=N-)
12 _b		3.76(s) 3.88(s)	8.78(s, 1H, -CH=N-)

4, 用DMSO-d₆作为溶剂。

2-羟基-取代菲啶溴烷季铵盐(3a)

将化合物 10 a(450 mg)溶于冰醋酸(45 ml)和氢溴酸(3 ml), 在 100°C 加热 4 小时。静置(或适当浓缩后), 即有结晶析出, 过滤。粗制品在适当溶剂中重结晶得产品 3 a。化合物 3 b、3 c 和 4 b 可以用上述方法制备而得。化合物 12 a 和 12 b 亦可用此法制备。

致谢 核磁共振和元素分析由本所分析室所做; 部分元素分析由复旦大学所做, 动物试验由本所药理室王龙江所做, 特此致谢。

参 考 文 献

1. Normatov M, et al: Alkaloids of *Ungernia minor*. Structure of Ungminorine and Ungeremine. *Uzb Khim Zh* 9:25, 1965
2. 翁尊尧等: 新的抗肿瘤物质——石蒜碱内铵盐(AT-1840)。科学通报 6:285, 1976
3. 张素胤等: 石蒜碱内铵醋酸盐对动物肿瘤的疗效和毒性。中国药理学报 2:41, 1981
3. 翁尊尧等: 新的抗肿瘤物质——恩其明(Ungeremine, AT-1840)及其有关化合物的合成和构效关系。药学学报 17:744, 1982
4. Zee-Cheng K Y, et al: Common receptor-complement feature among some antileukemic compounds. *J*

- Pharm Sci* 59:1630,1970
- Allen C F H, et al: o-n-Butoxynitrobenzene. *Org Syn Coll* 3:140,1955
 - Tsatsas G, et al: Amidines and local anesthetic activity. 1. N, N-Disubstituted acetamidines. *Ann Pharm-Franc* 14:607,1956 CA 51:8669 h, 1957
 - Allen C F H, et al: Z-Amino-p-cymene. *Org Syn Coll* 3:63,1955
 - Gillespie J P, et al: Synthesis of fagaronine. An anticancer benzophenanthridine alkaloid. *J Org Chem* 39:3239,1974

ANTITUMOUR ACTIVITY OF OPEN RING ANALOGUES OF UNGEREMINE (AT-1840)—PREPARATION OF SUBSTITUTED N-ALKYL PHENANTHR- IDINIUM BROMIDES BY A PHOTOCHEMICAL REACTION

WENG Zun-yao (Owen Tsung-yao) and ZHANG Guang-rong*

(Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica;

*Department of Chemistry, Fudan University Shanghai)

ABSTRACT

Ungeremine (I, AT-1840), an alkaloid from *Ungernia minor*, possesses a marked inhibiting activity against the following experimental tumour systems: EAC, L1210, P388, Lewis lung carcinoma, Yoshida sarcoma and sarcoma 180.

In the present investigation, a number of its open ring analogues, 2-hydroxy-8, 9-methylenedioxy-N-alkyl-phenanthridinium bromides (3) and their 8, 9-dimethoxy-analogues, (4) were prepared from bromopiperonal and bromodimethoxy-benzaldehyde through a 5-step synthesis including photochemical cyclization.

Bromobenzaldehydes were converted to their Schiff bases (7) with 4-isopropoxy-aniline, followed by reduction to secondary amines (8) by sodium borohydride or potassium borohydride. Phenanthridines (9) were obtained by photochemical cyclization and subsequently were transformed to their quaternary ammonium iodides (10). The final products (3a, 3b, 4a and 4b) were obtained by treating compounds (10) with a mixture of hydrobromic acid and acetic acid.

From the intermediates (9a) and (9b) 2-hydroxy phenanthridines (12a), (12b) and 2-isopropoxy-phenanthridinium bromides were also prepared.

Compound 1 with a potential betain structure (a positive quaternary amine group and a negative phenolic group) on the one hand and a methylene N-O-O triangle on the other attracted our attention to study the contribution of these features. The above compounds were thus prepared and screened on EAC in mice. The SAR was discussed as follows:

- Compounds 9 and 12, lacking phenolic group or a quaternary amine group, cannot form betaine intramolecularly and thus showed no activity.

2. Although compounds (4a and 4b) are betaines, they do not have methylene N-O-O triangle in their molecules and also showed no activity.
3. Compounds such as 3a and 3b do have both betaine and methylene N-O-O triangle in their structures. But 3a exhibited marked activity while 3b did not. It has been known that ethyl group at the quaternary N-atom is much easier to be eliminated. It is reasonable to assume that 3b can be converted to 12a by eliminating the ethyl group *in vivo*, thus losing its betaine forming ability.
4. It seems that both betaine and methylene N-O-O triangle in ungeremine may be critical for exhibiting antitumour ability. Fission of the B ring of ungeremine will not affect its betaine forming ability and the antitumour activity of the alkaloid is maintained.

Key words Ungeremine; Antitumor activity; Ehrlich acites carcinoma; Structure-action Relationship; Photochemical reaction.