

文章编号:1001-2443(1999)03-0216-03

环(L-苯丙-L-脯)的合成

陶兆林¹, 汪有初²

(1. 蚌埠医学院, 安徽 蚌埠 233003; 2. 中国科学院昆明植物研究所植物化学开放研究实验室, 云南 昆明 650204)

摘要:从L-苯丙氨酸和L-脯氨酸出发, 分别保护两种氨基酸的N端和C端, 将N端保护的L-苯丙氨酸与C端保护的L-脯氨酸经DCC缩合, 得直链二肽, 再经Pd/C催化氢化, 甲醇中回流, 得环(L-苯丙-L-脯), 结构经HREI-MS、DEPT NMR等波谱证实。

关键词:L-苯丙氨酸; L-脯氨酸; 环肽; 环(L-苯丙-L-脯); DCC缩合

中图分类号:O629.72

文献标识码:A

环二肽

环二肽(Cyclic dipeptide)又叫2,5-二酮哌嗪的衍生物(2,5-diketopiperazine derivatives), 作为环肽成员中最小的一类化合物, 在自然界主要存在于真菌^[1]。汪有初等从一些中药中也分离到一些环二肽。由于其具有多种生物活性、结构不复杂、原料易得、合成方法多等, 在这一领域的研究时有报道。到目前为止, 发现的环二肽具有植物生长调节剂的作用, 如从真菌 *Penicillium* sp. 中分离到的环(L-色-L-苯丙)^[1]、合成的环(L-羟脯-L-亮)的衍生物^[2]、镇痛活性, 如合成的环(L-酪-L-精)^[3]。除此之外, 2,5-二酮哌嗪衍生物, 如环(L-丙-L-丙)、环(L-脯-L-亮)可用于合成麦角(ergot)生物碱的中间体^[4]。环二肽的制备方法主要有Nitecki方法^[5]、Suzuki方法^[6]、Takahashi方法^[7]、Ueda方法^[8]及固相合成法^[9]等。本文作者从著名中药五味子(*Schisandra chinensis*)中首次分离得到环(L-苯丙-L-脯)含量低, 用于活性筛选困难。故从L-脯氨酸、L-苯丙氨酸出发, 参照Ueda方法^[8]经四步反应合成了目标物: 环(L-苯丙-L-脯)(见图1)。

1 实验部分

1.1 实验试剂与仪器 试剂: L-苯丙氨酸, L-脯氨酸(层析纯, 上海康达氨基酸厂), 苄氧酰氯(ZCI)(和光纯药工业株式会社), DCC(二环己基碳二酰亚胺), 三乙胺(TEA), 柱层层析TLC板, 柱层层析硅胶H(10~40 μ)(青岛海洋化工厂), 茚三酮显色剂(0.2%茚三酮丙酮溶液)。

仪器: 磁力搅拌器(78HW-型, 杭州仪表电器厂), 显微熔点测定仪(PHMK, 79/2288, 温度计未

校正), 质谱仪(VG Auto Spec-3000型), 红外分光光度计(Perkin-Elmer755型), 紫外分光光度计(UV-210A), 核磁共振仪(Bruker AM-400兆)。

1.2 实验步骤

1.2.1 Z-L-Phe-OH(3)的合成 将L-苯丙氨酸(2a, 4.130g, 25mmol)和碳酸氢钠(4.200g, 50mmol)溶解在50ml水中, 置于250ml反应瓶中, 滴加溶解在50ml二氧六环的ZCl(5.100g, 30mmol)中, 将反应混合物于室温下磁力搅拌48小时。TLC检测, 展开剂为甲醇: 仿氯=5:95, 碘显色, 挥发碘后, 在烘箱(120℃)中用浓盐酸水解1小时, 茚三酮显色。待反应完全后, 浓缩, 用乙酸乙酯萃取(2×50ml), 0.5M柠檬酸酸化至pH=5, 乙酸乙酯萃取(3×100ml), 合并乙酸乙酯层, 无水硫酸钠干燥, 用薄膜旋转蒸发器除去乙酸乙酯, 得粗品Z-L-Phe-OH(3, 6.766g, 90.5%)。此粗品无需纯化, 直接用于下一步反应。FAB-MS m/z : 298[M-1]⁺(85%), 190(100%), 164(8%), 91(2%)。

1.2.2 H-L-Pro-OMe(4)的制备 取250ml圆底烧瓶, 加入干燥的甲醇160ml, 用水盐浴将其冷却到-10℃。搅拌下加入SOCl₂(20ml, 0.278mmol), 10分钟后, 再加入L-脯氨酸(2b, 25g, 0.158mmol)。此过程保持在0℃以下, 加完后, 在室温下磁力搅拌48小时。TLC检测, 展开剂为甲醇: 氯仿=5:95, 碘显色, 挥发碘后, 在浓盐酸中水解, 茚三酮显色。待反应完全后, 减压浓缩, 再用甲醇反复减压浓缩, 得粗品盐酸盐(4, 100%)。此盐酸盐无需纯化, 直接用于下一步反应。

1.2.3 Z-L-Phe-L-Pro-OMe(5)的制备 在100ml

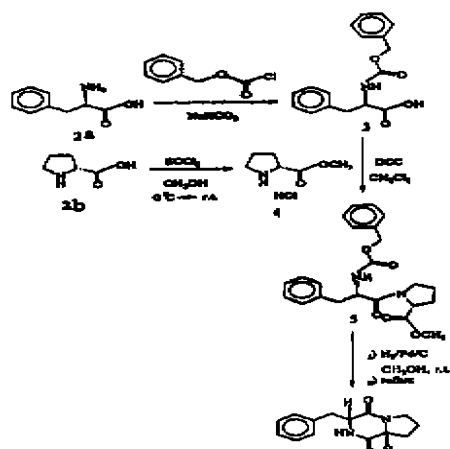


图 1 环(L-苯丙-L-脯)的合成路线

锥形瓶中加入 Z-L-Phe-OH (3.5.98g, 20mmol), H-L-Pro-OMe·HCl (4.3.30g, 20mmol), TEA (2.81g, d = 0.72, 20mmol), CH₂Cl₂ (60ml), 在 0℃ 冰浴下加入 DCC (4.532g, 22mmol), 在 0℃ 磁力搅拌 4 小时, 室温搅拌过夜, TLC 检测, 展开剂为氯仿: 异丙醇 = 96:4, 碘显色, 浓盐酸水解后用茚三酮显色, 反应完全后, 有白色沉淀生成, 沉淀为 N,N-二环己基脲, 过滤, 滤液减压蒸馏, 将浓缩物溶于乙酸乙酯, 依次用 2% 盐酸、5% 碳酸氢钠、水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得淡黄色固体, 乙酸乙酯-乙醚-石油醚重结晶, 得产物。由于产物不纯, 用氯仿: 丙酮 = 100:1 湿法装柱, 进行柱层析纯化, TLC 检测 (展开剂为氯仿: 丙酮 = 96:4) 为两斑点, 用石油醚: 乙酸乙酯 = 8:2 湿法上柱, 进一步纯化, TLC 检测, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 6:4, 分离得纯物质 Z-Phe-Pro-OMe (5.6.511g, 79.4%)。EI-MS m/z: 410 [M]⁺ (28%), 379 (7%), 351 (5%), 319 (58%), 303 (5%), 275 (68%), 259 (69%), 243 (8%), 210 (69%), 200 (61%), 128 (69%), 91 (100%), 70 (67%)。

1.2.4 环(L-Phe-L-Pro-OMe) (1) 的合成 将 Z-L-Phe-L-Pro-OMe (5.6.511g, 15.88mmol) 溶解在甲醇中, 室温下 (30℃) 在 Pd/C 催化剂中磁力搅拌下进行氢解, TLC 检测, 展开剂为氯仿: 异丙醇 = 96:4, 盐酸水解, 茚三酮显色, 反应约 3 小时后, 将催化剂

滤掉, 用氯仿: 丙酮 = 98:2 湿法上柱, 进行柱层析纯化, TLC 检测, 展开剂为氯仿: 异丙醇 = 96:4, 浓盐酸水解, 茚三酮显色, 反应产物减压蒸馏, 浓缩物在甲醇中溶解, 回流, 减压蒸馏, 浓缩物用甲醇-乙醚重结晶, 得产物 (1.3.4g, 87.8%)。熔点为 123~126℃ (文献值^[6]: 132~133℃), [α]_D²⁰ -101.66 (CH₃OH, C 0.322), [文献值^[6]: -89° (H₂O, C 0.3)]。

IR (cm⁻¹, KBr 压片): 3250 (NH), 1650 (C=O), 1595, 1485, 1440 (苯环); EI-MS m/z: 244 [M]⁺ (80%), 215 (1.5%), 201 (5.5%), 173 (5%), 153 (46%), 125 (100%), 91 (72%), 77 (16%), 70 (72%)。¹H-NMR [δ (ppm), 氘代吡啶]: 7.26 (5H, m), 4.56 (1H, br. s.), 4.13 (1H, t), 3.60 (1H, m), 3.32 (2H, m), 2.14 (2H, m), 1.78 (2H, m), ¹³C NMR [δ (ppm), 氘代吡啶]: 170.13, 165.81, 136.0, 129.3, 129.1, 127.6, 129.1, 129.3, 59.2, 56.2, 45.5, 36.9, 28.4, 22.5。

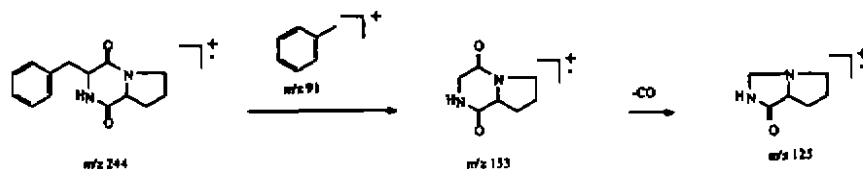
2 结果与讨论

2.1 关于环(L-苯丙-L-脯)的合成研究 从天然 L-苯丙氨酸, L-脯氨酸出发, 经 N 端苄氧羰基, C 端甲酯化保护, 接着用 DCC 缩合得 N 端, C 端保护的直链二肽, 在经 Pd/C 催化脱苄氧羰基后, 在甲醇中回流得环(L-苯丙-L-脯), 总产率为 64%, 此合成方法原料易得, 总产率高, 简便可行。

2.1.1 关于环(L-苯丙-L-脯)的纯度的讨论 所合成的目标物的熔点, 旋光度与文献值稍有差别, 可能是因为反应过程中两种 L-氨基酸会有一定程度的消旋化为 D-氨基酸, 从而导致环(L-苯丙-L-脯)中可能含少量的环(D-苯丙-D-脯)。

2.1.2 关于环(L-苯丙-L-脯)的质谱 MS 解析 从环(L-苯丙-L-脯)的质谱图中, 很容易找到分子离子峰 244 [M]⁺ (80%), 分子离子峰失去苄基为 153 (46%), 再失去羰基 28 即为 125 (100%), 91 (72%) 为苄基, 77 (16%) 为苯基, 主要裂解示意图如下:

2.1.3 关于环(L-苯丙-L-脯)的核磁共振谱 NMR



解析 未见文献对环(L-苯丙-L-脯)的核磁共振谱 NMR 进行解析, 我们对其进行了 ¹H NMR 和 ¹³C

NMR 的归属, 见表 1。

2.2 关于环(L-苯丙-L-脯)的活性 正在与中国科

表1 环(L-苯丙-L-脯)的¹H和¹³C NMR数据

氢的化学位移	氢的归属	碳的化学位移	碳的归属
7.26(5H,m)	苯环上的5个氢	136.0(α),129.3(β),129.1(γ), 27.6(δ),129.1(γ'),129.3(β')	苯环的6个碳
4.56(1H,br.s)	N-H	56.2	苯丙氨酸的α-碳
4.13(1H,t)	脯氨酸的α-H	169.3或165.1	脯氨酸的羧基碳
3.60(1H,m)	苯丙氨酸的β-H	169.3或165.1	苯丙氨酸羧基碳
3.32(2H,m)	脯氨酸的δ-H	59.2	脯氨酸的α-碳
2.14(2H,m)	苯丙氨酸和脯氨酸的β-H	45.5	脯氨酸的δ-碳
1.78(2H,m)	脯氨酸的β-H和γ-H	22.5	脯氨酸的γ-碳
		28.4	脯氨酸的β-碳
		36.9	苯丙氨酸的β-碳

学院上海药物所、中国科学院昆明动物所、昆明医学院等单位合作,对合成的环(L-苯丙-L-脯)进行抗癌、心血管、钙离子拮抗及抗PAF等模型的活性筛选。

参考文献:

- [1] Kimura Y, Tami K, Kajima A, et al. Cyclo-(L-tryptophyl-L-phenylalanyl), a new plant growth regulator from the fungus *Penicillium sp* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(3):665~669
- [2] Ienaga Kazuharu, Nakamura Ko, Kurohashi Masaharu. Preparation of cyclo (L-hydroxy-prolyl-L-leucine) derivatives as plant growth regulators[M]. *Jpn Kokai Tokkyo Koho JP*, 63,135,386[88,135,386]
- [3] Grelan Pharamaceutical Co. Led cyclic peptides with analgesic activity[M]. *Jpn Kokai Tokkyo Koho JP*, 81,02,969
- [4] Evzen K, Jiri K, Josef S, et al. 2,5-dioxopiperazine derivatives[J]. *Czech CS* 232,319.(CA Vol.107,134677n)
- [5] Nitecki DE, Halpern B, Westley JW. A simple route to sterically pure diketopiperazines[J]. *J Org Chem*, 1968, 33:864~866
- [6] Suzukuki K, Sasaki Y, Endo Y, et al. Acetic acid-catalyzed diketopiperazine synthesis[J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, 29(1):233~237
- [7] Takahashi T, Hoshino H, Oya M. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, 1979, 53(2), 69~72
- [8] Giralt E, Eritja R, Pedroso E. Diketopiperazine formation in acetamido- and nitrobenzamido-bridged polymeric supports [J]. *Tetrahedron Lett*, 1981, 22(38), 3779~3782
- [9] Ueda T, Saito M, Karo T, et al. Facile synthesis of cyclic dipeptides and detection of racemization[J]. *Bull Chem Soc Jpn*, 1983, 56:568

SYNTHESIS OF CYCLO(L-PHE-L-PRO)

TAO Zhao-lin¹, WANG You-chu²

(1. Bengbu Medical College, 233003, Bengbu, Anhui, China; 2. Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, 650204, Kunming, Yunnan, China)

Abstract: Cyclo(L-Phe-L-Pro) were synthesized from L-Phenylalanine and L-Proline via DCC condensation, Pd/C catalytic hydrogenation and refluxing in methanol. Its structure was elucidated by HREI-MS and DEPT NMR.

Key words: L-Phenylalanine; L-Proline; Cyclopeptide; Cyclo(L-Phe-L-Pro); DCC condensation