

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПОЛИМЕРЫ

IV. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ
 ПОЛИПЕПТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ НЕСКОЛЬКО
 ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ГРУПП

Ц. Е. АГАДЖАНЯН, К. Л. АМБОЯН, Б. Т. ГАРИБДЖАНЯН и
 А. А. ЧАЧОЯН

Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мияджояна
 АН Армянской ССР (Ереван)

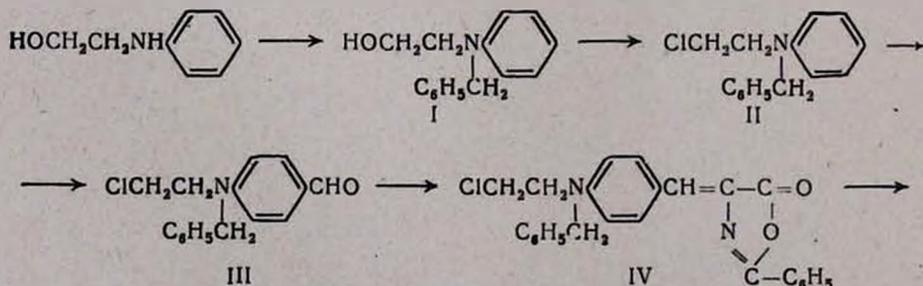
Поступило 19 VII 1972

Синтезированы поли-*l*-(*N*-β-хлорэтил-*N*-бензил)амино-DL-фенилаланин, а также полипептиды L-цистина, содержащие на C-концах остатки этиленimina, бис-(β-хлорэтил)аминa, *N,N*-бис-(β-хлорэтил)гидразина, *N,N*-бис-(β-хлорэтил)-*l*-фенилендиаминa или этилового эфира сарколизина. Показано, что все они в отношении асцитной карциномы Эрлиха неактивны. Некоторые из них проявляют умеренную противоопухолевую активность в отношении карциносаркомы Уокера и саркомы 45.

Табл. 1, библ. ссылок 2.

В продолжение ранее начатых работ по получению полипептидов, содержащих на C-конце молекулы цитотоксическую группу [1], в настоящем сообщении описываются синтез и противоопухолевая активность некоторых полипептидов, содержащих в своем составе несколько остатков моно- и бифункциональных алкилирующих аминов. Были синтезированы два вида производных полипептидов: полипептид поли-[*l*-(*N*-β-хлорэтил-*N*-бензил)амино-DL-фенилаланин], все аминокислотные остатки которого содержат β-хлорэтиламинную группировку, и полипептиды L-цистина, содержащие остатки алкилирующих аминов лишь на карбоксильных концах пептидных цепей.

Для получения поли-[*l*-(*N*-β-хлорэтил-*N*-бензил)амино-DL-фенилаланина] предварительно был синтезирован *l*-(*N*-β-хлорэтил-*N*-бензил)амино-DL-фенилаланин (V) по схеме



При этом, согласно [2], полученные полипептиды L-цистина (VIII) должны содержать в каждой молекуле по несколько цитотоксических групп. ИК спектры подтверждают строение полипептидов. Все препараты при испытании на мышах оказались малотоксичными веществами. LD₁₀₀ при однократном внутривнутрибрюшинном введении составляет 3000—5000 мг/кг. Препараты не угнетают рост асцитной карциномы Эрлиха. В то же время некоторые из них проявляют противоопухолевую активность в отношении саркомы 45 и карциносаркомы Уокера 256 (табл.).

Экспериментальная часть

N-β-Оксиэтил-*N*-бензиланилин (I). Раствор 3 г (0,022 моля) *N*-2-оксиэтиланилина, 2,78 г (0,022 моля) хлористого бензила и 1,8 г (0,022 моля) бикарбоната натрия в смеси 25 мл этанола и 15 мл воды кипятят 3 часа. После охлаждения прибавляют 60 мл воды, смесь насыщают хлористым натрием и экстрагируют эфиром. Эфирный раствор сушат сульфатом натрия и упаривают. Остаток перегоняют в вакууме. Получено 3,55 г (73,7%) бесцветной жидкости с т. кип. 215—225°/17—18 мм; R_f 0,51 (силикагель—гипс, бензол—спирт, 15:1); n_D^{20} 1,6015; d_4^{20} 1,1031; M_{R_D} найдено 70,64, вычислено 69,73; молекулярный вес 227 (масс-спектрометрически).

N-β-Хлорэтил-*N*-бензиланилин (II). К раствору 30 г (0,13 моля) I в 100 мл абс. бензола при охлаждении и перемешивании по каплям прибавляют 20 г (0,13 моля) свежеперегнанной хлорокиси фосфора. Смесь перемешивают 20 мин. при комнатной температуре, затем кипятят 1 час. После охлаждения прибавляют ~150 г льда. Бензольный слой отделяют, а водный экстрагируют бензолом. Объединенный бензольный слой сушат сульфатом магния и упаривают, остаток перегоняют в вакууме. Получено 26,2 г (80,2%) II; т. кип. 170—180°/14 мм; R_f 0,9 (силикагель—гипс, пропанол—вода, 7:3). В масс-спектре имеются молекулярные пики с $\frac{m}{e} = 245$ и 247.

n-(*N*-β-Хлорэтил-*N*-бензил)аминобензальдегид (III). К охлажденному раствору 2,45 г (0,016 моля) хлорокиси фосфора в 15 мл диметилформамида при перемешивании прибавляют по каплям охлажденный раствор 4 г (0,016 моля) II в 15 мл диметилформамида. Смесь перемешивают 15 мин. при 5° и 2 часа при 40°, охлаждают до комнатной температуры и выливают на 50 г льда. Выпавший маслянистый осадок экстрагируют эфиром. Выход 2,75 г (61,1%); R_f 0,78 (окись алюминия, пропанол—вода, 7:3). В масс-спектре имеются молекулярные пики $\frac{m}{e} = 273$ и 275.

4-*n*-(*N*-β-Хлорэтил-*N*-бензил)аминобензилиден-2-фенилоксазол-5-он (IV). Раствор 2,75 г (0,01 моля) III, 2 г (0,011 моля) гиппуровой кислоты, 0,82 г (0,01 моля) ацетата натрия и 3,3 мл уксусного ангидрида в

10 мл абс. бензола перемешивают при нагревании на кипящей водяной бане 3 часа и оставляют на ночь. Выпавший осадок фильтруют, промывают небольшим объемом воды и бензола. Получено 2,4 г (58,4%) желтых кристаллов; т. пл. 134—135° (из бензола); R_f 0,9 (окись алюминия, пропанол — вода, 7:3). Найдено %: С 73,56; Н 5,20; N 6,12; Cl 7,80. $C_{23}H_{21}N_2O_2Cl$. Вычислено %: С 72,02; Н 5,04; N 6,73; Cl 8,59. ИК спектр: ν 1770, 1790 ($CO_{\text{лактол}}$); 1585, 1600, 1610 ($C=C$); 1650 cm^{-1} ($C=N$).

n-(*N*- β -Хлорэтил-*N*-бензил)амино-*DL*-фенилаланин (V). К раствору 21 г (0,05 моля) IV в смеси 115 мл уксусной и 230 мл соляной кислот при охлаждении и перемешивании в течение 1 часа прибавляют 45 г цинковой пыли и перемешивают при комнатной температуре еще 2 часа. На следующий день фильтруют, разбавляют двойным количеством воды и к смеси прибавляют насыщенный раствор ацетата натрия до pH 3,5. Образовавшийся маслянистый осадок выделяют, прибавляют к нему 130 мл 25%-ной соляной кислоты, кипятят 3 часа и оставляют на ночь, бензойную кислоту удаляют фильтрованием, фильтрат разбавляют двойным количеством воды, кипятят его с активированным углем и после его охлаждения до 20° прибавляют насыщенный раствор ацетата натрия до pH 3,5. Выпавший осадок фильтруют, промывают водой и спиртом. Выход 6,2 г (38,7%); т. пл. 175—178° (разл.); R_f 0,16 (окись алюминия, пропанол—вода, 7:3). Найдено %: С 63,44; Н 6,10; N 7,94; Cl 11,32. $C_{18}H_{21}N_2ClO_2$. Вычислено %: С 64,96; Н 6,31; N 8,42; Cl 10,67.

N-Карбоксиангидрид *n*-(*N*- β -хлорэтил-*N*-бензил)амино-*DL*-фенилаланина (VI). В суспензию 3,5 г V в 175 мл сухого тетрагидрофурана; содержащего 7 мл уксусного ангидрида, при перемешивании пропускают фосген до растворения основной массы (6 час). Далее через раствор пропускают сухой воздух в течение 1,5 час. и фильтруют, фильтрат упаривают в вакууме при температуре не выше 50° до ~20 мл объема. Остаток протирают с несколькими порциями абс. петролейного и диэтилового эфира, фильтруют, промывают абс. эфиром. Выход 3,25 г (87,8%), т. пл. 58—60° (разл.). Найдено %: N 7,50; Cl 9,29. $C_{16}H_{19}N_2ClO_3$. Вычислено %: N 7,82; Cl 9,91. ИК спектр: ν 1785, 1855 (CO анг.), 1520 cm^{-1} (амид II).

Полимеризация VI в VII. К отфильтрованному раствору 3 г (0,0084 моля) VI в 60 мл сухого диоксана прибавляют 0,03 мл (0,00028 моля) диэтиламина в 10 мл диоксана и оставляют при комнатной температуре на 6 дней. Растворитель отгоняют в вакууме, остаток протирают диоксаном, многократно петролейным эфиром, затем водой и сушат. Выход VII 2 г (75,2%), т. пл. 78—80° (разл.). Найдено %: N 8,56; Cl 11,40. $(C_{18}H_{19}N_2ClO)_n$. Вычислено %: N 8,90; Cl 11,29. ИК спектр: ν 1520 (амид II), 1610 ($C=C$ аром.), 1640—1660 cm^{-1} (CO амидн.). Молекулярный вес ~5500 (по аминному азоту методом Ван-Сляйка).

Поли-*L*-цистины, содержащие цитотоксические группы (VIII). К 3%-ному раствору *N,N'*-дикарбоксиангидрида *L*-цистина в сухом этилацетате прибавляют этилацетатный раствор этиленимина, бис-(β -хлор-

Таблица

Полипептиды и их противоопухолевая активность

Полипептид**	Условия полимеризации		Выход, %	Т. разл., °С	Анализ, %					Противоопухолевая активность, % торможения		
	[A]/[J]	время, сутки			найдено			вычислено*		асциг Эрлиха	карцино-саркома Уокера	саркома 45
			Cl	N	S	N	S					
VII					см. в тексте					не активен	35,7	не активен
VIII $\left[\text{HN} \left\langle \begin{array}{ c } \hline \\ \hline \end{array} \right. \right]$	5:1	4	92	>230	—	14,87	27,67	15,21	28,98	не активен	не активен	не активен
VIII $[\text{HN}(\text{CH}_2\text{CN}_2\text{Cl})_2]$	10:1	2	96	>220	10,02	11,10	23,24	12,85	24,85	не активен	32,6	47,5
VIII $[\text{NH}_2-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2]$	10:1	5	74	>230	9,93	13,28	23,26	14,62	24,48	не активен	73,0	не активен
VIII $\left[\text{NH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2 \right]$	10:1	2	73	>220	10,02	11,34	22,18	13,15	21,01	не активен	не активен	не активен
VIII $\left[\text{NH}_2-\underset{\text{COOC}_2\text{H}_5}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2 \right]$	5,5:1	5	73	>210	10,84	10,00	15,18	10,90	15,14	не активен	60,0	51,0

* По процентному содержанию найденного хлора, в случае VIII $\left[\text{HN} \left\langle \begin{array}{|c|} \hline | \\ \hline \end{array} \right. \right]$, исходя из [A]/[J].

** В скобках указано вещество, с помощью которого проведена полимеризация N,N'-дикарбоксангирида L-цистина, т. е. вещество, остатки которого входят в состав поли-L-цистина.

этил) амина, N,N-бис-(β-хлорэтил) гидразина, N,N-бис-(β-хлорэтил)-*p*-фенилендиамин или этилового эфира сарколизина. Колбу закрывают хлоркальциевой трубкой и оставляют при комнатной температуре в течение нескольких дней; выпавший осадок отфильтровывают, промывают этилацетатом, затем петролейным эфиром и сушат. Мольное соотношение N,N'-дикарбоксиангидрида L-цистина и инициатора ($[A]/[J]$) время полимеризации, выход, анализ и физико-химические константы приведены в таблице.

ԿՆԵՍԱՐԱՆՈՐԵՆ ԱԿՏԻՎ ՊՈԼԻՄԵՐՆԵՐ

IV. ՄԻ ՔԱՆԻ ՑԻՏՏՈՏՈՔՍԻԿ ԽՐՔԵՐ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ՊՈԼԻՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ՍԻՆՏԵԶ Լ ՆԱԿԱՆՈՒՌՈՒՑՔԱՅՈՒ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆ

Յ. Ս. ԱՂԱԶԱՆՅԱՆ, Կ. Լ. ՆԱՄՐՈՅԱՆ, Բ. Տ. ՂԱՐԻԲՋԱՆՅԱՆ Լ Ա. Ա. ՉԱՉՈՅԱՆ

Որպես ելանյութ օգտագործելով N-2-օքսիէթիլանիլինը, ազլակտոնային եղանակով սինթեզված է ω -(N-2-քլորէթիլ- α -N-բենզիլ)ամինա-DL-ֆենիլալանինը: Ստացված ամինաթթվի վրա ֆոսգեն ազդելով այն փոխարկված է համապատասխան N-կարբօքսիանհիդրիդի, իսկ վերջինս դիէթիլամինի օդնությամբ պոլիմերացված է 2-քլորէթիլամին խմբեր պարունակող պոլիպեպտիդի:

L-Ցիստինի N,N'-դիկարբօքսիանհիդրիդի պոլիմերացմամբ էթիլենիմինի, բիս-(2-քլորէթիլ)ամինի, N,N-բիս-(2-քլորէթիլ)հիդրազինի, N,N-բիս-(2-քլորէթիլ)- ω -ֆենիլենդիամինի կամ սարկոլիզինի էթիլէսթերի ներկայությամբ ստացված են վերջիններիս մնացորդներ պարունակող պոլի-L-ցիստիններ:

Ցույց է տրված, որ Ուոկերի կարցինոսարկոմայի և սարկոմա-45-ի նրկատմամբ նրանցից ոմանց հակաուռուցքային ակտիվությունը ցածր է, իսկ էրլիխի ասցիտային ուռուցքի նկատմամբ ակտիվ շեն:

BIOLOGICALLY ACTIVE POLYMERS

IV. SYNTHESIS OF POLYPEPTIDES CONTAINING SEVERAL CYTOTOXIC GROUPS AND STUDY OF THEIR ANTITUMOUR ACTIVITY

Ts. E. AGHAJANIAN, K. L. HAMBOYAN, B. T. GHARIBJANIAN and A. A. CHACHOYAN

Polypeptides containing more than one alkylating amines have been synthesized. Starting with N-2-oxyethylaniline, *p*-(N-2-chloroethyl-N-benzyl) amino-DL-phenylalanine has been synthesized by the azlacton method. Amino-acid produced has been transformed by the action of phosgene into the corresponding N-carboxyanhydride, and the latter, by means of diethylamine polymerized into a polypeptide containing 2-chloroethylamine groups. Moreover, through the polymerization of L-cystine N,N'-dicarboxyanhydride in the presence of ethyleneimine, *bis*-(2-chloroethyl)

amine, *N,N-bis*-(2-chloroethyl)hydrazine, *N,N-bis*-(2-chloroethyl)-*p*-phenylenediamine and the ethyl ester of sarcosine, L-cystine polypeptides, containing fragments of the above-mentioned groups, have been prepared.

It has been shown that some of them possess a low activity on Walker's corcinosarcoma and sarcoma-45, and are not active towards Ehrlich's ascitis tumour.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ц. Е. Агаджанян, К. Л. Амбоян, Б. Т. Гарибджанян, А. А. Чачоян, Арм. хим. ж., 25, 955 (1972); Ц. Е. Агаджанян, К. Л. Амбоян, Арм. хим. ж., 26, 135 (1973).
2. H. W. Jones, H. P. Lundgren, J. Am. Chem. Soc., 73, 5465 (1951).