

[illegible]

計畫主持人：郭悅雄
共同主持人：
計畫參與人員：蔡汝新

- ☐赴國外出差或研習心得報告一份
- ☐赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- ☐出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- ☐國際合作研究計畫國外研究報告書一份

中華民國 89 年 10 月 日

行政院國家科學委員會專題研究成果報告

抗腫瘤物及抗乙型肝炎之丁內醯衍生物之合成

Syntheses of Antitumor and Antihepatitis B virus derivatives of butenolactam

計畫編號：NSC 89-2314-B-002-131

執行期限：88 年 8 月 1 日至 89 年 7 月 31 日

主持人：郭悅雄 國立台灣大學化學系

計畫參與人員：蔡汝新(助理)

一、中文摘要

Pyrrole 作成 *N*-alkylpyrrole 以單重態氧在丙酮作氧化可得 *N*-alkyl-4-hydroxybutenolactam(共作 6 種衍生物)，並作其 *N*-alkyl-4-acetoxybutenolactam(6 種)衍生物。另外單重態氧在甲醇中作氧化，可使 *N*-alkylpyrrole 轉換成 *N*-alkyl-4-methoxybutenolactam 共 6 種衍生物。以 furfuryl alcohol 用單重態氧在二氯甲烷(-30°C)下作反應，然後以三苯磷作還原，可得 6-hydroxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one，將此化合物作成 6-acetoxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one。如果以 *m*-CPBA 直接氧化 furfuryl alcohol 在二氯甲烷作加熱回流，可獲 6-hydroxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one 之偶合物。以上所合成之化合物有些對乙型肝炎表面抗原有強抑制活性。

關鍵詞：抗乙型肝炎表面抗原；合成； Δ^2 -丁內醯胺；6-羥-2*H*-吡喃-3(6*H*)-酮

Abstract

N-alkylpyrroles prepared from pyrrole were oxidized with singlet oxygen in acetone solution to yield *N*-alkyl-4-hydroxybutenolactam (6-derivatives). Six *N*-alkyl-4-hydroxybutenolactam were acetylated with acetic anhydride and pyridine to obtained six corresponded *N*-alkyl-4-acetoxybutenolactams. As *N*-alkylpyrroles were treated with singlet oxygen in methanol solution to give corresponded *N*-alkyl-4-methoxybutenolactam (6 derivatives). Photooxygenated of

furfuryl alcohol in dichloromethane under -30°C and then subsequently reduced with triphenyl phosphine to produce 6-hydroxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one. 6-Acetoxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one can be prepared from 6-hydroxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one by acetylation. As the oxidation of furfuryl alcohol with *m*-CPBA in CH₂Cl₂ under reflux. The dimeric product was purified. Some of above products exhibited strong anti-HBVs Ag.

keywords : Anti-HBVsAg; Syntheses; butenolactame; 6-hydroxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one.

二、計畫緣由與目的

台灣地區罹患肝障礙病變，尤其病毒性肝炎偏高，而病毒性肝炎又以 B 型肝炎的比例偏高，B 型肝炎又是一種傳染性肝炎，其所引起的醫療、社會、經濟上的衝擊，人力及財力的損失實難以估計。十年來雖然全面施打 B 型肝炎疫苗，仍無法將肝障礙病變罹患之比例有效的降至最低。迄今尚無有效的肝炎治療藥物，國人一旦罹患，多會求助於中醫藥。以往一直沒有適當實驗模式可用於篩選此類藥物，近年來哈佛大學 Dr. Max Essex 之實驗室建立一套由人類肝癌細胞株 HepG2 經轉染(transfection)帶有完整 HBV DNA 及 neomycin resistance 基因的質體後，以 G418 篩選再經由系列稀釋得到的細胞由於此細

胞株有完整的 HBV DNA 的嵌入(integrated) 並且已經形成一個穩定的細胞株，可持續高量的分泌 B 型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、e 抗原(HBeAg)及病毒科立體(42nm Dane particles and 22nm subviral particles)，為極佳之研究 B 型肝炎病毒複製及探討藥物活性的體外模式。利用酵素連結免疫吸附分析法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)直接測定藥物對細胞株的 B 型肝炎表面抗原(HBsAg)、e 抗原(HBeAg)是否具有抑制活性，在短時間內即可獲得初步結果。¹ 另一方面建立藥物對人類單核細胞(HMNC)的增生具有抑制或促進作用以推估藥物對人體的免疫系統是否具有影響。其方法係取人血 100 cc 經離心後取出人類單核細胞，將細胞調成 $2 \times 10^6/\text{ml}$ 後，取取 100 λ (0.1 cc) 加入每個培養孔中，再加入 PHA 及不同濃度的藥物與之共同培養，接著加入 ^3H -thymidine (1 $\mu\text{Ci}/\text{well}$) 培養 16 小時，並以自動細胞收集器將細胞收集在玻璃纖維濾紙上，再以閃爍計數器測其放射線強度，抑制活性以下列公式計算：

$$\text{Inhibitory (\%)} = \frac{(\text{對照組})_{\text{cpm}} - (\text{實驗組})_{\text{cpm}}}{(\text{對照組})_{\text{cpm}}} \times 100$$

以往曾以 *N*-undecyl-4-hydroxy- Δ^2 -butyrolactam 作 anti-HBsAg 之活性甚高，其 IC_{50} 為 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，而 6-羥-2*H*-吡喃-3(6*H*)-酮亦有甚強的活性 IC_{50} 0.6 μg 故其衍生物值得去進行。

三、研究內容

合成的步驟如下所示，以 Pyrrole 為起始物作 Δ^2 -butyrolactam 之衍生物合成。Pyrrole (1) 溶於無水 THF 以 NaH 處理後，加不同 alkylbromide (1-bromooctane,

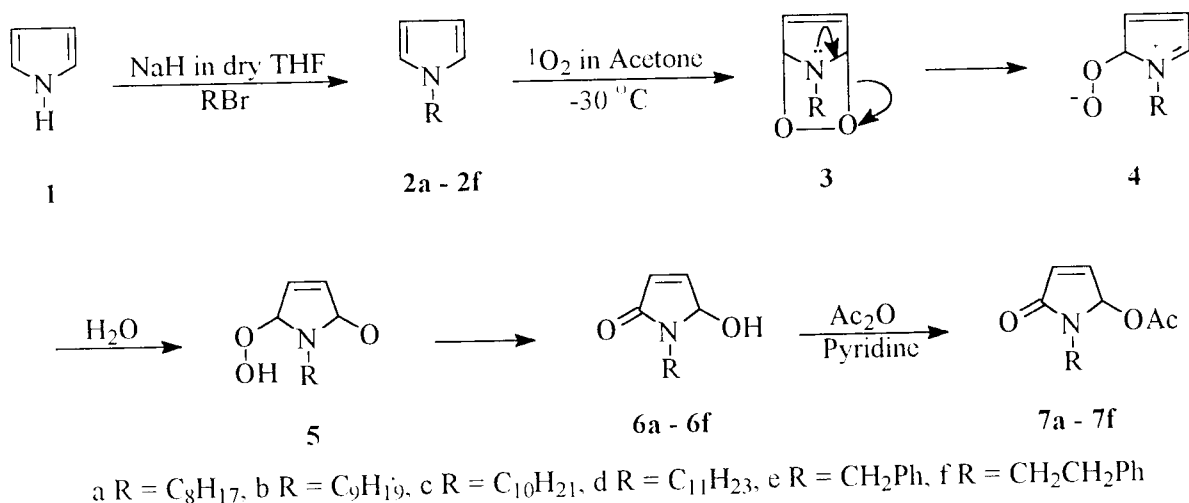
1-bromononane, 1-bromodecane, 1-bromo-undecane, benzyl bromide 及 1-bromo-2-phenylethane) 作取代反應，共得 6 種 *N*-alkylpyrrole(2a-2f)，將這 6 種 *N*-alkylpyrrole 溶 acetone 在低溫(-30°C)以 $^1\text{O}_2$ 作氧化，可得到 6 種對應產物 *N*-alkyl-4-hydroxy- Δ^2 -butyrolactam (6a-6f)。此 6 種產物再經醋酸酐與吡啶的處理可獲得相對應的處理可獲得相對應的 6 種 *N*-alkyl-4-acetoxy- Δ^2 -butyrolactam (7a-7f) 其反應過程見 Scheme 1。

如把 6 種 *N*-alkylpyrrole(2a-2f) 溶於甲醇中作光化，可得對應 6 種 *N*-alkyl-4-methoxy- Δ^2 -butyrolactam (9a-9f)，其過程如 Scheme 2。

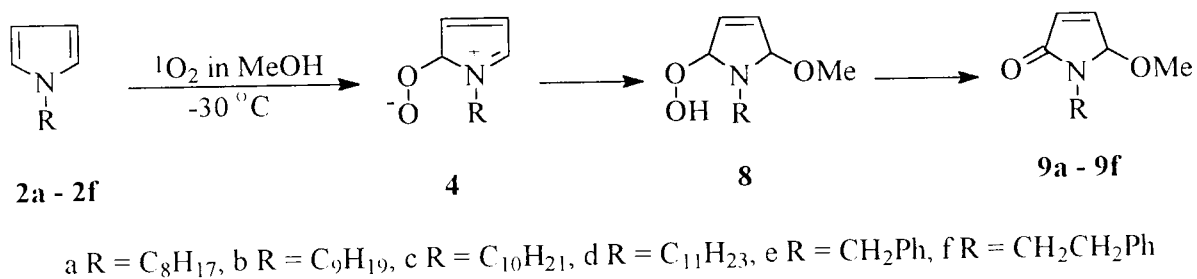
當 furfuryl alcohol (10) 溶於 CH_2Cl_2 ，在 -30°C 下作光氧化反應，然後以 Ph_3P 作還原，中間體經 11 到 12，最後環化得產物 6-hydroxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one (13)。如把化合物 13 作乙酰化會得 6-acetoxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one (14)。如 13 與 benzoyl chloride 在吡啶中作反應，則產生 6-benzyloxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one (15)。如用 *m*-chloroperbenzoic acid 去氧化 furfuryl alcohol 在常溫以 CH_2Cl_2 當溶媒，會產生化合物 13，但如果在加熱迴餾下，化合物 13 之偶合物 (16) 會產生 (Scheme 3)。偶合物 16，以 X-ray 繞射結果，可確認它為 erythroform。

四、結果與討論

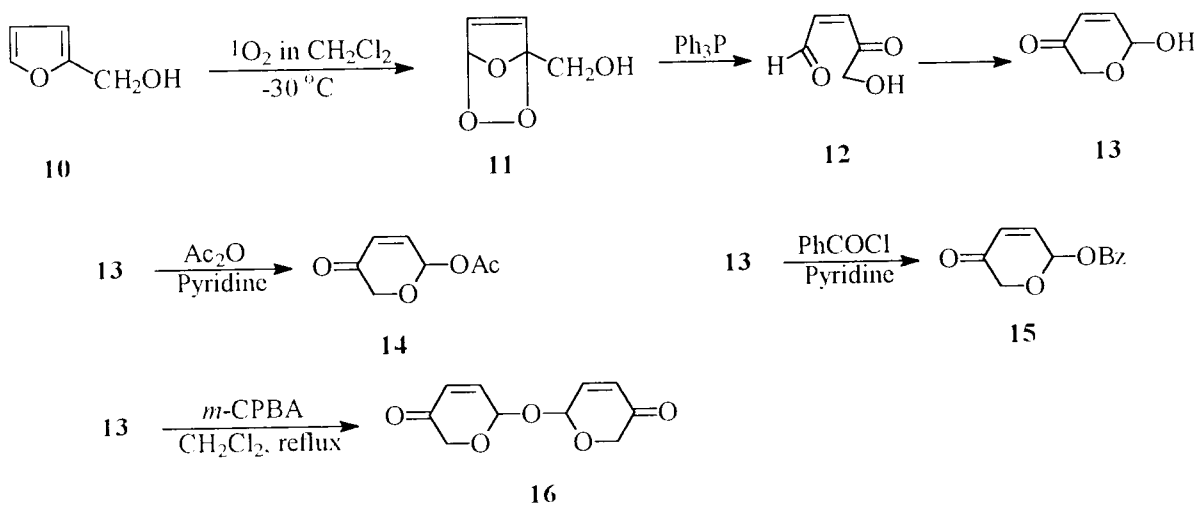
人類肝癌細胞株 Hep G2 經 pSVneo2HBV 轉染(transfection)後，利用抗生素 G418 篩選而得的穩定細胞株，可持續表現 B 型肝炎表面抗原(HBsAg)及套膜抗原(HBeAg)於培養液。由以上合成之產物 6a-6f, 7a-7f, 9a-9f, 13, 14, 15 及 16 分別作 B 型肝炎表面抗原之抑制活性，如表一所示。



Scheme 1



Scheme 2



Scheme 3

表一：化合物 **6a – 6f**, **7a – 7f**, **9a – 9f**, **13**, **14**, **15** 及 **16** 對 B 型肝炎表面抗原之抑制活性
(EC₅₀ value µg/ml)

Compound	activity	Compound	activity	Compound	activity
6a	30	7a	> 50	9a	> 50
6b	10	7b	> 30	9b	> 30
6c	5	7c	10	9c	8
6d	0.5	7d	5	9d	5
6e	20	7e	10	9e	8
6f	1.0	7f	5	9f	4
13	0.6	14	0.5	15	1.0
				16	0.4

以上結果結論是 4-hydroxy-*N*-alkyl- Δ^2 -butyrolactam 比 4-methoxy 及 4-acetoxy 之衍生物有強的活性。又 alkyl chain 以 C₁₁ 為最好。而 6-hydroxy-2*H*-pyran-3(6*H*)-one (**13**)及其衍生物有較佳的活性。