

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

ZYGZEA

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

● 中国中文核心期刊

● 中国生物医学核心期刊

● 中国期刊方阵入选期刊

● 中国科技核心期刊

● 中国科学引文数据库来源期刊

● 中国药学会系列期刊

本期导读：

罗沙司他的合成研究进展

张其伟，周嘉第，陈永健，李坚军

非甾体抗炎药上市外用剂型概况及新载体研究进展

林国锁，罗华菲



微信号：cjph-cjph



主 办

上海医药工业研究院

中国药学会

中国化学制药工业协会

11

2019年11月

第50卷

Vol.50 No.11

ISSN 1001-8255

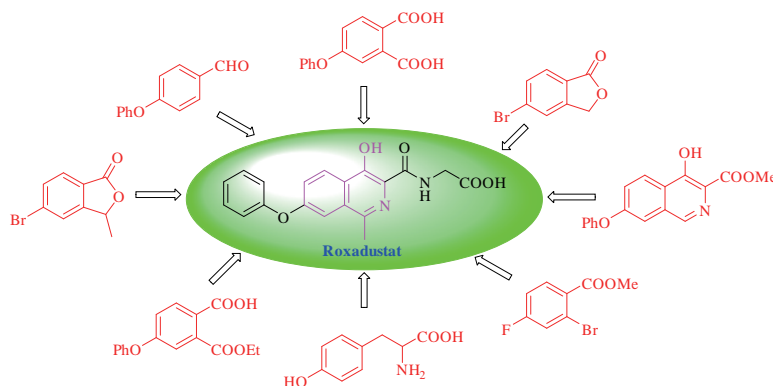


9 771001 825190

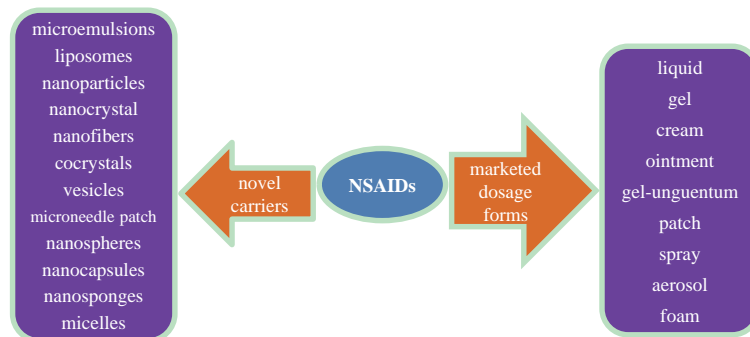
1.1>

· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

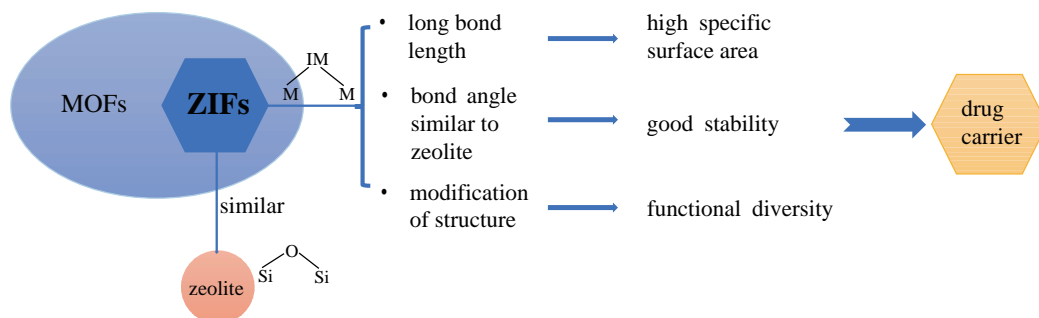
- 1237** 罗沙司他的合成研究进展.....张其伟, 周嘉第, 陈永健, 李坚军*
Progress in the Synthesis of Roxadustat.....ZHANG Q W, ZHOU J D, CHEN Y J, LI J J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.001



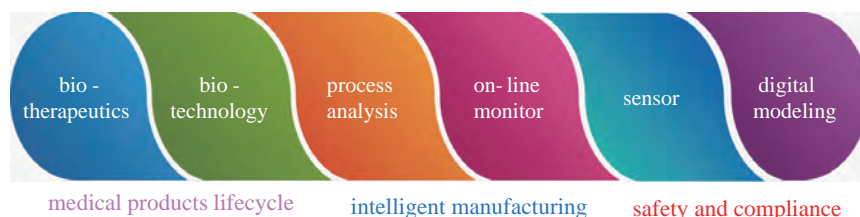
- 1246** 非甾体抗炎药上市外用剂型概况及新载体研究进展·····林国钊, 罗华菲*
Progress of Approval Topical Dosage Forms of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs and
Their Novel Carriers·····LIN G B, LUO H F*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.002



- 1256** 类沸石咪唑酯骨架 (ZIFs) 及其复合物在药物递送系统中的应用.....赵悦竹, 张薇薇, 付庆辉, 杨亚妮, 何 军*
Application of Zeolitic Imidazolate Frameworks (ZIFs) and Their Complexes in Drug Delivery Systems.....ZHAO Y Z, ZHANG W W, FU Q H, YANG Y N, HE J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.003

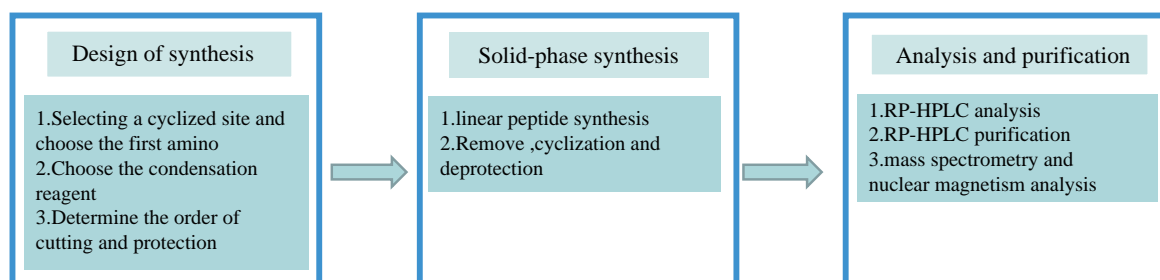


- 1262** 信息技术在生物制药工业中的应用.....董正龙, 曹 萌*
Application of Information Technology in Biopharmaceutical Industry.....DONG Z L, CAO M*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.004



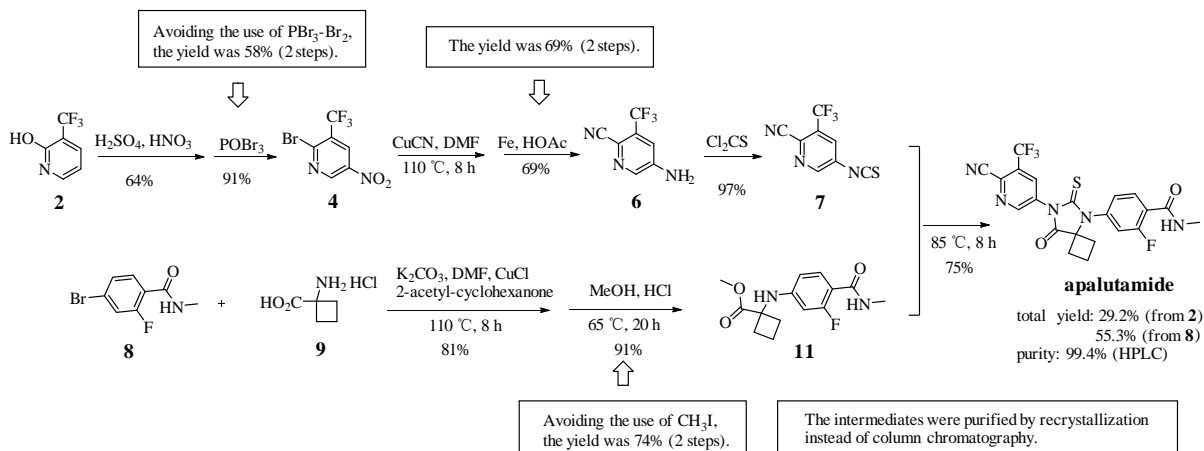
· 研究论文(Paper) ·

- 1268** 抗肿瘤环八肽 Reniochalistatin E 的固相合成....刘泰容, 莫金秋, 李长兵, 姜 和, 廖洪利*
Solid-phase Synthesis of Antitumor Cyclic Octapeptide Reniochalistatin E.....
.....LIU T R, MO J Q, LI C B, JIANG H, LIAO H L*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.005

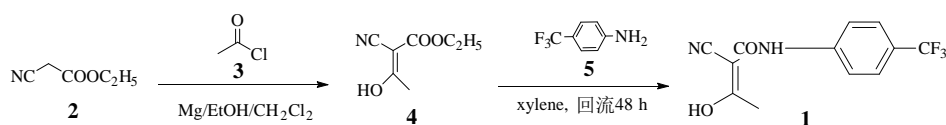


This process technology has several advantages such as cheap material and high yield in the industrial production.

- 1273** 阿帕鲁胺的合成方法改进.....林 楠, 马骥驰, 范松华
Improved Synthesis of Apalutamide.....LIN N, MA J C, FAN S H
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.006



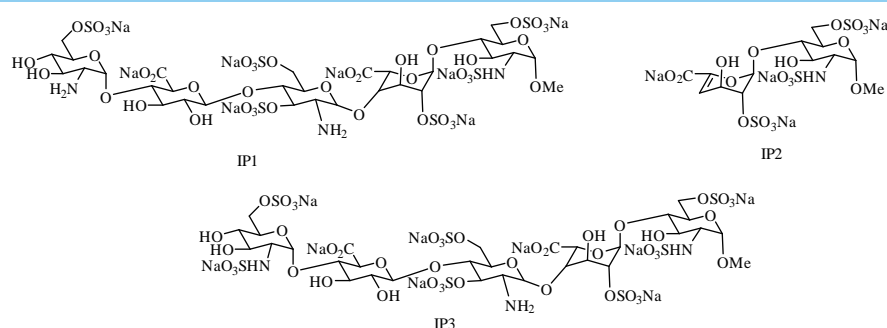
- 1278** 特立氟胺的新合成方法.....邱 月
A New Method for the Synthesis of Teriflunomide.....QIU Y
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.007



A new synthetic route of trifluoromide was reported, and the total yield was 63.9%.

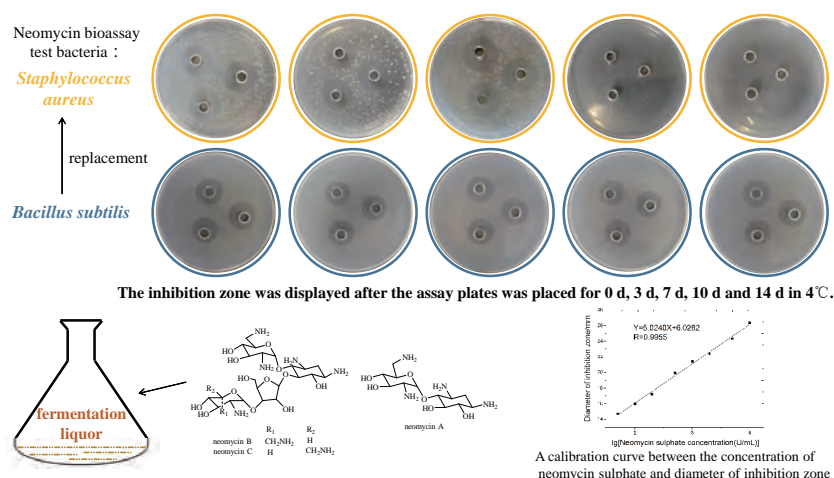
It provided a better choice for industrial production.

- 1280** 磺达肝癸钠注射液有关物质的合成.....干 浩, 徐珊珊, 周喜泽, 李振重
 Synthesis of the Related Substances of Fondaparinux Sodium Injection.....
GAN H, XU S S, ZHOU X Z, LI Z Z
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.008

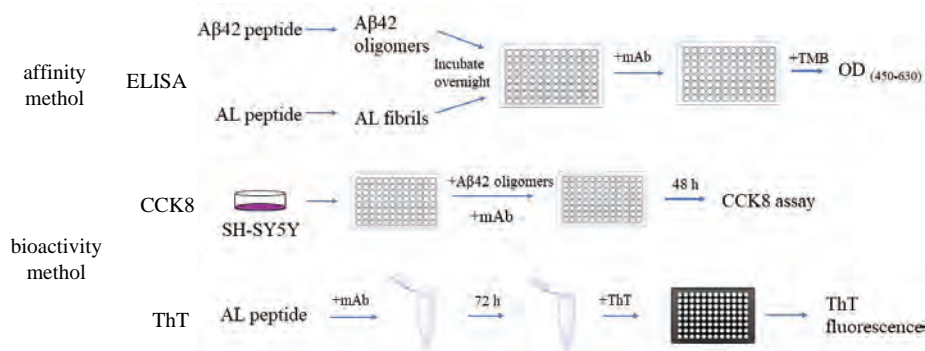


Chemical Structures of the Related Substances of Fondaparinux Sodium

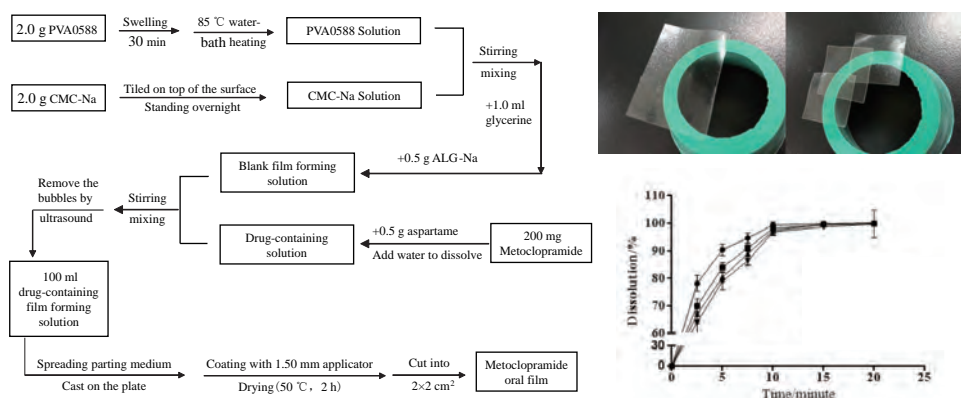
- 1285** 新霉素微生物检定法的改进.....张 晶, 岳 荣, 关 莹, 程绍国, 张会图*
 Improved Microbial Assay of Neomycin.....
ZHANG J, YUE R, GUAN Y, CHENG S G, ZHANG H T*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.009



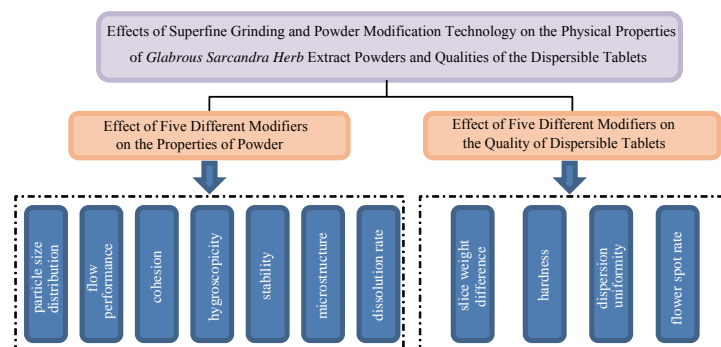
- 1290** 抗 A β 和 AL 双抗原的单克隆抗体亲和力与活性检测方法的建立.....
白婧怡, 边延林, 马步勇, 张宝红, 朱建伟*
 Establishment of Affinity and Bioactivity Analysis Methods for Monoclonal Antibody Targeting A β and AL.....
BAI J Y, BIAN Y L, MA B Y, ZHANG B H, ZHU J W*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.010



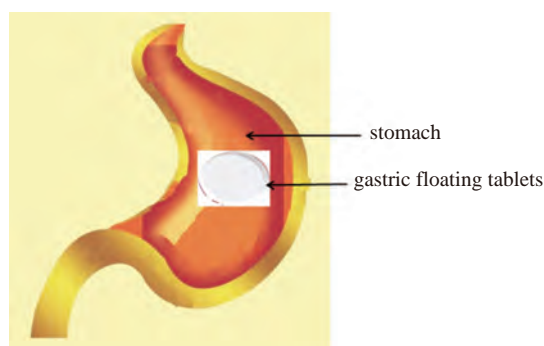
- 1296** 甲氧氯普胺口腔速溶膜剂的制备与体外评价···尚 悦, 赵 炯, 李昊天, 周建平*, 丁 杨
Preparation and *in vitro* Evaluation of Metoclopramide Oral Fast Dissolving Films·····
·····SHANG Y, ZHAO J, LI H T, ZHOU J P*, DING Y
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.011



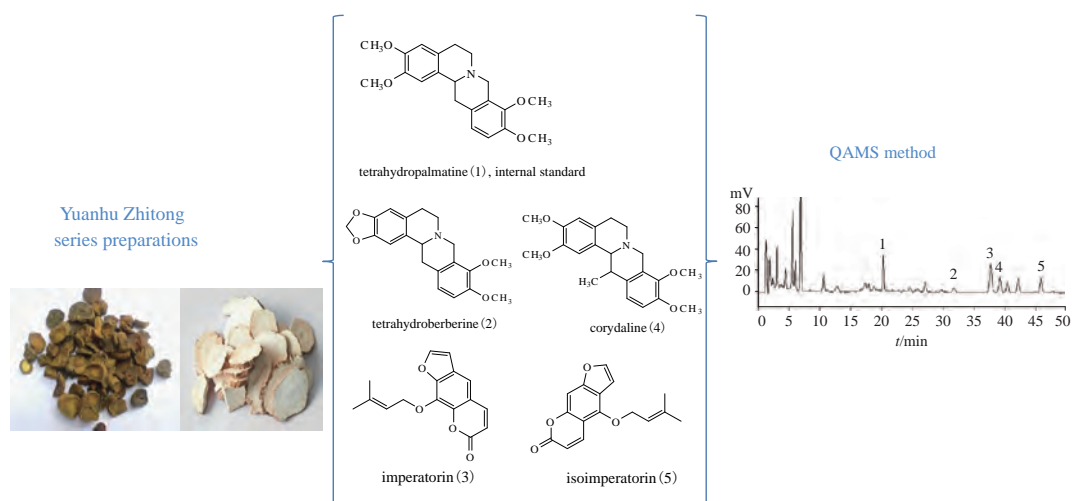
- 1304** 超微粉碎粉体改性技术对肿节风浸膏粉物性及其分散片质量的影响·····李 菁, 钟 钰, 胡鹏翼*, 戴德雄, 杨 明
Effects of Ultrafine Grinding and Powder Modification Technology on the Physical Properties of
Glabrous Sarcandra Herb Extract Powders and Qualities of the Dispersible Tablets·····
·····LI J, ZHONG Y, HU P Y*, DAI D X, YANG M
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.012



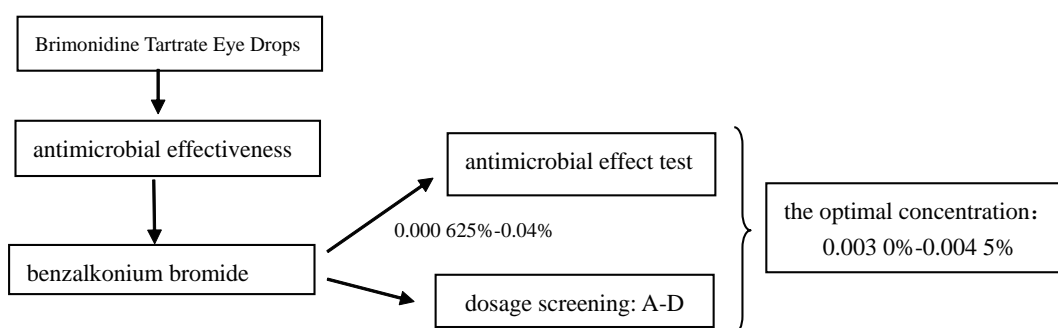
- 1312** 桦褐孔菌三萜胃滞留片的研制·····李 鑫, 陈 旭, 李钰璐, 汤茗瑞, 王柳婷
Preparation of Gastric Floating Tablets Loaded with Triterpenoids from *Inonotus obliquus*
·····LI X, CHEN X, LI Y L, TANG M R, WANG L T
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.013



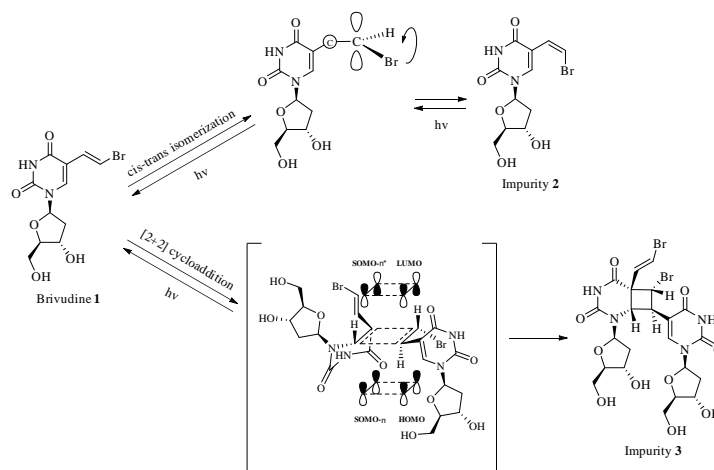
- 1318** 一测多评法测定元胡止痛系列制剂中5种成分的含量……刘瑞洁, 张雪, 叶晓霞, 乐健*
Simultaneous Determination of Five Components in *Yuanhu Zhitong* Series Preparations by QAMS
……LIU R J, ZHANG X, YE X X, LE J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.014



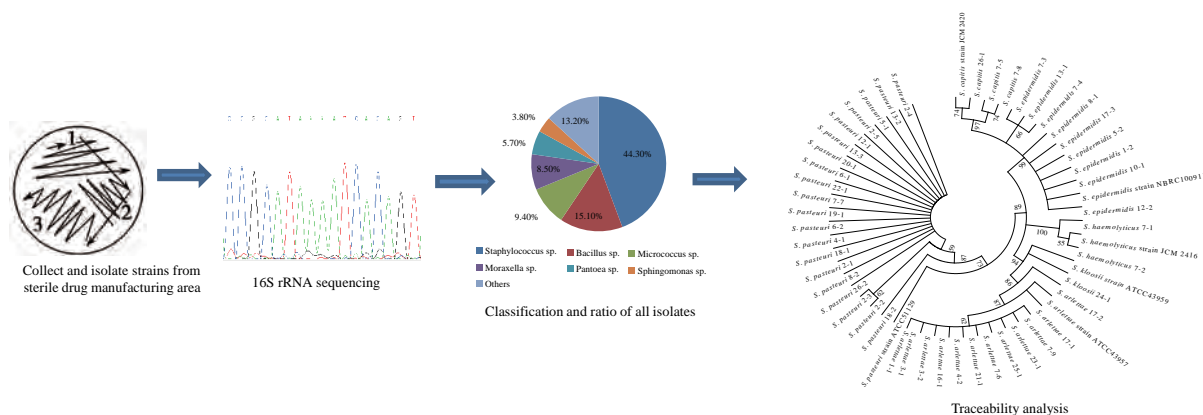
- 1324** 酒石酸溴莫尼定滴眼液抑菌剂苯扎溴铵剂量筛选研究……李伟栋, 苑艳飞, 王维欣, 王兰兰
Dosage Screening of Benzalkonium Bromide in Brimonidine Tartrate Eye Drops……
……LI W D, YUAN Y F, WANG W X, WANG L L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.015



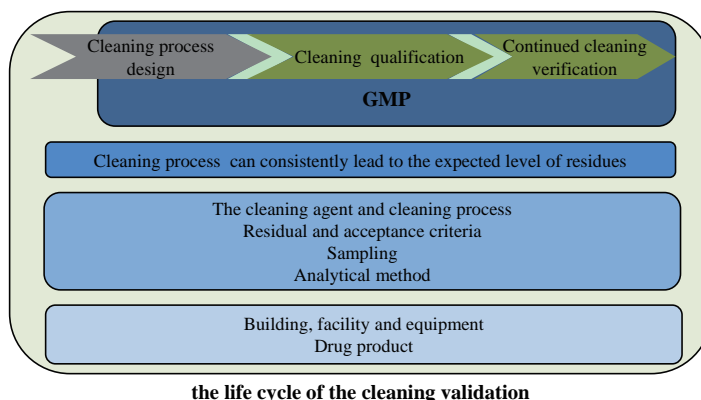
- 1329** 溴夫定光降解杂质的结构鉴定与机理分析……吴旭锋, 钱秀萍*, 刘涿
Structure Identification and Mechanism Analysis of Photodegradation Impurities from Brivudine
……WU X F, QIAN X P*, LIU L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.016



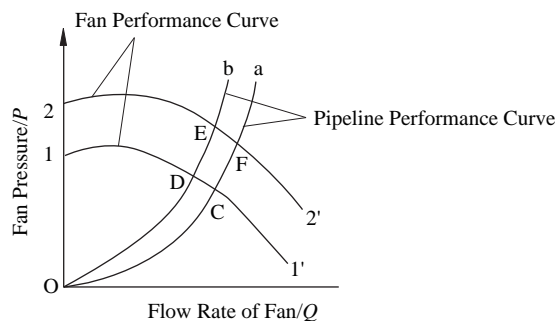
- 1335** 无菌药品生产洁净车间环境菌鉴定与溯源分析.....刘卫德, 刘绪平*, 熊 骏, 李彦霖, 章 瑛
Identification and Traceability Analysis of Environmental Bacteria in Clean Room of Sterile Drug Manufacturing.....LIU W D, LIU X P*, XIONG J, LI Y L, ZHANG Y
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.017



- 1341** 药品生产中清洁验证的生命周期探讨.....翟铁伟
Comment to the Life Cycle of Cleaning Validation.....ZHAI T W
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.018



- 1348** 抖袋过程对流化床稳定运行影响的研究与分析.....马少栋, 孙 健, 方 策, 吴国桥
Research and Analysis on Effect of Shaking Bag System on Stable Operation of Fluid BedMA S D, SUN J, FANG C, WU G Q
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.019



- 1352** 无菌药品包装完整性研究.....封二飞
Research of Sterile Products Packaging Integrity.....FENG E F
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.020

- 1358** 关于推动互联网+药品监管的思考.....袁 林
Perspective on Facilitating Internet + Drug Post-marketing Regulation.....YUAN L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.021

- 1361** 欧盟地区生物类似药可互换性政策与管理实践研究.....
.....里扎·阿德列提别克, 蒋 蓉, 邵 蓉*
Interchangeability Policy and Management Practice of Biosimilars in the EU.....
.....LIZHA A, JIANG R, SHAO R*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.022

- 1367** 我国体外诊断试剂产业发展现状、问题及对策.....徐芳萍, 黄慧媛, 褚淑贞*
Development Status and Problems of IVD Reagent Industry in China.....
.....XU F P, HUANG H Y, CHU S Z*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.023

- 1374** 2019 年上半年我国医药工业经济运行情况分析.....郭 文, 钟一鸣, 周 斌*
Economic Operation of Chinese Pharmaceutical Industry from January to June 2019.....
.....GUO W, ZHONG Y M, ZHOU B*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.024

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2019年第50卷 第11期 11月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.50 No.11 November 10, 2019

©All Rights Reserved

主 管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主 办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
协 办	浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司	Assist Sponsor	Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group
总 编 辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副 总 编 辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责 任 编 辑	刘玲玲	Executive Editor	LIU Lingling
出 版 单 位	《中国医药工业杂志》编辑部	Editor by	Editorial Board of <i>Chinese Journal of Pharmaceuticals</i>
编 辑 部 地 址	上海市北京西路1320号 (200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road (W), Shanghai 200040, China
电 话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传 真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电 子 邮 件	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网 址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电 话	021-62126987, 62473200	Tel	021-62126987, 62473200
传 真	021-62473200	Fax	021-62473200
电 子 邮 件	ouyy@pharmadl.com	E-mail	ouyy@pharmadl.com
印 刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发 行 范 围	公开发行		
国 内 发 行	上海市报刊发行局	Domestic Distributed by	Local Post Office
国 外 发 行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国 内 订 阅	全国各地邮政局		

* 通信联系人; 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*146*zh*P*20.00* *24*2019-11

2019年版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

国内邮发代号 4-205

国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-cjph



微博: weibo.com/cjph

研究论文

抗肿瘤环八肽 Reniochalistatin E 的固相合成

刘泰容, 莫金秋, 李长兵, 姜 和, 廖洪利*

(成都医学院药学院, 四川成都 610500)

摘要:以 2-氯三苯基氯树脂 (CTC) 为载体, 以 HCTU/DIPEA 为缩合体系, 通过 Fmoc 固相合成法合成直链肽, 液相环合, 得环肽粗品。制备液相进行纯化。通过 HPLC、MS 及 NMR 进行表征分析, 目标产物纯度大于 98%, 总收率为 24%。本法操作简便易行, 适合该系列环肽的合成。

关键词: reniochalistatin E; 抗肿瘤; 固相合成; 环肽

中图分类号: R978.1⁺6; R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-8255(2019)11-1268-05

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.005

Solid-phase Synthesis of Antitumor Cyclic Octapeptide Reniochalistatin E

LIU Tairong, MO Jinqu, LI Changbing, JIANG He, LIAO Hongli*

(School of Pharmacy, Chengdu Medical College, Chengdu 610500)

ABSTRACT: Antitumor cyclic octapeptide reniochalistatin E was synthesized in this paper. The peptide chain was synthesized by Fmoc solid-phase synthesis using 2-chlorotriphenyl chloride resin (CTC) as the carrier and HCTU/DIPEA as the condensation system, and the peptide chain was cyclized in liquid phase to obtain a crude product. Then it was purified through preparative liquid chromatograph. The HPLC, MS and NMR was used to characterized the pure product. The results showed that the purity of target product was over 98% and the total yield was 24%. The method was suitable for the synthesis of the series of this kind of cyclic peptides.

Key Words: reniochalistatin E; antitumor; solidphase synthesis; cyclic peptide

近年来, 从海洋生物中提取分离具有药理活性的新型化合物已成为获得新药的重要途径^[1-2]。目前, 已从海藻中发现 5 300 多种化合物, 包括核苷类、萜类、环肽及脂肪酸等^[3-4]。其中, 富含脯氨酸的环肽类化合物因在抗菌、抗病毒和抗肿瘤等方面具有较高的生物活性, 现已成为海洋药物的研究热点之一^[5-6]。2014 年, 研究者从我国南海永兴岛上的软海绵属植物 *Reniochalina stalagmitis* 中提取出 5

种富含脯氨酸的环肽 Reniochalistatin A ~ E, 其中 Reniochalistatin A ~ D 均由 7 个氨基酸残基组成, Reniochalistatin E (**1**) 为 Reniochalistatins 家族中唯一一个含有色氨酸的环八肽; 迄今为止, 也是所有成员中发现的唯一具有抗肿瘤活性 (包括 RPMI-8226、MGC-803、HL-60、HepG2 和 HeLa 等肿瘤细胞) 的多肽, 其对 myeloma RPMI-8226 和 gastric MGC-803 的细胞毒性尤为明显, IC₅₀ 值分别为 4.9 和 9.7 μmol/L^[7]。

1 的结构如图 1 所示, 由 8 个氨基酸残基组成, 包含亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸等非极性氨基酸和芳香族氨基酸——色氨酸, 且具有富含脯氨酸的独特环状结构, 使得其化学性质和空间构象具有良好的稳定性^[8-10]。目前关于 **1** 的合成方法主要包括

收稿日期: 2019-05-11

基金项目: 四川省教育厅科研基金重点项目 (18ZA0149)

作者简介: 刘泰容 (1994—), 女, 硕士研究生, 专业方向: 多肽合成。

E-mail: 18428300523@163.com

通信联系人: 廖洪利 (1974—), 男, 副教授, 从事药物化学研究。

Tel: 13880953027, 028-62739557

E-mail: liaohl213@126.com

2种: ①以苯并三唑-1-基氧三吡咯烷基六氟磷酸(PyBOP)为催化剂, 通过液相合成法得到, 该法合成步骤相对繁琐, 且收率较低, 仅为5%^[11]。②以1-羟基苯并三唑(HOBT)为缩合剂, 通过固相合成法得到, 此法在氨基酸耦合步骤中耗时较长, 且环合前使用三氟乙酸(TFA)与二氯甲烷(DCM)混合液为切割试剂, 易使肽链上的保护基脱落, 不利于后续环合和纯化^[12-13]。

为解决上述问题, 本课题组以二氯树脂为载体, 6-氯苯并三唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯(HCTU)/*N,N*-二异丙基乙胺(DIPEA)为缩合体系, 以脯氨酸为起始氨基酸, 按照Pro-Trp-Leu-Pro-Ile-Pro-Ile-Val的氨基酸序列, 使用Fmoc固相合成法合成肽链, 切下肽链后先环合, 后脱侧链保护基, 设计合成抗肿瘤环八肽**1**(图2), 有效降低了原料成本, 提高了合成效率及收率。本合成方法简便易行, 可为其同类化合物的合成提供参考。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

Fmoc-氨基酸、2-氯三苯基氯树脂、HCTU购自上海吉尔生化有限公司; DIPEA、HOBT、PyBOP、三氟乙醇(TFE)、TFA购自北京百灵威科技有限公司; 茚三酮、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、DCM、哌啶、甲醇均为市售分析纯试剂; 乙腈为色谱纯。

气浴恒温振荡器(常州国宇仪器制造有限公司); 循环水式多用真空泵, SHB-III A、2ZX-4型旋片真空泵(上海豫康科教仪器设备有限公司); 低温冷却循环泵(上海东

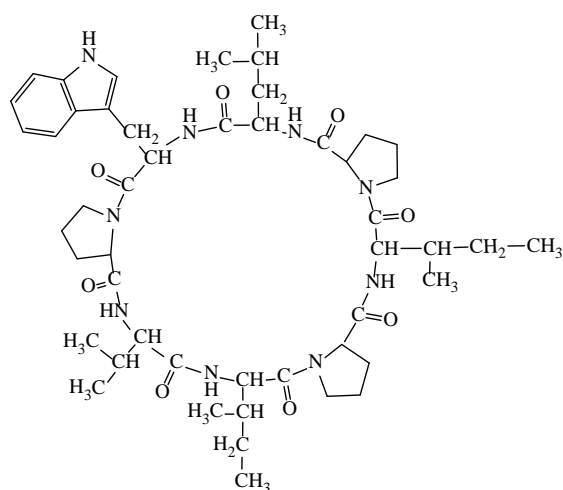


图1 Reniochalistatin E(1) 的结构式
Fig.1 Structural of Reniochalistatin E(1)

玺制冷仪器设备有限公司); LC3000 高效液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司); Technologies 1260 Infinity、6538UHD Accurate Mass Q-TOF LC/MS 质谱仪(美国Agilent公司)

1.2 方法与结果

1.2.1 直链肽的合成

取2-氯三苯基氯树脂1g(载样量0.34 mmol/g)置固相合成反应管中, 用DCM(10 ml)浸泡20 min至充分溶胀, 抽干, 倒入Fmoc-Pro-OH(676 mg, 2 mmol)和DIPEA(665 μl)的DCM溶液(10 ml), 常温振荡过夜。依次用DCM和DMF(各10 ml)洗涤3次, 加入甲醇(15 ml)反应20 min封闭未反应的树脂。依次用DCM(10 ml×3)和DMF(10 ml×3)

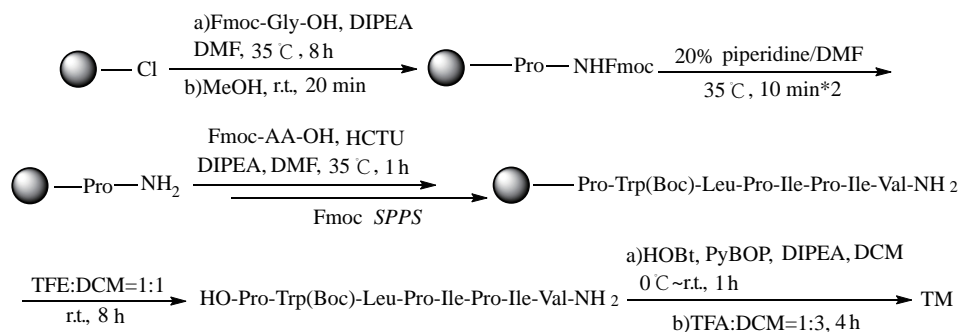


图2 1 的合成路线
Fig.2 Synthetic Route of 1

洗涤, 加入含 20% 哌啶的 DMF 溶液 (10 ml), 常温振荡 (10 min×2) 脱去 Pro 上的 Fmoc 保护基, 再依次用 DCM (10 ml×3) 和 DMF (10 ml×3) 洗涤。随后根据多肽序列依次将 Fmoc-氨基酸 (2 mmol)、HCTU (1.8 mmol) 和 DIPEA (4 mmol) 混溶于 NMP (10 ml) 中, 倒入多肽反应管, 35 °C 振荡 45 min, 重复脱保护 → 缩合 → 脱保护, 直到所有氨基酸连接完成。缩合反应中使用茚三酮显色监测反应进程。

1.2.2 直链肽的游离

肽链连接完成后, 树脂用无水乙醚洗涤抽干, 加入 TFE-DCM (1 : 4) 溶液 (20 ml), 常温振荡过夜。过滤, 取滤液减压浓缩得直链肽粗品 260 mg, HPLC 谱图如图 3, 此步收率为: (实际所得 260 mg) / (理论值 0.34 mmol×1 033) = 74.03%, 所得质谱结果如图 4, **1** 环合前直链肽分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 1 034.636 7, $[M+Na]^+$ 为 1 056.611 4。

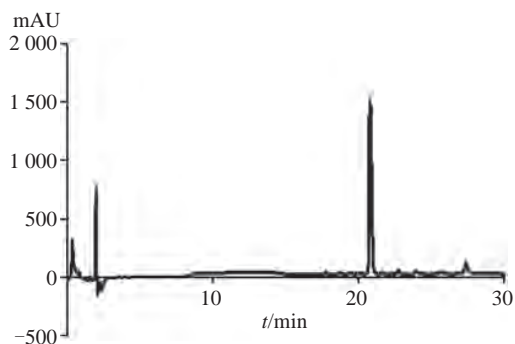


图 3 直链肽粗品 HPLC 谱图

Fig.3 HPLC Spectrum of Crude Linear Peptide

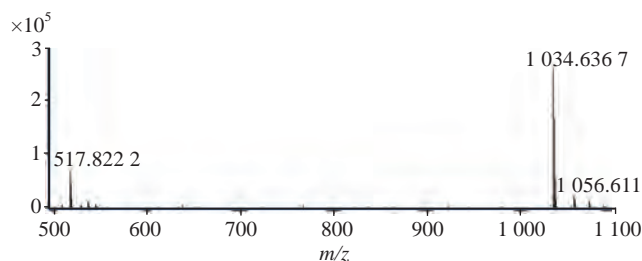


图 4 **1** 直链肽的 HR-Q-TOF-MS 图谱

Fig.4 HR-Q-TOF-MS Spectrum of Linear Peptide

1.2.3 肽链的环合

将 HOBt (170 mg, 5 倍摩尔量)、PyBOP

(656 mg, 5 倍摩尔量) 和 DIPEA (420 μl, 10 倍摩尔量) 溶于 DCM (150 ml) 中, 缓慢滴入直链肽 (260 mg) 的 DCM 溶液 (150 ml) 中, 滴毕自然升至室温, 搅拌反应 1 h, 减压浓缩后过凝胶柱纯化, 减压浓缩得环肽粗品 223.34 mg, 此步收率为 87.42%。HPLC 图谱见图 5。

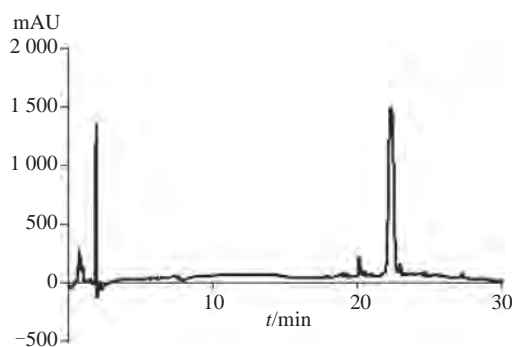


图 5 **1** 直链肽环合后粗品 HPLC 图谱

Fig.5 HPLC Spectrum of Crude Products after

Linear Peptide Cyclization

1.2.4 环肽氨基酸侧链脱保护

将环肽粗品加至 TFA-DCM (1 : 3) 的溶液 (20 ml) 中, 常温振荡反应 4 h, 脱去侧链保护基, 得 **1** 粗品 182 mg。

1.2.5 **1** 的分离纯化

1 粗品溶于 40% 乙腈的水溶液 (15 ml) 中, 通过制备型 RP-HPLC 纯化。制备柱 YMC-Pack ODS-AQ 柱 (20 mm×250 mm, 5 μm); 流动相 A 0.1% TFA 水溶液, B 0.1% TFA 乙腈溶液, 梯度洗脱 (0 ~ 3 min : A 60 %, 3 ~ 60 min : A 60 % ~ 40 %); 检测波长 214 nm; 流速 15 ml/min。收集主峰, 进行分析, 合并纯度大于 98% 的样品, 冷冻干燥后得纯品 75 mg, 呈白色粉末状, 此步收率为 41.29%。总收率: (最终所得纯品 75 mg) / (理论值 311.1 mg) × 100% = 24%。

1.2.6 **1** 的表征

对 **1** 直链肽及环肽进行 HPLC 分析, 色谱柱 Waters Bridge C₁₈ 柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相 A 0.1% TFA 水溶液, B 0.1% TFA 乙腈溶液, 梯度洗脱 (0 ~ 5 min : A 95 %, 5 ~ 25 min : A 95 % ~

10%, 25 ~ 30 min : A 10%) ; 流速 1.0 ml/min ; 柱温 30 °C ; 检测波长 214 nm。如图 6、7 所示, **1** 纯品保留时间为 22.418 min, 纯度大于 98%。

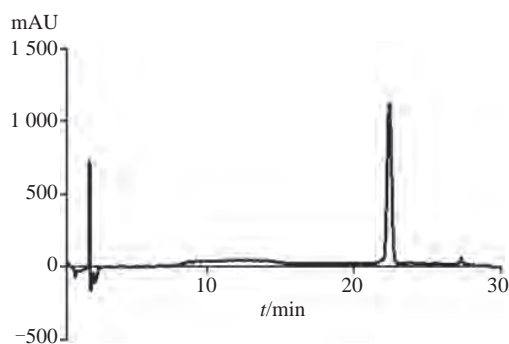


图 6 **1** 纯品的 HPLC 图谱
Fig.6 HPLC Spectrum of Pure **1**

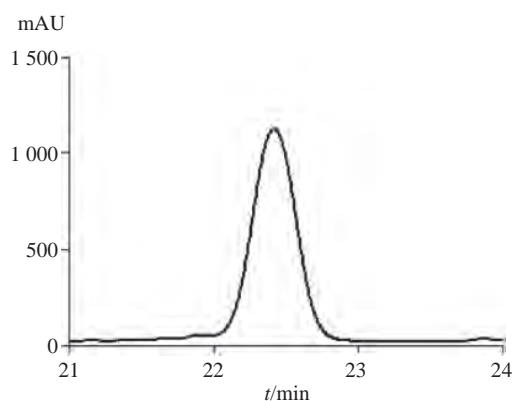


图 7 **1** 纯品的 HPLC 局部放大图
Fig.7 Partial Enlargement of **1** Pure Product's HPLC Spectrum

对 **1** 纯品进行质谱及 NMR 测试, 如图 8。HR-Q-TOF-MS (m/z): 916.577 5 [$M+H$] $^+$, 938.555 1 [$M+Na$] $^+$ 与理论值一致。H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.73 ~ 11.10 (1H, m, HNH-Trp), 7.48 ~ 7.72 (5H, m, Ph-Trp), 6.94 ~ 7.35 (5H, m, NH-C=O), 4.88 ~ 5.00 (1H, m, CH, H_α -Trp), 3.76 ~ 4.47 (7H, m, CH, H_α -Leu, Pro, Ile, Val), 3.04 ~ 3.64 (6H, m, CH₂, H_δ -Pro), 2.86 ~ 3.04 (2H, m, CH₂, H_β -Trp), 2.19 ~ 2.29 (1H, m, CH, H_β -Val), 2.17 ~ 2.21 (2H, m, CH, H_β -Ile), 1.62 ~ 2.09 (12H, m, CH₂, $H_{\beta/\gamma}$ -Pro), 1.58 ~ 1.60 (2H, m, CH₂, H_β -Leu), 1.20 ~

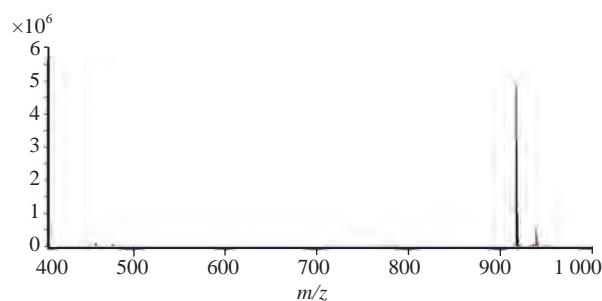


图 8 **1** 纯品的 HR-Q-TOF-MS 图谱
Fig.8 HR-Q-TOF-MS Spectrum of Pure **1**

1.48 (5H, m, CH₂ (H_γ -Ile), CH (Leu)), 0.68 ~ 1.05 (24H, m, CH₃)。

2.4 讨论

目前关于 **1** 的合成主要采用液相全合成或以 HATU 为缩合剂进行固相合成。前者操作繁琐且收率较低, 仅为 5%^[11]; 后者以 HATU 为缩合剂, 价格较高。本研究首次采用 HCTU 为缩合剂, 通过 Fmoc 固相合成法成功制得 **1**, HCTU 价格低廉且相对原有试剂活性更高, 使得反应更易进行, 合成时间缩短^[12-13]。本法采用先切割环合、后脱保护的方式, 避免了侧链基团对环合反应过程的干扰作用。选择二氯树脂为载体, 在不干扰侧链保护基的前提下, 有利于肽链的切割。相比于目前文献所报道的合成方法, 本法操作简单, 除环合后过凝胶柱及脱保护后的成品纯化外无需更多复杂的纯化步骤, 且收率较高, 简便易行。

3 结论

本研究以二氯树脂为载体, Fmoc-Pro-OH 为起始原料, HCTU/DIPEA 为缩合体系, 通过 Fmoc 固相合成法合成直链肽, 自树脂上切下后液相实现环合, 成功制得 **1**。本合成方法所用原料及试剂, 价格低廉易得, 操作简便, 总收率高, 可为其进一步的生物活性研究提供原料, 为该化合物的合成及工业化生产提供参考。

参考文献:

- [1] HOU X M, WANG C Y, GERWICK W H, *et al.* Marine natural products as potential anti-tubercular agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, **165** (3): 273-292.

- [2] POOJARY M M, BARBA F J, ALIAKBARIAN B, *et al.* Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds [J]. *Mar Drugs*, 2016, **14**(11): E214.
- [3] BLUNT J W, COPP B R, HU W P, *et al.* Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2008, **25**(1): 35-94.
- [4] OTTINGER S, KLÖPPEL A, RAUSCH V, *et al.* Targeting of pancreatic and prostate cancer stem cell characteristics by *Crambe crambe* marine sponge extract [J]. *Int J Cancer*, 2012, **130**(7): 1671-1681.
- [5] BLUNT J W, COPP B R, KEYZERS R A, *et al.* Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2012, **29**(2): 144-222.
- [6] GRAF M, MARDIROSSIAN M, NGUYEN F, *et al.* Proline-rich antimicrobial peptides targeting protein synthesis [J]. *Nat Prod Rep*, 2017, **34**(7): 702-711.
- [7] ZHAN K X, JIAO W H, YANG F. Reniochalistatins A-E, cyclic peptides from the marine sponge *reniochalina stalagmitis* [J]. *J Nat Prod*, 2014, **77**(12): 2678-2684.
- [8] VERA B, VICENTE J, RODRÁ-GUEZ A D, *et al.* Isolation and structural elucidation of euryjanicins B-D, proline-containing cycloheptapeptides from the Caribbean marine sponge *Prosuberites laughlini* [J]. *J Nat Prod*, 2009, **72**(9): 1555-1562.
- [9] GRAF M, MARDIROSSIAN M, NGUYEN F, *et al.* Proline-rich antimicrobial peptides targeting protein synthesis [J]. *Nat Prod Rep*, 2017, **34**(7): 702-711.
- [10] FANG W Y, DAHIYA R, QIN H L, *et al.* Natural proline-rich cyclopolypeptides from marine organisms: chemistry, synthetic methodologies and biological status [J]. *Mar Drugs*, 2016, **14**(11): 194-216.
- [11] FATINO A, BACA G, WEERAMANGE C, *et al.* Total synthesis of reniochalistatin E [J]. *J Nat Prod*, 2017, **80**(12): 3234-3240.
- [12] ZHOU R, SUN Y, LI H, *et al.* Synthesis and biological evaluation of reniochalistatins A-E and a reniochalistatin E analogue [J]. *ChemMedChem*, 2018, **13**(20): 2202-2207.
- [13] LUO H Y, YIN H L, TANG C J, *et al.* Synthesis of cyclic peptide reniochalistatin E and conformational isomers [J]. *Chin Chem Lett*, 2018, **29**(7): 1143-1146.