

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2020.02.022

酚类天然产物 Buxifoximes A 的合成及生物活性

钟上勇, 李星毅, 王艳红, 胡志勇, 白云丽, 荀苗苗, 袁长春

(中北大学化学工程与技术学院 化工综合国家级实验教学示范中心, 太原 030000)

摘要: 利用商品化试剂 4-羟基苯甲酰甲醛水合物(3)为起始原料,与甲氧基胺盐酸盐经一步肟化反应,以 79%的收率合成了酚类天然产物 Buxifoximes A(1). 同时还经已知反应步骤合成了 Buxifoximes A 的天然类似物 2. 初步的抗肿瘤生物活性测试表明,二者对 MV4-11 细胞表现出了优秀的抑制作用,同时探讨了构效关系.

关键词: 酚类天然产物; 酒饼蕲; 全合成; 抗肿瘤活性

中图分类号: O629.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2020)02-0348-04

Total synthesis and biological evaluation of phenolic natural product Buxifoximes A

ZHONG Shang-Yong, LI Xing-Yi, WANG Yan-Hong, HU Zhi-Yong,
BAI Yun-Li, XUN Miao-Miao, YUAN Chang-Chun

(National Demonstration Center for Experimental Chemical Engineering Comprehensive Education,
School of Chemical Engineering and Technology, North University of China, Taiyuan 030000, China)

Abstract: Compound 4-hydroxyphenylglyoxal hydrate was chosen as starting material, which can react with N-methoxylamine hydrochloride in one step of oximation reaction, affording phenolic natural product buxifoximes A in yield of 79%. Meanwhile, we also synthesized compound 2, a natural analogue of Buxifoximes A, according to a known procedure. Furthermore, the inhibitory effect of compound and compound 2 on cancer cell proliferation was evaluated and found to possess potent inhibitory activity against MV4-11. Meanwhile, preliminary structure-activity relationships for these two compounds are discussed.

Keywords: Phenolic natural products; *Atalantia buxifolia*; Total synthesis; Antitumor activity

1 引言

酚类化合物是一类非常重要的化学物质^[1],不仅广泛存在于活性药物分子^[2]、天然产物^[3]、农用化学品^[1]和功能材料^[4]中,还常常作为起始原料和中间体广泛应用于化学工业生产^[5]和有机合成化学研究中^[6]. 因此,酚类化合物的化学合成研究一直是有机合成研究中的热点问题之一^[7],那些具有

良好生物活性的酚类天然产物更是引起了天然产物全合成化学家们的广泛关注^[3,8].

酒饼蕲(*Atalantia buxifolia*)是一类多分布于东南亚沿海地区的茴香科常绿灌木植物,同时它还是一味被中国海南黎族人民广为应用的传统中药,具有止咳化痰、消肿止痛、除湿、抗疟等多种功效^[9]. 关于此类植物化学成分的研究也十分广泛,并分离鉴定了生物碱类、香豆素类、柠檬苦素类、倍

收稿日期: 2019-05-13

基金项目: 山西省自然科学基金(201801D221087); 中北大学青年学术带头人支持计划(QX201806)

作者简介: 钟上勇(1995-), 男, 四川成都人, 硕士在读研究生. E-mail: 583735356@qq.com

通讯作者: 袁长春. E-mail: ycc543700483@nuc.edu.cn

半萜类等多种类型的天然产物, 具有抗菌、抗过敏、昆虫拒食、细胞毒等多样的生物活性^[10-15]。

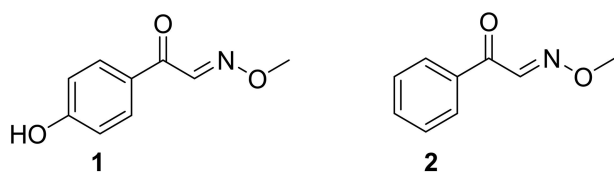


图 1 目标化合物 1 与 2 的结构

Fig. 1 Structures of target compounds 1 and 2

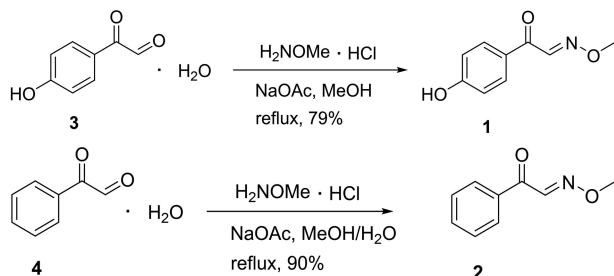


图 2 目标化合物 1 与 2 的合成

Fig. 2 Syntheses of target compounds 1 and 2

2017 年, Cheng 课题组从该植物的树枝中提取分离了一系列酚类及其酚类衍生天然产物^[16], 其中化合物 1 被命名为 Buxifoximes A (图 1), 该化合物含有苯酚和醛肟两个结构单元. Buxifoximes A 具有显著的抗炎活性, 可以有效抑制超氧阴离子的生成, 其 IC_{50} 值为 $4.8 \pm 0.7 \mu\text{mol/L}$. 与化合物 1 一同被 Cheng 课题组分离鉴定的还有已知化合物 2, 结构上二者只是有无酚羟基的差别. Buxifoximes A 独特的结构以及潜在的生物活性, 引起了我们的合成兴趣. 本文以商品化试剂 4-羟基苯甲酰甲醛水合物为起始原料, 与甲氧基胺盐酸盐经一步肟化反应合成了 Buxifoximes A, 同时还经已知步骤合成了化合物 2 (图 2), 并初步研究了化合物 1 和 2 的抗肿瘤活性.

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

瑞士 Bruker 公司 Advance III HD 600 MHz 型核磁共振波谱仪 (CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标); 美国 Thermo Fisher Exactive Plus 型高分辨质谱仪; 安捷伦 Gemini 型 X-射线单晶衍射仪; 恒温培养箱、移液枪、离心机均购自美国 Thermo Fisher 公司; 96 孔细胞培养板、multilabel reader 酶标仪均购自美国 PerkinElmer 公司.

4-羟基苯甲酰甲醛水合物、乙酸钠、甲氧基胺盐酸盐、二甲基亚砜均购自百灵威科技有限公司;

苯甲酰甲醛水合物、三乙胺均购自萨恩化学技术(上海)有限公司; 四氢呋喃、无水甲醇均为分析纯, 用前未经处理; Z-138 和 MV4-11 细胞均购自美国模式培养物集存库 (ATCC); FBS、抗生素、RPMI1640 培养基均购自美国 Gibco 生命科技公司; CellTiter-Glo 试剂购自普洛麦格 (Promega) 生物技术公司.

2.2 合成

2.2.1 化合物 1 的合成 室温下, 向装有回流冷凝管的三口烧瓶中依次加入 4-羟基苯甲酰甲醛水合物 (化合物 3, 100.9 mg, 0.6 mmol)、乙酸钠 (49.2 mg, 0.6 mmol), 并用注射器加入 10.0 mL 无水甲醇, 最后加入甲氧基胺盐酸盐 (50.1 mg, 0.6 mmol). 将反应液加热至回流, 反应 4 h 后停止加热并冷却至室温. 然后室温搅拌下, 向反应体系加入 30.0 mL 饱和碳酸氢钠, 旋转蒸发器减压除去甲醇. 水相使用乙酸乙酯萃取 ($100 \text{ mL} \times 3$ 次), 合并有机相并用无水硫酸钠干燥除去水分, 过滤除去硫酸钠, 在旋转蒸发器上减压浓缩后经硅胶层析柱 [洗脱剂: $A=V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=4:1$] 纯化后得白色固体 1, 共 84.9 mg, 收率 79%, $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 4.09 (s, 3H), 5.42 (s, 1H) 6.90 (d, $J=9.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.9 (s, 1H), 8.09 (d, $J=8.4 \text{ Hz}$, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 63.5 (s), 115.5 (s), 129.2 (s), 133.0 (s), 147.3 (s), 160.5 (s), 186.4 (s); HRMS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}_3$ $\{[M+H]^+\}$ 178.0510, found 178.0500.

2.2.1 化合物 2 的合成 根据已知步骤可合成化合物 2^[17], 路线如图 2 所示. 室温下, 向装有回流冷凝管的三口瓶中依次加入苯甲酰甲醛水合物 (化合物 4, 760.8 mg, 5.0 mmol)、乙酸钠 (410.2 mg, 5.0 mmol), 并用注射器依次加入 7.5 mL 无水甲醇以及 2.5 mL 蒸馏水, 最后加入甲氧基胺盐酸盐 (417.6 mg, 5.0 mmol). 将反应液加热至回流, 反应 30 min 后停止加热并冷却至室温. 然后室温搅拌下, 向反应体系加入 50.0 mL 饱和碳酸氢钠, 旋转蒸发器减压除去甲醇. 水相使用乙酸乙酯萃取 ($150 \text{ mL} \times 3$ 次), 合并有机相并用无水硫酸钠干燥除去水分, 过滤除去硫酸钠, 在旋转蒸发器上减压浓缩后经硅胶层析柱 [洗脱剂: $A=V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=60:1$] 纯化后得淡黄色油状体 2, 共 734.4 mg, 收率 90%, $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 4.08 (s, 3H, CH_3O), 7.44 ~

7.48 (m, 2H), 7.58~7.64 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.07~8.10 (m, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 63.5 (s), 128.4 (s), 130.3 (s), 133.5 (s), 135.9 (s), 147.3 (s), 188.2 (s).

2.2 化合物 1 与化合物 2 的细胞生长抑制试验

分别将处于对数生长期的套细胞淋巴瘤细胞 Z-138、急性单核白血病细胞 MV4-11 于 1 000 rpm 下离心 3 min 后,用含有 10% FBS, 1% 抗生素(青霉素/链霉素)的 RPMI1640 培养基重悬上述离心后的细胞,使用细胞计数仪计数并分别调整细胞个数为 50 000/mL (Z-138 细胞) 和 30 000/mL (MV4-11 细胞). 用移液枪轻吹混匀,以 100 μL /孔的体积将细胞接种于 96 孔细胞培养板中,于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中静置孵育 1 h. 以 DMSO 为阴性对照组,实验组加入稀释于培养基中的不同浓度的化合物 1 或化合物 2,以 100 μL /孔的体积转移至含有细胞的 96 孔板,并分别保持 DMSO 的终浓度为 1‰ (Z-138 细胞) 和 2‰ (MV4-11 细胞). 化合物处理细胞的最终浓度为 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 5 和 0.781 25 $\mu\text{mol/L}$.

培养 4 d 后检测细胞的存活率:每孔加入 20 μL 的 CellTiter-Glo 试剂,室温环境下摇床孵育 10 min,使其充分混匀并反应,而后使用移液枪吸取 100 μL 混悬液转移到 96 孔细胞培养板. 上机读板,在 multilabel reader 酶标仪上于 400~700 nm 波长下进行检测,全程避光处理. 检测结果通过 GraphPad Prism 7.0 软件分析,拟合得到 IC_{50} 值.

3 结果与讨论

3.1 表征

3.1.1 化合物 1 和化合物 2 的合成与结构表征
以 4-羟基苯甲酰甲醛水合物为起始原料,首先对肟化反应进行了条件优化(表 1). 首先考虑溶剂因素,分别选取四氢呋喃和无水甲醇作为反应溶剂,

发现溶剂效应对该反应的收率影响不大(表 1, entries 1 和 3). 随后的研究发现,添加剂的加入对该反应的收率有较大影响:以三乙胺作为添加剂,无论是在四氢呋喃还是无水甲醇中反应,均没有目标产物生成;以乙酸钠作为添加剂,选取无水甲醇作为反应溶剂,可以以 79% 的收率得到目标产物 1. 合成的 Buxifoximes A 通过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 谱及高分辨质谱表征,表征数据与分离提取的天然 Buxifoximes A 完全吻合. 此外,通过已知步骤合成了 Buxifoximes A 的天然类似物 2,并通过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 谱表征了该化合物,表征数据与已知文献^[17]一致.

表 1 合成化合物 1 的最佳反应条件

Tab. 1 Optimization of the reaction conditions to prepare compound 1^a

Entry	Additive	Solvent	<i>t</i> / h	Yield ^b / %
1	—	THF	4	57
2 ^c	Et_3N	THF	4	—
3	—	MeOH	4	64
4 ^c	Et_3N	MeOH	4	—
5	NaOAc	MeOH	4	79

^aUnless other specified, the reaction was carried out with 3 (1.0 mmol) and the *N*-methoxyamine hydrochloride (1.0 mmol) in solvent (10.0 mL) and was monitored by TLC. ^bIsolated yield. ^cDesired product could not be obtained in this entry.

3.1.2 化合物 1 与化合物 2 的细胞生长抑制试验

利用体外细胞生长速率测定法^[18],选取了两株肿瘤细胞 Z-138 和 MV4-11 对化合物 1 和化合物 2 进行了细胞生长抑制试验(表 2). 结果表明,化合物 1 和化合物 2 对 MV4-11 细胞系有优秀的抑制作用,而对 Z-138 细胞系基本无抑制效果. 化合物 1 较之于化合物 2 表现了更强的增长抑制能力,构效关系上表明酚羟基是影响抗肿瘤活性的重要因素. 两个化合物的量效曲线见图 3.

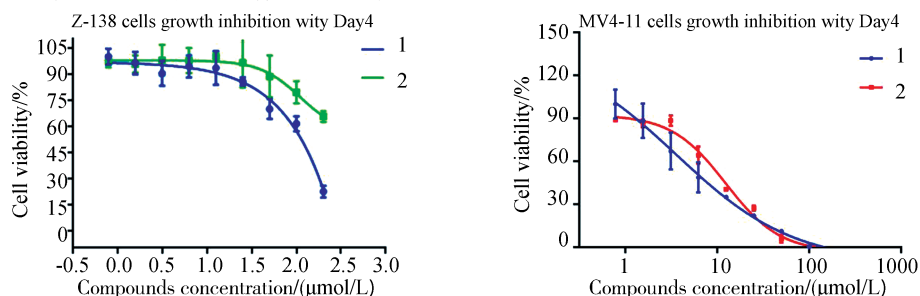


图 3 化合物 1 与化合物 2 对两种肿瘤细胞抑制作用的量效曲线

Fig. 3 Dose response curves for the synthesized compounds against two cancer cell lines

表 2 化合物的体外抗肿瘤活性

Tab. 2 *In vitro* antitumor activities of the compounds

Compound	IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	
	Z-138	MV4-11
1	110.4	3.55
2	>>110	12.36

3 结 论

以商品化试剂 4-羟基苯甲酰甲醛水合物、甲氧基胺盐酸盐为主要反应物,经一步脲化反应合成了天然产物 Buxifoximes A (1),同时还经已知步骤合成了天然类似物 2. 初步的抗肿瘤生物活性研究结果表明,两个化合物均对急性单核白血病细胞 MV4-11 显示出较好的离体抑制活性,具有深入研究的价值.

参考文献:

- [1] Rappoport Z. The chemistry of phenols [M]. Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd., 2004: 358.
- [2] McDonnell G, Russell A D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance [J]. Clin Microbiol Rev, 1999, 12: 147.
- [3] Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, et al. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis [J]. Angew Chem Int Ed, 2011, 50: 586.
- [4] Kenawy E R, Worley S D, Broughton R. The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review [J]. Biomacromolecules, 2007, 8: 1359.
- [5] Arpe H J. Industrial Organic Chemistry [M]. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010.
- [6] Quideau S, Deffieux D, Pouysegu L. Oxidative coupling of phenols and phenol ethers [M]// Comprehensive organic synthesis II. Amsterdam: Elsevier, 2014: 656.
- [7] Yang L, Huang Z, Li G, et al. Synthesis of phenols:

organophotoredox/nickel dual catalytic hydroxylation of aryl halides with water [J]. Angew Chem Int Ed, 2018, 57: 1968.

- [8] Cheng M J, Cao J Q, Yang X Y, et al. Catalytic asymmetric total syntheses of myrtucommuacetalone, myrtucommuacetalone B, and callistrilones A, C, D and E [J]. Chem Sci, 2018, 9: 1488.
- [9] Peng C, Zhuang Z, Yang H, et al. Ultrastable, cationic three-dimensional lead bromide frameworks that intrinsically emit broadband white-light [J]. Chem Sci, 2018, 9: 1627.
- [10] Chukaewa A, Ponglimanont C, Karalai C, et al. Potential anti-allergic acridone alkaloids from the roots of *Atalantia monophylla* [J]. Phytochemistry, 2008, 69: 2616.
- [11] Yang Y, Yang W, Zuo W, et al. Two new acridone alkaloids from the branch of *Atalantia buxifolia* and their biological activity [J]. J Asian Nat Prod Res, 2013, 15: 899.
- [12] Wu T S, Leu Y L, Chan Y Y, et al. Tetranortriterpenoid insect antifeedants from *Severinia buxifolia* [J]. Phytochemistry, 1997, 45: 1393.
- [13] 蒲桃, 王宏宇, 刘英, 等. 新型 2-甲基-3-咪喃甲酰胺类化合物的设计、合成及抑菌活性研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2017, 54: 178.
- [14] Wu T S, Wu Y C, Wu P L, et al. Structure and synthesis of [n]-dehydroshogaols from *Zingiber officinale* [J]. Phytochemistry, 1998, 48: 889.
- [15] Fujioka H, Nishiyama Y, Furukawa H, et al. In vitro and in vivo activities of atalaphillinine and related acridone alkaloids against rodent malaria [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1989, 33: 6.
- [16] Chang F, Li P, Liu R, et al. Bioactive phenolic components from the twigs of *Atalantia buxifolia* [J]. J Nat Prod, 2018, 81: 1534.
- [17] Mlostoń G, Obijalska E, Heimgartner H. New β -amino- α -trifluoromethyl alcohols and their exploration in the synthesis of trifluoromethylated imidazole derivatives [J]. J Fluorine Chem, 2011, 132: 951.

引用本文格式:

中文: 钟上勇, 李星毅, 王艳红, 等. 酚类天然产物 Buxifoximes A 的合成及生物活性[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2020, 57: 348.

英文: Zhong S Y, Li X Y, Wang Y H, et al. Total synthesis and biological evaluation of phenolic natural product Buxifoximes A [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2020, 57: 348.