

· 论著 ·

石蒜碱 2-位羟基构型翻转的探索

赵 增, 许旭升, 孙青夔, 陈 浩, 柳润辉 (第二军医大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 对石蒜碱 2-位羟基构型翻转的研究, 为化合物 asiaticumine B 的半合成提供基础。方法 通过氧化再还原的方法, 探索石蒜碱 2-位羟基构型的翻转。结果 完成了石蒜碱 2-位羟基构型翻转, 总收率 49%。结论 探索出一种高效便捷的对石蒜碱 2-位羟基构型翻转的方法。

[关键词] 石蒜碱; asiaticumine B; 构型翻转

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)06-0511-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.06.008

Configuration inversion of C-2-hydroxy in lycorine

ZHAO Zeng, XU Xusheng, SUN Qingyan, CHEN Hao, LIU Runhui (Department of Natural Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** Study configuration inversion of C-2-hydroxy in lycorine to provide a foundation for semi-synthesis of asiaticumine B. **Methods** Use instrumental analyses to explore the C-2-hydroxy configuration through oxidation and reduction reactions. **Results** Accomplished configuration inversion of C-2-hydroxy in lycorine with 49% yield. **Conclusion** We identified a convenient and efficient method for the configuration inversion of C-2-hydroxy in lycorine.

[Key words] lycorine; asiaticumine B; configuration inversion

石蒜碱(lycorine, 结构式见图 1)是一种具有吡咯并非啶骨架的生物碱, 最初作为催吐剂使用, 随后研究发现其还具有抗病毒、消炎和抗肿瘤等多种生物活性^[1-4]。Asiaticumine B (结构见图 1)是从文殊兰中分离得到的生物碱^[5], 其结构与石蒜碱的基本骨架十分相似, 仅 2-位羟基的构型和 D 环存在差异。近期, 对 asiaticumine B 初步的生物学研究发现, 其对 Wnt 信号通路有良好的抑制活性^[6]。然而, 由于 asiaticumine B 在植物中含量少, 无法满足深入的生物研究, 而石蒜碱在石蒜科植物中含量非常丰富, 可以通过商业购买获得。因此, 我们以石蒜碱为起始原料, 通过半合成的方法合成 asiaticumine B, 以解决其在植物中含量较少的问题。该方法的关键步骤为将石蒜碱的 2-位羟基由 S 构型转变为 R 构型, 为了完成这一关键步骤, 我们首先利用 Mitsunobu 反应^[7]和氧化还原等合成中常用的羟基构型翻转方法, 对石蒜碱 2-位羟基构型翻转进行了探

索。结果发现, 通过选择性对 2-位羟基氧化再还原, 顺利实现了石蒜碱 2-位羟基的构型翻转, 总收率可达 49%, 并且适用于大量制备, 此举为 asiaticumine B 的半合成提供了基础。

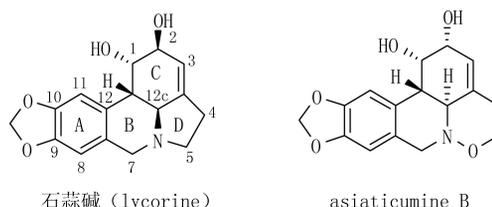


图 1 石蒜碱和 asiaticumine B 的结构式

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 Bruker AV 500 型核磁共振仪测定¹H-NMR 和¹³C-NMR, Agilent 1100 LC/MSD 测定样品分子量和纯度。原料和溶剂分别购于麦克林试剂有限公司、百灵威科技有限公司和中国医药集团上海化学试剂责任有限公司, 所有试剂均为分析纯。

1.2 实验过程 以石蒜碱为起始原料, 利用氧化还原反应顺利得到了 2-位羟基构型翻转的产物 7。其中, 中间体 6 和终产物 7 的合成步骤如下。

1.2.1 化合物 6 的合成 在氩气保护下, 取石蒜碱

[作者简介] 赵 增, 硕士研究生. Tel: (021) 81871251; E-mail: zhaozenghappy@163.com

[通讯作者] 柳润辉, 博士, 教授, 硕士生导师. 研究方向: 中药复方药效物质基础及作用机制研究. Tel: 13611879691; E-mail: lyliurh@126.com

(288 mg, 1 mmol)和戴斯-马丁氧化剂(848 mg, 2 mmol)溶于12 ml 无水吡啶中,室温下反应4 h, TLC 检测,待反应完全后,减压蒸除吡啶,加入30 ml的乙酸乙酯溶解,然后依次用饱和碳酸氢钠溶液、饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤浓缩后硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=3:2),得到米黄色粉末(200 mg, 70%)。¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 6.84 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 5.96 (d, $J=2.7$ Hz, 2H), 5.81 (d, $J=1.7$ Hz, 1H), 4.41 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 4.07 (d, $J=14.3$ Hz, 1H), 3.45 (d, $J=14.2$ Hz, 1H), 3.33 (s, 3H), 3.09 (d, $J=9.8$ Hz, 1H), 2.89 (d, $J=9.8$ Hz, 1H), 2.82 (dd, $J=19.3, 7.4$ Hz, 1H), 2.70 (dt, $J=17.0, 7.8$ Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ 198.1, 169.1, 146.1, 129.7, 127.8, 119.5, 107.5, 106.1, 101.1, 69.6, 62.1, 56.4, 53.3, 46.5, 29.8。ESI-MS m/z : 286.1 $[M+H]^+$ 。 $[a]_D^{20} = -15.6$ (c 0.3, MeOH)。

1.2.2 化合物7的合成 在氩气的保护下,取四氢锂铝(106 mg, 2.8 mmol)溶于10 ml 无水四氢呋喃中,在0 °C下,搅拌0.5 h;然后缓慢滴加化合物6(400 mg, 1.4 mmol, 溶于30 ml 无水四氢呋喃中),继续反应2 h, TLC 检测,待反应完全后,依次滴加与四氢锂铝等质量的水,与水等体积的15%氢氧化钠溶液,2倍量的水,室温下继续搅拌1 h,随后用硅

藻土过滤,浓缩,然后加入20 ml 乙酸乙酯溶解,依次用水、饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤浓缩后硅胶柱层析分离(二氯甲烷:甲醇=20:1),得到淡黄色固体(281 mg, 69.9%)。¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*) δ =6.88 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.92~5.89 (m, 2H), 5.45 (s, 1H), 4.60 (d, $J=4.3$, 1H), 4.43 (m, 1H), 4.07 (d, $J=14.0$, 1H), 3.67 (d, $J=14.0$, 1H), 3.21 (d, $J=10.2$, 1H), 2.75 (d, $J=10.5$, 1H), 2.64 (t, $J=9.6$, 2H), 2.60~2.53 (m, 1H), 1.99 (q, $J=6.5$, 1H)。¹³C NMR (125 MHz, Methanol-*d*) δ =147.8, 147.1, 141.1, 128.7, 128.5, 120.9, 107.9, 105.5, 101.7, 71.1, 67.3, 62.0, 56.7, 54.5, 44.8, 28.6。

2 结果与讨论

2.1 利用 Mitsunobu 反应翻转 2-位羟基的构型 通过查阅文献,最初考虑采用经典的 Mitsunobu 反应^[7]翻转石蒜碱 2-位羟基的构型。该方法首先用乙酰基将 2 个羟基保护得到中间体 2,然后选择性地脱去 2-位羟基上的乙酰基,再用 Mitsunobu 反应翻转羟基的构型,得到中间体 4,最后通过四氢锂铝还原得到 2-*epi*-石蒜碱,路线见图 2。但遗憾的是,收率并不高,而且 Mitsunobu 反应操作烦琐,因此我们放弃了对该方法的进一步优化。

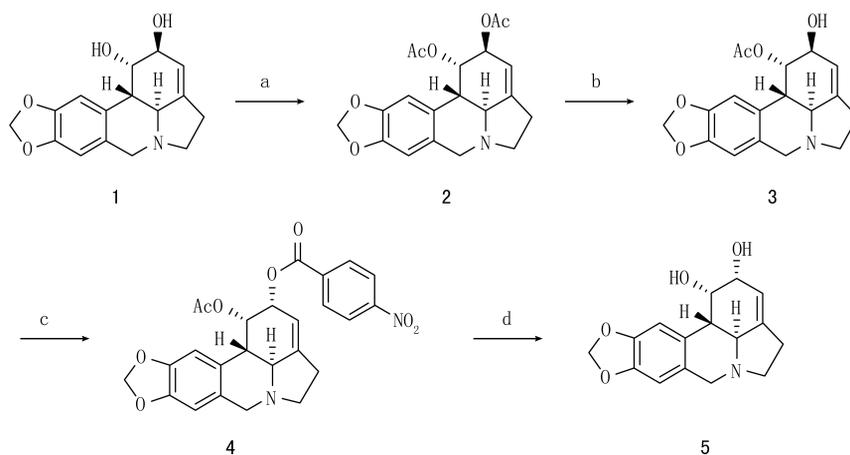


图 2 利用 Mitsunobu 反应羟基构型翻转路线

试剂与条件: a) AcCl, 吡啶, 室温, 12 h, 90%; b) HCl, 甲醇, 55 °C, 1 h, 50%; c) PPh₃, DEAD, 4-NO₂C₆H₄COOH, 二氯甲烷, 室温, 55.1%; d) 四氢锂铝, 四氢呋喃, 0 °C, 2 h, 80.2%

2.2 利用氧化还原反应翻转 2-位羟基的构型 进一步查阅文献发现, Schultz 等^[8]全合成石蒜碱时,利用 1-位羟基的空间位阻,将 2-位酮羰基还原为羟基,以构建石蒜碱 2-位羟基的手性中心。受此启

发,可以选择性地将 2-位羟基氧化为酮羰基,然后将酮羰基重新还原为羟基,利用氧化还原方法的探索来控制 2-位羟基构型。

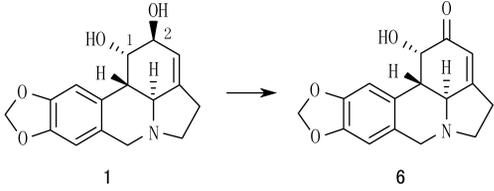
对 2-位羟基的氧化首先选择了经典的氧化剂

二氧化锰,以二氯甲烷作为反应溶剂,但由于石蒜碱在二氯甲烷中的溶解性较差,严重限制了反应的进一步进行;随后分别选用丙酮和四氢呋喃作为反应溶剂,虽然石蒜碱的溶解性有所改善,但是副反应较多,导致产率很低(表1);以上探索说明二氧化锰不适用于石蒜碱2-位羟基的氧化。通过查阅文献发现,戴斯-马丁氧化剂可以选择性地氧化烯丙位的羟基^[9]。遂以戴斯-马丁为氧化剂,尝试不同的反应

条件,包括采用不同的反应溶剂和反应温度等(表1),最终认为用2 mol的戴斯-马丁氧化剂,室温下在吡啶中反应4 h,效果最好,产率可达69.9%。

氧化羟基得到羰基化合物6后,参照Schultz等全合成石蒜碱的方法,首先采用Luche反应还原酮羰基。在实验中发现,虽然Luche还原的条件温和,操作简便,但产率不稳定,在30%~80%间浮动,这给后续的放量带来了很大阻力。随后选用硼氢化钠在甲醇中还原酮羰基,但只有少量的酮羰基被还原,原因可能是硼氢化钠是一个比较“软”的还原剂。于是我们尝试采用较“硬”的还原剂四氢锂铝,其对羰基还原产率略低于Luche还原的最高收率,但是稳定性更好,适用于放量反应,合成路线见图3。

表1 烯丙位羟基的氧化反应



编号	氧化剂	溶剂	温度 (t/°C)	时间 (t/h)	产率 (%)
1	二氧化锰	二氯甲烷	回流	24	<20%
2	二氧化锰	四氢呋喃	回流	24	混合物
3	二氧化锰	丙酮	回流	24	混合物
4	戴斯-马丁	甲苯	回流	2	20.4
5	戴斯-马丁	甲苯	25	4	18.5
6	戴斯-马丁	吡啶	25	4	69.9
7	戴斯-马丁	四氢呋喃	25	12	30.1
8	戴斯-马丁	乙腈	25	12	35.4

我们分析了Luche还原产率不稳定的原因,根据Luche还原的反应机制^[10](图4),三氯化铈可以促进硼氢化钠的醇解,生成甲氧基硼氢化钠,根据软硬酸碱理论,甲氧基硼氢化钠是一种较硬的还原剂,倾向于还原羰基;另外,三氯化铈与甲醇共同作用可以利用氢键活化羰基,间接提高硼氢化钠还原羰基的能力。遗憾的是,在我们的反应化合物中,羰基上的氧也可与其相邻羟基上的氢形成分子内氢键,竞争活化羰基的氢键,这可能是导致Luche还原收率

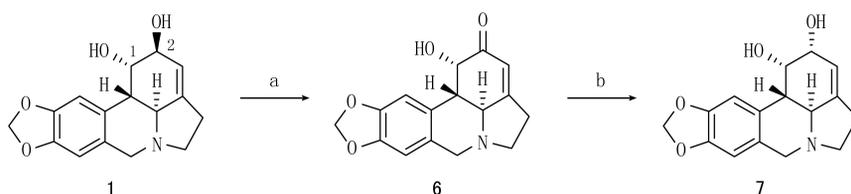


图3 利用氧化还原反应进行羟基构型翻转路线

试剂与条件: a) 戴斯-马丁氧化剂,吡啶,4 h,室温,69.9%; b) 四氢锂铝,四氢呋喃,0 °C,70%

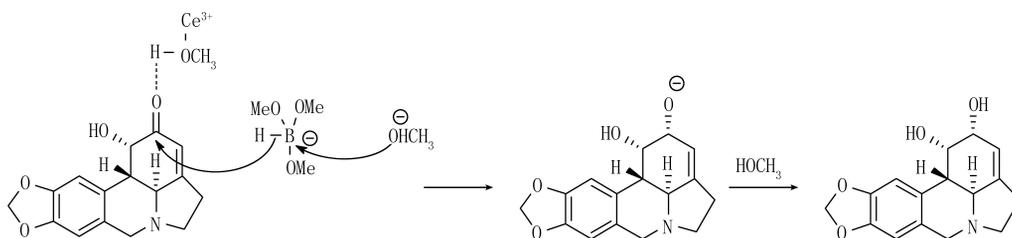


图4 Luche还原的反应机制

不稳定的原因。

由化合物7的HSQC谱(图5)可以得知,C-1和C-2位氢的化学位移分别为 δ 4.60 (d, $J=4.3$, 1H), 4.43 (m, 1H),再通过NOESY谱(图6)可以

看到C-1位和C-2位的氢有相关信号,说明C-1位和C-2位的2个氢在同一侧,由此可以得出2个羟基同在另一侧,且C-1和C-2位的构型分别为S和R。

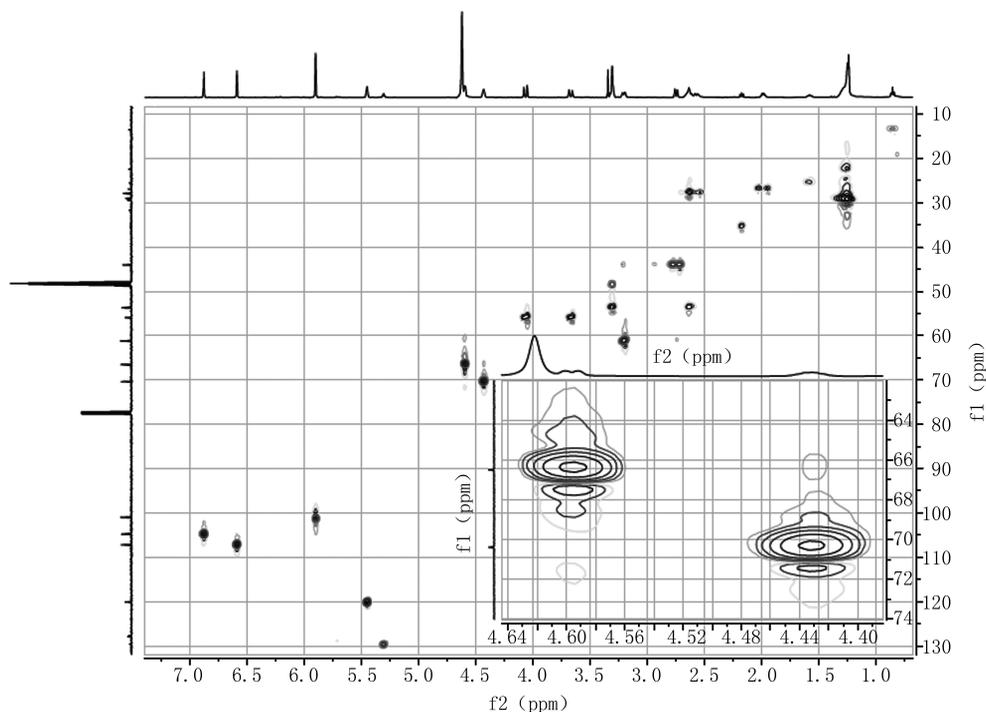


图5 化合物7的HSQC谱图

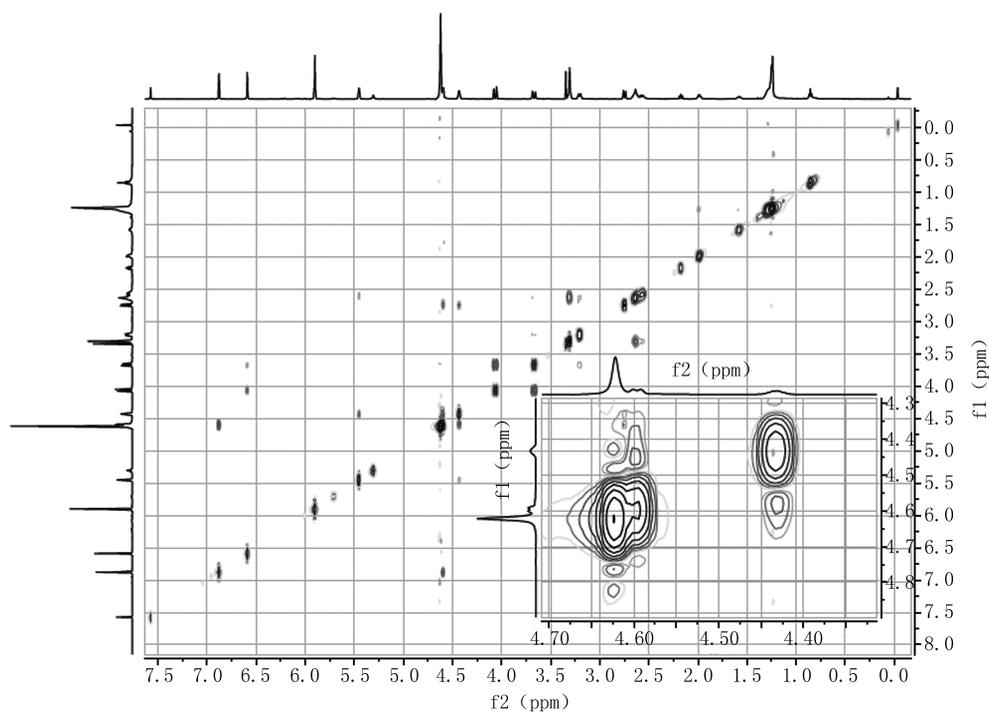


图6 化合物7的NOESY谱图

3 结论

我们测量了化合物6和7的旋光度,分别为 $[\alpha]_D^{20} = -15.6$ (c 0.3, MeOH)和 $[\alpha]_D^{20} = -40.3$ (c 0.3, MeOH)。化合物7的旋光度和石蒜碱的旋光度数值相差不大,但方向正好相反,进一步验证了化

合物7的2-位羟基构型已由S构型转变为R构型。

通过对石蒜碱2-位羟基构型翻转方法的探索,找到了一条高效便捷的途径,总收率可达49%,并且适用于大量制备,这为进一步合成对Wnt信号通路有良好抑制活性的asiaticumine B提供了坚实的基础。

【参考文献】

- [1] Lamoral-Theys D, Andolfi A, Van Goietsenoven G, *et al.* Lycorine, the main phenanthridine amaryllidaceae alkaloid, exhibits significant antitumor activity in cancer cells that display resistance to proapoptotic stimuli: an investigation of structure-activity relationship and mechanistic insight [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(20): 6244-6256.
- [2] Liu J, Yang Y, Xu Y, *et al.* Lycorine reduces mortality of human enterovirus 71-infected mice by inhibiting virus replication [J]. *Virol J*, 2011, 8: 483.
- [3] 抗晶晶, 王 辉. 石蒜碱抗炎作用研究进展 [J]. *中国野生植物资源*, 2013, 32(6): 1-3.
- [4] 秦昆明, 李 笑, 徐 昭, 等. 石蒜碱及其衍生物的药理作用研究概况 [J]. *北京联合大学学报(自然科学版)*, 2009, 23(1): 6-10.
- [5] 孙 倩. 文殊兰化学成分及生物活性研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2008.
- [6] Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease [J]. *Cell*, 2012, 149(6): 1192-1205.
- [7] Wang P, Li LF, Wang QY, *et al.* Anti-dengue-virus activity and structure-activity relationship studies of lycorine derivatives [J]. *Chem Med Chem*, 2014, 9(7): 1522-1533.
- [8] Schultz AG, Holoboski MA, Smyth MS. The first asymmetric total syntheses of (+)-lycorine and (+)-1-deoxylycorine [J]. *J Am Chem Soc*, 1996, 118(26): 6210-6219.
- [9] Evdokimov NM, Lamoral-theys D, Mathieu V, *et al.* In search of a cytostatic agent derived from the alkaloid lycorine: synthesis and growth inhibitory properties of lycorine derivatives [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2011, 19(23): 7252-7261.
- [10] Kurti L, Czako B. Strategic applications of named reactions in organic synthesis [M]. Elsevier: Academic Press, 2005.
- [收稿日期] 2016-04-16 [修回日期] 2016-06-21
[本文编辑] 李睿旻
-
- (上接第492页)
- [9] Momekova D, Momekov G, Ivanova J, *et al.* Sterically stabilized liposomes as a platform for salinomycin metal coordination compounds: physicochemical characterization and in vitro evaluation [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2013, 23(3): 215-223.
- [10] Davis ME, Chen ZG, Shin DM. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(9): 771-782.
- [11] Ni M, Xiong M, Zhang X, *et al.* Poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles conjugated with CD133 aptamers for targeted salinomycin delivery to CD133+ osteosarcoma cancer stem cells [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 2537-2554.
- [12] Jiang J, Chen H, Yu C, *et al.* The promotion of salinomycin delivery to hepatocellular carcinoma cells through EGFR and CD133 aptamers conjugation by PLGA nanoparticles [J]. *Nanomedicine*, 2015, 10(12): 1863-1879.
- [13] Zhao P, Dong S, Bhattacharyya J, *et al.* iTEP nanoparticle-delivered salinomycin displays an enhanced toxicity to cancer stem cells in orthotopic breast tumors [J]. *Mol Pharm*, 2014, 11(8): 2703-2712.
- [14] Wang Q, Wu P, Ren W, *et al.* Comparative studies of salinomycin-loaded nanoparticles prepared by nanoprecipitation and single emulsion method [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2014, 9(1): 351-359.
- [15] Aydin RS. Herceptin-decorated salinomycin-loaded nanoparticles for breast tumor targeting [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101(5): 1405-1415.
- [16] Lei Y, Lai Y, Li Y, *et al.* Anticancer drug delivery of PEG based micelles with small lipophilic moieties [J]. *Int J Pharm*, 2013, 453(2): 579-586.
- [17] 毛晓丽, 张 翮, 俞 媛, 等. 穿膜肽修饰盐霉素胶束的制备与表征 [J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(23): 2812-2816.
- [18] Wei T, Liu J, Ma H, *et al.* Functionalized nanoscale micelles improve drug delivery for cancer therapy *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nano Letters*, 2013, 13(6): 2528-2534.
- [19] 张 杨, 代文兵, 王坚成, 等. 载盐霉素聚合物胶束的构建与抗肿瘤干细胞的体外研究 [J]. *中国药学杂志*, 2014, 49(5): 384-391.
- [20] Mao X, Liu J, Gong Z, *et al.* iRGD-conjugated DSPE-PEG2000 nanomicelles for targeted delivery of salinomycin for treatment of both liver cancer cells and cancer stem cells [J]. *Nanomedicine*, 2015, 10(17): 2677-2695.
- [21] Zhang Y, Zhang H, Wang X, *et al.* The eradication of breast cancer and cancer stem cells using octreotide modified paclitaxel active targeting micelles and salinomycin passive targeting micelles [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(2): 679-691.
- [22] Wei X, Senanayake TH, Warren G, *et al.* Hyaluronic acid-based nanogel-drug conjugates with enhanced anticancer activity designed for the targeting of CD44-positive and drug-resistant tumors [J]. *Bioconjug Chem*, 2013, 24(4): 658-668.
- [23] Fabbro C, Ali-Boucetta H, Da Ros T, *et al.* Targeting carbon nanotubes against cancer [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2012, 48(33): 3911-3926.
- [24] Piovesan S, Cox PA, Smith JR, *et al.* Novel biocompatible chitosan decorated single-walled carbon nanotubes (SWNTs) for biomedical applications: theoretical and experimental investigations [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2010, 12(48): 15636-15643.
- [25] Yao HJ, Zhang YG, Sun L, *et al.* The effect of hyaluronic acid functionalized carbon nanotubes loaded with salinomycin on gastric cancer stem cells [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(33): 9208-9223.
- [26] Nyström AM, Fadeel B. Safety assessment of nanomaterials: implications for nanomedicine [J]. *J Control Release*, 2012, 161(2): 403-408.
- [收稿日期] 2016-03-03 [修回日期] 2016-05-24
[本文编辑] 李睿旻