

# 蒙氏假单胞菌 ZMU-T06 氧化脱氢芳构化合成 2-取代喹啉类化合物

杨敏<sup>1</sup>, 邹岚<sup>1</sup>, 冉会敏<sup>1</sup>, 秦磊<sup>2\*</sup>

1 遵义医科大学第三附属医院(遵义市第一人民医院), 贵州 遵义 563000

2 遵义医科大学 药学院 贵州省生物催化与手性药物合成重点实验室, 贵州 遵义 563000

杨敏, 邹岚, 冉会敏, 秦磊. 蒙氏假单胞菌 ZMU-T06 氧化脱氢芳构化合成 2-取代喹啉类化合物[J]. 生物工程学报, 2025, 41(1): 288-295.

YANG Min, ZOU Lan, RAN Huimin, QIN Lei. *Pseudomonas monteilii* ZMU-T06 produces 2-substituted quinolines by oxidative dehydroaromatization[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(1): 288-295.

**摘要:** 2-取代喹啉是合成天然产物和药物的重要组成部分。与经典方法相比, 2-取代-1,2,3,4-四氢喹啉的脱氢芳构化由于其高原子经济性和可持续性, 近年来已成为获得 2-取代喹啉的一种有效而直接的方法。然而, 现有的化学方法需要使用过渡金属催化剂且反应条件苛刻, 相比之下生物催化具有高效、高选择性以及反应条件温和等优点, 已经成为有机合成领域的重要方法。本研究通过生物酶挖掘获得一株产单胺氧化酶的蒙氏假单胞菌(*Pseudomonas monteilii*) ZMU-T06, 能够催化 2-取代-1,2,3,4-四氢喹啉类化合物脱氢芳构化合成 2-取代喹啉类化合物(8 个底物, 产率为 45.7%–48.4%), 并推测了其可能的催化机理, 为绿色合成 2-取代喹啉类化合物提供新的方法。

**关键词:** 单胺氧化酶; 脱氢芳构化; 2-取代喹啉; 催化机理

资助项目: 贵州省教育厅青年科技人才成长基金(KY-2018-226); 遵义医科大学硕士启动基金(F-888)

This work was supported by the Youth Science and Technology Talent Growth Project of Guizhou Department of Education (KY-2018-226) and the Master's Fund of Zunyi Medical University (F-888).

\*Corresponding author. E-mail: lqin@zmu.edu.cn

Received: 2024-04-29; Accepted: 2024-06-06; Published online: 2024-06-07

## *Pseudomonas monteilii* ZMU-T06 produces 2-substituted quinolines by oxidative dehydroaromatization

YANG Min<sup>1</sup>, ZOU Lan<sup>1</sup>, RAN Huimin<sup>1</sup>, QIN Lei<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> The Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University (The First People's Hospital of Zunyi), Zunyi 563000, Guizhou, China

<sup>2</sup> Key Laboratory of Biocatalysis & Chiral Drug Synthesis of Guizhou Province, School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China

**Abstract:** 2-substituted quinolines are the building blocks for the synthesis of natural products and pharmaceuticals. In comparison with classical methods, dehydroaromatization of 2-substituted-1,2,3,4-tetrahydroquinolines has emerged in recent years as an efficient and straightforward method to synthesize quinolines due to its high atom economy and sustainability. However, existing chemical methods need transition metal catalysts and harsh reaction conditions. Biocatalysis with high efficiency, high selectivity, and mild reaction conditions has become an important method of organic synthesis. We mined a strain *Pseudomonas monteilii* ZMU-T06 capable of producing monoamine oxidase for the dehydroaromatization of 2-substituted-1,2,3,4-tetrahydroquinolines to synthesize 2-substituted quinolines (8 substrates, yields of 45.7%–48.4%) and then hypothesized the catalytic mechanism, providing a new method for green synthesis of 2-substituted quinolines.

**Keywords:** monoamine oxidase; dehydroaromatization; 2-substituted quinolines; catalytic mechanism

2-取代喹啉代表了一类特殊的结构单元,广泛存在于天然生物碱和合成药物中<sup>[1-3]</sup>。含有喹啉骨架的化合物(图 1)表现出多种生物活性,具有抗疟疾、抗抑郁和抗肿瘤的作用<sup>[4-7]</sup>。许多传统的方法致力于构建喹啉骨架<sup>[8-9]</sup>。例如,经典的化学方法包括 Skraup、Doebner-Miller、Knorr 和 Friedländer 反应<sup>[10]</sup>。然而,它们中的大多数都存在固有的缺点,如消耗高酸性溶液和生成大量副产物<sup>[11]</sup>。近年来,研究人员逐渐关注 1,2,3,4-四氢喹啉(1,2,3,4-tetrahydroquinolines, THQ)的脱氢芳构化,因为它具有高原子经济性<sup>[12]</sup>、可持续性和避免多步操作程序等优点<sup>[13]</sup>,其脱氢芳构化常涉及过量氧化剂、有机催化、金属催化、光催化和电催化<sup>[14]</sup>,这些催化过程需要苛刻的条件、强氧化剂或过渡金属<sup>[15-19]</sup>。因此,

开发一种有效且环境友好的 2-取代四氢喹啉脱氢芳构化方法十分必要。

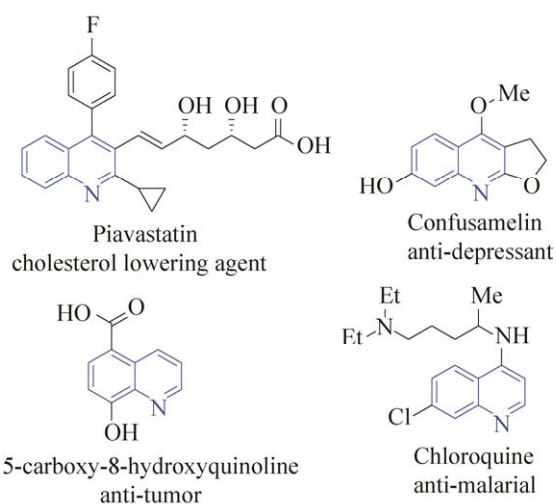


图 1 含有喹啉骨架的生物活性化合物

Figure 1 Biologically active compounds containing quinoline scaffolds.

用于合成 2-取代喹啉的生物催化氧化脱氢芳构化方法的研究较少。研究者利用来自恶臭假单胞菌 KT2440 的单胺氧化酶(PpMAO)催化四氢喹啉脱氢芳构化生成喹啉类化合物,其催化的底物类型主要是苯环上有取代基的 THQ<sup>[20]</sup>。N-杂环的生物催化氧化脱氢芳构化构建 2-取代喹啉已被应用于合成芳香族 N-杂环,如吡咯、吡啶和吡啶<sup>[21-23]</sup>。在上述研究基础上,本研究希望能够开发一种生物催化剂介导 2-取代四氢喹啉的氧化脱氢的有效方法。与化学氧化剂相比,分子氧用作氢受体不仅可以避免使用有毒试剂,还可以促进产物的分离和纯化,从而为 2-取代 THQ 的氧化脱氢芳构化提供了一种更环保的方法。

本研究从课题组前期构建的菌库中筛选获得一株能够催化 2-取代四氢喹啉脱氢芳构化合成 2-取代喹啉的菌株蒙氏假单胞菌(*Pseudomonas monteilii*) ZMU-T06 (图 2)。通过优化催化条件,使其催化 2-取代四氢喹啉生成 2-取代喹啉,并推测了其可能的催化机理。

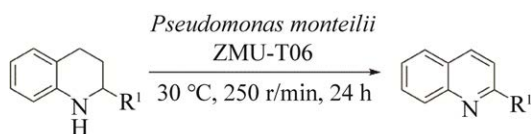


图 2 *Pseudomonas monteilii* ZMU-T06 催化 2-取代四氢喹啉脱氢芳构化

Figure 2 Biocatalytic oxidative dehydroaromatization of 2-substituted THQ using *Pseudomonas monteilii* ZMU-T06.

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 仪器与试剂

仪器:核磁共振仪[安捷伦科技(中国)有限公司],正相高效液相色谱(岛津公司),手性分析柱[大赛璐药物手性技术(上海)有限公司],上海智城恒温培养振荡器(上海智城分析仪器

制造有限公司),生物洁净安全台(苏州安泰空气技术有限公司),冷冻高速离心机(贝克曼库尔特有限公司),自动酶标仪(上海锦锚工业科技有限公司),生化培养箱(东京理化器械株式会社),电子分析天平(上海辰之州实业有限公司),pH 计(梅特勒托利多公司),磁力搅拌器(苏州赛恩斯仪器有限公司),旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社),真空泵(爱发科公司)。

试剂:2-甲基四氢喹啉(compound **1a**, 99%)、2-乙基四氢喹啉(compound **1b**, 99%)、2-丙基四氢喹啉(compound **1c**, 99%)、2-正丁基四氢喹啉(compound **1d**, 99%)、2-异丙基四氢喹啉(compound **1e**, 99%)、2-异丁基四氢喹啉(compound **1f**, 99%)、2-烯丙基四氢喹啉(compound **1g**, 99%)和 2-环丙基四氢喹啉(compound **1h**, 99%, TCI)均购自东京化成工业株式会社(Tokyo Chemical Industry, TCI)。其余试剂均为市售分析纯。

### 1.2 菌株培养方法

菌株的活化:将保存于-80 °C的原始甘油菌接种于含 5 mL LB 培养基的试管中,将试管在 30 °C、250 r/min 条件下恒温摇床培养 8 h,培养后的 LB 培养菌液用接种环划线涂布于 LB 固体培养基平板中,并置于 30 °C 恒温培养箱中培养过夜,观察菌株生长情况,当 LB 固体培养基平板中可观察到单菌落长出即可挑取单菌落进行二次活化,如此反复活化 2-3 次。最后将目标菌株的平板置于 4 °C 冰箱中储存备用。

一级富集培养:将 *P. monteilii* 系列菌株接种于含 10 mL LB 培养基的试管中,将试管在温度为 30 °C、转速为 250 r/min 条件下摇床培养 8 h。

发酵富集培养:将一级富集培养后的种子菌液在 450 nm 下测其 OD 值,并计算出加入发酵培养的种子液体积,使发酵培养液的起始 OD<sub>450</sub> 值为 0.1;最后将含接种的发酵培养液的

锥形瓶于温度 30 °C、转速 250 r/min 条件下摇床培养 18 h。

### 1.3 生物转化步骤

用 LB 培养基作为空白对照,测得各发酵菌液  $OD_{450}$  值;将发酵菌液移入 50 mL 离心管,8 000 r/min、4 °C 离心 3 min;倒掉上清液,并根据  $OD_{450}$  值与细胞浓度关系加入计算所得相应的  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$  缓冲溶液,重悬菌体并混匀,配制所需的菌液细胞浓度;用移液管量取细菌悬浮液 5 mL 于 25 mL 反应瓶中,并加入相应浓度的底物(*rac*)-**1a**,在转速为 250 r/min、温度为 30 °C 条件下进行生物转化 24 h。生物转化 24 h 后,加入等体积乙酸乙酯(5 mL)充分萃取,取有机层 1 mL 于 EP 管中,加入无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  进行干燥、离心,移取干燥后的有机层 300  $\mu\text{L}$ ,并加入 300  $\mu\text{L}$  HPLC 级异丙醇进行正相 HPLC 分析。根据正相液相色谱图的底物及产物的峰面积,计算产率。核磁共振  $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR 鉴定产物结构式,使用  $\text{CDCl}_3$  作为溶剂,四甲基硅烷(tetramethylsilane, TMS)作为内标物质。

### 1.4 底物和产物的分析

底物和产物通过文献报道的 HPLC 方法进行分析(表 1,流速:0.8 mL/min;波长:254 nm;手性柱:Chiralpak OJ-H, 4.6 mm $\times$ 250 mm)<sup>[24]</sup>,因产物 2-取代喹啉类化合物均是已知化合物,本研究中只对化合物 **2a** 进行了核磁共振表征。

表 1 化合物的分析条件

Table 1 Analysis conditions of compounds

Compounds	Hexane/ <i>i</i> -PrOH	$t_{\text{minor}}$ (min)	$t_{\text{major}}$ (min)
<b>1a</b>	90/10	13.0	14.3
<b>1b</b>	95/5	15.3	17.8
<b>1c</b>	95/5	12.7	16.0
<b>1d</b>	95/5	11.0	12.9
<b>1e</b>	95/5	10.0	10.3
<b>1f</b>	95/5	9.7	13.3
<b>1g</b>	95/5	11.9	13.3

## 2 结果与分析

生物酶的催化活性受底物浓度的影响,高的底物浓度对生物酶具有毒副作用,因此将模板底物 2-甲基四氢喹啉(**1a**)的浓度设定为 2 mmol/L。此外,菌株在自身的生长代谢过程中会因代谢产物的积累,导致整个生长微环境发生变化,不利于生物酶的催化活性,因此选择 50 mmol/L、pH 7.0 的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  和  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)作为反应介质来调节催化体系的 pH。以此为催化反应体系进行菌库中菌株的筛选,采用高效液相色谱(HPLC)进行反应结果检测,其筛选结果见图 3 和表 2。对筛选结果进行分析,发现 6 株菌株(*P. monteilii* ZMU-T01、*P. monteilii* ZMU-T06、*P. monteilii* ZMU-T07、*P. monteilii* ZMU-T11、*P. monteilii* ZMU-T13、*P. monteilii* ZMU-T16)对模板底物具有较好的生物催化活性,其中 *P. monteilii* ZMU-T06 转化 2-甲基四氢喹啉具有最高产率,因此选择 *P. monteilii* ZMU-T06 菌株作为生物催化剂进行生物转化条件的优化。其优化结果见表 3。

由于蛋白质表面离子化侧链的存在,蛋白质带净电荷,反应体系的 pH 值会影响蛋白质表面电荷的分布以及其空间结构的变化,蛋白质分之间的相互作用也受到反应体系 pH 的调控,所以反应体系的 pH 值在生物催化中是影响催化效果的关键因素之一。因此,配制不同 pH 的 PBS 缓冲溶液去考察对催化反应的影

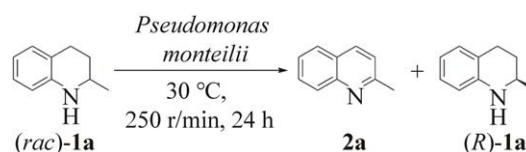


图 3 生物催化剂筛选的模板反应

Figure 3 Template reaction for biocatalyst screening.

表 2 催化 2-甲基四氢喹啉脱氢芳构化生物催化剂的筛选

Table 2 Screening for biocatalysts to catalyze dehydroaromatization of 2-methyltetrahydroquinoline

Strains <sup>a</sup>	Yield of <b>2a</b> (%) <sup>b</sup>	<i>e.e.</i> value of ( <i>R</i> )- <b>1a</b> (%)	Strains	Yield of <b>2a</b> (%)	<i>e.e.</i> value of ( <i>R</i> )- <b>1a</b> (%)
<i>P. monteilii</i> ZMU-T01	30.2	43.3	<i>P. monteilii</i> ZMU-T11	32.7	48.6
<i>P. monteilii</i> ZMU-T02	14.3	16.7	<i>P. monteilii</i> ZMU-T12	13.6	16.0
<i>P. monteilii</i> ZMU-T03	12.0	14.0	<i>P. monteilii</i> ZMU-T13	35.2	55.2
<i>P. monteilii</i> ZMU-T04	24.1	31.5	<i>P. monteilii</i> ZMU-T14	13.1	15.4
<i>P. monteilii</i> ZMU-T05	15.4	18.0	<i>P. monteilii</i> ZMU-T15	7.5	9.0
<i>P. monteilii</i> ZMU-T06	37.2	59.4	<i>P. monteilii</i> ZMU-T16	33.9	51.3
<i>P. monteilii</i> ZMU-T07	32.8	49.0	<i>P. monteilii</i> ZMU-T17	28.6	40.1
<i>P. monteilii</i> ZMU-T08	15.5	18.6	<i>P. monteilii</i> ZMU-T18	25.2	33.8
<i>P. monteilii</i> ZMU-T09	26.4	36.0	<i>P. monteilii</i> ZMU-T19	17.6	21.5
<i>P. monteilii</i> ZMU-T10	12.3	14.0	<i>P. monteilii</i> ZMU-T20	0.0	0.0

<sup>a</sup>: Unless otherwise noted, mixtures of (*rac*)-**1a** (5.0 mmol/L), cell suspension (10.0 g dcw/L), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> buffer (50 mmol/L, pH=7.0) in 5.0 mL reaction system were shaken at 250 r/min at 30 °C for 24 h. <sup>b</sup>: The yield of **2a**:  $Y=A_{2a}/A_{t2a} \times 100\%$ ,  $A_{2a}$  represents the peak area of generated **2a**,  $A_{t2a}$  represents the peak area of the theoretically generated **2a**, all peak areas were determined by HPLC analysis.

表 3 生物催化的反应条件优化

Table 3 Optimization of reaction conditions for biocatalysis

pH <sup>a</sup>	Substrate concentration (mmol/L)	Cell density (g DCW/L)	Yield of <b>2a</b> (%) <sup>b</sup>	<i>e.e.</i> value of ( <i>R</i> )- <b>1a</b> (%)
5.0	2.0	30.0	37.2	59.0
6.0	2.0	30.0	37.3	59.2
7.0	2.0	30.0	37.4	59.3
8.0	2.0	30.0	41.5	71.0
9.0	2.0	30.0	39.2	64.5
8.0	4.0	30.0	45.1	82.2
8.0	6.0	30.0	46.1	85.0
8.0	8.0	30.0	44.3	79.5
8.0	10.0	30.0	44.5	80.2
8.0	10.0	50.0	47.6	91.0
8.0	10.0	70.0	45.2	82.5

<sup>a</sup>: Unless otherwise noted, mixtures of (*rac*)-**1a** (different substrate concentration), cell density (different cell densities), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> buffer (50 mmol/L with different pH) in 5.0 mL reaction system was shaken at 250 r/min at 30 °C for 24 h.

<sup>b</sup>: The yield of **2a**:  $Y=A_{2a}/A_{t2a} \times 100\%$ ,  $A_{2a}$  represents the peak area of generated **2a**,  $A_{t2a}$  represents the peak area of the theoretically generated **2a**, all peak areas were determined by HPLC analysis. dcw: Dry cell weight.

响, 其催化结果如表 3 所示。实验结果表明, 当 pH 值从 5.0 到 8.0 时, 菌株对 2-甲基四氢喹啉氧化脱氢的产率不断提高, 当 pH 值为 9.0 时, 菌株的催化效率下降, 最终筛选获得反应体系的最优 pH 为 8.0。

为了以后适应工业化的生产, 提高反应底物的浓度具有一定的实际意义, 但是不同的生

物催化剂对底物的耐受能力也有差异, 获得高耐受性的生物催化剂具有一定的难度, 这也是限制大多数生物催化反应进行工业化应用的关键因素。在反应底物浓度优化的过程中 (表 3), 发现生物催化剂的浓度为 30.0 g/L 细胞干重(dry cell weight, dcw)时, 催化 10.0 mmol/L 化合物 **2a** 的产率为 47.6%。为了进一步提高化合

物 **2a** 的产率, 将底物浓度设定为 10.0 mmol/L, 对生物催化剂的浓度进行了优化, 结果表明, 随着生物催化剂浓度的增加, 化合物 **2a** 的产率有一定的提高, 但是生物催化剂浓度达到 50.0 g DCW/L 后, 继续增加其浓度, 化合物 **2a** 的产率下降, 可能的原因是生物催化剂的增加导致反应过程中溶氧下降及传质效率下降导致酶的催化效率降低。因此, 将整细胞浓度设定为 50.0 g DCW/L。

基于前期生物催化反应条件的优化, 对 *P. monteilii* ZMU-T06 的催化底物谱进行了表征, 主要考察了 2-取代四氢喹啉类底物(**1b–1j**), 其催化结果见图 4 和表 4。当 R<sup>2</sup> 取代基为甲基、乙基和正丁基时, 其获得产率为 47.6%–48.0%, 当 R<sup>2</sup> 取代基为正丙基、异丙基、异丁基、烯丙基和环丙基时, 其获得产率达到 48.0% 左右,

当 R<sup>1</sup> 取代基为甲基和甲氧基, R<sup>2</sup> 取代基为甲基时, *P. monteilii* ZMU-T06 对这两种底物没有催化活性, 推测原因是该类底物在 *P. monteilii* ZMU-T06 的活性口袋中无催化模式的结合。此外, 本研究还对四氢异喹啉进行了测试, 但是没有检测到活性。综上所述, *P. monteilii* ZMU-T06 催化 2-取代四氢喹啉类脱氢芳构化具有较好的普适性。其中 2-甲基喹啉(**2a**)的表征为金黄色液体, 其核磁结果如表 5 所示。

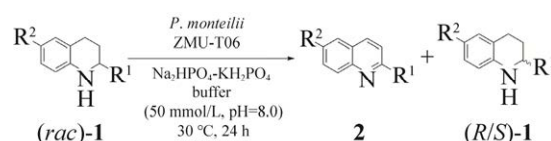


图 4 *P. monteilii* ZMU-T06 催化底物谱的考察  
Figure 4 Investigation of substrate scope catalyzed by *P. monteilii* ZMU-T06.

表 4 *P. monteilii* ZMU-T06 催化 2-取代四氢喹啉类底物谱的考察

Table 4 Substrate scope for biocatalytic oxidative dehydroaromatization of 2-substituted THQ using *P. monteilii* ZMU-T06

Entry <sup>a</sup>	( <i>rac</i> )- <b>1</b>	Yield of <b>2</b> (%) <sup>b</sup>	<i>e.e.</i> value of ( <i>R/S</i> )- <b>1</b> (%)
1	R <sup>1</sup> =Me, R <sup>2</sup> =H ( <b>1a</b> )	<b>2a</b> /47.6	( <i>R</i> )- <b>1a</b> /91.0
2	R <sup>1</sup> =Et, R <sup>2</sup> =H ( <b>1b</b> )	<b>2b</b> /47.2	( <i>R</i> )- <b>1b</b> /89.4
3	R <sup>1</sup> = <i>n</i> -Pr, R <sup>2</sup> =H ( <b>1c</b> )	<b>2c</b> /48.1	( <i>R</i> )- <b>1c</b> /92.7
4	R <sup>1</sup> = <i>n</i> -Bu, R <sup>2</sup> =H ( <b>1d</b> )	<b>2d</b> /48.0	( <i>R</i> )- <b>1d</b> /92.0
5	R <sup>1</sup> = <i>i</i> -Pr, R <sup>2</sup> =H ( <b>1e</b> )	<b>2e</b> /48.4	( <i>S</i> )- <b>1e</b> /93.8
6	R <sup>1</sup> = <i>i</i> -Bu, R <sup>2</sup> =H ( <b>1f</b> )	<b>2f</b> /48.0	( <i>S</i> )- <b>1f</b> /92.0
7	R <sup>1</sup> =allyl, R <sup>2</sup> =H ( <b>1g</b> )	<b>2g</b> /47.4	( <i>S</i> )- <b>1g</b> /90.0
8	R <sup>1</sup> =cyclopropyl, R <sup>2</sup> =H ( <b>1h</b> )	<b>2h</b> /45.7	( <i>S</i> )- <b>1h</b> /84.3

<sup>a</sup>: Unless otherwise noted, mixtures of (*rac*)-**1a** (10.0 mmol/L), cell density (50.0 g dcw/L), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> buffer (50 mmol/L, pH 8.0) in 5.0 mL reaction system were shaken at 250 r/min at 30 °C for 24 h. <sup>b</sup>: The yield of **2a**: Y=A<sub>2a</sub>/A<sub>t2a</sub>×100%, A<sub>2a</sub> represents the peak area of generated **2a**, A<sub>t2a</sub> represents the peak area of the theoretically generated **2a**, all peak areas were determined by HPLC analysis.

表 5 2-甲基喹啉的表征数据

Table 5 Characterization data of 2-methyl-quinoline

<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	<sup>13</sup> C NMR (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	HRMS (ESI-TOF) <i>m/z</i> : calcd. for C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N
δ 8.01 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.74 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.64-7.68 (m, 1H), 7.44-7.47 (m, 1H), 7.25 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 2.73 (s, 3H)	δ 25.4, 122.1, 125.8, 126.5, 127.6, 128.6, 129.5, 136.3, 147.8, 159.0	[M+H] <sup>+</sup> : 144.080 8; found: 144.081 3.

NMR: Nuclear magnetic resonance spectroscopy, HRMS: High-resolution mass spectrometry, ESI-TOF: Electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry.

通过对 *P. monteilii* ZMU-T06 生物催化 2-甲基四氢喹啉的反应监测,发现在生物转化的过程中,伴随着喹啉(**2a**)和(*R*)-**1a**的生成,而没有产生其他副产物。通过查阅文献[25],推测其可能的催化机理为:(*S*)-**1a**被氧化脱氢生成亚胺,再进一步脱氢芳构化生成喹啉,反应机理如图5所示。

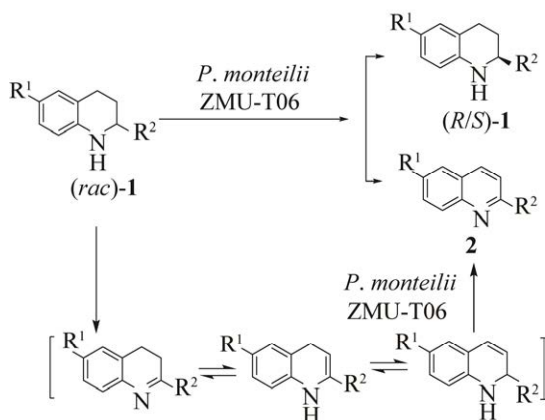


图5 生物催化 2-取代四氢喹啉氧化脱氢芳构化的可能机理

Figure 5 Proposed mechanism of biocatalytic oxidative dehydroaromatization of 2-substituted THQ.

### 3 讨论与结论

为了建立高效合成 2-取代喹啉类化合物的催化体系,本研究筛选了课题组的蒙氏假单胞菌菌库,其中 *P. monteilii* ZMU-T06 表现出较优的催化性能。从催化条件优化结果中,发现 *P. monteilii* ZMU-T06 在偏碱性(pH 8.0)的反应体系表现出最佳的催化活性。为了提高催化底物浓度进而增加催化剂的量,但是其催化产率没有明显的提高,可能是野生型菌株的催化活性低,后续可以利用分子生物学技术进行其基因工程菌的构建和改造以提高催化活性。通过对 *P. monteilii* ZMU-T06 催化底物谱的考察,发现其催化的底物类型主要为 2-烷基四氢喹啉,

而对于四氢异喹啉无催化活性,后续可以构建和改造其基因工程菌以扩展催化底物谱。

综上所述,本研究通过对实验室菌库进行筛选获得了高效催化 2-取代四氢喹啉类化合物氧化脱氢芳构化的生物催化剂 *P. monteilii* ZMU-T06; 对其催化条件进行了优化和底物谱进行了考察,以 45.7%–48.4%的产率获得一系列 2-取代喹啉类化合物,并推测了其可能的催化机理。本研究为高效合成 2-取代喹啉类化合物提供了新的绿色合成方法。

### REFERENCES

- [1] LI R, JIANG SX, ZHENG HL, LEI HW, HUANG Z, CHEN SP, DENG GJ. Iron-catalyzed indolo[2,3-c]quinoline synthesis from nitroarenes and benzylic alcohols/aldehydes promoted by elemental sulfur[J]. Green Synthesis and Catalysis, 2022, 3(1): 95-101.
- [2] MATADA BS, PATTANASHETTAR R, YERNALE NG. A comprehensive review on the biological interest of quinoline and its derivatives[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2021, 32: 115973.
- [3] HOY SM. Pitavastatin: a review in hypercholesterolemia[J]. American Journal of Cardiovascular Drugs, 2017, 17(2): 157-168.
- [4] LIU J, ZHAO ZH, QIU NS, ZHOU Q, WANG GW, JIANG HP, PIAO Y, ZHOU ZX, TANG JB, SHEN YQ. Co-delivery of IOX1 and doxorubicin for antibody-independent cancer chemo-immunotherapy[J]. Nature Communications, 2021, 12: 2425.
- [5] HU YQ, GAO C, ZHANG S, XU L, XU Z, FENG LS, WU X, ZHAO F. Quinoline hybrids and their antiplasmodial and antimalarial activities[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2017, 139: 22-47.
- [6] PAL SK, BERGEROT PG, FIGLIN RA. Tivozanib: current status and future directions in the treatment of solid tumors[J]. Expert Opinion on Investigational Drugs, 2012, 21(12): 1851-1859.
- [7] WATSON JM, DAWSON LA. Characterization of the potent 5-HT(1A/B) receptor antagonist and serotonin reuptake inhibitor SB-649915: preclinical evidence for hastened onset of antidepressant/anxiolytic efficacy[J]. CNS Drug Reviews, 2007, 13(2): 206-223.
- [8] PANG SF, LIU FF, ZHANG YJ, DONG ZW, SU Q, WANG WF, LI ZH, ZHOU F, WANG YB. Construction of functional superhydrophobic biochars as hydrogen transfer catalysts for dehydrogenation of N-heterocycles[J]. ACS Sustainable Chemistry &

- Engineering, 2021, 9(27): 9062-9077.
- [9] KAUR R, KUMAR K. Synthetic and medicinal perspective of quinolines as antiviral agents[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 215: 113220.
- [10] NAINWAL LM, TASNEEM S, AKHTAR W, VERMA G, KHAN MF, PARVEZ S, SHAQUIQUZZAMAN M, AKHTER M, ALAM MM. Green recipes to quinoline: a review[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2019, 164: 121-170.
- [11] KALEESWARAN D, MURUGAVEL R. Picric acid sensing and CO<sub>2</sub> capture by a sterically encumbered azo-linked fluorescent triphenylbenzene based covalent organic polymer[J]. Journal of Chemical Sciences, 2018, 130(1): 1.
- [12] HATI S, HOLZGRABE U, SEN S. Oxidative dehydrogenation of C–C and C–N bonds: a convenient approach to access diverse (dihydro)heteroaromatic compounds[J]. Beilstein Journal of Organic Chemistry, 2017, 13: 1670-1692.
- [13] YANG RC, YUE SS, TAN W, XIE YF, CAI H. DMSO/*t*-BuONa/O<sub>2</sub>-mediated aerobic dehydrogenation of saturated N-heterocycles[J]. The Journal of Organic Chemistry, 2020, 85(11): 7501-7509.
- [14] WEI LF, WEI Y, ZHANG JL, XU L. Visible-light-mediated organoboron-catalysed metal-free dehydrogenation of N-heterocycles using molecular oxygen[J]. Green Chemistry, 2021, 23(12): 4446-4450.
- [15] BALAYEVA NO, MAMIYEV Z, DILLERT R, ZHENG N, BAHNEMANN DW. Rh/TiO<sub>2</sub>-photocatalyzed acceptorless dehydrogenation of N-heterocycles upon visible-light illumination[J]. ACS Catalysis, 2020, 10(10): 5542-5553.
- [16] ZHANG Z, LIU WG, ZHANG YY, BAI JW, LIU J. Bioinspired atomic manganese site accelerates oxo-dehydrogenation of N-heterocycles over a conjugated tri-*s*-triazine framework[J]. ACS Catalysis, 2021, 11(1): 313-322.
- [17] BALAYEVA NO, ZHENG N, DILLERT R, BAHNEMANN DW. Visible-light-mediated photocatalytic aerobic dehydrogenation of N-heterocycles by surface-grafted TiO<sub>2</sub> and 4-amino-TEMPO[J]. ACS Catalysis, 2019, 9(12): 10694-10704.
- [18] LIAO CJ, LI X, YAO KY, YUAN ZL, CHI Q, ZHANG ZH. Efficient oxidative dehydrogenation of N-heterocycles over nitrogen-doped carbon-supported cobalt nanoparticles[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2019, 7(16): 13646-13654.
- [19] WU Y, YI H, LEI AW. Electrochemical acceptorless dehydrogenation of N-heterocycles utilizing TEMPO as organo-electrocatalyst[J]. ACS Catalysis, 2018, 8(2): 1192-1196.
- [20] JIN HH, JU SY, YU HR, YANG LR, ZHENG WL, WU JP. An efficient biocatalytic oxidative dehydroaromatization approach for the construction of quinolines enabled by monoamine oxidase with molecular oxygen[J]. Green Chemistry, 2023, 25(13): 5296-5303.
- [21] ZHAO F, MASCI D, FERLA S, VARRICCHIO C, BRANCALE A, COLONNA S, BLACK GW, TURNER NJ, CASTAGNOLO D. Monoamine oxidase (MAO-N) biocatalyzed synthesis of indoles from indolines prepared *via* photocatalytic cyclization/arylation dearomatization[J]. ACS Catalysis, 2020, 10(11): 6414-6421.
- [22] TOSCANI A, RISI C, BLACK GW, BROWN NL, SHAABAN A, TURNER NJ, CASTAGNOLO D. Monoamine oxidase (MAO-N) whole cell biocatalyzed aromatization of 1,2,5,6-tetrahydropyridines into pyridines[J]. ACS Catalysis, 2018, 8(9): 8781-8787.
- [23] SCALACCI N, BLACK GW, MATTEDI G, BROWN NL, TURNER NJ, CASTAGNOLO D. Unveiling the biocatalytic aromatizing activity of monoamine oxidases MAO-N and 6-HDNO: development of chemoenzymatic cascades for the synthesis of pyrroles[J]. ACS Catalysis, 2017, 7(2): 1295-1300.
- [24] CHO CS, REN WX. A recyclable palladium-catalyzed modified Friedländer quinoline synthesis[J]. Journal of Organometallic Chemistry, 2007, 692(19): 4182-4186.
- [25] LI GY, REN J, YAO PY, DUAN YT, ZHANG HL, WU QQ, FENG JH, LAU P, ZHU DM. Deracemization of 2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline using mutant cyclohexylamine oxidase obtained by iterative saturation mutagenesis[J]. ACS Catalysis, 2014, 4(3): 903-908.