

• 研究论文 •

孕甾三醇的区域选择性乙酰化/溴代反应的研究

林静容^a 王 静^a 陈丽君^a 王玉春^a 唐小枚^a

许启海^b 朱 臻^b 田伟生^{*,a,b}

(^a 上海师范大学生命与环境科学学院 上海 200234)

(^b 中国科学院上海有机化学研究所 上海 200032)

摘要 为合理利用剑麻皂甙元资源,系统地考察了孕甾-3S,16S,20S-三醇和溴化氢/乙酸溶液的反应,并且发现了孕甾-3S,16S,20S-三醇的区域选择性乙酰化溴代反应,从而为转化孕甾-3S,16S,20S-三醇成为 16R-溴代孕甾-3S,20S-二醇二乙酸酯提供了一个有效方法.

关键词 剑麻皂甙元; 孕甾-3S,16S,20S-三醇; 乙酰化溴代反应

Studies on the Regioselectivity of Acetylation-bromination in Pregnanetriol

LIN, Jin-Rong^a WANG, Jing^a CHEN, Li-Jun^a WANG, Yu-Chun^a

TANG, Xiao-Mei^a XU, Qi-Hai^b ZHU, Zhen^b TIAN, Wei-Sheng^{*,a,b}

(^a College of Life Sciences and Environment, Shanghai Normal University, Shanghai 200234)

(^b Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032)

Abstract In order to make rational utilization of tigogenin, the reaction of pregnane-3S,16S,20S-triol and HBr/HOAc was explored in detail, and a regioselective acetylation-bromination reaction of pregnane-3S,16S,20S-triol was found during this exploration. Based on this regioselective acetylation-bromination, pregnane-3S,16S,20S-triol can be easily transformed into 16R-bromopregnane-3S,20S-diol diacetate in good yield.

Keywords tigogenin; pregnane-3S,16S,20S-triol; acetylation-bromination

剑麻皂甙元(tigogenin)是以剑麻为原料的制麻工业的副产物,也是环境污染物. 目前我国每年能够从制麻工业废水中获取剑麻皂甙元约为五百吨,随着剑麻种植业的发展,将有更大量的剑麻皂甙元产生. 如果不能合理利用,必然加剧其对环境的危害.

合理利用剑麻皂甙元,消除制麻工业的污染问题早在 20 世纪 70 年代已经提出,我国从事甾体化学和药物的研究人员已经为此做了许多努力. 我们研究小组从 1991 年起致力于合理利用甾体皂甙元的研究^[1~7],目前已经完成了在十公斤级规模直接用双氧水降解剑麻皂

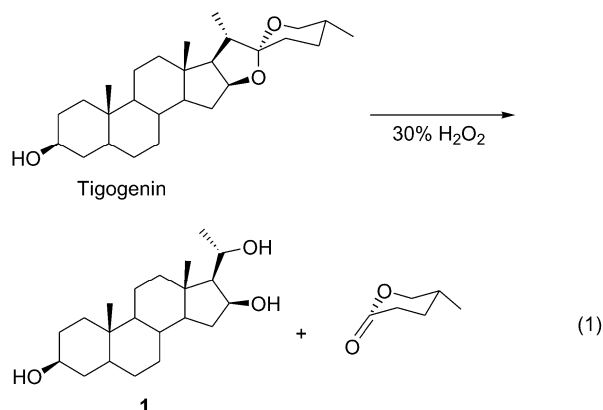
甙元成为孕甾三醇(1)和 γ -甲基- δ -戊内酯的研究^[8,9](Eq. 1).

如何进一步将剑麻皂甙元降解产物孕甾三醇转化成为医药、农药和有潜在用途的有机分子涉及到能否真正利用剑麻皂甙元,消除制麻工业环境污染问题的关键. 要想将孕甾三醇应用于甾体药物及其合成中间体或具有重要生理活性的甾体天然产物合成,有必要对其反应性能进行探讨. 根据合成需要,我们探讨了孕甾三醇与溴化氢在乙酸溶液中的反应^[7]. 研究发现在孕甾三醇分子中 C(3), C(16)和 C(20)三个仲羟基对溴化氢乙酸溶

* E-mail: wstian@mail.sioc.ac.cn

Received November 17, 2005; revised December 26, 2005; accepted February 20, 2006.

国家自然科学基金(Nos. 29372077, 20472052)资助项目.



液有不同的反应性能, 孕甾三醇 C(3), C(20)羟基在溴化氢乙酸溶液发生了酸催化的乙酰反应, 并且生成相应的乙酸酯. C(16)羟基在溴化氢乙酸溶液进行了 S_N2 取代反应, 并且给出相应的 C(16)溴代产物. 孕甾三醇分子中 C(3), C(16)和 C(20)三个羟基的不同反应性能有助于其选择性转化和在甾体药物及其合成中间体或具有重要生理活性的甾体天然产物合成中的应用.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

化合物熔点经 Buchi 535 型显微熔点仪测定, 温度计未校正. IR 光谱由 Shimadzu IR-400 型红外光谱仪测定. ^1H NMR 由 Bruker AM-300 型核磁共振仪器测定, 若无特别注明, 均以 CDCl_3 作溶剂, TMS 为内标. MS 由 HP 5989A 质谱仪测定, HRMS 由 Finnigan MAT 8430 质谱仪测定. $[\alpha]_D^{20}$ 由 Perkin Elmer 241 MC 型自动旋光仪测定.

孕甾三醇(1)由中科院上海有机化学研究所资源化学与甾体化学实验室提供. 30% HBr/HOAc 购自 Aldrich 公司, 二氯甲烷用氢化钙回流干燥. TLC 采用 GF254 高效板, 显色剂为 10% 磷钼酸溶液. 柱层析用硅胶 H (10~40 μm).

1.2 孕甾三醇在溴化氢/乙酸溶液中的反应

置 1 g (3 mmol) 孕甾三醇于 25 mL 干燥的反应瓶中, 在搅拌下, 控制反应温度在 0 $^{\circ}\text{C}$, 加 6 mL 30% 溴化氢/乙酸溶液. 待孕甾三醇在 30% 溴化氢/乙酸溶液中溶解后, 升温至 45~50 $^{\circ}\text{C}$ 继续反应 2.5 h. TLC 跟踪反应, 孕甾三醇反应完全. 减压蒸馏除去乙酸, 残留物用乙醚溶解. 乙醚溶液经饱和碳酸氢钠水溶液和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 浓缩得反应粗产物. 反应粗产物经硅胶柱层析, 层析用石油醚(b.p. 60~90 $^{\circ}\text{C}$)和乙酸乙酯梯度洗脱(体积比 1:10~1:4), 得 1.03 g 16R-溴孕甾-3S,20S-二醇二乙酸酯(2) (产率 72%)和 0.32 g

3R,16R-二溴孕甾-20S-醇乙酸酯(3) (产率 20%).

2: 无色结晶, m.p. 123~125 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} -13.1$ (c 0.95, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.64 (s, 3H), 0.82 (s, 3H), 1.33 (d, $J=5.2$ Hz, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 4.29 (ddd, $J=7.1, 7.5, 1.3$ Hz, 1H), 4.64~4.74 (m, 1H), 5.04~5.14 (m, 1H); IR (液体石蜡) ν : 2924, 2845, 1732, 1433, 1384, 1245, 1033 cm^{-1} ; MS (70 eV) m/z (%): 424 ($\text{M}^+ + 1 - \text{AcOH}$, 2), 422 ($\text{M}^+ + 1 - \text{AcOH}$, 2), 395 ($424 - \text{C}_2\text{H}_5$, 2), 393 ($424 - \text{C}_2\text{H}_5$, 2), 343 ($424 - \text{Br}$, 12), 283 ($343 - \text{AcOH}$, 100). Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{O}_4\text{Br}$: C 62.11, H 8.07; found C 62.17, H 8.17.

3: 无色结晶, m.p. 122~123 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} -20.5$ (c 0.10, CH_2Cl_2); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.64 (s, 3H), 0.78 (s, 3H), 1.31 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 2.07 (s, 3H), 4.31~4.26 (m, 1H), 4.73~4.75 (m, 1H), 5.04~5.14 (m, 1H); IR (液体石蜡) ν : 2917, 2843, 1723, 1458, 1384, 1278, 1033 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_2\text{Br}_2$: C 54.77, H 7.19; found C 54.52, H 7.68.

1.3 孕甾三醇与溴化氢/醋酸溶液在二氯甲烷中的反应

置 339 mg (1 mmol) 孕甾三醇于 25 mL 干燥的反应瓶中, 加入 1 mL 无水二氯甲烷溶解. 室温搅拌下, 向反应瓶滴加 2 mL 30% 溴化氢/乙酸溶液(5 mmol). 滴加完后, 升温至 30 $^{\circ}\text{C}$ 继续反应 1 h. TLC 跟踪显示孕甾三醇反应完全, 减压蒸馏除去乙酸和二氯甲烷. 残留物用乙醚溶解, 经饱和碳酸氢钠水溶液和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 浓缩得粗产物. 粗产物经硅胶柱层析(梯度洗脱, 石油醚(沸程 60~90 $^{\circ}\text{C}$)、乙酸乙酯体积比为 1:10~1:4)得 372 mg 化合物 2(产率 47%)和 399 mg 无色油状 16R-溴孕甾-3S,20S-二醇-20-乙酸酯(4) (产率 39%).

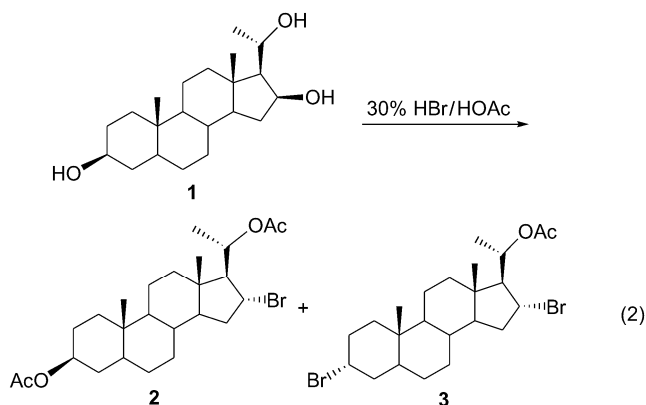
4: $[\alpha]_D^{20} -12.9$ (c 0.72, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.64 (s, 3H), 0.80 (s, 3H), 1.31 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 2.07 (s, 3H), 3.55~3.70 (m, 1H), 4.24~4.34 (m, 1H), 5.09 (dq, $J=6.3, 6.7$ Hz, 1H); IR (KBr) ν : 3468, 2924, 1706, 1377, 1274, 1243, 1053 cm^{-1} ; MS (70 eV) m/z (%): 353 ($\text{M}^+ - \text{AcOH} - \text{C}_2\text{H}_5$, 4), 351 ($\text{M}^+ - \text{AcOH} - \text{C}_2\text{H}_5$, 4), 301 ($\text{M}^+ - \text{AcOH} - \text{Br}$, 75), 215 (100). Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{O}_3\text{Br}$: C 62.58, H 8.45; found C 62.64, H 8.59.

2 结果与讨论

孕甾三醇分子中存在 C(3), C(16)和 C(20)三个仲羟基, 为了有效地利用孕甾三醇必须对其三个仲羟基进行选择转化. 孕甾三醇的 C(3), C(16)和 C(20)三个羟基

尽管都是仲羟基,但是由于三个羟基在具有刚性结构的甾体母核骨架上的位置不同,其空间环境也不尽相同.因此它们对于不同的化学试剂应该具有不同的反应性能.溴化氢乙酸溶液在此即可作为酸催化的乙酰化试剂,也可视为溴代试剂.

孕甾三醇在 30% 溴化氢乙酸溶液于 45~50 °C 反应,所获主要产物为化合物 **2** 和 **3** (Eq. 2).



化合物 **2** 的核磁共振氢谱在 δ 2.06 和 2.07 出现两个乙酰氧基信号,表明孕甾三醇分子中三个羟基中只有其中两个被乙酰化.与化合物 **1** 的核磁共振氢谱比较,其 C(3)和 C(20)位氢化学位移向低场移动[4.64~4.74 (m, 1H), 5.04~5.14 (m, 1H)],说明孕甾三醇 C(3)和 C(20)位羟基被乙酰化.化合物 **2** 的质谱和元素分析表明孕甾三醇分子中的一个羟基被溴原子取代.由于已证明孕甾三醇 C(3)和 C(20)位羟基已经发生乙酰化反应,故溴代反应只能发生在 C(16)位上.化合物 **2** 的结构经其 X 单晶衍射谱进一步确证(图 1).X 单晶衍射谱给出 C(16)溴原子为 α 面取代的事实表明 C(16)溴代属于 S_N2 取代产物.

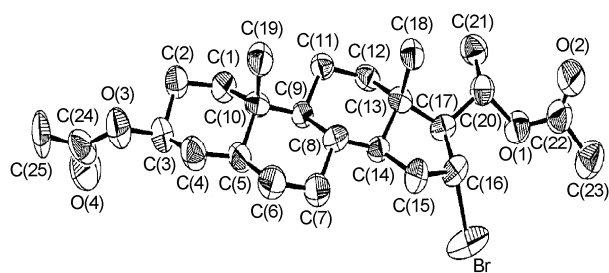


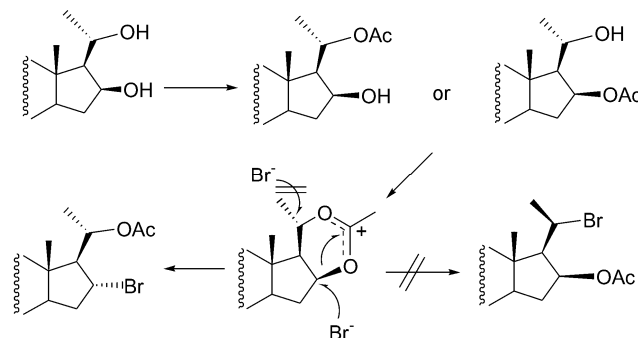
图 1 化合物 **2** 的 X 单晶衍射谱

Figure 1 The X-ray single crystal structure of compound **2**

化合物 **3** 的核磁共振氢谱在 δ 2.07 出现一个乙酰氧基信号,表明孕甾三醇分子中三个羟基中只有其中一个被乙酰化.与化合物 **1** 的核磁共振氢谱比较,其 C(20)位氢化学位移信号向低场移动[5.04~5.14 (m, 1H)],说明孕甾三醇 C(20)羟基被乙酰化.化合物 **3** 的质谱和元素分析表明孕甾三醇分子中的两个羟基被溴原子取代.

由于孕甾三醇 C(20)位羟基已经发生乙酰化反应,故溴代反应只能发生在 C(3)和 C(16)位上.

孕甾三醇和 30% 溴化氢/乙酸溶液在 45~50 °C 反应时,主要反应产物为化合物 **2**.这表明在此反应条件下 30% 溴化氢/乙酸溶液的乙酰化能力大于溴代能力.其原因为乙酸分子中具有羰基吸电子基团,可促进其羟基离去,在此反应条件下比羟基化合物更容易形成乙酰正碳离子,因而有利于乙酰化反应发生.孕甾三醇 C(16)容易发生取代反应是由于 C(20)羟基的邻位基团效应所致(Scheme 1).孕甾三醇 C(16)或 C(20)被乙酰化后可进一步通过邻位基团参与反应形成一个原乙酸酯碳正离子,或者可以活化 C(16)或 C(20)位羟基使其易于离去,从而促进了溴代反应的发生.溴代反应区域选择性的发生在孕甾三醇 C(16)位而不在 C(20)位是由于后者空间位阻远远大于前者所致.



图式 1 孕甾三醇的乙酰化溴代反应的可能历程

Scheme 1 A possible mechanism of acetylation-bromination of pregnanetriol

孕甾三醇和 30% 溴化氢/乙酸溶液在 45~50 °C 反应时,反应产物 **2** 和 **3** 的比例与反应时间有关.反应时间对反应的影响见表 1.从表 1 可看出,随着反应时间的增加,化合物 **2** 收率逐步下降.反应时间由 2.5 h 延长至 5 h 时,化合物 **3** 的收率随着化合物 **2** 收率下降而升高.继续延长反应时间,化合物 **3** 收率也逐步下降.这些事实说明, C(3)酯基也能被溴代,并且溴代产物的热稳定性较差,在延长反应时间时可导致进一步分解,故延长反应时间不利于孕甾三醇的区域选择性溴代乙酰化反应.

表 1 反应时间对反应的影响

Table 1 The effect of time on reaction

Entry	Time/h	Yield/%	
		2	3
1	2.5	72	20
2	5	55	30
3	6	52	27
4	8	40	25

孕甾三醇和 30%溴化氢/乙酸溶液的反应结果与反应温度也有关系(表 2)。随着反应温度升高后, 反应趋向复杂。化合物 **2** 和化合物 **3** 的总收率下降。化合物 **2** 的收率随着温度升高而明显下降, 化合物 **3** 的收率随着温度升高而略有升高。温度升高促进了化合物 **2** 的 C(3)酯基的溴代反应以及化合物 **2** 和化合物 **3** 的进一步分解。

表 2 反应温度对反应的影响

Table 2 The effect of temperature on reaction

Entry	Temperature/°C	Yield/%	
		2	3
1	50	57	21
2	60	48	23
3	80	16	34

30%溴化氢/乙酸溶液用量也影响此反应结果(表 3)。试剂用量增加有利于化合物 **3** 的收率提高。另外, 从 TLC 上看, 除此两种产物外, 还存在其他杂质点, 且随着反应试剂量的增加, 杂点数目增多, 相对含量亦随之增大, 故分离得到的两种产物 **2** 和 **3** 的总收率随着减小。

表 3 反应试剂量对反应的影响

Table 3 The effect of amount of reagent on reaction

Entry	<i>V</i> (30% HBr/HOAc)/mL	Temperature/°C	Yield/%	
			2	3
1	6	50	40	25
2	8	50	36	37
3	12	50	23	49

降低溴负离子浓度可以降低孕甾三醇C(3)溴代反应活性, 但也会导致 C(3)羟基乙酰化反应活性下降, 使 C(3)羟基乙酰化不完全。用二氯甲烷溶解孕甾三醇后, 再加 30%溴化氢/乙酸溶液反应。在此反应条件下, 可避免 C(3)溴代产物化合物 **3** 的生成, 但有部分 C(3)未酰化产物化合物 **4** 产生(Eq. 3)。化合物 **2** 收率为 39%, 化合

物 **4** 收率为 47%。

通过上述系统考察, 我们将孕甾三醇和 30%溴化氢/乙酸溶液的反应温度控制在 40~45 °C, 反应时间确定在 1.5 h, 30%溴化氢/乙酸溶液用量为反应底物的 6 个克分子, 以良好反应收率(82%)得到选择性的溴代乙酰化产物 **2**。

3 结论

为了使以剑麻为原料的制麻工业的副产物剑麻皂甙元真正成为合成甾体药物和具有生物活性的天然产物的资源性化合物, 我们在原有降解剑麻皂甙元成为孕甾三醇的工作基础上, 系统考察了孕甾三醇和 30%溴化氢/乙酸溶液的反应, 发现其选择性地转化成为 16R-溴代孕甾-3S,20S-二醇二乙酸酯, 为进一步合理利用剑麻皂甙元资源提供实验依据和新思路。相关工作正在进行之中。

References

- 1 Tian, W.-S. *Acta Chim. Sinica* **1992**, 50, 72 (in Chinese). (田伟生, 化学学报, **1992**, 50, 72.)
- 2 Tian, W.-S.; Guan, H.-P.; Pan, X.-F. *Chin. Chem. Lett.* **1994**, 5(12), 1013.
- 3 Tian, W.-S.; Guan, H.-P.; Pan, X.-F. *Chin. J. Chem.* **2003**, 21, 793.
- 4 Yang, Q.-X.; Tian, W.-S.; Pan, S. *Acta Chim. Sinica* **2004**, 62, 2171 (in Chinese). (杨庆雄, 田伟生, 潘嵩, 化学学报, **2004**, 62, 2171.)
- 5 Cheng, Y.-P. *M.S. Thesis*, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai, **1996** (in Chinese). (陈艳平, 硕士论文, 中科院上海有机所, 上海, **1996**.)
- 6 Li, M. *Ph.D. Thesis*, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai, **2001** (in Chinese). (李民, 博士论文, 中科院上海有机所, 上海, **2001**.)
- 7 Zhu, Z. *Ph.D. Thesis*, China Pharmaceutical University, Nanjing, **1996**, p. 35 (in Chinese). (朱臻, 博士论文, 中国药科大学, 南京, **1996**, p. 35.)
- 8 Marker, R. E.; Turner, D. L.; Wagner, R. B.; Ulshafer, P. R.; Crooks, H. M. Jr.; Wittle, E. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, 63, 77.
- 9 Tian, W.-S. *CN 96-116304* **1997** [*Chem. Abstr.* **1998**, 128, 167599].

(A0511172 ZHAO, C. H.; DONG, H. Z.)

