7 β -羟基表雄酮的选择性合成

黄燕敏^a 刘 亮^b 戚斌斌^a 赵丹丹^a 杨 雷^a
甘春芳^a 崔建国^{*,a}

(^a 广西师范学院化学与生命科学学院 南宁 530001)

(^b 四川万之药业股份有限公司 成都 610041)

摘要 7 β -羟基表雄酮(**4**)是一种具有良好消炎功能的甾体化合物,以去氢表雄酮为原料,通过 3-位羟基保护和 Collin 试剂氧化得到 3-乙酰氧基-7-氧代去氢表雄酮(**3**),然后化合物 **3** 在 Ni²⁺ 离子存在条件下用 NaBH₄ 还原,选择性地还原得到目标产物 **4**,同时得到其差向异构体 7 α -羟基表雄酮(**5**)及少量副产物 7 β -羟基去氢表雄酮(**6**),同时对不同温度下还原反应的化学选择性及立体选择性进行了探索. 合成物结构经 NMR 及 IR 进行表征.

关键词 去氢表雄酮; 7 β -羟基表雄酮; 7 α -羟基表雄酮; 选择性还原

Selective Synthesis of 7 β -Hydroxyepiandrosterone

Huang, Yanmin^a Liu, Liang^b Qi, Binbin^a Zhao, Dandan^a Yang, Lei^a
Gan, Chunfang^a Cui, Jianguo^{*,a}

(^a College of Chemistry and Life Science, Guangxi Teachers Education University, Nanning 530001)

(^b Sichuan Welltzpharm Inc., Chengdu 610041)

Abstract The 7 β -hydroxyepiandrosterone (**4**) is a kind of compound possessing strong anti-inflammatory properties. Using dehydroisoandrosterone as starting material, 3 β -acetoxy-7-oxodehydroisoandrosterone (**3**) was obtained by acetylation and oxidization. In the presence of Ni²⁺, compound **3** was selectively reduced to give compound **4**, its 7-epimer, 7 α -hydroxyepiandrosterone (**5**) and byproduct **6**. The condition of selective reduction was investigated further. The structures of all compounds were characterized by IR, NMR and MS techniques.

Keywords dehydroisoandrosterone; 7 β -epiandrosterone; 7 α -epiandrosterone; selective reduction

7 β -羟基表雄酮是一种在人体及动物中存在的天然化合物,它是表雄酮(EpiA)在两种不同生物酶的作用下转化产生. 此化合物具有良好的消炎功能,极低浓度的该化合物便可以有效地缓解伤口炎症^[1,2]. 该化合物最初是通过根霉菌 *Rhizopus nigricans* 对 EpiA 进行生物氧化转化而制得,但产物获得量极其有限^[3]. 2011 年,法国学者 Christophe 等报道了该化合物的化学合成方法,他们从去氢表雄酮出发,通过 7 步反应最终得到目标产物^[4],反应路线如 Scheme 1 所示.

该合成方法反应路线较长,且第 4 步还原反应中采用了碳钨加氢还原,原料成本较高. Bryson 等从雄甾酮的 18, 19-甲基对映体出发,经过 4 步反应合成了化合

物 **4** 的一种 18,19-甲基对映异构体,并进一步以此为原料合成得到天然鹅脱氧胆酸的对映体^[5]. 我们课题组对化合物 **4** 的合成方法进行研究探索,希望能够找到一条温和、简便、更有利于实现规模化合成的路线. 在前期研究中,我们^[6-8]曾开展了多羰基甾体化合物的化学选择性还原研究,研究表明,对于多羰基甾体化合物来说,由于甾核中环戊烷并全氢化菲的结构以椅式构象为稳定构象,因此羰基在甾核中所处位置不同,其化学环境也不同,在某些过渡金属离子存在的条件下采用硼氢化钠进行还原,可以选择性地对其中某些羰基选择性还原,而另外一些羰基保留,取得很好的化学选择性还原效果,同时反应也具有很好的立体选择性.

* E-mail: cuijg1954@126.com

Received July 6, 2014; revised August 26, 2014; published online September 12, 2014.

Project supported by the Natural Science Foundation of Education Department of Guangxi Province (No. 201202ZD059).

广西教育厅自然科学基金(No. 201202ZD059)资助项目.

图式 1 7β -羟基表雄酮的合成
Scheme 1 Synthesis of 7β -hydroxyepiandrosterone

我们从去氢表雄酮出发, 经过 3-羟基保护, 用 Collin 试剂氧化得到化合物 3。化合物 3 在 Ni^{2+} 离子存在的条件下采用硼氢化钠还原, 然后去掉 3-羟基保护基得到目标产物 7β -羟基表雄酮(4), 同时得到少量的 7α -差向异构体 5 和副产物 7β -羟基去氢表雄酮(6), 其中产物 7β -羟基表雄酮的选择性还原产率达到了 80.1%。另外, 还研究探索了在不同反应温度条件下 7β -羟基表雄酮生成的化学选择性和立体选择性, 反应路线如 Scheme 2 所示。

1 结果与讨论

在 Ricoo 的合成路线中, 从去氢表雄酮出发到 7β -羟基表雄酮的生成共需要 7 步反应, 而我们设计的路线从同样的原料到产品仅仅需要 4 步反应。在化合物 3 的还原反应中, 我们采用了在金属镍离子存在的条件下用硼氢化钠进行还原, 得到了很好的化学选择性还原产物, 其中 7-羰基及 5,6-双键均被还原的产物(7β -羟基表雄酮)与仅仅是 7-羰基被还原的产物(7β -羟基去氢表雄酮)的生成物质的量比为 9.3 : 1, 在反应过程中没有得到 17-羰基被还原的产物。所得到的 7β -羟基表雄酮产物分别为 7β -和 7α -差向异构体, 其中 7β -异构体为主要产物, 分离产率为 46.2%, 7α -异构体分离产率为 33.9%。 7β -异构体由于 7-位羟基位于甾核 B 环中的 e 键, 因此要比处于 a 键的 7α -异构体要稳定, 所以为主要产物。另外还得到 8.5% 仅仅是 7-羰基被还原的副产物 6。其还原过程可能的机理如 Scheme 3 所示。

在化合物 3 中, 7-位羰基是六元环羰基, 17-位羰基是五元环羰基, 五元环羰基还原后从 sp^2 杂化转换为 sp^3 杂化, 使产物的全重叠构象增加, 增加了空间位阻, 不利于反应的进行。而六元环羰基从 sp^2 杂环变为 sp^3 杂环, 分子中的内张力减少, 生成的产物更加稳定, 所以六元环上的羰基比五元环上的羰基更易于被还原, 即 7-羰基比 17-羰基要活泼。另外, 在金属 Ni^{2+} 离子存在下,

图式 2 7β -羟基表雄酮的选择性合成

Scheme 2 Selective synthesis of 7β -hydroxyepiandrosterone

其中 7-位羰基中的氧原子与镍离子络合, 进一步增强羰基的亲核性。当在反应体系中加入硼氢化钠后, 硼氢化钠中的 H 可以从底物中的 Re-Re 面或 Si-Si 面进攻 7-位羰基, 分别得到 7β -羟基或 7α -羟基产物。但是, 从 Scheme 3 中我们可以明显看到, 当 NaBH_4 从 Si-Si 面进攻时, 由于受到底物中 19-甲基的影响, 空间位阻较大。而从 Re-Re 面进攻时空间位阻较小, 更有利于反应的进行, 因此在这里得到的主要产物是从 Re-Re 面进攻产生的 7β -羟基还原产物。同时, 由于反应体系中过量的硼氢化钠(加入的硼氢化钠物质的量大于底物 3 和二氯化镍物质的量之和)会与 Ni^{2+} 离子作用放出氢气, 生成的

图式 3 7β-羟基表雄酮的生成机理

Scheme 3 The formation mechanism of 7β-hydroxyepiandrosterone

H₂ 进一步还原底物的 5,6-双键, 此时得到 5,6-双键都被还原的产物 4 和 5.

由于 7β-和 7α-异构体是差向异构体, 分离较为困难, 在这里我们采用丙酮/二氯甲烷溶剂体系进行分离, 能够很容易地将二者分开. 在硼氢化钠/氯化镍体系的选择性还原中, 我们研究了在不同温度下还原反应的选择性, 结果如表 1 所示.

表 1 化合物 3 在硼氢化钠-氯化镍还原体系中不同温度下的反应结果(产率)

Table 1 Chemical yields of compound 3 in reductive system of NaBH₄-NiCl₂ at different temperature

反应温度	-20 °C	0 °C	25 °C	45 °C
7β-羟基表雄酮(4)	17.0%	20.7%	28.3%	46.2%
7α-羟基表雄酮(5)	18.9%	19.8%	22.6%	33.9%
7β-羟基去氢表雄酮(6)	33.0%	22.6%	11.3%	8.5%

表 1 结果表明, 随着反应温度升高, 7β-羟基表雄酮(4)和 7α-羟基表雄酮(5)的产率增加, 而 7β-羟基去氢表雄酮(6)产率则明显降低. 也就是说随着反应温度上升, 5,6-双键被还原的几率增加. 另外, 从表 1 中数据我们看到, 温度低时有利于生成 7α-羟基异构体, 温度升高后 7β-羟基异构体生成的量也随着增加, 即高温下有利于热力学控制较稳定的 7β-羟基产物生成. 另外, 目标产物生成的产率也与硼氢化钠加入的速度有关, 若一次性投入硼氢化钠, 则会得到另一种极性很高的物质, 可能是 17-位羰基同时被还原成羟基的产物, 故我们采用分批次加入硼氢化钠的办法, 在 15 min 内加完. 另外, 我们还研究了在硼氢化钠/氯化镍体系下进行上述还原, 但结果得到的是 7-羰基和 17-羰基都被还原的产物, 没有得到选择性还原产物. 说明金属镍离子活化羰基的能力比金属镍离子要强, 此时 7-羰基和 17-羰基在金属镍离子的作用下亲核能力都得到大大增强, 在硼氢化钠作用下两个羰基都被还原.

目标产物 7β-羟基表雄酮(4)的 NMR 谱和质谱数据与文献报道一致^[4]. 从 ¹H NMR 谱可以看出, 该化合物在化学位移 δ 3.497 和 3.617 处分别存在一个 ddd 峰, 它

们分别对应于 C-7-H 及 C-3-H 的信号, 两者偶合常数最大值分别为 15.0 和 15.6 Hz, 由此说明此两个氢都处于甾核的 α-键位置, 属于 α-H. 从 C-7-H 位于 3.498 的高场化学位移值, 进一步说明这是一个 α-键上的 H. 另外, 与其差向异构体 7α-羟基表雄酮(5)的 ¹H NMR 谱图相对比, 化合物 5 在 δ 3.638 处存在一个 ddd 峰, 这对应于 C-3-αH 的化学位移. 然而, 化合物 5 在 δ 3.974 处出现了一个偶合常数仅为 1.5 Hz 的化学位移, 说明这应该是一个 e-键上的 H, 从其处于低场的化学位移值进一步说明这是一个 e-键 H. 从这两个化合物的 ¹³C NMR 谱来看, δ 70.9 和 74.8 及 71.0 和 66.7 的化学位移值说明存在两个连氧碳, 分别对应于 3-位、7-位含有羟基的碳; 另外, 化合物 4 和 5 在 δ 221.4 和 221.2 处的化学位移归属于羰基碳的信号, 说明两者的 17-位羰基被保留, 没有发生还原. 另外, 化合物 6 与化合物 4 的 ¹H NMR 谱相对比, 化合物 6 在 δ 5.355 处出现一个氢单峰的化学位移, 结合 ¹³C NMR 在 δ 143.7 和 125.5 处存在的化学位移信号, 说明化合物 6 存在 5,6-双键. 化合物 6 在 ¹H NMR δ 3.580 的化学位移是 3-αH 信号, δ 3.975 处 d 峰的化学位移是 7-αH 信号, 由于 5,6-双键的影响, 其化学位移从化合物 4 的 δ 3.497 移至低场. 结合碳谱 δ 71.3 和 72.9 的化学位移, 可以判断该化合物 3-位连有 β-羟基, 7-位连有 β-羟基.

2 实验部分

2.1 试剂和仪器

合成所用试剂如无特别说明均为分析纯, 溶剂按常规方法进行处理干燥. 熔点测定采用 X-4 数字显示显微熔点测定仪, 温度计未经校正; IR 测定采用 Thermo Scientific IS-10 傅立叶红外光谱仪; ¹H NMR 和 ¹³C NMR 测定采用德国 Bruker AV-300 型超导核磁共振仪.

2.2 合成操作步骤

2.2.1 3-乙酰氧基去氢表雄酮(2)的合成

去氢表雄酮 1.00 g 置于圆底烧瓶中. 加入 5 mL 吡

啉, 搅拌溶解后加入 1 mL 醋酸酐, 室温下搅拌 36 h 后停止反应, 加入 30 mL 乙酸乙酯将其完全溶解后移入分液漏斗中, 用 20 mL $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸萃取 4 次, 再依次用 20 mL 蒸馏水, 饱和碳酸氢钠溶液, 饱和氯化钠溶液各洗一次, 无水硫酸钠干燥. 过滤并减压去除溶剂, 得到 1.027 g 白色粉末状固体, 产率 92%. m.p. $168 \sim 169^\circ \text{C}$; IR (KBr) ν : 3460, 3432, 2949, 2896, 2835, 2361, 1736, 1658, 1474, 1429, 1380, 1241, 1135, 1057, 1021, 972, 951, 898 cm^{-1} .

2.2.2 3-乙酰氧基-7-氧代去氢表雄酮(3)的合成

800 mg (2.42 mmol) 化合物 2 置于圆底烧瓶中, 加入 20 mL 二氯甲烷使其完全溶解. 另外称取 7 g 三氧化铬溶于 60 mL 二氯甲烷中, 冰浴下逐滴加入 14 mL 吡啶, 搅拌 10 min 后将该液体加入装有化合物 2 的圆底烧瓶中. 为了防止铬泥淤积吸附产物, 在圆底烧瓶中加入少量硅胶, 室温下搅拌 48 h 后终止反应. 此时反应液呈褐色乳状物, 将该反应液移入分液漏斗中并用适量乙酸乙酯萃取 3 次, 合并乙酸乙酯相, 用饱和碳酸氢钠溶液多次萃洗乙酸乙酯相, 直至乙酸乙酯相由棕红色变为无色透明, 再用饱和氯化钠溶液洗 1 次, 无水硫酸钠干燥. 过滤并减压去除溶剂, 得到白色固体, 柱层析分离 [V (乙酸乙酯) : V (石油醚) = 1 : 3] 得到无色晶体 578 mg, 产率 69%. m.p. $179 \sim 180^\circ \text{C}$ (文献值^[10] $184 \sim 187^\circ \text{C}$); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.90 (s, 3H, 18- CH_3), 1.25 (s, 3H, 19- CH_3), 2.06 (s, 3H, 3-COCH₃), 2.64~2.57 (m, 1H, C-16-H), 2.87~2.78 (m, 1H, C-8-H), 4.73 (m, 1H, C-3- α -H), 5.76 (d, $J=1.8 \text{ Hz}$, 1H, C-6-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.7 (18-C), 17.4 (19-C), 20.5 (11-C), 21.2 (H_3CCO), 24.2 (15-C), 27.3 (2-C), 30.7 (12-C), 35.6 (16-C), 36.0 (1-C), 37.8 (4-C), 38.4 (10-C), 44.3 (8-C), 45.7 (13-C), 47.8 (9-C), 50.0 (14-C), 71.9 (3-C), 126.5 (6-C), 164.8 (5-C), 170.3 (COCH₃), 200.7 (7-C), 220.2 (17-C).

2.2.3 7 β -羟基表雄酮(4)的合成

120 mg (0.35 mmol) 化合物 3 置于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入六水合氯化镍 118 mg (0.50 mmol), 用 15 mL 甲醇使其完全溶解, 将圆底烧瓶置于 45°C 下搅拌 10 min 后分批加入硼氢化钠 42 mg (1.1 mmol), 15 min 内加完. 在加入硼氢化钠过程中溶液迅速变黑, 溶液中有大量气泡产生, TLC 跟踪反应, 原料点消失后逐滴加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 稀盐酸, 直到溶液由黑色刚好转为澄清. 蒸去溶剂, 加入适量乙酸乙酯, 分别用蒸馏水、饱和碳酸氢钠溶液、饱和氯化钠溶液洗一次. 转移回反应瓶中, 除去乙酸乙酯, 然后加入 20 mL 甲醇及 1.5 mL 13% 的 K_2CO_3 溶液, 加热回流约 1 h 后冷却至室温, 减压蒸出大部分甲醇,

加入适量乙酸乙酯溶解析出的固体, 然后水洗、饱和 NaCl 溶液洗, 无水硫酸钠干燥. 蒸出溶剂, 固体经柱层析分离 [流动相: V (丙酮) : V (二氯甲烷) = 1 : 6] 得到目标产物 7 β -羟基表雄酮(4) 49 mg, 产率 46.2%; 7 α -羟基表雄酮(5) 36 mg, 产率 33.9%. 另外得到副产物 7 α -羟基去氢表雄酮(6) 9 mg, 产率 8.5%. 各化合物相关表征数据如下:

7 β -羟基表雄酮(4)^[8]: m.p. $241 \sim 242^\circ \text{C}$ (文献值^[4] 241°C); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (s, 3H, 19- CH_3), 0.91 (s, 3H, 18- CH_3), 2.31~2.22 (m, 1H, C-16-H), 2.51~2.41 (m, 1H, C-16-H), 3.50 (ddd, $J=15.0$, 10.2, 5.4 Hz, 1H, C-7- α -H), 3.62 (ddd, $J=15.6$, 10.8, 4.8 Hz, 1H, C-3- α -H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 12.5 (18-C), 14.1 (19-C), 20.7 (11-C), 24.9 (15-C), 31.4 (2-C), 31.5 (12-C), 35.1 (6-C), 36.0 (10-C), 36.8 (16-C), 37.6 (1-C), 38.8 (4-C), 42.1 (8-C), 42.9 (5-C), 48.3 (9-C), 51.0 (13-C), 52.5 (14-C), 70.9 (3-C), 74.8 (7-C), 221.4 (17-C); IR (KBr) ν : 3460, 2962, 2855, 2357, 1723, 1470, 1450, 1397, 1372, 1290, 126 2, 1237, 1184, 1090, 1029, 592 cm^{-1} .

7 α -羟基表雄酮(5): m.p. $227 \sim 228^\circ \text{C}$ (文献值^[11] $179.4 \sim 181.7^\circ \text{C}$); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.84 (s, 3H, 19- CH_3), 0.86 (s, 3H, 18- CH_3), 2.19~2.10 (m, 1H, C-16-H), 2.51~2.42 (m, 1H, C-16-H), 3.64 ($J=15.6$, 10.5, 4.8 Hz, 1H, C-3- α -H), 3.974 (d, $J=1.5 \text{ Hz}$, 1H, C-7- β -H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 11.2 (18-C), 13.5 (19-C), 20.3 (11-C), 21.4 (15-C), 31.2 (2-C), 31.3 (12-C), 35.7 (6-C), 35.8 (10-C), 36.6 (16-C), 36.7 (1-C), 37.1 (4-C), 37.6 (8-C), 39.1 (5-C), 45.9 (9-C), 46.1 (13-C), 47.6 (14-C), 66.7 (7-C), 71.0 (3-C), 221.2 (17-C); IR (KBr) ν : 3407, 2921, 2851, 2357, 2332, 1728, 1650, 1560, 1540, 1458, 1372, 1245, 1090, 1029, 976, 939 cm^{-1} .

7 β -羟基去氢表雄酮(6): m.p. $207 \sim 208^\circ \text{C}$ (文献值^[12] $216.2 \sim 217.6^\circ \text{C}$); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.92 (s, 3H, 18- CH_3), 1.10 (s, 3H, 19- CH_3), 2.41~2.22 (m, 3H, C-4- α -H and C-16-H), 2.50 (dd, $J=18.6$, 8.1 Hz, 1H, C-4- β -H), 3.63~3.53 (m, 1H, C-3- α -H), 3.975 (d, $J=8.1 \text{ Hz}$, 1H, C-7- α -H), 5.355 (s, 1H, C-5-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.6 (18-C), 19.2 (19-C), 20.4 (11-C), 24.2 (15-C), 29.7 (12-C), 31.3 (2-C), 31.5 (16-C), 36.0 (10-C), 36.7 (1-C), 40.5 (8-C), 41.7 (4-C), 47.8 (13-C), 48.3 (14-C), 51.2 (9-C), 71.3 (3-C), 72.9 (7-C), 125.5 (6-C), 143.7 (5-C), 221.1 (17-C); IR (KBr) ν : 3436, 2921, 2851, 1748, 1723, 1462 cm^{-1} .

辅助材料(Supporting Information) 目标化合物的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载.

References

- [1] Hennebert, O.; Pelissier, M. A.; Le, M. S.; Wülfert, E.; Morfin, R. *Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2008**, *110*, 255.
- [2] Le, M. S.; Hennebert, O.; Ferrec, C.; Wülfert, E.; Morfin, R. *Steroids* **2008**, *73*, 1148.
- [3] Chambers, V. E. M.; Denny, W. A.; Evans, J. M.; Sir Jones, E. R. H.; Kasal, A.; Meakins, G. D.; Pragnell, J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1973**, 1500.
- [4] Ricco, C.; Revial, G.; Ferroud, C.; Hennebert, O.; Morfin, R. *Steroids* **2011**, *76*, 28.
- [5] Katona, B. W.; Cummins, C. L.; Ferguson, A. D.; Li, T.; Schmidt, D. R.; Mangelsdorf, D. J.; Covey, D. F. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6048.
- [6] Cui, J. G.; Zeng, L. M.; Su, J. Y.; Lin, C. W. *Chem. Res. Chin. Univ.* **2002**, *18*, 400.
- [7] Cui, J. G.; Zeng, L. M.; Su, J. Y. *Chem. J. Chin. Univ.* **2003**, *24*(4), 639 (in Chinese).
(崔建国, 曾陇梅, 苏镜娱, 高等学校化学学报, **2003**, *24*(4), 639.)
- [8] Huang, Y. M.; Cui, J. G.; Huang, L. L.; Gan, C. F.; Fan, J. C. *Chem. Res. Appl.* **2009**, *21*, 1453 (in Chinese).
(黄燕敏, 崔建国, 黄立梁, 甘春芳, 范建春, 化学研究与应用, **2009**, *21*, 1453.)

(Li, L.; Fan, Y.)