

由醋酸去氢表雄酮合成熊去氧胆酸

陈旺, 胡代花, 刘格歌

(陕西理工大学生物科学与工程学院, 汉中 723000)

摘要 探索了用植物源商业原料合成熊去氧胆酸的新方法. 以醋酸去氢表雄酮为原料, 以区域选择性烯丙位氧化、Mitsunobu反应和Luche还原为关键步骤, 通过9步反应, 以38.6%的总收率合成了熊去氧胆酸. 其中, 关键中间体4由化合物3经改进的烯丙位氧化反应以较高产率获得. 对关键的烯丙基氧化反应的条件进行了优化, 包括溶剂、氧化剂和反应温度. 该方法原料易得、产率较高, 并且有效地避免了动物源性原料的风险, 易于实现规模化合成, 因而具有较高的应用价值.

关键词 熊去氧胆酸; 醋酸去氢表雄酮; Mitsunobu反应; Crabtree's催化剂

中图分类号 O629

文献标志码 A

熊去氧胆酸(UDCA, 结构见图1)是黑熊胆汁中的主要胆汁酸, 临床上广泛用于肝胆疾病的治疗^[1]. UDCA可溶解胆固醇结石, 改善胆汁淤积性疾病患者的肝功能, 并显著降低胆汁中的胆固醇饱和度^[2]. UDCA是美国食品药品监督管理局(FDA)批准的唯一一种非手术治疗胆固醇结石的胆汁酸类药物, 具有疗效高及无副作用等优点^[3]. 1988年, UDCA被FDA批准用于治疗原发性胆管炎, 这是一种慢性自身免疫性肝脏疾病, 其特点是肝内胆管破坏, 导致纤维化, 最终导致肝硬化^[4,5]. UDCA还具有治疗胆汁淤积^[6]、抗炎^[7]、抗肿瘤^[8]、增强胰岛素敏感性^[9]及改善成纤维细胞线粒体功能^[10]等药理活性.

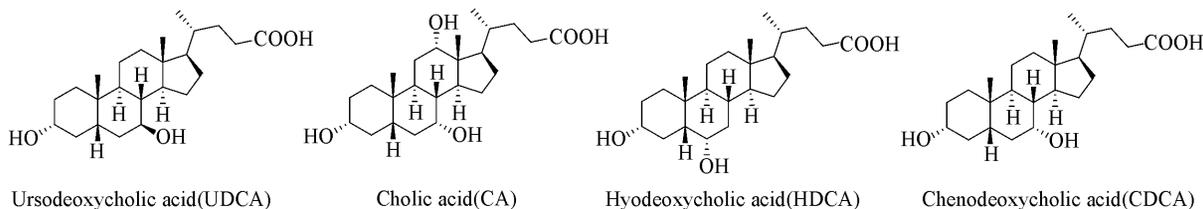


Fig. 1 Structures of bile acids

UDCA过去主要从天然熊胆中提取, 但活熊资源十分有限, 并且违反了动物保护法, 来源受限. 随着临床应用量的增加, 开发高效、经济的UDCA合成方法势在必行. 目前, UDCA一般可通过胆酸(CA)、鹅去氧胆酸(CDCA)或猪去氧胆酸(HDCA)(结构见Scheme 1)的转化进行生产^[11]. CA经C12脱羟基和C7羟基差向异构化可得到UDCA. CA的C12位脱羟基方法主要有Wolff-Kishner还原法^[12,13]和Mozingo还原法^[14]. 由CA合成UDCA的第二步是C7羟基的差向异构化, 该过程经7-酮石胆酸中间体. He等^[15]开发了一条新的由CA经7步化学反应合成UDCA的路线. 该路线经由C12甲磺酸酯基消除C12羟基, 单步收率高达94%, 总收率高达65%. CDCA是合成UDCA及相关甾体化合物最方便的原料^[16], 首先用N-溴代琥珀酰亚胺(NBS, 收率86%)^[17]、次氯酸钠(收率89.5%)^[18]或2-碘酰基苯甲酸(IBX, 收率90%)^[13]氧化CDCA得到7-酮石胆酸; 7-酮石胆酸随后被还原为7 β -羟基, 得到UDCA(收率70%)^[11,19]. 利用7 α -HSDH和7 β -HSDH可将CDCA转化为UDCA^[20], Eggert等^[21]综合评述了胆汁酸酶法合成UDCA的研究进展. 与CDCA相比, HDCA是一种相对廉价的材料, 更容易获得, 可用于UDCA的合成^[22]. Zhou等^[23]由HDCA经7步反应, 以15%总收率合成UDCA. 最近Dou等^[24]开发了一种简便路

收稿日期: 2021-04-25. 网络出版日期: 2021-08-05.

基金项目: 陕西省教育厅重点实验室项目(批准号: 20JS023)和陕西省科技厅农业攻关项目(批准号: 2021NY-154)资助.

联系人简介: 陈旺, 男, 博士, 副教授, 主要从事甾体药物合成方面的研究. E-mail: chenwang@snut.edu.cn

线, 以 Shapiro 反应为关键步骤, 总收率为 26%.

但无论是 CA, CDCA 或 HDCA, 都是从胆汁酸中提取的, 属于动物性原料, 动物源产品带来的风险对于制药工业始终存在. 目前, 只有一种可靠的基于植物源的商业原料合成 UDCA 的途径. Qiu 等^[25]报道了从植物源 bisnoralcohol 合成 UDCA 的新路线, 6 步化学反应总收率达 59%. 本文以植物来源的醋酸去氢表雄酮为原料, 合成了熊去氧胆酸, 并对其中关键反应的条件进行了优化, 利用核磁共振波谱 (NMR) 和质谱 (MS) 对产物进行了结构确证.

1 实验部分

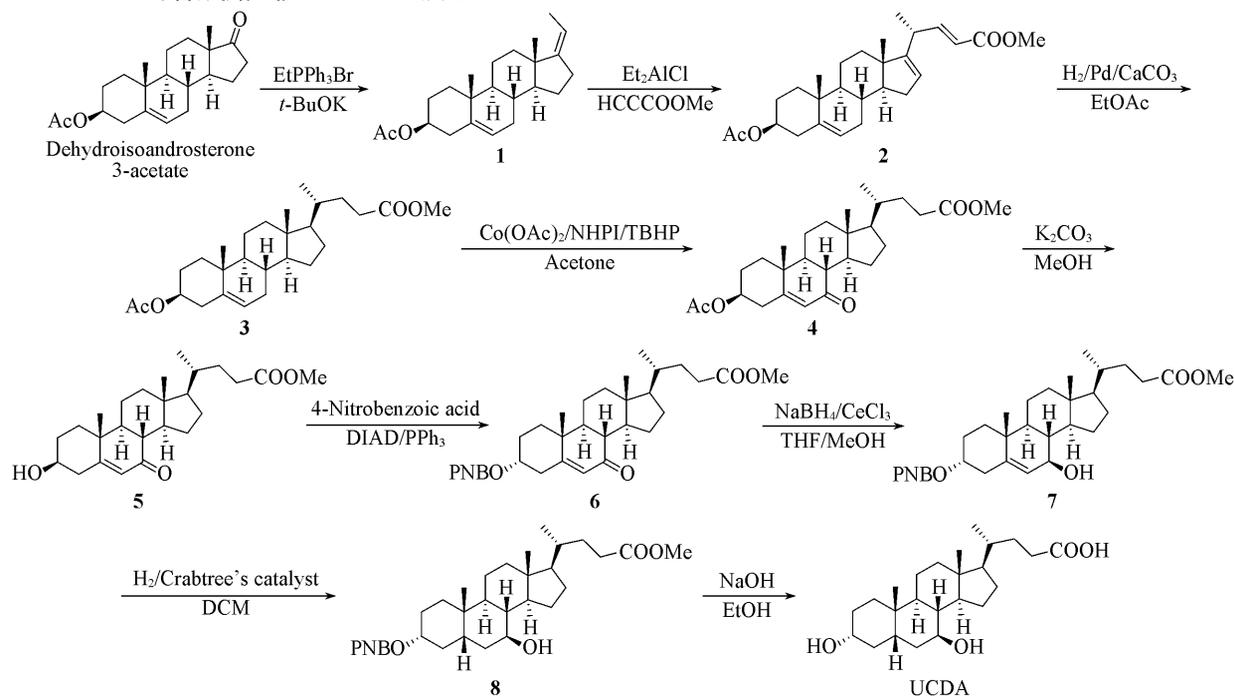
1.1 试剂与仪器

醋酸去氢表雄酮, 陕西萃程生物医药科技有限公司; 四氢呋喃, 天津市大茂化学试剂厂; 石油醚、乙酸乙酯、丙酮、甲醇和二氯甲烷, 天津市富宇精细化工有限公司; 苯、甲苯和对硝基苯甲酸, 天津市光复精细化工研究所; 叔丁醇钾, 济南祥泰化工有限公司; 乙基三苯基溴化磷、丙炔酸甲酯、氯化二乙基铝 (1 mol/L 甲苯溶液)、钯/碳酸钙 (钯的质量分数为 5%)、醋酸钴、偶氮二甲酸二异丙酯、七水氯化钬和 Crabtree's 催化剂, 上海安耐吉化学有限公司; *N*-羟基邻苯二甲酰亚胺 (NHPI), 上海麦克林生化科技有限公司; 无水碳酸钾, 天津市百世化工有限公司; 三苯基膦, 张家港雅瑞化工有限公司; 200~300 目硅胶, 青岛海洋化工有限公司. 所用试剂均为分析纯, 有机溶剂均经除水和重蒸处理.

GF254 型薄层色谱, 青岛海洋化工有限公司, 紫外灯检测波长 254 和 365 nm; SGW X4 型显微熔点仪, 上海仪电物理光学仪器有限公司; Bruker Avance-600 型核磁共振波谱仪 (NMR), 德国布鲁克科技有限公司, 溶剂为 CDCl₃ 或 DMSO-d₆, TMS 为内标; Thermofisher Q Exactive Focus 型液相色谱-质谱联用高分辨质谱仪 (HRMS), 美国赛默飞科技有限公司; BWXG4 型圆盘旋光仪, 上海光学仪器厂.

1.2 实验方法

UCDA 的合成路线如 Scheme 1 所示.



Scheme 1 Synthesis of UCDA from dehydroisoandrosterone 3-acetate

1.2.1 (3 β , 17 E)-孕烷-5, 17(20)-二烯-3-醋酸酯 (1) 的合成 在 N₂ 气保护下, 将 38.89 g (104.8 mmol) EtPPh₃Br 和 11.75 g (104.8 mmol) *t*-BuOK 溶解于 300 mL 无水四氢呋喃中, 室温下搅拌反应 1 h; 向反应液中缓慢滴加入 19.23 g (58.2 mmol) 醋酸去氢表雄酮的无水四氢呋喃溶液 200 mL, 在 N₂ 气保护下于

80 °C 搅拌回流反应 4 h; 待反应液降至室温后减压浓缩, 蒸出四氢呋喃约 300 mL; 用冰浴降至 0 °C, 加入 500 mL 饱和氯化铵, 用 100 mL 石油醚萃取 4 次, 合并有机层, 用无水硫酸镁干燥, 经减压浓缩得粗产物. 粗产物用甲醇结晶, 得到 18.52 g 类白色针状结晶化合物 1, 收率 93%. m. p. 88~90 °C (文献值^[26]: 89~91 °C); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃), δ: 5.39 (d, *J*=4.6 Hz, 1H), 5.17~5.12 (m, 1H), 4.65~4.57 (m, 1H), 2.41~2.35 (m, 1H), 2.35~2.27 (m, 3H), 2.23~2.14 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 2.02~1.98 (m, 1H), 1.90~1.84 (m, 2H), 1.66 (dt, *J*=7.0, 1.8 Hz, 3H), 1.64~1.57 (m, 4H), 1.56~1.52 (m, 2H), 1.52~1.48 (m, 1H), 1.26~1.19 (m, 1H), 1.19~1.11 (m, 2H), 1.03 (s, 3H), 1.02~0.96 (m, 1H), 0.90 (s, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃), δ: 170.55, 150.18, 139.69, 122.51, 113.52, 73.93, 56.44, 50.04, 44.02, 38.11, 36.93, 36.92, 36.64, 31.71, 31.44, 31.36, 27.76, 24.47, 21.45, 21.17, 19.29, 16.62, 13.14; HRMS (ESI), *m/z* [M+H]⁺, C₂₃H₃₄O₂ 计算值 (实验值): 343.26433 (343.26422).

1.2.2 3β-乙酰氧基-5,16,22-三烯-24-胆酸甲酯(2)的合成 将 18.15 g (53 mmol) 化合物 1 和 5.37 g (63.8 mmol) 丙炔酸甲酯溶解于 150 mL 无水苯中, 在 N₂ 气保护及 0 °C 下滴加 13 mL (106 mmol, 1 mol/L in toluene) Et₂AlCl, 滴加完毕将反应液恢复至室温, 搅拌反应 24 h. 用 150 mL 饱和 NaHCO₃ 水溶液淬灭反应并用 100 mL 乙酸乙酯萃取反应液 2 次, 用合并有机层, 用无水硫酸镁干燥, 经减压浓缩得粗产物. 粗产物用乙醚重结晶, 得到 21.48 g 类白色固体结晶化合物 2, 收率 95%. m. p. 128~130 °C (文献值^[27]: 128~129 °C); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃), δ: 6.94 (dd, *J*=15.6, 7.8 Hz, 1H), 5.82 (dd, *J*=15.6, 1.1 Hz, 1H), 5.44~5.40 (m, 1H), 5.39 (d, *J*=4.8 Hz, 1H), 4.61 (ddd, *J*=11.4, 5.9, 3.1 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.06~2.97 (m, 1H), 2.37~2.28 (m, 2H), 2.08 (ddd, *J*=14.9, 6.2, 3.0 Hz, 1H), 2.04 (s, 3H), 2.02~1.97 (m, 1H), 1.89~1.82 (m, 3H), 1.82~1.77 (m, 1H), 1.66 (dd, *J*=10.7, 4.1 Hz, 1H), 1.63~1.57 (m, 3H), 1.53 (dt, *J*=12.9, 7.5 Hz, 1H), 1.41~1.35 (m, 1H), 1.35~1.30 (m, 1H), 1.19 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 1.17~1.11 (m, 1H), 1.05 (s, 3H), 1.04~1.00 (m, 1H), 0.79 (s, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃), δ: 170.55, 167.37, 156.93, 153.81, 139.93, 124.03, 122.42, 118.77, 73.89, 57.21, 51.46, 50.55, 47.06, 38.13, 36.93, 36.81, 35.40, 34.75, 31.52, 31.14, 30.41, 27.75, 21.44, 20.67, 19.59, 19.22, 16.33; HRMS (ESI), *m/z* [M+Na]⁺, C₂₇H₃₈O₄ 计算值 (实验值): 449.26556 (449.26544).

1.2.3 3β-乙酰氧基-5-烯胆酸甲酯(3)的合成 参照文献[27]方法合成化合物 3. 将 21.33 g (50 mmol) 化合物 2 溶解于 200 mL 乙酸乙酯中, 加入 1.0 g 钡/碳酸钙, 用 H₂ 气减压置换反应体系中的空气, 将反应液在室温下搅拌. 用 TLC 监测反应, 待反应结束后, 抽滤除去固体不溶物, 有机相经减压浓缩得粗产物. 粗产物用甲醇结晶, 得到 20.45 g 类白色针状结晶化合物 3, 收率 95%. m. p. 161~163 °C (文献值^[27]: 162~163 °C); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃), δ: 5.37 (d, *J*=4.7 Hz, 1H), 4.64~4.56 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.38~2.33 (m, 1H), 2.33~2.29 (m, 2H), 2.25~2.19 (m, 1H), 2.03 (s, 3H), 2.01~1.94 (m, 2H), 1.89~1.83 (m, 3H), 1.82~1.76 (m, 1H), 1.62~1.56 (m, 2H), 1.54~1.47 (m, 2H), 1.47~1.39 (m, 3H), 1.37~1.31 (m, 1H), 1.32~1.27 (m, 1H), 1.18 (dd, *J*=12.9, 4.3 Hz, 1H), 1.15~1.06 (m, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.03~0.98 (m, 1H), 0.98~0.94 (m, 1H), 0.93 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.68 (s, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃), δ: 174.74, 170.52, 139.66, 122.60, 73.97, 56.65, 55.78, 51.47, 50.00, 42.37, 39.70, 38.12, 37.00, 36.59, 35.37, 31.88, 31.86, 31.07, 31.03, 28.10, 27.77, 24.25, 21.43, 21.02, 19.31, 18.32, 11.86; HRMS (ESI), *m/z* [M+Na]⁺, C₂₇H₄₂O₄ 计算值 (实验值): 453.29656 (453.29645).

1.2.4 3β-乙酰氧基-7-酮基-5-烯胆酸甲酯(4)的合成 将 19.5 g (45.3 mmol) 化合物 3、0.4 g (2.67 mmol) 醋酸钴和 0.74 g (4.53 mmol) NHPI 溶解于 150 mL 丙酮中; 滴加过氧化叔丁醇 25.2 mL (70% 水溶液, 7.2 mol/L, 181.2 mmol), 室温下搅拌反应 24 h. 将反应液减压蒸馏除去丙酮, 加入 200 mL 10% 的亚硫酸钠溶液; 用 70 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层, 经无水硫酸镁干燥, 减压浓缩得粗产物. 粗

产物经快速硅胶柱层析[洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯(体积比10:1)],得到16.5 g类白色固体结晶化合物**4**,收率82%. m. p. 167~169 °C(文献值^[28]: 168~169 °C); ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃), δ: 5.70(d, *J*=1.3 Hz, 1H), 4.75~4.67(m, 1H), 3.66(s, 3H), 2.55(ddd, *J*=13.9, 4.9, 1.8 Hz, 1H), 2.49~2.44(m, 1H), 2.43~2.37(m, 1H), 2.38~2.32(m, 1H), 2.26~2.20(m, 2H), 2.05(s, 3H), 2.04~2.00(m, 1H), 1.99~1.94(m, 2H), 1.94~1.90(m, 1H), 1.84~1.78(m, 1H), 1.72~1.66(m, 1H), 1.60~1.50(m, 3H), 1.45~1.40(m, 1H), 1.38~1.30(m, 3H), 1.30~1.23(m, 2H), 1.21(s, 3H), 1.18~1.12(m, 1H), 1.09(q, *J*=9.5 Hz, 1H), 0.93(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.68(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃), δ: 201.74, 174.64, 170.26, 163.84, 126.69, 72.19, 54.48, 51.48, 49.94, 49.77, 45.38, 43.17, 38.63, 38.31, 37.74, 36.01, 35.26, 31.08, 31.02, 28.38, 27.35, 26.25, 21.25, 21.15, 18.47, 17.26, 11.98; HRMS(ESI), *m/z*[M+Na]⁺, C₂₇H₄₀O₅计算值(实验值): 467.27617(467.27606).

1.2.5 3β-羟基-7-酮基-5-烯胆酸甲酯(**5**)的合成 将16 g(36 mmol)化合物**4**溶解于150 mL甲醇中,加入6.9 g(50 mmol)无水碳酸钾,室温下搅拌反应4 h. 将反应液抽滤除去固体不溶物,有机相减压浓缩得粗产物,用50%甲醇重结晶,得到14.6 g类白色针状结晶化合物**5**,收率97%. m. p. 141~142 °C(文献值^[28]: 140~141 °C); ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃), δ: 5.69(d, *J*=1.5 Hz, 1H), 3.71~3.64(m, 1H), 3.67(s, 3H), 2.53~2.49(m, 1H), 2.45~2.38(m, 2H), 2.37~2.32(m, 1H), 2.27~2.19(m, 2H), 2.04~1.99(m, 1H), 1.97~1.90(m, 3H), 1.88~1.78(m, 2H), 1.68~1.63(m, 1H), 1.60~1.55(m, 2H), 1.53~1.47(m, 1H), 1.46~1.39(m, 1H), 1.37~1.30(m, 3H), 1.27~1.22(m, 1H), 1.22~1.17(m, 1H), 1.20(s, 3H), 1.16~1.11(m, 1H), 1.11~1.05(m, 1H), 0.93(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.68(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃), δ: 202.19, 174.71, 165.18, 126.08, 70.48, 54.46, 51.52, 49.93, 49.86, 45.36, 43.14, 41.81, 38.65, 38.27, 36.34, 35.27, 31.16, 31.08, 31.02, 28.40, 26.26, 21.19, 18.46, 17.31, 11.98; HRMS(ESI), *m/z*[M+H]⁺, C₂₅H₃₈O₄计算值(实验值): 403.28419(403.28412).

1.2.6 3α-对硝基苯甲酰基-7-酮基-5-烯胆酸甲酯(**6**)的合成 参照文献[28]方法合成化合物**6**. 将14 g(34.8 mmol)化合物**5**、10.1 g(38.3 mmol)三苯基膦和6.4 g(38.3 mmol)对硝基苯甲酸溶解于150 mL无水四氢呋喃中;用冰水浴冷至0 °C并搅拌,在N₂气保护下于0 °C用恒压滴液漏斗缓慢滴加8.1 g(40 mmol)偶氮二甲酸二异丙酯的甲苯溶液30 mL,滴加完毕,于室温下搅拌反应24 h. 将反应液减压浓缩至干,用200 mL乙酸乙酯重新溶解,用饱和碳酸氢钠溶液和氯化钠溶液洗涤;有机相经无水硫酸镁干燥,减压浓缩得粗产物,经快速硅胶柱层析[洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯(体积比10:1)],得到15.6 g类白色固体化合物**6**,收率81%. m. p. 157~159 °C(文献值^[28]: 157~160 °C); ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃), δ: 8.28(d, *J*=8.8 Hz, 2H), 8.12(d, *J*=8.8 Hz, 2H), 5.73(d, *J*=1.2 Hz, 1H), 5.44(s, 1H), 3.67(s, 3H), 2.82~2.74(m, 1H), 2.64~2.56(m, 1H), 2.47~2.40(m, 1H), 2.39~2.35(m, 1H), 2.29(t, *J*=11.6 Hz, 1H), 2.26~2.20(m, 1H), 2.12~2.07(m, 1H), 2.06~2.02(m, 1H), 1.98~1.92(m, 1H), 1.90~1.85(m, 1H), 1.84~1.79(m, 1H), 1.69~1.57(m, 5H), 1.46~1.42(m, 1H), 1.41~1.37(m, 1H), 1.37~1.34(m, 1H), 1.33~1.30(m, 1H), 1.27(s, 3H), 1.29~1.24(m, 1H), 1.20~1.14(m, 1H), 1.11(q, *J*=9.4 Hz, 1H), 0.94(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.71(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃), δ: 201.67, 174.67, 163.82, 163.26, 150.59, 135.64, 130.64, 127.17, 123.65, 71.61, 54.49, 51.52, 49.99, 49.91, 45.49, 43.18, 38.84, 38.57, 36.43, 35.26, 33.34, 31.06, 31.01, 28.41, 26.28, 25.75, 20.90, 18.47, 16.96, 11.98; HRMS(ESI), *m/z*[M+Na]⁺, C₃₂H₄₁O₇计算值(实验值): 574.27653(574.27649).

1.2.7 3α-对硝基苯甲酰基-7β-羟基-5-烯胆酸甲酯(**7**)的合成 参照文献[28]方法合成化合物**7**. 将15 g(27.2 mmol)化合物**6**和12.2 g(32.6 mmol)CeCl₃·7H₂O溶解于200 mL甲醇中;于室温下搅拌,分批缓慢加入1.24 g(32.6 mmol)NaBH₄,室温下搅拌反应并用TLC监测,约4 h反应完全. 向反应液中加入30 mL丙酮,室温下搅拌1 h,抽滤除去固体不溶物,有机相经减压浓缩得粗产物,经快速硅胶柱层析

[洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯(体积比5:1)], 得到12.05 g类白色固体化合物7, 收率80%. m. p. 174~176 °C(文献值^[28]: 174~177 °C); ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃), δ: 8.29(d, *J*=8.8 Hz, 2H), 8.15(d, *J*=8.8 Hz, 2H), 5.33(brs, 1H), 5.29(brs, 1H), 3.92~3.88(m, 1H), 3.67(s, 3H), 2.64(dd, *J*=15.3, 1.8 Hz, 1H), 2.44~2.32(m, 2H), 2.27~2.20(m, 2H), 2.06~1.97(m, 2H), 1.96~1.87(m, 2H), 1.86~1.80(m, 2H), 1.78~1.72(m, 2H), 1.60~1.55(m, 1H), 1.51~1.42(m, 6H), 1.36~1.20(m, 4H), 1.12(s, 3H), 0.94(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.72(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃), δ: 174.71, 163.95, 150.46, 141.03, 136.28, 130.59, 126.52, 123.55, 73.06, 72.12, 55.90, 55.16, 51.51, 48.43, 42.97, 40.74, 39.48, 37.04, 36.08, 35.31, 33.61, 31.06, 31.02, 28.40, 26.28, 26.16, 20.82, 18.71, 18.38, 11.84; HRMS(ESI), *m/z*[M+NH₄]⁺, C₃₂H₄₃NO₇计算值(实验值): 571.29404(571.29395).

1.2.8 3α-对硝基苯甲酰基-7β-羟基-5β-胆烷酸甲酯(8)的合成 将11.5 g(20.8 mmol)化合物7和0.5 g [Ir(cod)pyr(PCy₃)]PF₆(Crabtree's catalyst)溶解于150 mL无水二氯甲烷中, 用H₂气减压置换反应体系中的空气, 室温下搅拌反应. 用TLC监测反应, 待反应结束, 减压蒸干二氯甲烷, 残留物加乙醚100 mL搅拌, 抽滤除去固体不溶物. 有机相经减压浓缩得粗产物, 用50%甲醇重结晶, 得到11 g类白色固体结晶化合物8, 收率95%. m. p. 181~183 °C; ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃), δ: 8.28(d, *J*=8.9 Hz, 2H), 8.20(d, *J*=8.9 Hz, 2H), 5.00~4.93(m, 1H), 3.67(s, 3H), 3.65~3.59(m, 1H), 2.40~2.33(m, 1H), 2.27~2.19(m, 1H), 2.05~2.00(m, 1H), 1.95~1.88(m, 2H), 1.87~1.78(m, 6H), 1.69~1.61(m, 2H), 1.56~1.41(m, 7H), 1.38~1.28(m, 4H), 1.24~1.14(m, 2H), 1.09(q, *J*=9.6 Hz, 1H), 1.00(s, 3H), 0.94(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.70(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃), δ: 174.68, 164.13, 150.47, 136.16, 130.66, 123.47, 75.66, 71.23, 55.76, 54.98, 51.52, 43.79, 43.78, 42.35, 40.11, 39.29, 36.62, 35.25, 34.60, 34.17, 33.18, 31.06, 31.04, 28.59, 26.86, 26.55, 23.36, 21.27, 18.41, 12.15; HRMS(ESI), *m/z*[M+NH₄]⁺, C₃₂H₄₃NO₇计算值(实验值): 578.30782(578.30774).

1.2.9 熊去氧胆酸(UCDA)的合成 将10.5 g(18.9 mmol)化合物8溶解于100 mL甲醇中, 加入15 mL 10%(2.78 mol/L)NaOH溶液, 室温下搅拌6 h反应. 用5%(0.13 mol/L)HCl溶液调节反应体系pH值为3, 减压蒸馏除去甲醇后, 用50 mL乙酸乙酯萃取3次, 合并有机层, 经无水硫酸镁干燥, 减压浓缩得粗产物, 经快速硅胶柱层析[洗脱剂为二氯甲烷/甲醇(体积比20:1)], 得到7 g类白色固体UCDA, 收率94%. m. p. 199~201 °C(文献值^[25]: 200~202 °C); $[\alpha]_D^{25} = +60.1^\circ$ [*c*=1.0, 25°C, EtOH, 文献值^[25] $[\alpha]_D^{25} = +60.9^\circ$ (*c*=1.0, 25°C, EtOH)]; ¹H NMR(600 MHz, CD₃OD-d₄), δ: 3.52~3.44(m, 2H), 2.32(ddd, *J*=15.2, 9.8, 5.2 Hz, 1H), 2.23~2.16(m, 1H), 2.04(dt, *J*=12.6, 2.9 Hz, 1H), 1.93~1.84(m, 2H), 1.84~1.77(m, 3H), 1.64~1.57(m, 3H), 1.55(ddd, *J*=13.2, 5.1, 2.1 Hz, 1H), 1.50~1.40(m, 6H), 1.34~1.22(m, 5H), 1.19(td, *J*=13.2, 4.0 Hz, 1H), 1.09(dd, *J*=19.0, 9.4 Hz, 1H), 1.02(td, *J*=14.2, 3.1 Hz, 1H), 0.96(s, 3H), 0.96(d, *J*=5.7 Hz, 3H), 0.71(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CD₃OD-d₄), δ: 176.77, 70.73, 70.55, 56.11, 55.16, 43.40, 43.10, 42.65, 40.18, 39.32, 37.23, 36.61, 35.30, 34.71, 33.79, 30.98, 30.62, 29.64, 28.24, 26.55, 22.56, 21.01, 17.54, 11.26. IR(KBr), $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3502(O—H), 2929(C—H), 1716(C=O). HRMS(ESI), *m/z*[M—H]⁻, C₂₄H₄₀O₄计算值(实验值): 391.28502(391.28494).

2 结果与讨论

醋酸去氢表雄酮是薯蓣皂苷元的下游产品, 其来源丰富、价格便宜, 是合成甾体类药物的重要原料. 本文以植物来源的醋酸去氢表雄酮为原料, 通过9步反应, 以38.6%的总收率合成了目标产物, 并对其中关键步骤的反应条件进行了优化. 首先, 醋酸去氢表雄酮进行Wittig反应, 立体选择性地得到化合物1, 产物C17(20)双键为*Z*型, 产率为93%. 化合物1在Et₃AlCl催化下可立体选择性引入侧链得到化合物2, 该条件可以将C20碳的立体构型控制为*R*型^[27]. 三烯中间体2在乙酸乙酯中可被5%的钨/

碳酸钙选择性还原^[27], 得到中间体3, 其中C17的立体构型为*R*型, 与天然胆酸构型相同, 产率为95%. 中间体3经C7位烯丙位氧化生成 α,β -不饱和酮类化合物4, 文献报道甾体化合物烯丙位氧化生成 α,β -不饱和酮的方法有三氧化铬、氯铬酸吡啶盐(PCC)、重铬酸吡啶盐(PDC)、重铬酸钾、重铬酸钠等^[29]. 该步骤铬氧化剂用量较大, 是底物量的6倍以上, 反应后处理麻烦, 且铬对环境造成严重的污染. 因此本文对烯丙位氧化条件进行了筛选, 以确定氧化剂、溶剂和温度等反应条件(见表1). 最终参照文献[30]报道方法, 用*N*-羟基邻苯二甲酰亚胺(NHPI)催化叔丁基过氧化氢(TBHP)对中间体3进行烯丙位氧化. 该体系使用TBHP为氧化剂, 较少使用重金属, 后处理相对简单, 减少了对环境的不利影响. 经优化后的氧化条件避免使用铬试剂, 后处理简单, 化合物4的收率达到82%. 化合物4在甲醇中经碳酸钾水解脱去乙酰基, 以97%的收率得到了中间体5. 化合物5再经Mitsunobu反应^[28], 对C3位羟基进行构型反转得到化合物6, 该步反应条件温和, 产率为81%. 化合物6经Luche还原得到C7位 β 羟基, NMR分析结果与文献[28]报道一致. 由于C7位 β 羟基的存在, 化合物7在Crabtree催化剂作用下选择性地得到5 β 构型^[31]的产物8(收率97%), 而文献[28]报道用Pd/C催化氢化只得到5 α 构型的化合物. 化合物8经NaOH溶液水解得到熊去氧胆酸. 所有合成化合物的结构均通过¹H NMR, ¹³C NMR和MS等方法进行确认.

Table 1 Allyl oxidation of compound 3

Entry ^a	Solvent	Oxidant	<i>n</i> (Compound 3): <i>n</i> (Oxidant)	Reaction temperature/°C	Yield ^b (%)
1	DCM	CrO ₃	1:12	25	50
2	AcOH	CrO ₃	1:12	25	52
3	1,2-Dichloroethane	CrO ₃	1:12	Reflux	56
4	DCM	CrO ₃ ·2Py	1:12	25	61
5	DCM	PCC	1:12	25	65
6	DCM	PDC	1:12	25	58
7	DCM	CrO ₃ ·2Py/TBHP(70%)	1:3:6	25	78
8	Acetone	K ₂ Cr ₂ O ₇ /NHPI/AcOH	1:3:1.1:1.1	25	48
9	Benzene	PDC(3)/TBHP(70%)	1:3:6	25	70
10	Acetone	PDC/NHPI	1:1.1:1.1	25	75
11	Acetone	Co(OAc) ₂ /NHPI/TBHP	0.01:0.1:4	25	73
12	Acetone	Co(OAc) ₂ /NHPI/TBHP	0.05:0.1:4	25	82
13	Acetone	Co(OAc) ₂ /NHPI/TBHP	0.05:0.1:4	Reflux	76

a. All the reactions were performed for 24 h; b. isolated yield.

3 结 论

建立了一种以植物来源的醋酸去氢表雄酮为原料, 以Mitsunobu反应和C7区域选择性氧化为关键步骤, 利用Luche还原和Crabtree催化剂, 经选择性还原合成UDCA的高效经济方法. 考察了烯丙位氧化反应的条件, 确定了最佳溶剂、氧化剂和反应温度. 该方法的立体选择性好, 大多数转化都是有效的. 其中, Mitsunobu构型翻转可达100%, Luche还原可选择性地得到7 β -羟基产物, Crabtree催化剂在7 β -羟基的存在下可选择性地氢化双键, 且总收率较高. 该合成方法起始原料来源丰富, 且来源于植物, 可以有效地避免动物源性原料的风险. 该路线不需要高温高压反应条件或低温操作, 易于实现规模化合成, 因而具有较高的应用价值.

参 考 文 献

- [1] Paumgartner G., Beuers U., *Hepatology*, 2002, 36(3), 525—531
- [2] Ikegami T., Matsuzaki Y., *Hepatol. Res.*, 2008, 38(2), 123—131
- [3] Roda E., Bazzoli F., Labate A. M. M., Mazzella G., Roda A., Sama C., Festi D., Aldini R., Taroni F., Barbara L., *Hepatology*, 1982, 2(6), 804—810
- [4] Sahu R., Mishra R., Majee C., *Expert. Rev. Gastroent.*, 2020, 14(10), 985—998
- [5] Namisaki T., Fujinaga Y., Moriya K., Yoshiji H., *Hepatol. Res.*, 2021, 51(1), 31—38
- [6] Beuers U., Boyer J. L., Paumgartner G., *Hepatology*, 1998, 28(6), 1449—1453

- [7] Keely S. J., Ginley N. K. L. M., Steer C. J., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.*, **2019**, 317(6), 872—881
- [8] Goossens J. F., Bailly C., *Pharmacol. Ther.*, **2019**, 203, 107396
- [9] Tsuchida T., Shiraiishi M., Ohta T., Sakai K., Ishii S., *Metabolism*, **2012**, 61(7), 944—953
- [10] Bell S. M., Barnes K., Clemmens H., Al-Rafiah A. R., Al-ofi E. A., Leech V., Bandmann O., Shaw P. J., Blackburn D. J., Ferraiuolo L., Mortiboys H., *J. Mol. Biol.*, **2018**, 430(21), 3942—3953
- [11] Tonin F., Arends I., *Beilstein. J. Org. Chem.*, **2018**, 14, 470—483
- [12] Hofmann A. F., Lundgren G., Theander O., Brimacombe J. S., Cook M. C., *Acta Chem. Scand.*, **1963**, 17, 173—186
- [13] Dangate P. S., Salunke C. L., Akamanchi K. G., *Steroids*, **2011**, 76(12), 1397—1399
- [14] Sato Y., Ikekawa N., *J. Org. Chem.*, **1959**, 24(9), 1367—1368
- [15] He X. L., Wang L. T., Gu X. Z., Xiao J. X., Qiu W. W., *Steroids*, **2018**, 140, 173—178
- [16] Guo M. Q., Zhang Y. M., Wang H. L., Guo P., *Chin. J. New. Drugs.*, **2020**, 29(20), 82—87(郭梦芹, 张艺铭, 王洪璐, 郭鹏. 中国新药杂志, **2020**, 29(20), 82—87)
- [17] Zhang G. M., Yu X. L., Ya C. P., *Chin. J. Pharm.*, **1996**, 27(5), 245—245(张国明, 余晓岚, 严崇萍. 中国医药工业杂志, **1996**, 27(5), 245—245)
- [18] Lu M. F., Yin W. C., Wang F. D., Peng D. M., *Chin. J. Pharm.*, **2015**, 46(10), 1058—1059(卢茂芳, 尹伟成, 王福东, 彭东明. 中国医药工业杂志, **2015**, 46(10), 1058—1059)
- [19] Lee S. J., Malpani Y. R., Kim I. W., *J. Flow. Chem.*, **2020**, 10(4), 637—646
- [20] Zhang X., Fan D., Hua X., Zhang T., *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, **2019**, 42(9), 1537—1545
- [21] Eggert T., Bakonyi D., Hummel W., *J. Biotechnol.*, **2014**, 191, 11—21
- [22] Hu X. Z., Shi X. Y., *Chin. J. Med. Chem.*, **2019**, 29(3), 224—233(胡祥正, 史小亚. 中国药物化学杂志, **2019**, 29(3), 224—233)
- [23] Zhou W. S., Wang Z. Q., Jiang B., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1990**, 1, 1—3
- [24] Dou Q., Jiang Z. L., *Synthesis*, **2016**, 48(4), 588—594
- [25] Wang J., Gu X. Z., He L. M., Li C. C., Qiu W. W., *Steroids*, **2020**, 157, 108600
- [26] Drefahl G., Ponsold K., Schick H., *Chem. Ber.*, **1965**, 98(2), 604—612
- [27] Dauben W. G., Brookhart T., *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, 103(1), 237—238
- [28] Liu S., Wang G. Q., Liu Z. K., Wang Q. A., *Chin. J. Org. Chem.*, **2013**, 33(10), 2216—2219(刘双, 汪钢强, 刘张坤, 汪秋安. 有机化学, **2013**, 33(10), 2216—2219)
- [29] Wendell S. G., Edward J. P. J., *Steroids Horm. Sci.*, **2016**, 7(2), 171—175
- [30] Zhao Q., Qian C., Chen X. Z., *Steroids*, **2015**, 94, 1—6
- [31] Verendel J. J., Pàmies O., Diéguez M., Andersson P. G., *Chem. Rev.*, **2014**, 114, 2130—2169

Synthesis of Ursodeoxycholic Acid from Dehydroiso-androsterone 3-Acetate[†]

CHEN Wang*, HU Daihua, LIU Gege

(School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China)

Abstract A new method for the synthesis of ursodeoxycholic acid from commercial plant-source materials was developed. Ursodeoxycholic acid was synthesized from dehydroepiandrosterone 3-acetate in 9 steps through a regioselective allyl oxidation, Mitsunobu reaction and Luche reduction as the key steps, with an overall yield of 38.6%. The key intermediate **4** was prepared in good yield by improved allylic oxidation of compound **3**. The reaction conditions of the key allyl oxidation reaction were also investigated and optimized, including solvent, oxidant and reaction temperature. Since all starting materials are cost-effective, commercially available and effectively avoided the risk of animal derived raw materials, this promising synthetic route offers economical and efficient strategies for potential production of Ursodeoxycholic Acid.

Keywords Ursodeoxycholic acid; Dehydroisoandrosterone 3-acetate; Mitsunobu reaction; Crabtree's catalyst

(Ed.: W, K)

[†] Supported by the Programme of Key Laboratory Shaanxi Province Education Department, China (No.20JS023) and the Programme of Key Project of Agricultural Science and Technology of Shaanxi Province, China (No.2021NY-154).