研究论文

米非司酮 17- 位立体异构体的合成及绝对构型确定

靳龙龙，张雅军，孙会敏，路　勇*，吴先富*
（中国食品药品检定研究院，北京 102629）

摘要：为了更好地控制米非司酮（**1**）原料药的质量，设计合成了其 17- 位立体异构体即 11β-[4-(*N*,*N*- 二甲胺基)-1- 苯基]-17α- 羟基 -17β-(1- 丙炔基)- 雌甾 -4,9- 二烯 -3- 酮（**1'**）。以 **1** 为原料，经发烟硝酸酯化得到 17- 位硝酸酯，然后在硝酸银存在下水解并发生手性翻转得到 **1'**，产物纯度大于 95%。同时，利用电子圆二色谱确证其绝对构型为（8*S*,11*R*,13*S*,14*S*,17*R*）。

关键词：米非司酮；17- 位立体异构体；合成；电子圆二色谱；绝对构型；有关物质
中图分类号：O626　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)12-1715-04
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.12.006

Synthesis and Absolute Configuration Determination of 17-Stereoisomer of Mifepristone

JIN Longlong, ZHANG Yajun, SUN Huimin, LU Yong*, WU Xianfu*
(*National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629*)

ABSTRACT: In order to perform the quality control of mifepristone (**1**), its 17-stereoisomer, 11β-[4-(*N*,*N*-dimethylamino)-1-phenyl]-17α-hydroxy-17β-(1-propinyl)-estra-4,9-dien-3-one (**1'**), was synthesized. The target product **1'** was prepared from easily available **1** via esterification with fuming nitric acid, hydrolysis and inversion of configuration in the presence of $AgNO_3$, with a purity of more than 95%. Meanwhile, its absolute configuration (8*S*,11*R*,13*S*,14*S*,17*R*) was determined by electronic circular dichroism.

Key Words: mifepristone; 17-stereoisomer; synthesis; electronic circular dichroism; absolute configuration; related substance

米非司酮（mifepristone，**1**），化学名为 11β-[4-(*N*,*N*- 二甲胺基)-1- 苯基]-17β- 羟基 -17α-(1- 丙炔基)- 雌甾 -4,9- 二烯 -3- 酮，是由法国 Roussel Uclaf 公司于 20 世纪 80 年代开发的一种强效抗孕激素药物，临床上广泛用于紧急避孕和中止早期妊娠[1]。近年来，**1** 用于妇科恶性肿瘤，如子宫内膜癌[2—5]、卵巢癌和宫颈癌等方面的研究也在不断深入[6—8]，应用前景较好。

收稿日期：2022-06-10
作者简介：靳龙龙(1986—)，男，博士，从事化学药物及杂质对照品原料的合成研究。
通信作者：吴先富(1980—)，男，研究员，从事药品质量控制和药品标准物质研究。
E-mail：wuxf99@163.com
路　勇(1972—)，男，研究员，从事食品和化妆品的安全性研究。
E-mail：luyong0560@126.com

1 的主要合成工艺路线如图 1 所示[9—10]：用缩酮物与丙炔基溴化镁或丙炔 / 丁基锂加成得到 17β- 羟基丙炔物，然后通过六氟丙酮 / 过氧化氢溶液将 5(10)- 位双键立体选择性环氧化，并与 4-(*N*,*N*- 二甲胺基) 苯基溴化镁加成，再经水解得到 **1**。路线中，首步加成反应时会产生少量的 17α- 羟基丙炔物副产物，并继续参与后续反应得到 **1** 的 17- 位异构体杂质，即 11β-[4-(*N*,*N*- 二甲胺基)-1- 苯基]-17α- 羟基 -17β-(1- 丙炔基)- 雌甾 -4,9- 二烯 -3- 酮（**1'**）。

目前针对该杂质的有效合成方法尚未有文献报道，主要是通过将反应副产物收集分离制得，一般分离制备量仅为毫克级，效率低、获取难度大。现以价廉易得的 **1** 为原料，利用发烟硝酸对 17- 位羟基酯化得到 11β-[4-(*N*,*N*- 二甲胺基)-1- 苯基]-

17β-(1- 丙炔基)- 雌甾 -4,9- 二烯 -3- 酮 -17α- 硝酸酯 (**2**)，然后在硝酸银存在下水解并发生手性翻转得到 **1'**。

本研究首次通过化学合成法得到克级规模的杂质 **1'**，能为 **1** 的质量研究、有关物质控制以及建立 **1** 的系统性杂质图谱提供足够量的对照品原料，合成路线见图 2。

通过比较计算电子圆二色谱 (electronic circular dichroism，ECD) 图谱与试验测得的 ECD 图谱来确定手性化合物的绝对构型，这是目前确定手性化合物绝对构型的可靠方法 [11—13]。化合物 **1'** 的立体构型可以通过 NMR 数据结合量子化学计算的方法进行确定。经检索，未见化合物 **1'** 的 ECD 数据与绝对构型关联的文献报道。因此，本研究采用量子化学计算的方法对化合物 **1'** 的 ECD 图谱进行预测，并通过与试验所得 ECD 图谱比对来确定该化合物 17- 位手性中心的绝对构型。

1' 的甾体母核部分可以通过二维核欧沃豪斯效应谱 (nuclear Overhauser effect spectroscopy，NOESY) 确定相对构型，因此本研究对甾体母核部分的绝对构型进行了鉴定。**1'** 的 C_8、C_{11}、C_{13}、C_{14} 和 C_{17} 为手性碳原子，在其 NOESY 谱中，δ 2.43 ～ 2.48(m, 1H, H_8) 信号与 δ 0.57(s, 3H, H_{18}) 信号之间存在相关，而 δ 2.43 ～ 2.48(m, 1H, H_8) 信号和 δ 0.57(s, 3H, H_{18}) 信号均与 δ 4.38(d, *J*=7.2 Hz, 1H, H_{11}) 信号和 δ 1.86 ～ 1.92(m, 2H, $H_{14,16}$) 信号之间不存在相关，说明 H_8 与 H_{18} 处于顺式，H_8 和 H_{18} 均与 H_{11} 和 H_{14} 处于反式；而 C_{17} 为季碳原子，$H_{17\text{-}OH}$ 与 H_{18} 和 H_{14} 均无明确的相关信号，C_{17}- 位立体结构无法确定，需要运用量子化学理论方法计算 C_{17}- 位的 2 种构型 (*R*- 型或 *S*- 型)。**1'** 可能存在 **1'a** 和 **1'b** 2 种绝对构型 (图 3)，以 **1'a** 为模板化合物计算，**1'b** 的构象和理论 ECD 图谱为 **1'a** 的镜像。

首先利用软件通过分子动力学力场 MMFF94 的方法对分子 **1'a** 进行构象搜索 [14]，在 6 kcal/mol 范围内得到 4 种构象。构型优化和频率计算结果显示，这些构象在甲醇中均为稳定构象。然后在 B3LYP/6-311+G(*d*, *p*) 基组水平上进行优化计算，

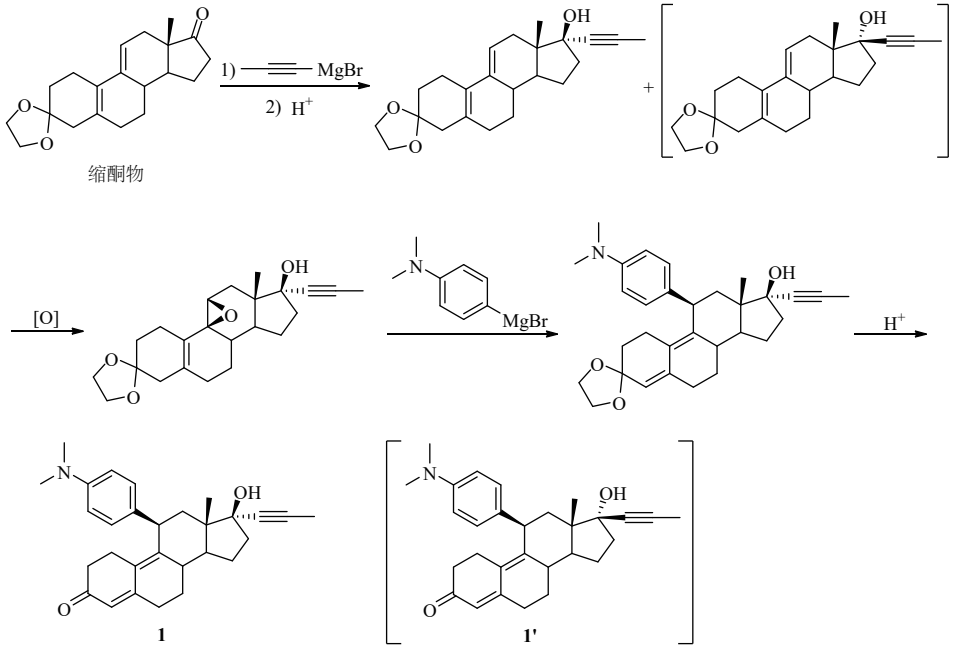


图 1　1 的合成路线及 1' 的产生途径

Fig.1　Synthetic Route of **1** and Formation Approach of **1'**

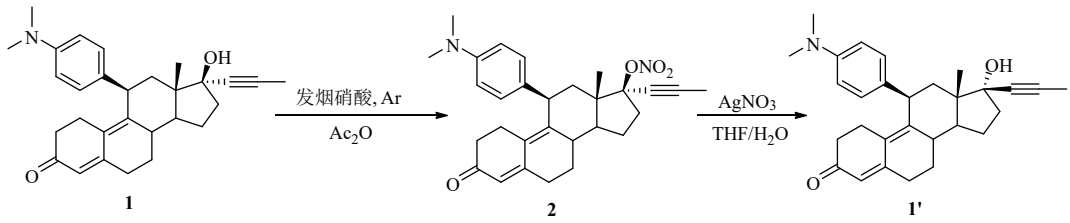


图 2　1' 的合成路线

Fig.2　Synthetic Route of **1'**

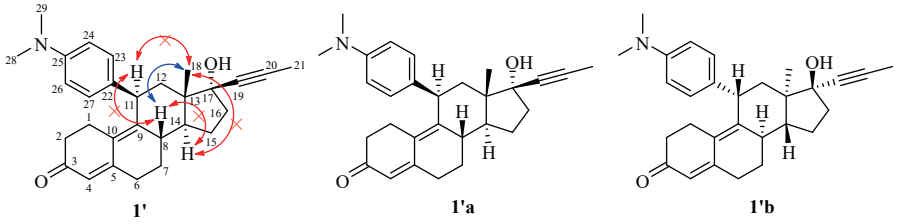


图 3　化合物 1' 的主要 NOESY 及 1'a 和 1'b 的结构

Fig.3　Key NOESY of Compound **1'** and Structures of Compounds **1'a** and **1'b**

再运用玻尔兹曼加合法拟合 ECD 图谱，比对试验所得 ECD 图谱与计算得到的化合物 **1'a** 和 **1'b** 的 ECD 图谱（图 4）。结果显示，化合物 **1'** 的试验所得 ECD 图谱与 **1'a** 的理论 ECD 图谱趋势完全一致，表明化合物 **1'** 的绝对构型为（8*S*,11*R*,13*S*,14*S*,17*R*），其 C_{17} 的手性与 **1** 的 C_{17} 手性相反，即 17- 羟基处于 α 位，17- 丙炔基处于 β 位。

实验部分

11β-[4-(*N*,*N*- 二甲胺基)-1- 苯基]-17β-(1- 丙炔基)- 雌甾 -4,9- 二烯 -3- 酮 -17α- 硝酸酯（2）

向 500 ml 三口瓶中加入 **1**（华润紫竹药业有限公司，99.69%，20.0 g，46.55 mmol）和乙酸酐（150 ml），用氩气置换瓶内气体 3 次，氩气保护下将反应体系降温至 －30 ℃，反应液呈黄色悬浮液，通过恒压滴液漏斗缓慢滴加发烟硝酸（15 ml），控制滴加速度，控温于 －25 ℃以下，加毕反应液呈黄色澄清溶液。保温搅拌 1 h，将反应液倾入冰水（1 500 ml）中，加氨水调至 pH 8 ～ 9，析出大量黄白色固体。抽滤，滤饼用二氯甲烷溶解，经无水硫酸镁干燥后过滤，滤液减压浓缩，得黄白色固体 **2**（20.7 g，以粗品计收率为 94%），直接用于下步反应。

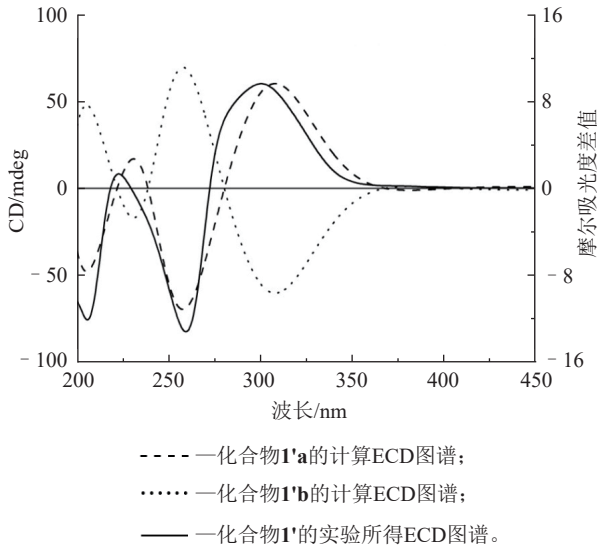


图 4　化合物 1'a 和 1'b 的计算 ECD 图谱与化合物 1' 的试验所得 ECD 图谱对比

Fig.4　Comparison of Calculated ECD for Compounds **1'a** and **1'b** with Experimental ECD for Compound **1'**

ESI-HRMS（*m*/*z*）：475.253 2［M+H］$^+$（$C_{29}H_{35}N_2O_4$）。

11β-[4-(*N*,*N*- 二甲胺基)-1- 苯基]-17α- 羟基 -17β-(1- 丙炔基)- 雌甾 -4,9- 二烯 -3- 酮（1'）

将上述所得 **2**（15.0 g，0.03 mol）溶解于四氢呋

喃和水（体积比 4 ∶ 1，100 ml）混合液中，加入硝酸银（1.6 g，0.01 mol），反应液呈土黄色悬浊液，室温避光搅拌 72 h。待反应结束后，将反应液倾入饱和氯化铵水溶液（500 ml）中，用二氯甲烷（200 ml×3）萃取，合并有机相，经无水硫酸镁干燥后过滤，滤液减压浓缩，剩余物经硅胶柱色谱［洗脱剂：乙酸乙酯和石油醚（体积比 2 ∶ 3）的混合液］纯化，得泡沫状黄色固体 **1'**（7.47 g，以 **1** 计 55%）。纯度 95.3%［HPLC 归一化法：色谱柱 Suplex pKb-100 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 乙腈和 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液（体积比 45 ∶ 55）的混合液；检测波长 250 nm；流速 1.0 ml/min；柱温 25 ℃。与 **1** 的相对保留时间为 1.31］。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 7.05（d, *J*=8.4 Hz, 2H, $H_{23,27}$）, 6.68（d, *J*=8.4 Hz, 2H, $H_{24,26}$）, 5.74（s, 1H, H_4）, 4.38（d, *J*=7.2 Hz, 1H, H_{11}）, 2.92（s, 6H, $H_{28,29}$）, 2.71 ～ 2.76（m, 1H, H_1）, 2.55 ～ 2.57（m, 2H, H_6）, 2.43 ～ 2.48（m, 1H, H_8）, 2.38 ～ 2.42（m, 1H, H_2）, 2.33 ～ 2.35（m, 1H, H_1）, 2.30 ～ 2.32（m, 1H, H_2）, 2.20 ～ 2.25（m, 1H, H_{12}）, 2.15 ～ 2.19（m, 2H, $H_{12,16}$）, 2.00 ～ 2.04（m, 1H, H_7）, 1.93（s, 1H, 17-OH）, 1.86 ～ 1.92（m, 2H, $H_{14,16}$）, 1.82（s, 3H, H_{20}）, 1.76 ～ 1.81（m, 1H, H_{15}）, 1.45 ～ 1.52（m, 1H, H_7）, 1.28 ～ 1.34（m, 1H, H_{15}）, 0.57（s, 3H, H_{21}）；^{13}C NMR（150 MHz, $CDCl_3$）δ: 25.82（C_1）, 36.89（C_2）, 199.71（C_3）, 122.58（C_4）, 157.03（C_5）, 31.05（C_6）, 27.85（C_7）, 39.11（C_8）, 146.88（C_9）, 128.92（C_{10}）, 39.52（C_{11}）, 35.58（C_{12}）, 48.73（C_{13}）, 48.07（C_{14}）, 24.10（C_{15}）, 39.64（C_{16}）, 78.71（C_{17}）, 80.65（C_{18}）, 80.91（C_{19}）, 3.64（C_{20}）, 17.55（C_{21}）, 132.33（C_{22}）, 127.59（$C_{23,27}$）, 112.66（$C_{24,26}$）, 148.45（C_{25}）, 40.59（$C_{28,29}$）；ESI-HRMS（*m*/*z*）: 430.274 0［M+H］$^+$（$C_{29}H_{36}NO_2$）；异核各键相关谱（HMBC）: H_1 → C_2/C_3/C_5/C_9/C_{10}; H_2 → C_1/C_3/C_4/C_9/C_{10}; H_3 → C_1/C_2; H_4 → C_2/C_6/C_{10}; H_6 → C_4/C_5/C_7/C_8/C_{10}; H_7 → C_5/C_6/C_8/C_9/C_{14}; H_{11} → C_9/C_{10}/C_{12}/C_{13}/C_{22}; H_{12} → C_9/C_{11}/C_{13}/C_{14}/C_{15}/C_{21}/C_{22}; H_{14} → C_8/C_9/C_{12}/C_{15}/C_{21}; H_{15} → C_{13}/C_{14}/C_{16}/C_{17}; H_{16} → C_{14}/C_{15}/C_{17}; H_{20} → C_{16}/C_{18}/C_{19}; H_{21} → C_{12}/C_{13}/C_{14}/C_{17}; $H_{23,27}$ → C_{11}/C_{24}/C_{25}/C_{26}; $H_{24,26}$ → C_{22}; $H_{28,29}$ → C_{24}/C_{25}/C_{26}; $H_{17\text{-}OH}$ → C_{17}/C_{18}/C_{19}。

参考文献：

［1］ 张新影. 米非司酮在妇产科临床应用的研究进展[J]. 中国城乡企业卫生, 2020, **35**(10): 59-60.

［2］ 张秋实, 李继俊, 赵兴波. 米非司酮抑制子宫内膜癌细胞体外增殖的作用[J]. 肿瘤防治研究, 2007, **34**(10): 750-752.

［3］ LI A, FELIX J C, MINOO P, *et al*. Effect of mifepristone on proliferation and apoptosis if Ishikawa endometrial adenocarcinoma cells [J]. *Fertil Steril*, 2005, **84**(1): 202-211.

［4］ 杨丽君, 张秋实, 李敏清, 等. 米非司酮对子宫内膜癌细胞增殖抑制的研究[J]. 中国妇幼保健, 2010, **25**(19): 2640-2642.

［5］ 欧定宏, 邓后亮, 李红梅. 米非司酮治疗子宫肌瘤的研究进展[J]. 中国药物经济学, 2019, **14**(10): 120-124.

［6］ 孙　颖, 郑晓静, 李明江, 等. 米非司酮对卵巢癌细胞系 SKOV3 增殖和 CEACAM6 表达的影响[J]. 山东大学学报(医学版), 2010, **48**(5): 54-57.

［7］ 邢　盈, 王立英. 米非司酮配伍顺铂对卵巢癌耐药细胞株 CAOV3/DDP细胞凋亡和性激素受体的影响[J]. 河北医药, 2008, **30**(10): 1461-1463.

［8］ 张　蕾, 陈忠东, 付晨星. 米非司酮对宫颈癌 Caski 细胞增殖的影响[J]. 中国妇幼保健, 2010, **25**(10): 1393-1395.

［9］ TEUTSCH J G, COSTEROUSSE G, PHILIBERT D. Steroid derivatives substituted at the 11β position: FR, 2497807A1 [P]. 1982-07-16.

［10］ TEUTSCH J G, COSTEROUSSE G, PHILIBERT D. Steroid derivatives: US, 4447424A [P]. 1984-05-08.

［11］ ZHENG L, SONG J F. Curcumin multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode and its electrocatalytic activity towards oxidation of hydrazine [J]. *Sensor Actuat B-Chem*, 2009, **135**(2): 650-655.

［12］ 朱统汉, 马红光, 王　聪, 等. 天然产物绝对构型的确定方法[J]. 国际药学研究杂志, 2015, **42**(6): 773-785.

［13］ 裴月湖, 冯宝民, 王海峰. 几种海洋天然产物立体结构的确定[J]. 国际药学研究杂志, 2015, **42**(6): 786-793.

［14］ HALGREN T A. MMFF Ⅵ. MMFF94s option for energy minimization studies [J]. *JComputChem*, 1999, **20**(7): 720-729.