分割案

發明專利分割說明書

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：94121840

※ 申請日期：87.9.2　　※IPC 分類：C07J75/00

原申請案號：087109305

公告本

一、發明名稱：（中文/英文）

9,11-環氧類固醇製法及其中有利之中間產物

"PROCESSES FOR PREPARATION OF 9,11-EPOXY STEROIDS AND INTERMEDIATES USEFUL THEREIN"

二、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

美商吉迪希瑞爾公司

G. D. SEARLE & CO.

代表人：（中文/英文）

羅傑　A.　威廉斯

ROGER A. WILLIAMS

住居所或營業所地址：（中文/英文）

美國伊利諾州芝加哥市郵政信箱5110號

國　籍：（中文/英文）

1.美國　USA

煩請委員明示本案分割申請是否超出原申請案之原實質內容

三、發明人：（共 15 人）

姓　名：（中文/英文）

1. 強　S.　恩
   JOHN S. NG
2. 劉琴
   CHIN LIU
3. 丹尼斯　凱斯　安德森
   DENNIS K. ANDERSON
4. 瓊　P.　羅森
   JON P. LAWSON
5. 喬瑟夫　J.　威克羅瑞
   JOSEPH J. WIECZOREK
6. 沙士翠　A.　昆達
   SASTRY A. KUNDA
7. 里歐　J.　雷騰純
   LEO J. LETENDRE
8. 馬克　J.　波羅
   MARK J. POZZO
9. 雲-蓉　L.　欣
   YUEN-LUNG L. SING
10. 平　T.　王
    PING T. WANG
11. 愛德華　勇南
    EDWARD YONAN
12. 李察　M.　衛爾
    RICHARD M. WEIER
13. 湯瑪斯　R.　柯瓦
    THOMAS R. KOWAR
14. 朱麗歐　A.　貝茲
    JULIO A. BAEZ
15. 伯哈德　赫勃
    BERNHARD ERB

國　籍：（中文/英文）

1.3.4.5.7.8.9.10.11.12.13.14.	美國
2.	中華民國
6.	印度
15.	瑞士

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為：　年　月　日。

☑ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號　順序註記】

☐ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；1997年6月11日；60/049,388

2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號　順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料　【格式請依：寄存機構、日期、號碼　順序註記】

國外生物材料　【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼　順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

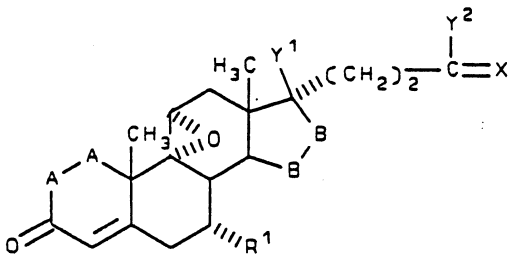
九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明是有關製備9,11-環氧基類固醇化合物之新穎方法，尤其是20-螺氧烷系列及其類似物，可用於製備類固醇化合物之新穎的中間物，製備此新穎中間物之方法。最特別地，本發明是有關新穎及有益的方法，可製備甲基氫9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸，γ-內酯(也稱之為eplerenone或epoxymexrenone)。

【先前技術】

製備20-螺氧烷系列化合物之方法，述於美國專利案4,559,332。依'332專利之方法產生之化合物，具有下式含開放氧之環E：



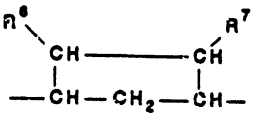
IA

其中

-A-A-代表$-CH_2-CH_2-$或-CH=CH-；

R^1代表α-方位的低碳烷氧羰基或羥羰基；

-B-B-代表$-CH_2-CH_2-$或α-或β-方向的基團；



III

R^6及R^7是氫；

X代表二個氫原子或酮基；

Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2時之低碳烷醯氧基；

及此化合物之鹽類，其中X代表酮，且Y^2代表羥基，即相當的17β-羥基-21-羧酸。

美國專利案4,559,332描述製備式IA之環氧美克瑞酮及相關化合物之方法。關於環氧美克瑞酮新穎且擴大的臨床用途，創造出製備此及其他相當類固醇改進方法之需要。

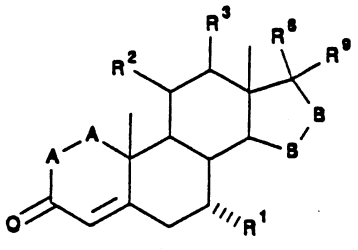
【發明內容】

本發明的主要目的是提出改進的方法，以製備環氧基美克瑞酮，其他的20-螺氧烷，及其他具共同結構特色的類固醇。在本發明特別的目的中包括：提出可高產率產製式IA產物及其他相關化合物之改進方法；提出此方法其中涉及少量的分離步驟；提出此製法，其可以合理的資本及在合宜的轉換費用下操作而實行。

因此，本發明是有關環氧美克瑞酮一系列的合成流程；可用於製備環氧美克瑞酮之中間物；及此新穎中間物之合成。

新穎的合成流程詳述於較佳具體實例之說明中。本發明新穎中間物為下述者。

式IV化合物，相當於下結構：



IV

其中：

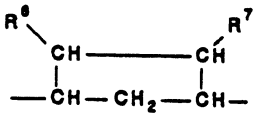
-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方位之低碳烷氧羰基或羥烷基；

R^2是11α-離去基，其分離可於9-及11-碳原子間有效地產生一個雙鍵；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7或α-或β-方位之基團：



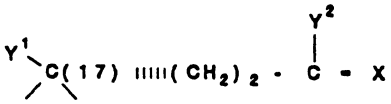
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至

五環D環。

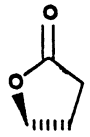
式IVA化合物相當於式IV，其中R^8及R^9加上其所粘附之環碳，形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

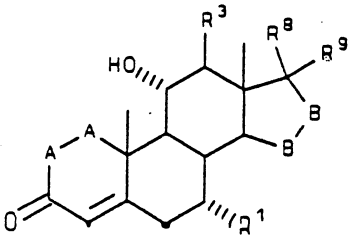
式IVB化合物相當於式IV，其中R^8及R^9一起形成下式XXXIII結構：



XXXIII

式IVC，IVD及IVE化合物，分別相當於式IV，IVA或IVB，其中-A-A-及-B-B-是$-CH_2-CH_2-$，R^3是氫，且R^1是烷氧羰基，較好是甲氧羰基。在式IV範圍內之化合物，可由低碳烷基磺醯化或醯化試劑，或鹵化物產生劑，與式V範圍內相當的化合物反應而製備。

式V化合物相當於以下結構：

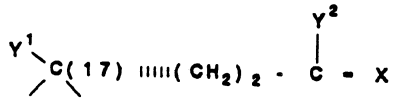


V

其中-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，R^8及R^9如式IV所定義。

式VA化合物相當於式V，其中R^8及R^9加上與之粘附之環

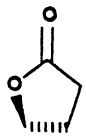
碳一起形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

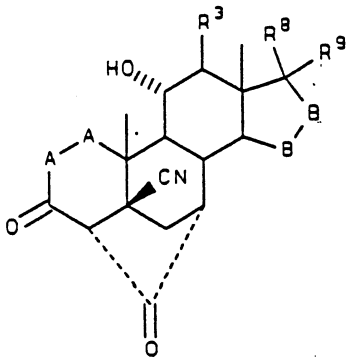
式VB化合物相當於式V，其中R^8及R^9一起形成式XXXIII結構：



XXXIII

式VC，VD及VE化合物，分別相當於式V，VA或VB，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，R^3是氫，且R^1是烷氧羰基，較好是甲氧羰基。在式V範圍內之化合物，可由鹼金屬烷氧化物與式VI相當化合物反應而製備。

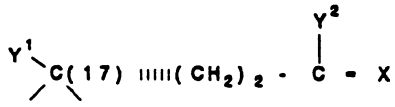
式VI化合物相當於以下結構：



VI

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

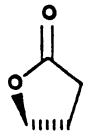
式VIA化合物相當於式VI，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

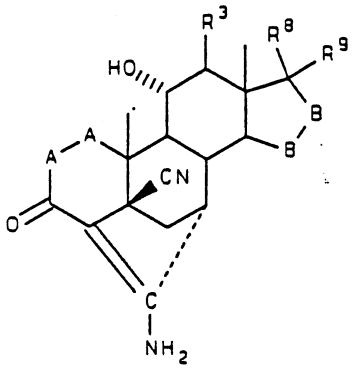
式VIB化合物相當於式VI，其中R^8及R^9一起形成下式XXXIII結構：



XXXIII

式VIC，VID及VIE化合物分別相當於式VI，VIA或VIB，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。式VI，VIA，VIB及VIC化合物，由分別水解相當於式VII，VIIA，VIIB或VIIC化合物而製成。

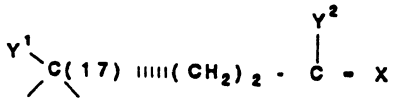
式VII化合物相當於以下結構：



VII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

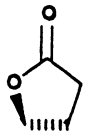
式VIIA化合物相當於式VII，其中R^8及R^9加上其所粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

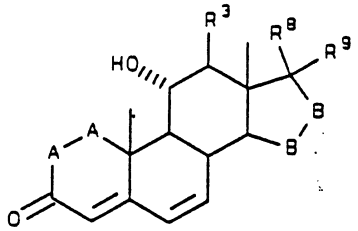
式VIIB化合物相當於式VII，其中R^8及R^9一起形成下式XXXIII結構：



XXXIII

式VIIC，VIID及VIIE化合物，分別相當於式VII，VIIA，或VIIB，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式VII範圍內之化合物可由式VIII範圍內之化合物行氧化作用而製備。

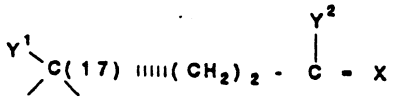
式VIII化合物相當於以下結構：



VIII

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

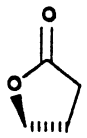
式VIIIA化合物相當於式VIII，其中R^8及R^9加上其所粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

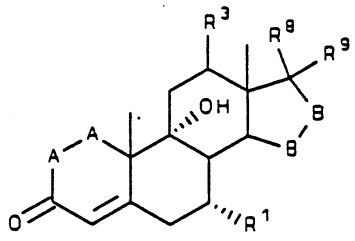
式VIIIB化合物相當於式VIII，其中R^8及R^9一起形成下式XXXIII結構：



XXXIII

式VIIIC，VIIID及VIIIE化合物，分別相當於式VIII，VIIIA，或VIIIB，其中-A-B-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式VIII範圍內的化合物，可由含有式XXX化合物之受質氧化而製備，式XXX如下述，該醱酵作用可有效地將11-羥基引入α-方位之受質上。

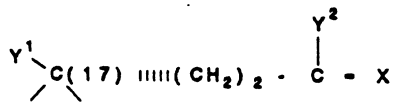
式IX化合物相當於下式結構：



IX

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義，且R^1如式V所定義。

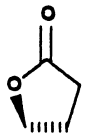
式IXA化合物相當於式IX，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

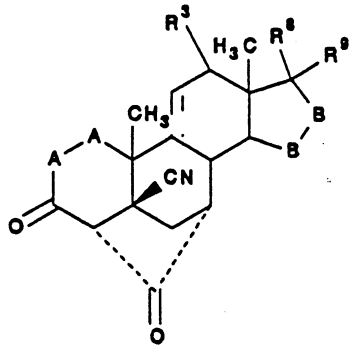
式IXB化合物相當於式IX，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成式XXXIII結構：



XXXIII

式IXC，IXD及IXE化合物，分別相當於式IX，IXA或IXB，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式IX範圍內之化合物，可由式X範圍內相當化合物之生物轉化而製備。

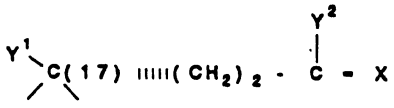
式XIV化合物相當於以下結構：



XIV

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

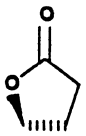
式XIVA化合物相當於式XIV，其中R^8及R^9加上其所粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

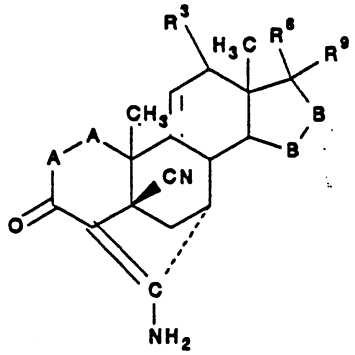
式XIVB化合物相當於式XIV，其中R^8及R^9加上其所粘附之環碳形成下式XXXIII結構：



XXXIII

式XIVC，XIVD及XIVE化合物，分別相當於式XIV，XIVA或XIVB，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式XIV範圍內之化合物，可由式XV範圍內相當的化合物水解而製備。

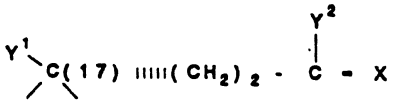
式XV化合物相當於以下結構：



XV

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

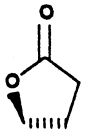
式XVA化合物相當於式XV，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

式XVB化合物相當於式XV，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成式XXXIII結構：

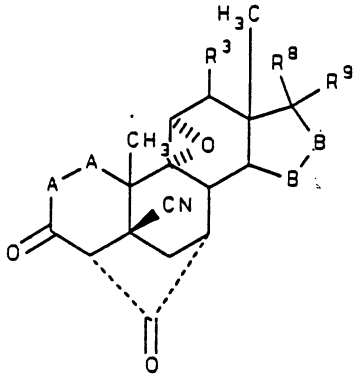


XXXIII

式XVC，XVD及XVE化合物，分別相當於式XV，XVA或XVB，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。

在式XV範圍內之化合物可由式XVI範圍內相當化合物行氧化作用而製備。

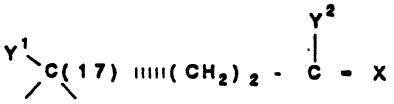
式XXI化合物相當於以下結構：



XXI

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

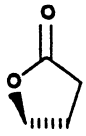
式XXIA化合物相當於式XXI，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

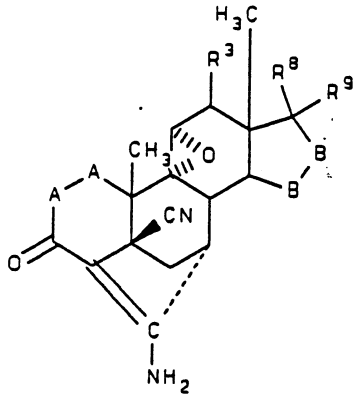
式XXIB化合物相當於式XXI，其中R^8及R^9一起形成形成式XXXIII結構：



XXXIII

式XXIC，XXID及XXIE化合物相當於式XXI，XXIA或XXIB，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式XXI範圍內之化合物可由在式XXII範圍內相當的化合物水解而製備。

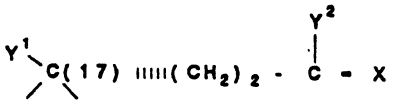
式XXII化合物相當於以下結構：



XXII

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

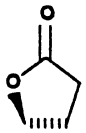
式XXIIA化合物相當於式XXII，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

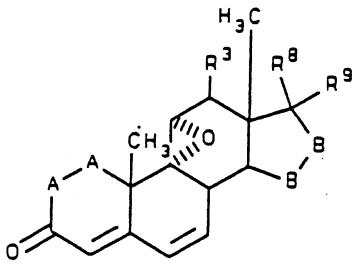
式XXIIB化合物相當於式XXII，其中R^8及R^9一起形成式XXXIII結構：



XXXIII

式XXIIC，XXIID及XXIIE化合物，分別相當於式XXII，XXIIA或XXIIB，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式XXII範圍內之化合物，可由式XXIII範圍內之化合物行氰化作用而製備。

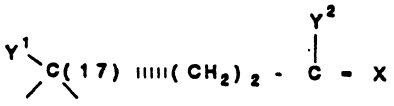
式XXIII化合物相當於以下結構：



XXIII

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

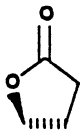
式XXIIIA化合物相當於式XXIII，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

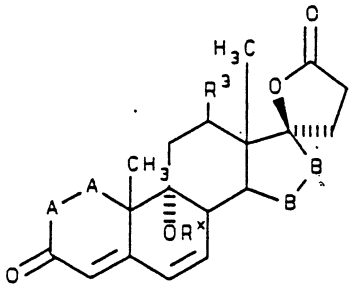
式XXIIIB化合物相當於式XXIII，其中R^8及R^9一起形成式XXXIII結構：



XXXIII

式XXIIIC，XXIIID及XXIIIE化合物，分別相當於式XXIII，XXIIIA，或XXIIIB，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式XXIII範圍內之化合物，可由式XXIV化合物行氧化作用而製備，如下文所述。

式XXVI化合物相當以下結構：

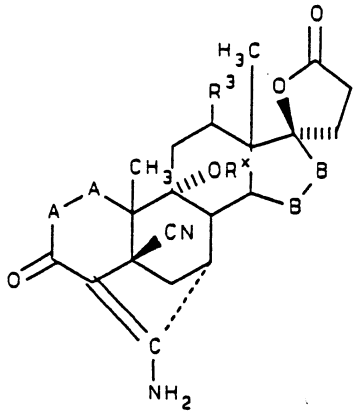


XXVI

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

式XXVIA化合物相當於式XXVI，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式XXVI範圍內之化合物可由式XXVII化合物行氧化作用而製備。

式XXV化合物相當以下結構：

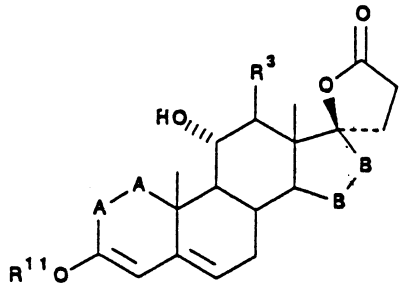


XXV

其中-A-A-，-B-B，R^3，R^8及R^9如式IV中所定義。

式XXVA化合物相當於式XXV，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式XXV範圍內之化合物可由式XXVI化合物行氰化作用而製備。

式104化合物相當以下結構：



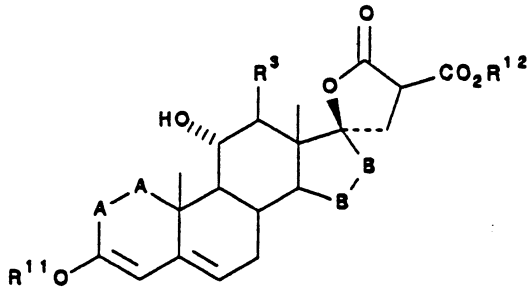
104

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式IV中所定義，且R^{11}是C_1-C_4烷基。

式104A化合物相當於式104，其中-A-A-及-B-B-各自是-

CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式104範圍內之化合物，可由式103化合物行熱分解作用而製備。

式103化合物相當於以下結構：

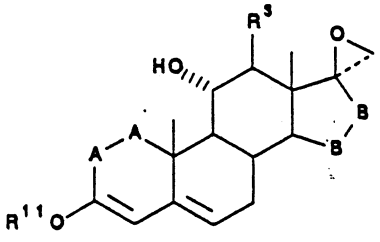


103

其中-A-A-，-B-B-，R^3及R^{11}如式104所定義，且R^{12}是C_1-C_4烷基。

式103A化合物相當於式103，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式103範圍內的化合物可由式102相當化合物與丙二酸二烷酯，在鹼存在下如鹼金屬烷氧化物反應而製備。

式102化合物相當於以下結構：

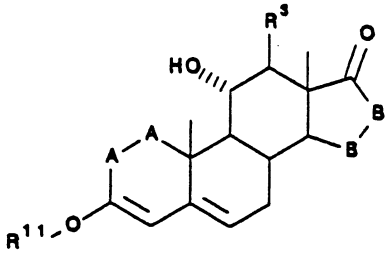


102

其中-A-A-，-B-B-，R^3及R^{11}如式104中所定義。

式102A化合物相當於式102，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式102範圍內之化合物可由式101相當的化合物與三烷基銃化合物，在鹼存在下反應而製備。

式101化合物相當於以下結構：

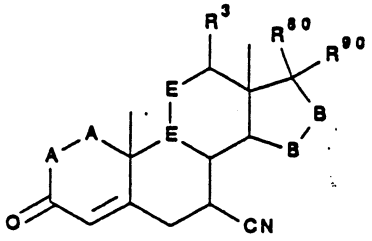


101

其中-A-A-，-B-B-，R^3及R^{11}如式104中所定義。

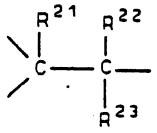
式101A化合物相當於式101，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式101範圍內之化合物可由式XXXVI之11α-羥基雄烯-3,17-二酮或其他化合物與原甲酸三烷基酯，在酸存在下反應而製備。

式XL化合物相當於以下化式：

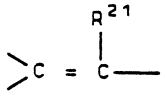


XL

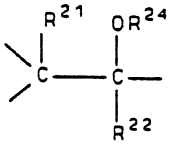
其中-E-E-選自下列：



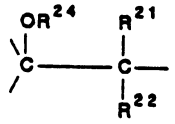
XLIII



XLIV

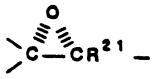


XLV



XLVI

及



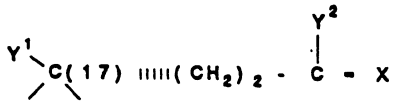
XLVII

R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，烷基，鹵，硝基及氰基；R^{24}選自下列包括氫及低碳烷基；R^{80}及R^{90}獨立選自酮及可構成R^8及R^9之取代基(如上文所定義，參考式IV)；且-A-A-，-B-B-及R^3如式IV所定義。

式XLA化合物相當於式XL，其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自氫，鹵及低碳烷基。

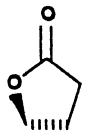
式XLB化合物相當於XLA，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。式XLC化合物相當於式XLB，其中-E-E-相當於式XLV。式XLD化合物相當於式XLB，其中-E-E-相當於式XLVII。

式XLE化合物相當於式XL，其中R^{80}及R^{90}加上與粘附之環碳原子包括酮基或：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義，或

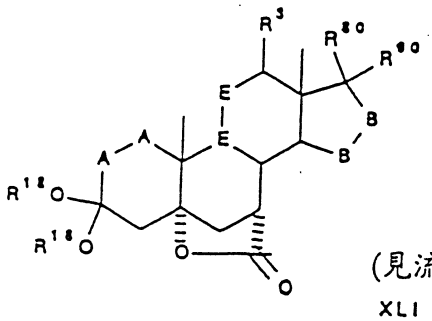


XXXIII

式XLIE化合物相當於XL，其中R^{80}及R^{90}一起形成酮。

式XLF，XLG，XLH，XLJ，XLM及XLN化合物分別相當於式XL，XLA，XLB，XLC，XLD及XLE，其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

式XLI化合物相當於下式

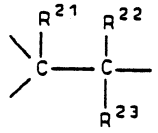


(見流程9)

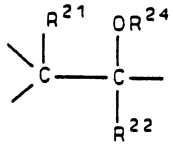
XLI

XLI

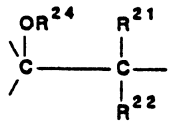
其中-E-E-選自下列：



XLIII

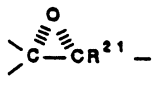


XLV



XLVI

及



XLVII

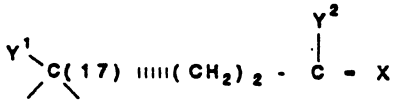
R^{18}是C_1-C_4烷基，或$R^{18}O$-基一起形成O,O-氧伸烷基橋；R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自氫，烷基，鹵，硝基，及氰基；R^{24}選自氫及低碳烷基；R^{80}及R^{90}獨立選自酮基，及可構成

R^8及R^9之取代基；且-A-A-，-B-B-及R^3如式IV中所定義。

式XLIA化合物相當於式XLI，其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，鹵，及低碳烷基。

式XLIB化合物相當於式XLIA，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

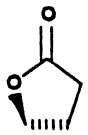
式XLIC化合物相當於式XLI，其中R^{80}及R^{90}加上與之粘附之環碳原子包括酮基或：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

式XLID化合物相當於式XLI，其中取代基XXXIV相當於結構XXXIII：

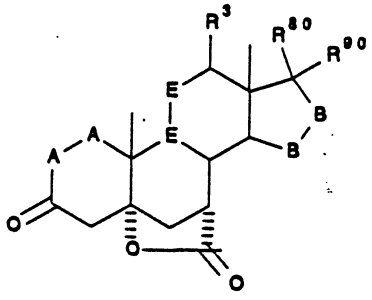


XXXIII

式XLIE化合物相當於式XL，其中R^{80}及R^{90}一起形成酮基。

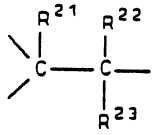
式XLIF，XLIG，XLIH，XLIJ，XLIM及XLIN化合物分別相當於式XLI，XLIA，XLIB，XLIC，XLID及XLIE，其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。在式XLI範圍內之化合物可由式XL相當化合物水解而製備，如下文所定義。

式XLII化合物相當於下式：

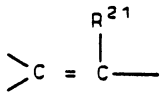


XLII

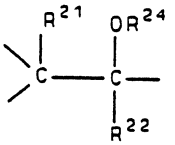
其中-E-E-選自下列：



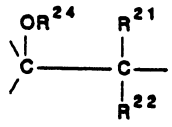
XLIII



XLIV

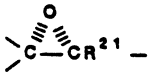


XLV



XLVI

及



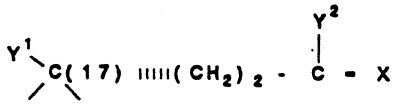
XLVII

R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，烷基，鹵，硝基，及氰基；R^{24}選自氫及低碳烷基；R^{80}及R^{90}獨立選自酮，及一可構成R^8及R^9之取代基；且-A-A-，-B-B-及R^3如式IV中所定義。

式XLIIA化合物相當於式XLII，其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，鹵及低碳烷基。

式XLIIB化合物相當於式XLIIA，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

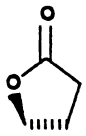
式XLIIC化合物相當於式XLII，其中R^{80}及R^{90}加上與之粘附之環碳原子包括酮基或：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

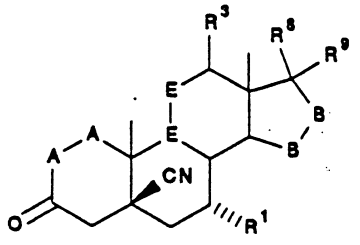
式XLIID化合物相當於式XLII，其中取代基XXXIV相當於結構XXXIII：



XXXIII

式XLIIE化合物相當於式XLII，其中R^{80}及R^{90}一起形成酮基。式XLIIF，XLIIG，XLIIH，XLIIJ，XLIIM，及XLIIN化合物分別相當於式XLII，XLIIA，XLIIB，XLIIC，XLIID及XLIIE，其中-A-A-及-B-B-是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式XLII範圍內之化合物可由式XLI相當化合物去保護而製備。

式XLIX化合物相當於以下結構：

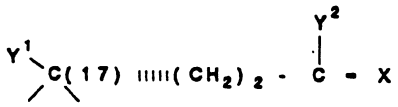


XLIX

其中-E-E-如式XL中所定義，且-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，

R^8及R^9如式IV中所定義。

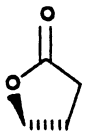
式XLIXA化合物相當於式XLIX，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳一起形成以下結構：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

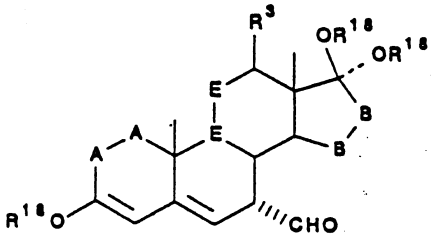
式XLIXB化合物相當於式XLIX，其中R^8及R^9一起形成式XXXIII化合物：



XXXIII

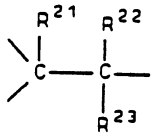
式XLIXC，XLIXD，XLIXE化合物，分別相當於式XLIX，XLIXA或XLIXB化合物，其中-A-A-及-B-B-是-CH_2-CH_2-，R^3是氫且R^1是烷氧羰基，較好是甲氧羰基。在式XLIX範圍內之化合物可由醇性或水性溶劑與式VI相當化合物在適合的鹼存在下反應而製備。

式A203化合物相當於以下結構：

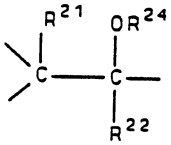


[A203]

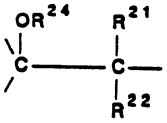
其中-E-E-選自下列包括：



XLIII

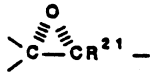


XLV



XLVI

及



XLVII

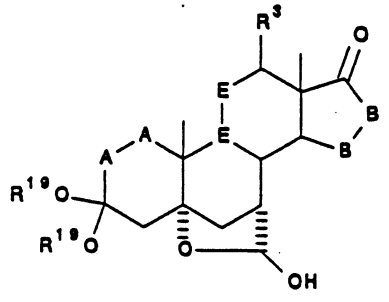
R^{18}選自下列包括C_1-C_4烷基；R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自氫，烷基，鹵，硝基及氰基；R^{24}選自氫及低碳烷基；且-A-A-，-B-B-及R^3如式IV中所定義。

式A203A化合物相當於式A203，其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自氫，鹵及低碳烷基。

式A203B化合物相當於式A203A，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

式A203C，A203D及A203E化合物分別相當於式A203，A203A及A203B，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式A203範圍內之化合物可由式A202化合物還原而製備，如下文所定義。

式A204化合物相當於以下結構：



[A204]

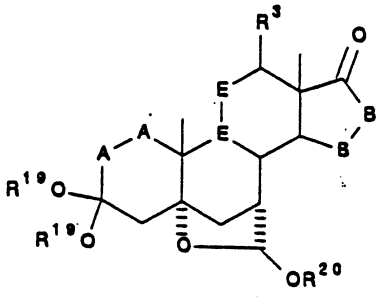
其中R^{19}是C_1-C_4烷基，且-E-E-，-A-A-，-B-B-及R^3如式203中所定義。

式A204A化合物相當於式A204，其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自氫，鹵及低碳烷基。

式A204B化合物相當於式A204A，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

式A204C，A204D，及A204E化合物分別相當於式A204，A204A，及A204B，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式A204範圍內之化合物，可由式A203相當化合物水解而製備。

式A205化合物相當於以下結構：



[A205]

其中R^{20}是C_1至C_4烷基，且-E-E-，R^{19}，-A-A-，-B-B-及R^3如式204中所定義。

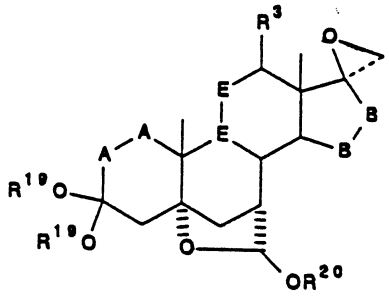
式A205A化合物相當於式A205，其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立

選自下列包括氫，鹵及低碳烷基。

式A205B化合物相當於式A205A，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

式A205C，A205D，及A205E化合物分別相當於式A205，A205A及A205B，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式A205範圍內之化合物可由式A204相當化合物與烷醇及酸反應而製備。

式A206化合物相當於以下結構：



[A206]

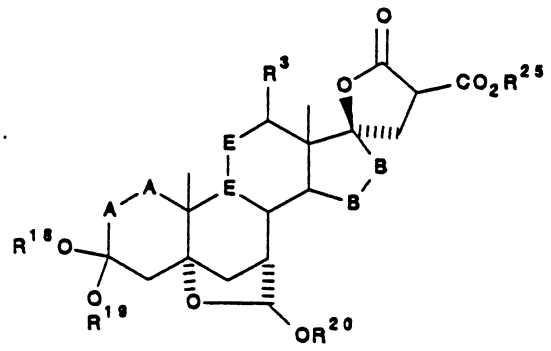
其中R^{19}，R^{20}，-E-E-，-A-A-，-B-B-及R^3如式205中所定義。

式A206A化合物相當於式A206，其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自氫，鹵及低碳烷基。

式A206B化合物相當於式A206A，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

式A206C，A206D及A206E化合物分別相當於式A206，A206A及A206B，其中-A-A-及，及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。在式A206範圍內之化合物可由式A205化合物範圍內相當化合物與三烷基銃化鹵反應而製備。

式A207化合物相當於以下結構：



[A207]

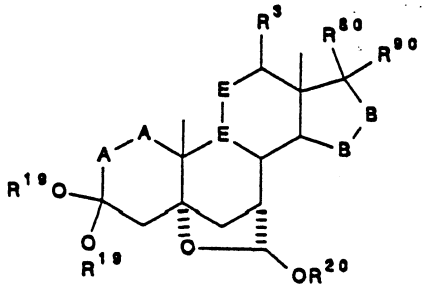
其中R^{25}是C_1-C_4烷基，且-E-E-，R^{19}，R^{20}，-A-A-，-B-B-及R^3如式A205中所定義。

式A207A化合物相當於式A207，其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自氫，鹵及低碳烷基。

式A207B化合物相當於式A207A，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

式A207C，A207D及A207E化合物分別相當於式A207，A207A及A207B，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。式A207化合物可由式A206化合物與丙二酸二烷酯反應而製備。

式A208化合物相當於以下結構：



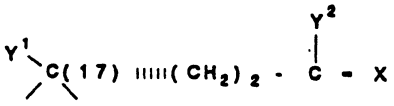
[A208]

其中-E-E-，R^{80}及R^{90}如式XLII中所定義；-A-A-，-B-B-及R^3如式104中所定義；且R^{19}，R^{20}，-A-A-，-B-B-，R^3如式205中所定義。

式A208A化合物相當於式A208，其中R^{21}及R^{22}獨立選自氫，鹵及低碳烷基。

式A208B化合物相當於式A208A，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

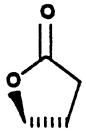
式A208C化合物分別相當於式A208，其中R^{80}及R^{90}加上與之粘附之環碳包含酮或：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

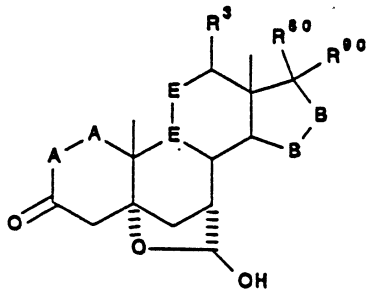
式208D化合物相當於式208C，其中取代基XXXIV相當於結構XXXIII



XXXIII

式A208E，A208F，A208G，A208H及A208J化合物分別相當於式A208，A208A，A208B，A208C及A208D，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式A208範圍內之化合物可由式A207相當化合物之熱分解作用而製備。

式A209化合物相當於以下結構：



[A209]

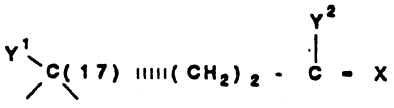
其中R^{80}及R^{90}如式XLI中所定義，且-E-E-及-A-A-，-B-B-，且R^3如式205中所定義。

式A209A化合物相當於式A209，其中R^{21}及R^{22}獨立選自氫，鹵，及低碳烷基。

式A209B化合物相當於式A209A，其中-E-E-相當於式XLIII，XLIV，XLV或XLVII。

式A209C化合物相當於式A209B，其中-E-E-相當於式XLIV。

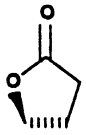
式A209D化合物相當於式A208，其中R^{80}及R^{90}加上與之粘附之環碳包含酮基或：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

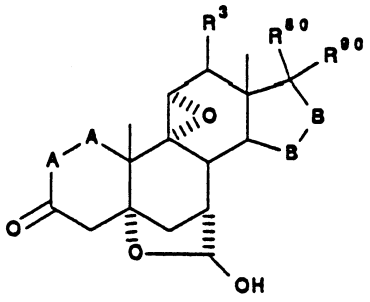
式209E化合物相當於式A209D，其中取代基XXXIV相當於結構XXXIII



XXXIII

式A209F，A209G，A209H，A209J，A209L及A209M化合物分別相當於式A209，A209A，A209B，A209C，A209D及A209E，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式A209範圍內之化合物可由式A208相當化合物之水解作用而製備。

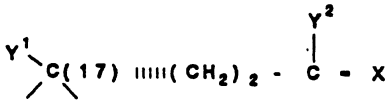
式A210化合物相當於以下結構：



[A210]

其中R^{80}及R^{90}如式XLI中所定義，且取代基-A-A-，-B-B-及R^3如式IV中所定義。

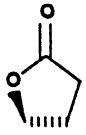
式A210A化合物相當於式A210，其中R^{80}及R^{90}加上與之粘附之環碳包含酮基或：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

式210B化合物相當於式A210A，其中取代基XXXIV相當於結構XXXIII

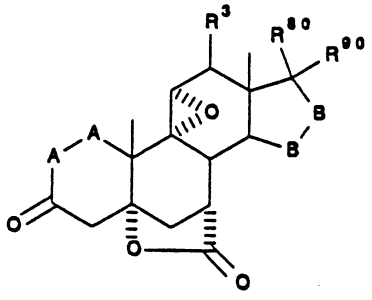


XXXIII

式A210C化合物相當於式A210A，其中R^{80}及R^{90}一起形成酮基。

式A210D，A210E，A210F及A210G化合物分別相當於式A210，A210A，A210B及A210C，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式210範圍內之化合物可由式209化合物行環氧化作用而製備，其中-E-E-是$\backslash C=CH-$。

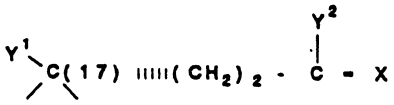
式A211化合物相當於下式：



[A211]

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

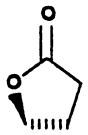
式A211A化合物相當於式A211，其中R^{80}及R^{90}一起含有酮基或：



XXXIV

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

式A211B化合物相當於式A211A，其中取代基XXXIV相當於結構XXXIII：

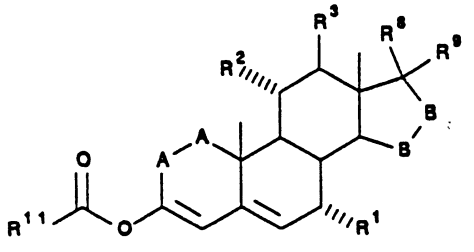


XXXIII

式A211C化合物相當於式A210A，其中R^{80}及R^{90}一起形成酮基。

式A211D，A211E，A211F及A211G化合物，分別相當於式A211，A211A，A211B及A211C，其中-A-A-及-B-B-各自是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。在式211範圍內之化合物可由式A210相當化合物之氧化作用而製備，或在式A209相當化合物之環氧化作用過程中，其中-E-E-是$\backslash C=CH-$。式A211化合物可以下述之方式轉化成式I化合物。

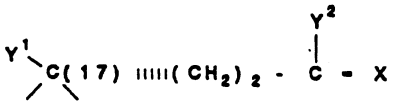
式L化合物相當於以下結構：



L

其中R^{11}是C_1-C_4烷基，且-A-A-，-B-B-，R^1，R^2，R^3，R^8及R^9如上文所定義。

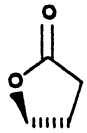
式LA化合物相當於式L，其中R^8及R^9加上與之粘附之碳原子包括



XXXIV

其中X，Y^1及Y^2如上文所定義。

式LB化合物相當於式L，其中R^8及R^9相當於式XXXIII



XXXIII

式LC，LD，LE化合物分別相當於式L，LA及LB，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。

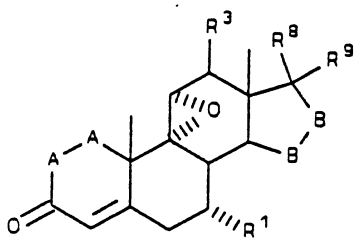
依據下文所示之特別反應流程之揭示，很明顯的這些化合物在特殊反應流程方面有極大之利用性。本發明化合物可充作環氧美克瑞酮及其他類固醇之中間物。

其他主題及特色部份是顯而易見，而部份於下文中指出。

【實施方式】

依據本發明，於製備相當於式I之環氧美克瑞酮及其他

化合物時，已建議各種新穎的製法流程：



I

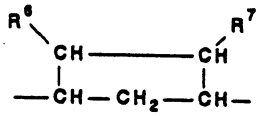
其中：

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方位之低碳烷氧羰基或羥烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方位基團：



III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起含有碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7含有碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

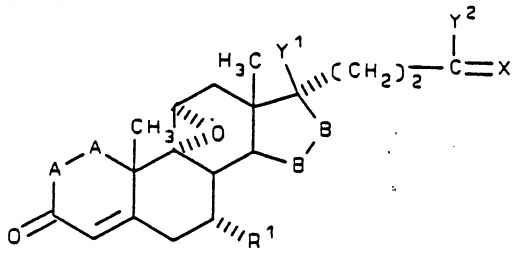
除非另有所示，有機基團在本揭示中稱之為"低碳"者含

有最多7個，且較好1至4個碳原子。

低碳烷氧羰基較好為衍自具1至4個碳原子之烷基，如甲基，乙基，丙基，異丙基，丁基，異丁基，第二丁基及第三丁基；尤其較好是甲氧羰基，乙氧羰基及異丙氧羰基。低碳烷氧基較好衍自上述C_1-C_4烷基之一，尤其是自一級C_1-C_4烷基；尤佳者是甲氧基。低碳烷醯基較好衍自具有1至7個碳原子之直鏈烷基；尤佳者是甲醯基及乙醯基。

亞甲基橋在15,16-位置上較好是β-方位。

依據本發明方法可產生之較佳一類化合物為20-螺氧烷化合物，述於美國專利案4,559,332，即，相當於式IA化合物者：

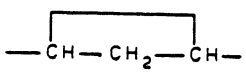


IA

其中：

-A-A-代表-CH_2-CH_2-或-CH=CH-基團；

-B-B-代表-CH_2-CH_2-或α-或β-方位之式IIIA基團：



IIIA

R^1代表α-方位之低碳烷氧羰基或羥羰基；

X代表二個氫原子，酮基或=S；

Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2時之低碳烷醯氧基。

較好，以本發明新穎方法產生之20-螺氧烷為，其中Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-之式I化合物。

式I尤佳化合物為其中X代表酮基者。在式IA 20-螺氧烷化合物中，其中X代表酮基，最佳者為其中Y^1加上Y^2代表氧橋，-O-。

如先前所述，17β-羥基-21-羧酸也可呈其鹽型式。可納入考慮的尤指金屬及銨鹽，如鹼金屬及鹼土金屬鹽，如鈉，鈣，鎂，及較好的鉀鹽，及衍自氨或適合的，較好是生理上可耐受之含有有機氮之鹼之銨鹽。鹼可納入考量的不僅是胺，如低碳烷基胺(如三乙胺)，羥基-低碳烷基胺(如2-羥基乙胺，二-(2-羥基乙基)-胺或叁-(2-羥基乙基)-胺)，環烷基胺類(如二環己基胺)或苄基胺(如苄胺及N,N-二苄基乙二胺)，以及含氮之雜環化合物，如具芳族特色者(如吡啶或喹喏啉)或具至少部份飽和的雜環者(如N-乙基六氫吡啶，嗎福啉，六氫吡咔，或N,N'-二甲基六氫吡咔)。

包括在較佳化合物中的也有式IA化合物之鹼金屬鹽，尤其是鉀鹽，其中R^1代表烷氧羰基，X代表酮基，且Y^1及Y^2各自代表羥基。

尤佳之式I及IA化合物，如下：

9α,11α-環氧基-7α-甲氧羰基-20-螺氧-4-烯-3,21-二酮，

9α,11α-環氧基-7α-乙氧羰基-20-螺氧-4-烯-3,21-二酮，

9α,11α-環氧基-7α-異丙氧羰基-20-螺氧-4-烯-3,21-二酮，

及各化合物之1,2-去氫基類似物；

9α,11α-環氧基-6α,7α-亞甲基-20-螺氧-4-烯-3,21-二酮，

9α,11α-環氧基-6β,7β-亞甲基-20-螺氧-4-烯-3,21-二酮，

9α,11α-環氧基-6β,7β；15β，16β-雙亞甲基-20-螺氧-4-烯-3,21-二酮，

及這些化合物各自之1,2-去氫基類似物；

9α,11α-環氧基-7α-甲氧羰基-17β-羥基-3-酮基-孕-4-烯-21-羧酸，

9α,11α-環氧基-7α-乙氧羰基-17β-羥基-3-酮基-孕-4-烯-21-羧酸，

9α,11α-環氧基-7α-異丙氧羰基-17β-羥基-3-酮基-孕-4-烯-21-羧酸，

9α,11α-環氧基-17β-羥基-6α,7α-亞甲基-3-酮基-孕-4-烯-21-羧酸，

9α,11α-環氧基-17β-羥基-6β,7β-亞甲基-3-酮基-孕-4-烯-21-羧酸，

9α,11α-環氧基-17β-羥基-6β,7β；15β,16β-雙亞甲基-3-酮基-孕-4-烯-21-羧酸，

及這些酸各自之鹼金屬鹽，尤其是鉀鹽或銨，以及所提及之各羧酸或其鹽之相當的1,2-去氫基類似物；

9α，11α-環氧基-15β,16β-亞甲基-3,21-二酮基-20-螺氧-4-烯-7α-羧酸甲酯，乙酯及異丙酯，

9α,11α-環氧基-15β,16β-亞甲基-3,21-二酮基-20-螺氧-1,4-二烯-7α-羧酸甲酯，乙酯及異丙酯，

9α,11α-環氧基-3-酮基-20-螺氧-4-烯-7α-羧酸甲酯，乙酯及異丙酯，

9α,11α-環氧基-6β,6β-亞甲基-20-螺氧-4-烯-3-酮，

9α,11α-環氧基-6β,7β；15β,16β-雙亞甲基-20-螺氧-4-烯-3-酮，

9α,11α-環氧基,17β-羥基-17α(3-羥基-丙基)-3-酮基-雄-4-烯-7α-羧酸甲酯，乙酯及異丙酯，

9α,11α-環氧基,17β-羥基-17α-(3-羥丙基)-6α,7α-亞甲基-雄-4-烯-3-酮，

9α,11α-環氧基,17β-羥基-17α-(3-羥基丙基)-6β,7β-亞甲基-雄-4-烯-3-酮，

9α,11α-環氧基,17β-羥基-17α-(3-羥基丙基)-6β,7β；15β,16β-雙亞甲基-雄-4-烯-3-酮，

包括上述雄烷化合物之17α-(3-乙醯氧丙基)及17α-(3-甲醯氧基丙基)類似物，

以及雄-4-烯-3-酮及20-螺氧-4-烯-3-酮系列上述所有化合物之1,2-去氫類似物。

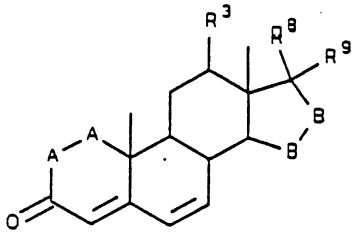
式I及IA化合物及具有相同特性結構之類似物，其化學名係依以下方式，依目前的命名衍生：關於Y^1加上Y^2代表-O-之化合物，來自20-螺氧烷(如式IA化合物，其中X代表酮基且Y^1加上Y^2代表-O-，係衍生自20-螺氧烷-21-酮)；關於Y^1及Y^2各自代表羥基，且X代表酮基之化合物，來自

17β-羥基-17α-孕烯-21-羧酸；及關於Y^1及Y^2各自代表羥基，且X代表二個氫原子，來自17β-羥基-17α-(3-羥丙基)-雄烷。由於環狀及開鏈型式，分別指內酯及17β-羥基-21-羧酸及其鹽類，係互相極有關係，且後者可僅視為是前者之水合型式，因此在上文及下文中應了解，除非另有所示，不論式I之終產物及類似結構之起始物及中間物，在各例中所提及的型式均在一起。

依據本發明，為了以高產率及在合理費用下製備式I化合物，已建議許多分別的過程流程。各合成流程，均經過一系列中間物之製備。這些中間物中有許多是新穎的化合物，且這些中間物之製備方法為新穎的方法。

流程1(始自肯瑞酮或相關物質)

製備式I化合物的一個較佳流程，可有益地始自相當於式XIII之肯瑞酮或相關的起始物(或另外，此過程可始自雄烯二酮或相關之起始物)



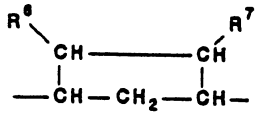
XIII

其中：

-A-A-代表$-CHR^4-CHR^5-$或$-CR^4=CR^5-$；

R^3，R^4及R^6獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7或α-或β-方位之基團：

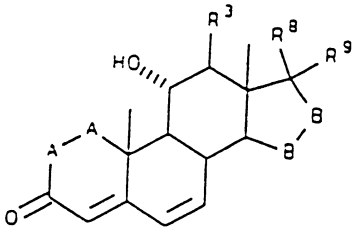


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

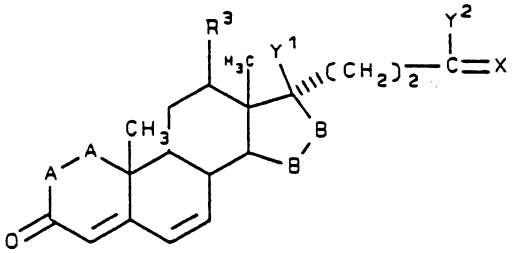
R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起含有酮基，碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6及R^7包含碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

利用圖1及2所說明型式之生物轉化過程，將α-方位之11-羥基引入式XIII化合物中，由是可產生式VIII化合物：



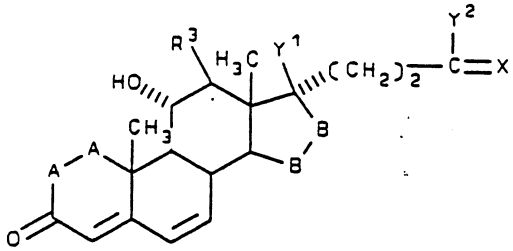
VIII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義。較好式XIII化合物具有以下結構



XIIIA

且11α-羥基產物有以下結構

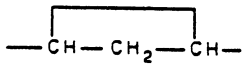


VIIIA

於其中各例

-A-A-代表-CH_2-CH_2-或-CH=CH-；

-B-B-代表-CH_2-CH_2-或α-或β-方位之基團：



IIIA

R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基；

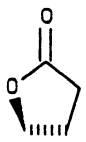
X代表二個氫原子，酮基或=S；

Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基或若X代表H_2，也有烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基且Y^2代表羥基。較好，式VIIIA化合物於反應中產生，相當於式VIIIA化合物，其中-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-；R^3是氫；Y^1，Y^2及X如式XIIIA中所定義；且R^8及R^9一起形成20-螺氧烷結構：



XXXIII.

可用於此羥化作用步驟中之較佳有機體有：**赭曲霉**

NRRL 405，赭曲霉ATCC 18500，黑曲霉ATCC 16888及ATCC 26693，構巢曲霉ATCC 11267，米根霉ATCC 11145，匍枝根霉ATCC 6227b，弗瓦鏈霉菌ATCC 10745，巨大芽孢桿菌ATCC 14945，克羅斯韋假單胞菌ATCC 13262，及粉紅單端孢ATCC 12543。其他較佳的有機體包括尖鐮孢ATCC 11171及少根根霉ATCC 111459。

可呈現出對此反應之活性之其他有機體包括：藍色犁頭霉ATCC 6647，灰綠犁頭霉ATCC 22752，雅致放射毛霉ATCC 6476，黃柄曲霉ATCC 1030，煙曲霉ATCC 26934，白僵菌ATCC 7159及ATCC 13144，葡萄座腔菌IMI 038560，麗赤殼ATCC 14767，螺卷毛殼ATCC 10195，山扁豆生棒孢ATCC 16718，短刺小克銀漢霉ATCC 8688a，刺孢小克銀漢霉ATCC 3655，雅致小克銀漢霉ATCC 9245，彎孢ATCC 22921，彎孢ATCC 12017，放射注孢ATCC 1011，濕附球菌ATCC 12722，卵形孢球托霉ATCC 22822，金孢菌寄生ATCC IMI 109891，深黃被孢霉ATCC 42613，大毛霉ATCC 4605，灰藍毛霉ATCC 1207A，疣孢漆斑菌ATCC 9095，珊瑚諾卡氏菌ATCC 19070，擬青霉ATCC 46569，展青黴ATCC 24550, **Pithomyces atro-olivaceus** IFO 6651, **Pithomyces cynodontis** ATCC 26150，密孔菌ATCC 12231，紅色糖多胞菌ATCC 11635，黃瘤孢ATCC 13378, **Stachylidium bicolor** ATCC 12672，吸水鏈霉菌ATCC 27438，淺絳紅鏈酶菌ATCC 25489，總狀共頭霉ATCC 18192, **Thamnostylum piriforme** ATCC 8992，梭

孢殼ATCC 13807及**可可輪枝孢**ATCC 12474。

預期可顯示出11α-化作用活性之額外的有機體包括：**頭孢**(Phytochemistry (1996), 42 (2), 411-415)，旋孢腔菌(J. Biotechnol. (1995), 42 (2), 145-150), **Tieghemella orchidis** (Khim.-Farm.Zh. (1986), 20 (7), 871-876), **Tieghemella hyalospora** (Khim.-Farm.Zh. (1986), 20 (7), 871-876)，**單孢霉**(Acta Microbiol. Pol., Ser. B. (1973), 5 (2), 103-110)，焦曲霉(Acta Microbiol. Pol., Ser. B. (1973), 5 (2), 103-110)，**禾本科鐮孢**(Acta Microbiol. Pol., Ser. B. (1973), 5 (2), 103-110)，灰綠輪枝孢(Acta Microbiol. Pol., Ser. B. (1973), 5 (2), 103-110)，**及黑根霉**(J. Steroid Biochem. (1987), 28 (2), 197-201)。

雄烯二酮及美克瑞酮的11β-羥基衍生物，可分別依實例19A及19B所示之生物轉化方法製備。本發明者類似地假設，式VIII化合物，其中C11β-羥基取代基替代C11α-羥基取代基之相當的β-羥基異構物，也可應用類似的生物轉化過程製備，其中使用可進行11β-羥基化作用之微生物，如此中所揭示的一種以上的微生物。

式XIII肯瑞酮或其他受質羥化作用由製備至生產規模的醱酵中，可在子醱酵系統中製備細胞接種物，其中含有一個種子醱酵槽，或二個以上種子醱酵槽系列。在第一個種子醱酵槽內引入操作貯液之孢子懸液，並加上可供細胞生長之營養溶液。若所欲求或產製所需之接種物量超過第一種子醱酵槽中所產製的，則經由在種子醱酵行列中其餘醱

酵槽中進行可逐漸及幾何地擴大接種物體積。較好，於種子醱酵系統中所產生之接種物有足夠的量及存活細胞，以達到產製醱酵槽中反應之快速刺激(和相當短的產製批次循環比較)，及高的產製醱酵槽活性。不論種子醱酵槽行列中容器之數目若干，第二個及接下來之種子醱酵槽較好有一定尺寸，如此在行列各步驟之稀釋程度可相同。在各種子醱酵槽中接種物之最初稀釋可如產製醱酵槽中有大約相同之稀釋倍數。肯瑞酮或其他式XIII受質充填至產製醱酵槽中，加上接種物及營養溶液，並在其中進行羥化作用反應。

充填至種子醱酵系統之孢子懸液係來自操作貯液孢子懸液之小瓶，其取自構成操作貯液細胞庫之許多小瓶，而彼等在使用前於冷凍條件下貯存。操作貯液細胞庫則衍生自母貯液細胞庫，其以下列方式製備。得自適當來源，如ATCC之孢子檢品，先懸浮在水性介質中，如食鹽水溶液，營養溶液或界面活性劑溶液(如非離子界面活性劑，如Tween 20，濃度為約0.001%按重計)，且懸液在培養盤上分佈，各盤帶有固體營養混合物，通常以不可水解之多醣為基礎，如瓊脂，在此孢子可增殖生長。固體營養混合物較好含有由約0.5%及約5%按重計間之葡萄糖，約0.05%及約5%按重計間之氮源，如蛋白腺，0.05%及約0.5%按重計之磷源，如磷酸銨或鹼金屬鹽，如磷酸氫二鉀，約0.25%及約2.5%按重計間之酵母浸膏或溶胞產物(或其他的胺基酸來源，如肉浸膏或腦心浸液)，約1%及約2%按重計

之瓊脂或其他不可水解之多醣。視所需地，固體營養混合物可進一步含有約0.1%及約5%按重計間之麥芽浸膏。固體營養混合物之pH值較好在約5.0及約7.0之間，依所需以鹼金屬氫氧化物或正磷酸調節之。有用的固體生長培養基如下：

1.固體培養基#1：1%葡萄糖，0.25%酵母浸膏，0.3% K_2HPO_4，及2%瓊脂(Bacto)；pH值以20% NaOH調至6.5。

2.固體培養基#1：2%蛋白胨(Bacto)，1%酵母浸膏(Bacto)，2%葡萄糖，及2%瓊脂(Bacto)；pH值以10% H_3PO_4調至5。

3.固體培養基#3：0.1%蛋白胨(Bacto)，2%麥芽浸膏(Bacto)，2%葡萄糖，及2%瓊脂(Bacto)；pH在5.3。

4.液體培養基：5%黑繩糖蜜，0.5%穀物浸漬液，0.25%葡萄糖，0.25% NaCl及0.5% KH_2PO_4，pH調至5.8。

5.Difco Mycological瓊脂(低pH值)

可基於對母貯液進一步要求，選擇用於發展母貯液細胞庫之瓊脂盤數目，但通常製備約15至約30盤。經過適當的生長期，如7至10天，在水性溶媒存在下刮取盤中物，通常是食鹽水或緩衝溶液，以回收孢子，且生成之母貯液懸液再分成數個小瓶，如1毫升於1.5毫升小瓶中。為製備操作貯液孢子懸浮以應用於研究或產製醱酵操作，一個以上

二代的母貯液小瓶內容物可分佈且培育在瓊脂盤上，方式如上述母貯液孢子懸液之製法。當打算進行例常的操作時，可使用多至100至400盤以產生二代操作貯液。各盤刮取置入不同的操作貯液小瓶中，各小瓶通常含有1毫升所產生之接種物。為長期保存，母貯液懸液及二代產生之接種物均可有益地貯存在含有液態氮或其他冷凍液體之冷凍貯存容器之蒸汽空間中。

在圖1所說明的過程中，製備水性生長培養基，其包括有氮源如蛋白胨，酵母衍生物或其同等物，葡萄糖，及磷源，如磷酸鹽。微生物之孢子培養在種子醱酵系列的此培養基中。較佳的微生物是赭曲霉NRRL 405 (ATCC 18500)。如此產生之種子貯液再引入產製醱酵槽中，加上式XIII之受質。醱酵肉汁攪動並通氣充份時間以反應，便可進行至欲求之完全程度。

用於種子醱酵槽之培養基較好含有包含下列之水性混合物：約0.5%及約5%按重計間之葡萄糖，約0.05%及約5%按重計間之氮源，如蛋白胨，約0.05%及約0.5%按重計間之磷源，如磷酸銨或鹼金屬鹽，如一鹼式磷酸銨或磷酸氫二鉀，約0.25%及約2.5%按重計間之酵母溶胞產物或浸膏(或其他胺基酸來源，如酒糟)，約1%及約2%按重計間之瓊脂或其他不可水解之多醣。特佳的種子生長基含有約0.05%及約5%按重計間之氮源，如蛋白胨，約0.25%及約2.5%按重計間之自動溶解之酵母或酵母浸膏，約0.5%及約5%按重計間之葡萄糖，及約0.05%及約0.5%按重計間之磷源，

如一鹼式磷酸銨。特別具經濟性之操作過程則由使用另一較佳之種子培養基而提供，其中含有約0.5%及約5%按重計間之穀物浸漬液，約0.25%及約2.5%間之自動溶解的酵母或酵母浸膏，約0.5%及約5%按重計間之葡萄糖及約0.05%及約0.5%按重計間之一鹼式磷酸銨。穀物浸漬液是蛋白質，肽類，碳水化合物，有機酸，維生素，金屬離子，痕量物質及磷酸鹽特別經濟的來源。可使用來自其他穀物的浸漬液以替代或加上穀物浸漬物。培養基的pH可經由加入鹼金屬氫氧化物或正磷酸，而調整在約5.0及約7.0之間範圍。當以穀物浸液充作氮及碳源時，pH值較好調在約6.2及約6.8之間。含有蛋白胨及葡萄糖之培養基較好調整在約5.4及約6.2之間。可用於種子醱酵中之生長培養基有：

1.培養基#1： 2%蛋白胨，2%酵母自主溶解物(或酵母浸膏)及2%葡萄糖；pH值以20% NaOH調至5.8。

2.培養基#2： 3%穀物浸漬液，1.5%酵母浸膏，0.3%一鹼式磷酸銨，及3%葡萄糖；pH值以20% NaOH調至6.5。

微生物之孢子由小瓶中引入此培養基，通常每毫升懸液含有約10^9個孢子。種子產生之最佳產製力經了解在種子培養之初以生長培養基稀釋不會將孢子族群密度減低至每毫升約10^7以下。較好，孢子培養在種子醱酵系統中，直到種子醱酵槽中緊密的菌絲體積(PMV)至少約20%，較好

約35%至約45%。由於種子醱酵容器中之循環(或包含種子醱酵行列之許多容器中任一者)依容器中最初濃度而定，希望可提出二或三個種子醱酵階段以加速整體過程。然而，較好避免使用一系列中三個以上種子醱酵槽，因為若種子醱酵經過過多的階段則活性將會受損。種子培養醱酵在攪動及約23°至約37℃下進行，較好在約24°及約28℃之間。

來自種子醱酵系統之培養物引入產製醱酵槽中，並加上產製生長培養基。在本發明的一個具體實例中，未滅菌的肯瑞酮或其他式XIII受質充作反應之受質。較好，受質以在生長培養基中呈10%至30%按重計淤漿型式加至產製醱酵槽中。為增加11α-羥化作用反應可運用之表面積，則式XIII受質之粒子大小可減小，即令受質在引入醱酵槽前先通過非在線路上之微粒化器。含有葡萄糖的無菌營養飼料貯液，及含有酵母衍生物如自主溶解之酵母(依據不同來源如酒糟之相當的胺基酸調和物)也分別引入。培養基含有水性混合物，其中包括：約0.5%及約5%按重計間之葡萄糖，約0.05%及約5%按重計間之氮源，如蛋白胨，約0.05%及約0.5%按重計間之磷源，如磷酸銨或鹼金屬鹽如磷酸氫二鉀，約0.25%及約2.5%按重計間之酵母溶胞產物或浸膏(或其他胺基酸來源，如酒糟)，1%及約2%按重計間之瓊脂或其他不可水解之多醣。特佳的產製生長培養基有約0.05%及約5%按重計間之氮源，如蛋白胨，約0.25%及約2.5%按重計間之自主溶解之酵母或酵母浸膏，約0.5%

及約5%按重計間之葡萄糖，及約0.05%及約0.5%按重計間之磷源，如一鹼式磷酸銨。另一較佳的產製培養基含有約0.5%及約5%按重計間之穀物浸漬液，約0.25%及約2.5%間之自主溶解的酵母或酵母浸膏，約0.5%及約5%按重計間之葡萄糖，及約0.05%及約0.5%按重計間之一鹼式磷酸銨。產製醱酵培養基之pH值較好如種子醱酵培養基之上述方式調整，針對蛋白胨/葡萄糖為基礎之培養基及穀物浸漬液為基礎之培養基分別有同樣較佳範圍。有用的生物轉化生長培養基示於下：

1.培養基#1： 2%蛋白胨，2%酵母自主溶解物(或酵母浸膏)及2%葡萄糖；pH值以20% NaOH調至5.8。

2.培養基#2： 1%蛋白胨，1%酵母自主溶解物(或酵母浸膏)，及2%葡萄糖；pH值以20% NaOH調至5.8。

3.培養基#3： 0.5%蛋白胨，0.5%酵母自主溶解物(或酵母浸膏)，及0.5%葡萄糖；pH值以20% NaOH調至5.8。

4.培養基#4： 3%穀物浸漬液，1.5%酵母浸膏，0.3%一鹼式磷酸銨，及3%葡萄糖；pH值以20% NaOH調至6.5。

5.培養基#5： 2.55%穀物浸漬液，1.275%酵母浸膏，0.255%一鹼式磷酸銨，及3%葡萄糖；pH值以20% NaOH調至6.5。

6.培養基#6： 2.1%穀物浸漬液，1.05%酵母浸膏，0.21%一鹼式磷酸銨，及3%葡萄糖；pH值以20% NaOH調至6.5。

非無菌之肯瑞酮及無菌的營養溶液連續填加至產製醱酵槽中，在各產製批次循環中約5至約20，較好約10至約15，較好實質上是以相同的份數加入。有益方式如下，受質先以足以發展成約0.1%及約3%按重計間之濃度之量引入，較好在約0.5%及約2%按重計之間，在以種子醱酵肉汁接種之前進行，再定期地，以每8至24小時為合宜，加至約1%及約8%按重計間之累積比例。若以每8小時變化加入額外的受質，則總加入量會略低於(如0.25%至2.5%按重計)受質僅以每天為基礎所加入之量。在後一例中，累積之肯瑞酮加入量需在2%至約8%按重計範圍之內。在醱酵反應中加入之補充營養混合物較好是一種濃縮物，如含有約40%及約60%按重計間之無菌葡萄糖，及約16%及約32%按重計間之無菌酵母浸膏或其他無菌的酵母衍生物來源(或其他胺基酸來源)之混合物。由於加至圖1產製醱酵槽內之受質非無菌的，可將抗生素定期加至醱酵肉汁中以控制欲求有機體之生長。抗生素可為康黴素，四環素及頭孢菌素(cefalexin)，將不致有害地影響生長及生物轉化。較好，其加入醱酵肉汁之濃度，為按肉汁總量計之約0.0004%及約0.002%之間，包括如約0.0002%及約0.0006%間之硫酸康黴素，約0.0002%及約0.0006%間之鹽酸四環素及/或約0.001%及約0.003%間之頭孢菌素，再次以肉汁之

總量為準。

通常，產製醱酵批次循環在約80-160小時左右。因此，各份式XIII受質及營溶液通常每2至10小時加入，較好每4至6小時。抗起泡劑也可有益地引入種子醱酵系統，及產製醱酵槽中。

較好，在圖1之過程中，接種物以約0.5%至約7%，較好約1%至約2%按體積計(按醱酵槽中總混合物計)加至產製醱酵槽中，且葡萄糖濃度維持在約0.01%及約1.0%之間，較好約0.025%及約0.5%之間，又較好約0.05%及約0.25%按重計之間，以定期加入約0.05%至約0.25%按重計部份較佳，以總批次填入為準。醱酵溫度範圍可合宜地控制在約20°至約37℃間，較好約24℃至約28℃之間，但希望在反應中可逐步降低溫度，如以2℃之增加幅度，以維持緊密的菌絲體積(PMV)在約60%以下，較好在約50%以下，且由是可預防醱酵肉汁之粘度會干擾令人滿意之混合。若生物團之生長超出液體表面，留在生物團塊內之物質可被排出反應環帶之外，且無法應用於羥化反應。就產製力而言，希望可達到30-50%範圍之PMV，較好在醱酵反應第一個24小時內達35%-45%，但之後的條件較好是可將進一步的生長控制在上述之限度範圍之內。在反應之中，醱酵培養基之pH值控制在約5.0及約6.5之間，較好在約5.2及約5.8之間，且醱酵槽以約400及約800 rpm間之速率攪動。以約0.2及約1.0 vvm使批次內通氣可達到至少10%飽和度之溶氧水平，並使醱酵槽頭部空間之壓力維持在約大氣及約

1.0巴規格間，且最好在約0.7巴規格附近。攪動率也可依所需增加，以維持最少的溶氧水平。有益地，溶氧維持在約10%以上，事實上高至約50%可促進受質之轉化。pH範圍維持在5.5±0.2，對於生物轉化也是最適宜的。依必要可加入普通的抗起泡劑以控制起泡。於所有物質加入後，較好繼續反應，直到式VIII產物對留下之未反應XIII受質之莫耳濃度比例至少約9:1為止。在上示之80-160小時批次循環後，可達到此轉化作用。

頃發現，高轉化作用與最初營養水平低於最初填加水平之消耗有關，且經由控制需氣率及攪動率可避免受質濺出液體肉汁之外。在圖1過程中，消耗營養水平且再維持在不大於約60%，較好約50%之最初填入水平；而在圖2及3之過程中，營養水平減少且維持在不大於約80%，較好是約70%之最初填入水平。通氣率較好不大於1 vvm，較好在約0.5 vvm範圍，而攪拌率較好不大於600 rpm。

製備式VIII化合物之特佳方法於圖2中說明。用於式XIII化合物(如肯瑞酮)，11α-羥化作用之較佳的微生物是赭曲霉NRRL 405 (ATCC 18500)。於此方法中，生長培養基較好含有約0.5%及約5%按重計間之穀物漬浸液，及約0.5%及約5%按重計間之葡萄糖，約0.1%及約3%按重計間之酵母浸膏，及約0.05%及約0.5%按重計間之磷酸銨。然而，也可使用此中所述之其他產製生長培養基。種子培養方式基本上如圖1方法，利用此中所述的任何種子醱酵培養基。在生長培養基中，未微粉化之肯瑞酮或其他式XIII受

質懸液，於拌合器中無菌地製備，較好在約10%及約30%按重計受質間之相當高濃度下進行。較好，無菌製備可包括懸液在混合後之滅菌或巴斯德化。在批次之初，產製批次所需之整個無菌受質懸液量即引入產製醱酵槽中，或採定期連續填加。受質在連線的剪切泵中經由濕式碾磨減小粒子大小，此泵可將淤漿轉移至產製醱酵槽，因此排除使用非連線微粉器之必要。當以巴斯德法而非滅菌法達到無菌狀況時，凝聚程度不顯著，但使用剪切泵時可提供粒子大小正面的控制。無菌的生長培養基及葡萄糖溶液引入產製醱酵槽中，其方式基本上如上述。所有引入產製醱酵槽中之組份在引入前先滅菌，如此勿需加抗生素。

較好在操作圖2之方法中，接種物以約0.5%及約7%間之比例引入產製醱酵槽中，醱酵溫度介於約20℃及約37℃間，較好約24℃至約28℃間，pH值控制在約4.4及約6.5之間，較好在約5.3及5.5之間，如可引入氨氣，氫氧化銨水溶液，鹼金屬氫氧化物水溶液，或正磷酸。如圖1之方法，溫度較好予以調整以控制生物團塊之生長，如此PMV不致超過55-60%。最初的葡萄糖填入量較好介於約1%及約4%按重計之間，最好2.5%至3.5%按重計，但在醱酵中較好令其下降至約1.0%按重計以下。補充的葡萄糖以介於約0.2%及約1.0按重計之比例定期填加，以總批次負荷為準，以維持葡萄糖濃度在醱酵環帶內介於約0.1%及約1.5%按重計範圍內，較好在約0.25%及約0.5%按重計之間。視所需氮及磷源可配合葡萄糖一起添加。然而，因為肯瑞酮

整個負荷係在批次循環之初完成，含有氮及磷之營養物，其必要之添加可在此同時也引入，如此僅有葡萄糖溶液在反應中間才補充。攪動之速率及本質是顯著可變的。中度劇烈之攪拌可促進團塊在固體受質及水相間轉移。然而應使用低剪切力之輪葉，以避免微生物菌絲組織之降解。最適宜的攪動速率在200至800 rpm內變化，依培養肉汁之粘度，氧濃度，及受容器，調節板及輪葉構造影響之混合條件等而定。一般而言，較佳的攪動速率在350-600 rpm範圍內。較好攪動輪葉可提供軸向向下之泵給功能，以助已醱酵生物團之良好混合。批次較好以約0.3及約1.0 vvm間之速率通氣，較好0.4至0.8 vvm，且醱酵槽頭部空間之壓力較好為約0.5及約1.0巴規格之間。溫度，攪動，通氣及反壓較好予以控制，以維持生物轉化中溶氧在至少約10%按體積計之範圍中。總批次循環通常在約100及約140小時之間。

雖然圖2方法之操作原則依實質上整個肯瑞酮負荷之早期引入為準，應了解醱酵肉汁之生長可在整團肯瑞酮加入前進行。視所需，某部份之肯瑞酮也可在批次稍後才加入。然而一般而言，在醱酵開始之48小時內，應將至少約75%之無菌肯瑞酮引入轉形醱酵槽內。再者，希望在醱酵之初可引入至少約25%按重計之肯瑞酮，或至少是在24小時內，以促進生物轉化酵素之產生。

在如圖3所說明之進一步較佳方法中，整個批次負荷及營養溶液在接種物引入前於產製醱酵容器內滅菌。所使用

之營養溶液，以及其間之差別，基本上和圖2方法相同。在本發明具體實例中，攪拌器輪葉之剪切作用會瓦解受質附聚物，其係在滅菌下易形成的。頃發現，若肯瑞酮之平均粒子大小少於約300微，且至少75%按重計之粒子小於240微時，則反應可令人滿意地進行。使用適合的輪葉，如圓盤渦輪輪葉，具有200-800 rpm適度之速率範圍，至少約400公分/秒之尖端速度，頃發現將可提供足以維持此粒子大小特性之剪切速率，而估不論在產製醱酵槽中滅菌將易發生附聚作用。圖3方法其餘的操作基本上和圖2相同。圖2及3之方法提供許多不同於圖1方法之優點。一個特殊的優點是可使用低費用之營養基，如穀物浸漬液。但進一步的優點經了解是消除抗生素之必要，簡化添加步驟，且使肯瑞酮或其他式XIII受質可批次滅菌。另一個特殊的優點是在反應循環中可使用單純的葡萄糖溶液而非複雜的營養溶液來補充。

在圖1至3所述之方法中，式VIII產物是一種結晶固體，其加上生物團塊可自反應肉汁中以過濾分開，或利用低速離心分離。另外，產物可以有機溶劑自整個反應肉汁中萃取。式VIII產物以溶劑萃取回收。為有最大的回收，液相之濾液及生物團塊之濾物或離心塊均以萃取溶劑處理，但通常產物≧95%與生物團塊結合。典型而言，碳氫化合物，酯，氯化之碳氫化合物及酮溶劑均可用於萃取。以乙酸乙酯為較佳溶劑。其他典型的適當溶劑包括甲苯及甲基異丁基酮。為自液相中萃取，可合宜地使用與反應溶液體

積大約相同之溶劑體積。為自生物團塊中回收產物，可將前者懸浮在溶劑中，較好量多於受質之最初填加量，如50至100毫升溶劑對每克肯瑞酮之最初負荷量，且生成之懸液較好可迴流約20至數小時，以確保可將產物由生物團塊之凹處及孔洞中轉移至溶劑相。之後，以過濾或離心移出生物團塊，且濾塊較好以新鮮的溶劑及去離子水洗滌。再混合水性及溶劑洗液，並令其分相。式VIII產物自溶液中結晶回收。為使產率達到最大，菌絲組織與新鮮溶劑接觸二次。於沉降後令水相完全分開，產物再自溶劑相中回收。最好，溶劑在真空下移去直到開始結晶為止，之後已濃縮之萃取物冷卻至約0℃至約20℃，較好約10°至約15℃，歷足供結晶沉澱及生長之時間，通常約8至約12小時。

以圖2之方法，且尤其是圖3為特佳之方法。這些方法在低粘度下操作，且易使方法之變數有緊密之控制，如pH值，溫度及溶氧。再者，可在未訴諸抗生素下容易地保有無菌狀況。

生物轉化過程是放熱的，如此應該要移去熱，利用有包套之醱酵槽或在產製醱酵槽內之冷卻線圈。另外，反應肉汁可經由外側之熱交換器循環。溶氧較好維持在至少約5%水平，較好至少約10%按體積計，足以提供反應所需之能量，及確保葡萄糖至CO_2及H_2O之轉化作用，此可經由空氣引入反應槽內之速率調控來反應肉汁中氧電勢之偵測。pH值則較好是控制在約4.5及約6.5之間。

在式XIII受質11-羥化作用的各個不同的方法中，產製力

受限於固體受質至水相之團塊轉移，或是至經了解可發生反應之相界面。如上所述，產製力並不顯著受限於團塊轉移，此係在受質之粒子平均大小，降低至約300微以下，且粒子中至少75%按重計是小於240微時。然而，這些方法中之產製力在某些不同具體實例中仍可進一步加強，實例中係將於有機溶劑中之肯瑞酮或其他相當的式XIII受質填入產製醱酵槽內。依據一種選擇，受質溶於水不相容之溶劑中，並與水性生長培養基接種物及界面活性劑混合。有用之水不相容溶劑包括如：DMF，DMSO，C_6-C_{12}脂肪酸，C_6-C_{12}正烷類，植物油，山梨聚糖，及界面活性水溶液。此負荷物經攪動可產生一種乳劑反應系統，其有延長之界面區域可供受質團塊由有機液相轉移至反應部位。

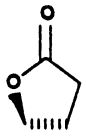
第二種選擇是先將受質溶於水可相容之溶劑中，如丙酮，甲基乙基酮，甲醇，乙醇，或甘油，且其濃度將實質大於其在水中之溶解度。經由在較高溫度下製備最初之受質溶液，可增加溶解度，由是進一步增加引入反應槽內之溶液型式之受質量，且最後可加強反應槽之載重。溫的受質溶液，與含有生長培養基及接種物之相當冷的水性物質一起填入產製醱酵反應槽內。當受質溶液與水性介質混合時，會發生受質之沉澱作用。然而在相當超飽和及中度劇烈攪動條件下，核化作用將超過結晶之生長，且會形成有高表面積之極細粒子。高表面積會促進液相及固體受質間團塊之轉移。然而，在水可相容溶劑存在下，受質在水性液相之平衡濃度也會增加，因此促進產製力。

雖然微生物未必會耐受水相中高的有機溶劑濃度，也可有益地使用如約3%至約5%按重計範圍之乙醇。

第三種選擇是將受質溶解在環糊精水溶液中。可供說明之環糊精包括羥丙基-β-環糊精及甲基-β-環糊精。受質對環糊精之莫耳濃度比例可為約1:0.5至約1:1.5，較好約1:0.8至約1:1。受質：環糊精混合物可再無菌地加至生物轉換反應槽中。

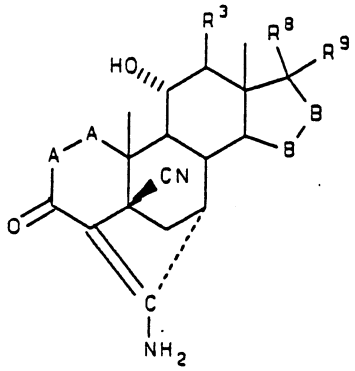
11α-羥基肯瑞酮及11α-羥化過程中之其他產物(式VIII及VIIIA)為新穎的化合物，其可經由過濾反應介質及萃取過濾介質上收集的生物團塊而分離。傳統的有機溶劑，如乙酸乙酯，丙酮，甲苯，氯化之碳氫化合物及甲基異丁基酮可用於萃取中。式VIII產物可再自同一型式之有機溶劑中再結晶。式VIII化合物在充作中間物製備式I化合物，且尤其是式IA上有相當的價值。

較好式VIII化合物相當於式VIIIA，其中-A-A-及-B-B-為$-CH_2-CH_2-$，R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基，且R^8及R^9一起構成20-螺氧烷環：



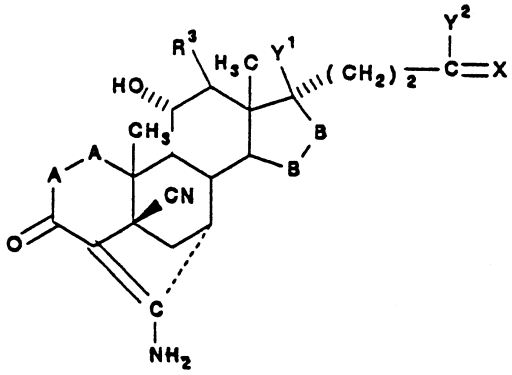
XXXIII

依據流程1之方法，式VIII化合物在鹼條件下與氰化物離子來源反應，以產生式VII之烯胺化合物



VII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義，其中受質相當於式VIIIA，產物是式VIIA



VIIA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1及Y^2，及X如式XIIIA中所定義。較好，R^3是氫。

式VIII 11α-羥基受質之氰化作用可由其與氰化物離子來源，如酮偕醇腈，較好是丙酮偕醇腈，並有鹼及鹼金屬鹽之存在，最好是LiCl，反應而進行。另外，氰化作用可在無偕醇腈下利用鹼金屬氰化物於酸存在下達成。

在酮偕醇腈方法中，反應在溶液中進行，較好利用無質子極性溶劑如二甲替甲醯胺或二甲亞碸。烯胺之形成每莫耳受質需至少2莫耳氰化物離子來源，且較好使用略過量之氰化物來源。鹼較好是含氮之鹼，如二烷基胺，三烷基胺，烷醇胺，吡啶等。然而，無機鹼如鹼金屬碳酸鹽，或

鹼金屬氫氧化物也可使用。較好，式VIII之受質先以約20及約50%按重計間之比例存在，鹼存在之比例為每當量受質0.5至2當量之間。反應之溫度並不嚴苛，但在較高溫度下操作是可加強產製力。因此，當以三乙胺為鹼時，反應可在約80℃至約90℃範圍下有益地進行。在此溫度下，反應可在約5至約20小時內進行至完全。當以二異丙基乙基胺為鹼，且反應在105℃下進行時，反應可在8小時時完成。於反應期末了，溶劑於真空下移去，且殘留的油溶於水中，再以稀酸較好是鹽酸中和至pH 7。產物自此溶液中沉澱，之後以蒸餾水洗滌再風乾。釋出之HCN可以惰性氣體氣滌，再於鹼溶液中驟冷。欲求之沉澱物以氯仿或其他適合的溶劑吸收，再以濃縮的酸如6N HCl萃取。萃取物加入無機鹼，較好是鹼金屬氫氧化物，中和至pH 7，並冷卻至0℃範圍。所生成之沉澱物洗滌及乾燥，再自適合的溶劑中再結晶，如丙酮，以產生式VII產物適用於方法中之下一步驟。

另外，反應可在水性溶劑系統中進行，其中含有水可相容的有機溶劑如甲醇，或在二相系統中，其含有水及有機溶劑如乙酸乙酯。在此變化型式中，產物之回收可利用水稀釋反應溶液，之後利用有機溶劑萃取產物，如二氯甲烷或氯仿，再自有機萃取物中以濃縮的無機酸回萃取，如2N HCl。見美國專利案No. 3,200,113。

依據進一步之變化型式，反應可在水可相容之溶劑中進行，如二甲替甲醯胺，二甲替乙醯胺，N-甲基吡咯啶酮或

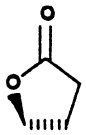
二甲亞碸，之後反應產物溶液以水稀釋，並使呈鹼性，如加入鹼金屬碳酸鹽，再冷卻至0°至10℃，之後令產物沉澱。較好，系統以鹼金屬次鹵酸鹽或其他可有效預防氰化物溢出之試劑驟冷。經過過濾及以水洗滌後，沉澱的產物適用於方法中之下一步驟。

依據再進一步變化型式，式VII之烯胺產物可由式VIII受質在質子來源存在下，與過量的鹼金屬氰化物，較好是NaCN，在水性溶劑中反應，其中含有無質子之水可相容之極性溶劑，如二甲替甲醯胺或二甲替乙醯胺。質子來源較好是無機酸或C_1-C_5羧酸，硫酸為特佳者。例外的，當氰化試劑是產品化之LiCN/DMF時，勿需加入另外的質子來源。

氰化物離子來源，如鹼金屬鹽，填加至反應器中之比例較好每當量受質在約2.05及約5莫耳濃度當量之間。咸信無機酸或其他質子來源可促進HCN越過4, 5及6, 7雙鍵之加成，且較好以每莫耳當量受質至少1莫耳當量之比例存在。但反應系統應由維持較存在之酸過量的鹼金屬氰化物而保持鹼性。反應較好在至少約75℃溫度下進行，通常60℃至100℃，歷約1至約8小時，較好約1.5至約3小時。在反應期末了，反應混合物冷卻，較好至約室溫；且產物烯胺因酸化反應混合物而沉澱，再將之與冷水混合，較好在約冰浴溫度下。酸化作用咸信靠近17-內酯，其在氰化作用普遍採用之鹼性條件下會開鏈。反應混合物可利用相同的酸合宜地酸化，此酸為反應中存在的，較好是硫酸。水較

好以約10及約50莫耳當量(每莫耳產物計)之比例加入。

式VII化合物為新穎的化合物，且在充作式I化合物製備時之中間物方面有實質之價值，尤其是式IA。較好，式VII化合物相當於式VIIA，其中-A-A-及-B-B-為$-CH_2-CH_2-$，R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基，且R^8及R^9一起構成20-螺氧烷環：

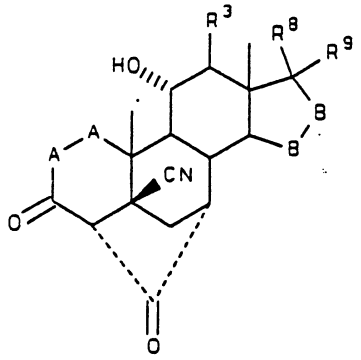


XXXIII

最好式VII化合物是5'R(5'α)，7'β-20'-胺基十六氫-11'β-羥基-10'α,13'α-二甲基-3',5'-二酮基螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲-5'-腈。

在式VIII化合物轉化成式VII烯胺中，式VIII化合物之7-氰基衍生物經由粗製產物層析已可觀察到。已有假說指出，7-氰基化合物是轉化過程中之中間物。也有進一步假說指出，7-氰基中間物本身會反應形成第二中間物，即式VIII化合物之5,7-二氰基衍生物，其可再反應形成烯酯。見如，R. Christiansen et al., The Reaction of Steroidal 4,6-Dien-3-Ones With Cyanide, **Steroids**, Vol. 1, June 1963，其已列為本案參考。這些新穎化合物在充作層析標幟以及合成中間物上也有利用價值。在整體流程1合成方法的此步驟較佳具體實例中，這些中間物是7α-氰基-11α,17-二羥基-3-酮-17α-孕-4-烯-21-二羧酸，γ-內酯，及5β,7α-二氰基-11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕烷-21-二羧酸，γ-內酯。

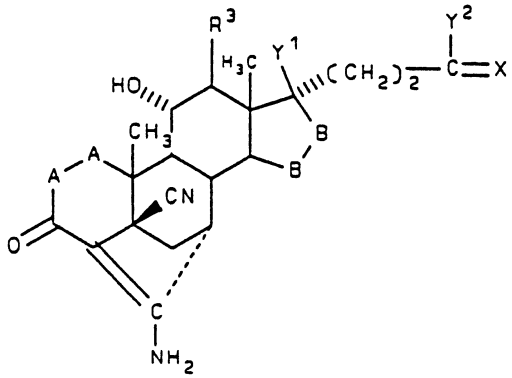
在流程1合成的下一步驟，式VII之烯胺水解產生式VI之二酮化合物



VI

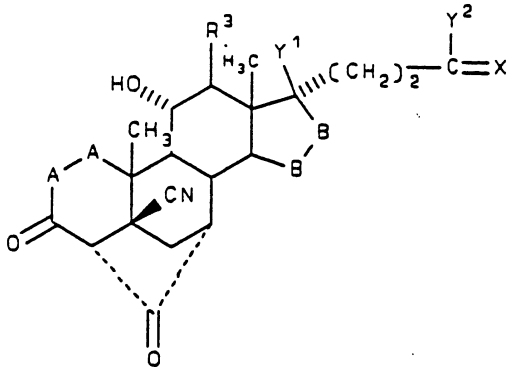
其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義。任何的有機或無機酸水溶液均可用於水解作用。以鹽酸為較佳。為加強產製力，較好以水可相容之有機溶劑，如二甲基乙醯胺或低碳烷醇充作潛溶劑。較好以二甲基乙醯胺為溶劑。酸存在之比例為每當量式VII受質至少一當量。在水性系統中，烯胺受質VII在約5小時期間及約80℃下，可實質地轉化成式VI之二酮。在較高溫度下操作可增加產製力，但溫度並不嚴苛。依據溶劑系統及酸之揮發性選擇適合的溫度。

較好，式VII之烯胺受質相當於式VIIA



VIIA

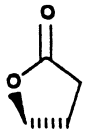
且二酮產物相當於式VIA



VIA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1及Y^2及X各自如式XIIIA所定義。較好R^3是氫。

在反應末了，溶液冷卻至約0°至25℃，以便產物結晶。產物晶體可自適合的溶劑中再結晶，如異丙醇或甲醇，以產生適用於方法中下一步驟之式VI產物；但再結晶通常並非必要。式VI產物為新穎的化合物，其在充作式I，尤其是式IA化合物製備中之中間物上有相當的價值。較好式VI化合物相當於式VIA，其中-A-A-，及-B-B-為$-CH_2-CH_2-$，R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基，且R^8及R^9一起構成20-螺氧烷環：



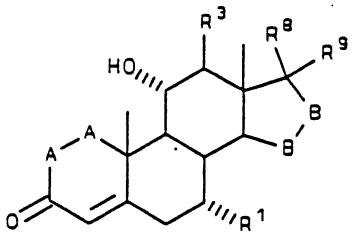
XXXIII

最好，式VI化合物是4'S(4'α)，7'α-十六氫-11'α-羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮基螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[7H]環戊[a]菲-5'β(2'H)-腈。

在本發明的特佳具體實例中，式VII之產物烯胺自式VIII化合物中產生，方式如上述，並於原位轉化成式VI之二

酮。在本發明之此具體實例中，式VIII受質與過量的鹼金屬氰化物在含有質子源之水性溶劑中反應，或視所需過量的酮偕醇腈於鹼及LiCl存在下，如上文所述。然而，若不採用冷卻反應混合物，則酸化，及分次加水以造成烯胺之沉澱，則較好可避免反應混合物實質的冷卻。水及酸，較好是無機酸如硫酸，可在氰化反應末了加至混合物中。所加入之酸之比例足以中和過多的鹼金屬氰化物，通常每莫耳式VIII受質需引入至少1莫耳濃度當量的酸，較好每當量受質約2及約5莫耳當量之間。然而，溫度維持在夠高，且稀釋夠多，如此可避免相當的沉澱，且烯胺水解成二酮可在液相中進行。因此，製程可在最少干擾及高產製力下進行。水解作用之進行較好在至少80℃溫度下進行，較好在約90℃至約100℃範圍中，歷約1至約10小時，較好是約2至約5小時。之後反應混合物冷卻，較好達約0℃及約15℃之間，有益地是在冰浴中約5℃至約10℃中，可沉澱式VI之產物二酮。固體產物可回收，如經由過濾，且雜質由水洗滌而減少。

在流程1合成之下一步驟，式VI之二酮化合物與金屬烷氧化物反應，經由羰基及4-碳間鍵結之解離而打開4及7位置間之酮橋，形成在7位置上α-方位之烷氧羰基取代基，並消去5-碳上之氰化物。此反應之產物為相當於式V之羥基酯化合物



V

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義，且R^1是低碳烷氧羰基或羥羰基。用於反應中之金屬烷氧化物相當於式$R^{10}OM$，其中M是鹼金屬，且$R^{10}O$-相當於R^1之烷氧基取代基。當金屬烷氧化物是甲氧化鉀或甲氧化鈉時，此反應之產率最令人滿意，但也可使用其他的低碳烷氧化物。以烷氧化鉀為特佳。也可使用酚鹽，其他芳氧化物，以及芳基硫化物。反應可在醇存在下合宜地進行，即相當於式$R^{10}OM$之醇，其中R^{10}如上文所定義。也可使用其他傳統的溶劑。較好，式VI受質以介於約2%及約12%按重計之比例存在，較好至少約6%按重計。較好，$R^{10}OM$以約0.5及約4莫耳(每莫耳受質計)間之比例存在，又較好介於約1及約2莫耳之間，且更好是每莫耳受質約1.6莫耳。溫度並不嚴苛，但較高的溫度較可加強產製力。反應時間通常約4及約24小時，較好是4至16小時。合宜地，反應在大氣迴流溫度下進行，依所使用之溶劑而定。

達到平衡反應所需的時間受加至反應混合物中烷氧化物之量的影響，以及烷氧化物加入之方式的影響。烷氧化物可一次加入或分多次加入，或可連續加入。當烷氧化物分多次加入時，較好是約1.6當量的甲氧化鉀分二步驟加入。在此二步驟加入中，先將1當量甲氧化鉀加至反應混

合物中，於90分鐘再加0.6當量的甲氧化鉀。此二步驟加入可縮短達到平衡所需之時間，相較於單一次加入1.6當量的甲氧化鉀。

因為平衡對於羥基酯在低濃度二酮下產製較有益，反應較好在較高稀釋倍數下進行，如高至40:1用於與甲氧化鈉之反應。頃發現，利用甲氧化鉀而非甲氧化鈉應了解可有顯著較高的產製力，因為在約20:1範圍之稀釋倍數通常足以使反向的氰化作用程度減至最小，其中甲氧化鉀是試劑。

依據本發明，進一步發現採用適合的化學或物理方法自反應環帶中移去副產物氰化物離子可抑制反向氰化作用反應。因此，在本發明的一個進一步具體實例中，二酮與鹼金屬烷氧化物反應可在氰化物離子之沉澱劑存在下進行，如含有可形成不溶性氰化物化合物之鹽。此鹽包括如：碘化鋅，硫酸鐵，或基本上鹼土或過渡金屬之任何鹵化物，硫酸鹽或其他鹽，其較相當的氰化物更為可溶。碘化鋅存在之比例若在每當量二酮受質的一當量範圍內，可觀察到反應之產製力較於無鹼金屬鹵化物存在下進行之製程可實質地增加。

即使使用沉澱劑移去氰化物離子，但在相當高稀釋倍數下進行仍是較佳的，但在使用沉澱劑下二酮受質溶劑之莫耳濃度比例與在無此作用劑之反應比較下，前者可顯著地減少。式V羥基酯之回收，可依據下述的萃取或非萃取步驟任一者來進行。

也可由控制反應的平衡以助式V羥基酯之產製，即在合成後自反應混合物中移去此羥基酯。經基酯之移去可逐步進行，或經由方法如過濾連續進行。羥基酯之移去可用來控制平衡，或單獨的或組合以氰化物自反應混合物之化學或物理性移去。之後所生成濾液之加熱可驅動反應平衡，有助所留下之式VI二酮轉化成式V之羥基酯。

在式VI二酮轉化成式V羥基酯中，在粗製產物中可見到少量的5-氰基羥基酯，通常少於約5%按重計。有假說指出，5-氰基羥基酯是式VI二酮及式V羥基酯間之平衡中間物。進一步假說指出，此平衡中間物係由二酮所形成，經由甲氧化物作用在5,7-酮基及烯酸酯之質子化，以及來自羥基酯，經由副產物氰化物離子行邁克爾加成至羥基酯之3-酮基-$\triangle^{4,5}$官能基。

此外，式V羥基酯之5-氰基-7-酸及17-烷氧化物，經由粗製產物層析可觀察到。有假說指出，5-氰基羥基酯中間物可與副產物氰化物離子反應(由於去氰化作用結果而存在，其係引入$\triangle^{4,5}$雙鍵)產生5-氰基-7-酸。有假說指出，氰化物離子之作用可去烷化5-氰基羥基酯之7-酯基，生成5-氰基-7-酸及相當的烷基腈。

進一步假說指出，過渡中間物17-烷氧化物由甲氧化物作用在羥基酯之17-螺內酯上而形成(或前述的中間物可再轉化成羥基酯)。17-烷氧化物一旦以酸處理，可容易地轉化成羥基酯。之後，其通常不見於產物基質中。

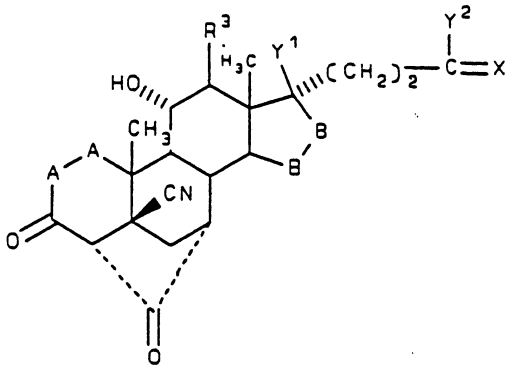
5-氰基羥基酯，5-氰基-7-酸，及17-烷氧化物為新穎的

化合物，其可充作層析標幟，及充作羥基酯製備時之中間物。其可自流程1合成的此步驟粗製產物中分離出來。另外，其可直接地合成以充作標幟或中間物使用。5-氰基羥基酯可由式VI經分離的二酮溶液與鹼，如烷氧化物或胺，反應而合成，再分離所生成之沉澱物。所製備的化合物較好是5β-氰基-11α-17-二羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸7-甲基酯,內酯。

5-氰基-7-羧酸可由式VI二酮與弱的鹼水溶液，如醋酸鈉或碳酸氫鈉反應而直接合成，再分離所生成之沉澱物。所製備之化合物較好是5-β-氰基-11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸，γ-內酯。

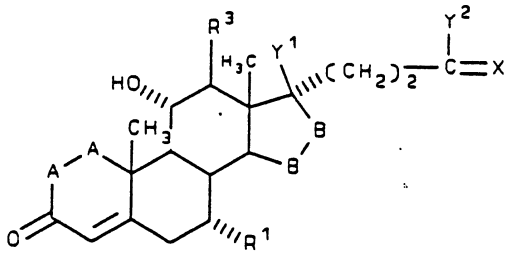
17-烷氧化物可由式V羥基酯溶液與烷氧化物反應直接合成，生成17-烷氧化物及相當的羥基酯之混合物。所製備之化合物較好是11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸二甲酯，γ-內酯。

較好，式VI之二酮受質相當於式VIA



VIA

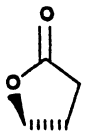
且羥基酯產物相當於式VA



VA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1及Y^2及X各自如式XIIIA中所定義，且R^1如式V中所定義。較好，R^3是氫。

式V產物為新穎的化合物，其在充作中間物製備式I化合物，尤其是式IA上具有實質的價值。較好，式V化合物相當於式VA，其中-A-A-及-B-B-是$-CH_2-CH_2-$，R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基，且R^8及R^9一起構成20-螺氧烷環：



XXXIII

最好，式V化合物是11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羥酸甲酯，γ-內酯。

式V化合物可由過濾或酸化反應溶液而分離，如利用無機酸如HCl或硫酸，冷卻至環境溫度，再以有機溶劑萃取產物，如二氯甲烷或乙酸乙酯。萃取物以鹼水洗滌溶液洗滌，乾燥及過濾，之後移去溶劑。另外，含有式V產物之反應溶液再以濃縮酸驟冷。產物溶液濃縮，冷卻至約0°至25℃之間，且產物固體以過濾分離。

於較佳具體實例中，甲醇及HCN在反應期總結後經由蒸餾移去，在蒸餾之前加入無機酸(如氫氯酸或硫酸)再加水。無機酸以單一步驟加入，或多次或連續地加入。在較佳具體實例中，無機酸以約10至約40分鐘期連續加入，較

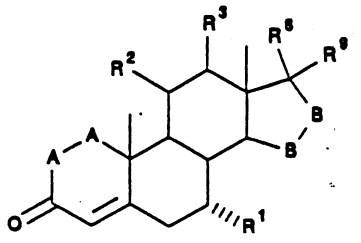
好約15至約30分鐘。另外，水可以單一步驟，多次或連續地加至靜止的底部。在較佳的具體實例中，在加水之前，濃縮的反應混合物自迴流溫度冷卻。較好，混合物冷卻至約50℃至約70℃間溫度，較好約60℃至約70℃，又更好約65℃，再加水。再加水，較好連續加入歷約15分鐘至約3小時，且較好歷約60分鐘至約90分鐘，同時溫度維持大約固定。當水繼續加入，則式V產物可自靜止不動之底部結晶。一旦水加至混合物後，經稀釋的反應混合物維持在約相同溫度下，歷約1小時，再冷卻至約15℃歷再約4至約5小時。混合物維持在約15℃下歷約1至2小時。在15℃維持較長時間可增加混合物中氰基酯之產率。此回收模式可在無萃取操作下提供高品質之結晶產物。

依據式V產物另一較佳之回收模式，於反應期總結後，經由蒸餾移去甲醇及HCN，而在蒸餾之前或間則加水及酸。在蒸餾之前加水可簡化操作，但在蒸餾之中逐漸加入則可令靜止態之體積保持實質的固定。當蒸餾進行時，式V產物可自靜止態中結晶出來。此回收模式可在無萃取操作下提供高品質之結晶產物。

依據又進一步變化型式，含有式V產物之反應溶液可以無機酸驟冷，如4N HCl，之後溶劑以蒸餾移去。自反應產物中移去殘留的HCN，也可有效地移去溶劑。頃發現必需以多重溶劑萃取純化式V化合物，其中式V化合物充作環氧美克瑞酮製備時之中間物，如此中所述。事實上，此萃取作用常可完全省略。當以溶劑萃取以純化產物，希望可

補充鹽水以及鹼洗劑之溶劑洗滌。但當略去溶劑之萃取時，鹽水以及鹼洗劑也省略。省略萃取及洗劑可顯著地加強製程之產製力，而不會犧牲產率或產物品質，也可省去乾燥劑，如硫酸鈉，乾燥洗液之必要。

粗製的11α-羥基-7α-烷氧羰基產物再次以溶劑吸收，用於製程之下一反應步驟，其為11-羥基轉化成11位置之離去基，由是產生式IV化合物：

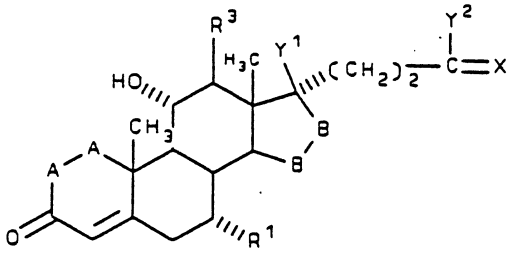


IV

其中-A-A-，R^3，-B-B-，R^8及R^9如式XIII中所定義，R^1如式V所定義，且R^2是低碳芳基磺醯氧基，烷基磺醯氧基，醯氧基或鹵化物。較好，11α-羥基與低碳烷基磺醯鹵，醯基鹵化物或酸酐反應而酯化，其加至含有式V中間物產物之溶液中。低級酸酐如醋酐及三鹵化酸酐，如三氟醋酐，可用來製備適合的醯氧基離去基。以低碳烷基磺醯鹵為較佳，然而尤指甲烷磺醯氯。另外，11α-羥基可轉化成鹵化物，即經由適合試劑之反應，如亞硫醯基溴，亞硫醯基氯，硫醯基氯或草醯氯。形成11α-磺酸酯之其他試劑包括甲苯磺醯氯，苯磺醯氯及三氟甲烷磺酸酐。反應在含有鹵化氫清除劑之溶劑中進行，如三乙胺或吡啶。也可使用無機鹼，如碳酸鉀或碳酸鈉。式V羥基酯之最初濃度較好介於約5%及約50%按重計之間。酯化試劑較好略過量存在。

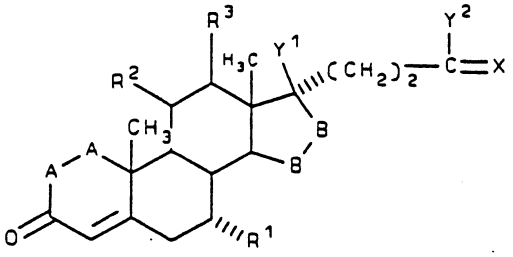
以二氯甲烷為反應特別適合的溶劑，但也可應用其他溶劑如二氯乙烷，吡啶，氯仿，甲基乙基酮，二甲氧乙烷，甲基異丁基酮，丙酮，其他酮類，酯類，乙腈，甲苯及四氫呋喃。反應溫度主要由溶劑之揮發性來控制。採用二氯甲烷時，反應溫度較好在約-10℃及約10℃之間。

較好，式V之羥基酯受質相當於式VA



VA

且產物相當於式IVA

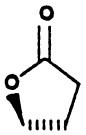


IVA

其中-A-A-，-B-B-，3，Y^1，Y^2及X各自如式XIIIA中所定義，R^1是低碳烷氧羰基或羥基羰基，且R^2如式IV中所定義。較好，R^3是氫。

式IV產物是新穎的化合物，其在充作式I化合物，且尤其是式IA製備時之中間物上有實質的價值。較好，式IVA化合物相當於式VA，其中-A-A-及-B-B-為$-CH_2-CH_2-$，R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基，且R^8及R^9一起構成20-螺氧烷環：

(S)



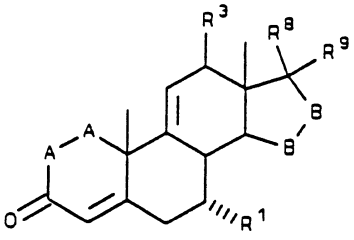
XXXIII

最好，式IV化合物是17α-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧-3-酮基孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。當欲求醯氧基離去基時，式IV化合物較好是17-羥基-3-酮基-11α-(2,2,2-三氟-1-酮乙氧基)-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯；或11α-(乙醯氧基)-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯。

若欲求時，式IV化合物可由溶劑之移去而分離。較好反應溶液先以鹼水洗液洗滌，如0.5-2N NaOH，繼以酸洗，如0.5-2N HCl。移去反應溶劑之後，產物結晶，如以二氯甲烷吸收產物，再加另一種溶劑如二乙醚，其可減低式IV產物之溶解度，使其以結晶型式沉澱。

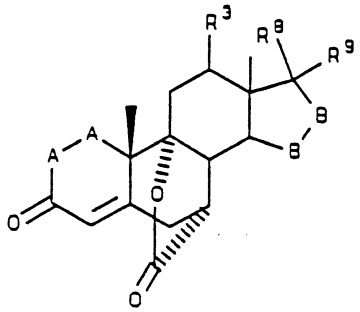
在式IV產物之回收中，或製備反應溶液以將式IV中間物轉化成式II中間物，如下文進一步所述，所有的萃取及/或洗滌步驟均可免除，係當若溶液替以離子交換樹脂處理以移去酸及鹼性雜質之時。溶液先以陰離子交換樹脂處理，再以陽離子交換樹脂處理。另外，反應溶液可先以無機吸附劑處理，如鹼性礬土或鹼性矽石，再以稀酸洗滌。鹼性矽石或鹼性礬土通常與反應溶液混合的比例為每公斤產物約5及約50克之間，較好約15及約20克之間。不論便用的是離子交換樹脂或無機吸附劑，處理之進行可單純地將樹脂或無機吸附劑在環境溫度及攪拌下以反應溶液淤漿之，再以過濾移去樹脂或無機吸附劑。

在本發明另一種且更佳之具體實例中，式IV產物移去部份溶劑呈經濃縮之溶液型式粗製地回收。此濃縮溶液可直接用於製程的以下步驟，其將11α-離去基自式IV化合物中移去，由是產生式II之烯酯：



II

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII所定義，且R^1如式V定義。基於本反應目的，式IV化合物之R^2取代基可為任何的離去基，其消去可有效地用於產生在9-及11-碳間之雙鍵。較好，離去基是低碳磺醯氧基或醯氧基取代基，其經由與酸及鹼金屬鹽反應而移去。可使用無機酸，但以低碳烷酸為較佳。有益地，反應中之試劑進一步包括烷酸之鹼金屬鹽。以離去基含有甲磺醯氧且反應中含有甲酸或醋酸及這些酸或另外低碳烷酸之鹼金屬鹽時為特佳。當離去基是甲磺醯基且移去試劑是醋酸及醋酸鈉或甲酸及甲酸鉀，則可觀察到9,11-鏈烯對11,12-鏈烯以相當高比例存在。若在離去基移去之中存在有自由態水，較易形成雜質，如特指7,9-內酯。



其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義，其難以自終產物中移去。因此，醋酐或其他乾燥劑可用來移去存在於甲酸中之水。因此反應前反應混合物中之自由態水含量應保持在低於約0.5%，較好約0.1%按重計，此由Karl Fischer對水之分析測得，以總反應溶液為準。雖然較好反應混合物儘實際可能地乾燥，但應了解0.3%按重計之水可有令人滿意的結果。較好，反應負荷的混合物中含有約4%及約50%按重計間之式IV受質於烷酸中。較好包括約4%及約20%按重計間之酸之鹼金屬鹽。當以醋酐為乾燥劑時，其存在之比例較好每莫耳烷酸約0.05莫耳及約0.2莫耳之間。

頃發現，反應混合物中副產物7,9-內酯及11,12-鏈烯之比例相當低，其中消去試劑含有三氟醋酸，三氟醋酐及醋酸鉀之組合，而試劑可消去離去基並形成烯酯(9,11-鏈烯)。三氟醋酐充作乾燥劑，且存在之比例應至少約3%按重計，較好至少約15%按重計，最好約20%按重計，以三氟醋酸消去試劑為準。

除了7,9-內酯，可充作合成中間物及層析標幟之其他雜質及副產物已可在流程1合成的此步驟中觀察到。例如已可自產物溶液中層析分離出式II烯酯新穎的4,9,13-三烯(如，17-甲基-3-酮基-18-正孕-4,9(11),13-三烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯)。此化合物之產量似乎隨著合成的此步驟反應時間增加而增加。有假說指出，化合物之形成係當內酯被

質子化，且生成之C17陽碳離子有助於在角上甲基自C13位置移動。此中間物去質子化後可生成4,9,13-三烯。

也可自粗製產物中層析分離出式II烯酯之新穎的5-氰基-$\triangle^{11,12}$(如5β-氰基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-11-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯)及式II烯酯新穎的5-氰基(如5-氰基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-11-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯)。有假說指出，這些化合物分別經由殘留的5-氰基-7-酸及5-氰基羥酯脫水而形成，其以流程1合成第三步驟之結果出現在粗製產物溶液中。

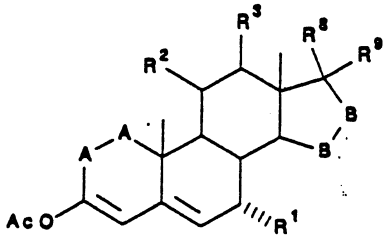
式II烯酯新穎的C17差向異構物(如17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲基酯，內酯)也可自粗製產物中層析分離。有假說指出，消去反應之酸性條件可造成C17對掌中心之外消旋化作用，生成烯酯之17-差向異構物。17-差向異構物可由式IV化合物與甲酸鉀，甲酸及醋酐反應而直接合成，並分離17-差向異構物。

雖然並不在粗製產物溶液中呈雜質被觀察到，式V羥酯之11-酮可由相當的羥基酯之11-羥基與適合的氧化劑，如Jones試劑，氧化而製備。所製備的11-酮較好是17-羥基-3,11-二酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯。

另外，式IV化合物之11α-離去基可予以消除產生式II之烯酯，可由式IV於有機溶劑之溶液中，如DMSO，DMF或DMA，加熱而成。

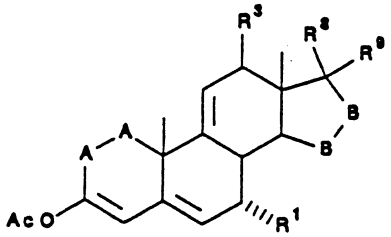
進一步依據本發明，式IV化合物可與烷酸烯基酯先反

應，如醋酸異丙烯基酯，於酸存在下如甲苯磺酸或無水無機酸，如硫酸，以形成式IV化合物之3-烯酯：



IV(Z)

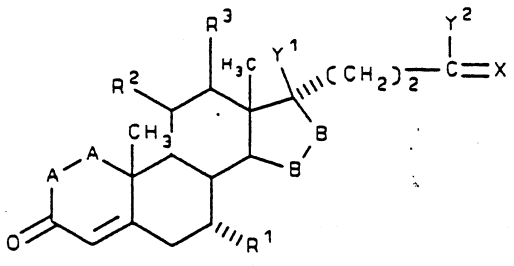
另外，3-烯醇酯可由式IV化合物與酸酐及鹼，如醋酐及醋酸鈉處理而形成。進一步之變化型式包括式IV化合物以烯酮於酸存在下處理，產生式IV(Z)化合物。式IV(Z)中間物之後與鹼金屬甲酸鹽或醋酸鹽在甲酸或醋酸存在下反應，產生式IV(Y)之$\triangle^{9,10}$烯醇醋酸酯：



IV(Y)

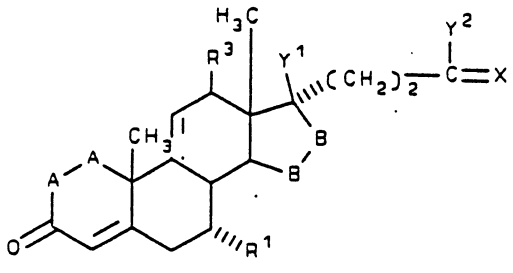
其可在有機溶劑中轉化成式II烯酯，較好是醇如甲醇，即對烯醇醋酸酯行熱分解，或其與鹼金屬烷氧化物反應。消去反應對式II之烯酯具有高度選擇性，甚於11,12-鏈烯及7,9-內酯，且此選擇性在烯醇醋酸酯轉化至烯酮中均保存。

較好，式IV之受質相當於式IVA



IVA

且烯酯產物相當於式IIA



IIA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1及Y^2及X各自如式XIIIA中所定義，且R^1如式V中所定義。較好，R_3是氫。

若欲求時，式II化合物可由溶劑之移去而分離，固體產物以冷水吸收，並再以有機溶劑萃取，如乙醋乙酯。經適合的洗滌及乾燥步驟之後，產物因萃取溶劑移去而回收。烯酯再溶於適於轉化成式I產物之溶劑中。另外，烯酯之分離可由加水至濃縮產物溶液中，再過濾固體產物，由是差別地移去7,9-內酯。式II受質至式IA產物之轉化作用可如美國專利案4,559,332中所述之方式進行，其自由地納入本案為參考，或較好經由下述利用鹵乙醯胺促進劑之新穎反應。

在本發明另一具體實例中，式V之羥基酯，可在未分離式IV中間物下轉化成式II之烯酯。在此方法中，羥基酯以有機溶劑吸收，如二氯甲烷；再於溶液中加入醯化劑，如甲烷磺醯氯，或鹵化試劑，如硫醯氯。混合物攪動，且當涉及鹵化作用時，可加入HCl消除劑如咪唑。此反應高度放熱，且因此應在完全冷卻下以受控之速率進行。一旦鹼加入後，生成的混合物加溫至中度溫度，如約0℃至室溫，或略高，再反應約1至約4小時。一旦反應完全時，溶

劑汽滌，較好在高真空條件(如24"至28"汞柱)下，約-10℃至約+15℃，較好約0°至約5℃，以濃縮溶液並移去過量的鹼。受質再溶於有機溶劑中，較好是鹵化溶劑，如二氯甲烷，以轉化成烯酯。

離去基消去試劑之製備較好是將有機酸，有機酸鹽及乾燥劑，分別較好是甲酸，鹼金屬甲酸鹽及醋酐，混合於乾燥反應槽。醋酐之加入是放熱的，且會造成CO之釋出，故加入速率應該予以控制。為促進水之移去，此反應的溫度較好維持在約60°至約90℃，最好約65°至約75℃。此試劑再加至式IV化合物之產物溶液中，以達成消去反應。約4至約8小時之後，反應較好加熱至至少約85℃溫度，但較好不超過約95℃，直到所有的揮發性餾份移去，再歷一段時間以便反應完成，通常約1至約4小時。反應混合物冷卻，且在以標準萃取技術回收後，烯酯可依所欲以蒸發溶劑回收之。

進一步發現，式II之烯酯可以另一方法自反應溶液中回收；其在消去反應之後勿需萃取步驟，由是可節省費用，改進產率及/或增進產製力。在此製程中，烯酯產物於移去甲酸後以水稀釋反應混合物而沉澱。產物再經由過濾分離。勿需萃取。

依據在勿需分離式IV化合物下，將式V之羥基酯轉化成式II烯酯之進一步變化型式，式V羥基酯之11α-羥基以鹵替代，且式II烯酯於原位經由熱去氫鹵化作用而形成。以鹵替代羥基，可由與硫醯鹵，較好是硫醯氯，在冷處於鹵

化氫清除劑存在下，如咪唑，反應而達成。羥基酯溶於溶劑中，如四氫呋喃，並冷卻至約0℃至約-70℃下。加入硫醯鹵，且反應混合物加溫至中度溫度，如室溫，歷足以完成消去反應之時期，通常約1至約4小時。此具體實例之製程不僅將二步驟組合為一，也省略以下之使用：鹵化反應溶劑；酸(醋酸為例)；及乾燥劑(如醋酐或硫酸鈉)。再者，反應勿需迴流條件，且避免副產物CO之產生，其為以醋酸為乾燥劑時之結果。

依據本發明特佳之具體實例，在勿需分離任何純化型式之中間物下，式VI之二酮化合物可轉化成式I之環氧基美克瑞酮或其他化合物。依據此較佳製程，含有羥基酯之反應溶液以強酸溶液驟冷，冷卻至環境溫度，再以適合的萃取溶劑萃取。有益地，在萃取之前於反應混合物中加入無機鹽水溶液，如約10%按重計之食鹽水溶液。萃取物洗滌並以共沸蒸餾乾燥以移去酮消除反應中留下之甲醇溶劑。

所生成之含有約5%及約50%按重計之式V化合物之濃縮溶液，再於冷處與醯化或烷基磺醯化試劑接觸，以形成磺酸酯或二羧酸酯。於烷基磺化作用或羧化反應完全之後，反應溶液再通過酸及之後的鹼性交換樹脂管柱，以移去鹼性及酸性雜質。於各通過後，管柱以適合的溶劑洗滌，如二氯甲烷，以自其中回收殘留的磺酸或二羧酸酯。將混合的溶離液及洗滌流份混合及減量，較好在真空下，以產生含有式IV磺酸酯或二羧酸酯之濃縮溶液。此濃縮溶液再與乾燥試劑接觸，其中含有可移去11α-酯離去基並消除氫以

形成9,11雙鍵之作用物。較好，移去離去基之試劑包括上述之甲酸/鹼金屬甲酸鹽/醋酐乾燥試劑溶液。一旦反應完全後，反應混合物冷卻，再於真空下移去甲酸及/或其他揮發性組份。殘留物冷卻至環境溫度，接受適合的洗滌步驟，再乾燥生成含有式II烯酯之濃縮溶液。此烯酯再利用此中所述之方法，或美國專利案4,559,332之方法轉化成環氧美克瑞酮或其他式I化合物。

在本發明尤佳之具體實例中，溶劑在真空下自反應溶液中移去，且式IV產物分配於水及適合的有機溶劑(如乙酸乙酯)之中。水層再以有機溶劑回萃取，且回萃取液以鹼溶液洗滌，較好是含有鹼金屬鹵化物之鹼金屬氫氧化物溶液。有機相濃縮，較好在真空下，生成式II之烯酯產物。式II產物再以有機溶劑吸收，如二氯甲烷，並進一步依'332專利案所述方式反應，產生式I產物。

當三鹵乙腈用於環氧化作用反應時，頃發現溶劑的選擇十分重要，而以鹵化溶劑為最佳，二氯甲烷尤佳。溶劑如二氯乙烷及氯苯可得合理令人滿意的產率，但產率以在二氯甲烷反應介質中為更佳。溶劑如乙腈及乙酸乙酯通常有不佳之產率，而在甲醇或水/四氫呋喃等溶劑中之反應則少有欲求產物。

進一步依據本發明，頃發現利用三鹵乙醯胺而非三鹵乙腈為環氧化反應之環氧化物活化劑，應了解可使環氧美克瑞酮之合成有許多改善。依據特佳之製程，環氧化作用之進行將式IIA受質與過氧化氫在三鹵乙醯胺及適合的緩衝

物質存在下反應。較好，反應在約3至約7，更好約5及約7之間之pH範圍下進行。然而估不論這些考量，在較佳pH範圍外仍可有成功的反應。

以含有磷酸氫二鉀之緩衝溶劑及/或含有磷酸氫二鉀及磷酸二氫鉀在約1:4及約2:1間相對比例，最好約2:3範圍內之組合緩衝溶劑可得到尤佳之結果。也可使用硼酸鹽緩衝溶液，但轉化作用通常較緩慢於磷酸二鉀或K_2HPO_4/KH_2PO_4混合物時。不論是何組合之緩衝溶液，其應可生成在上示範圍內之pH值。除了緩衝溶劑整體組成，或其可傳予之精確pH值之外，可觀察到，若至少部份的緩衝溶液由二鹼式磷酸氫離子所組成則反應可較有效率地進行。咸信此離子基本上充作均質之催化劑，參與於含有促進劑及氫過氧化物離子之加合物或複合物之形成中，其產生接著對整體環氧化作用反應機制是必要的。因此，對二鹼式磷酸氫鹽(較好來自K_2HPO_4)之定量要求可能僅是低的催化濃度。一般而言，K_2HPO_4較好以至少約0.1當量之比例存在，如約0.1及約0.3當量之間，每當量受質計。

反應在適合的溶劑中進行，較好是二氯甲烷，但另外也可使用其他的鹵化溶劑，如氯苯或二氯乙烷。也發現甲苯及甲苯及乙腈之混合物也有令人滿意之結果。在不受縛於特定理論下，有假定指出反應在二相系統中可最有效率地進行，其中氫過氧化物中間物被形成並分佈至低水含量之有機相，並可與有機相中之受質反應。因此較佳之溶劑為水溶液低者。納有另一種溶劑，如乙腈，可促進自甲苯中

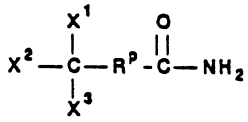
之有效回收。

在式II受質至式I產物之轉化作用中，甲苯可提供製程之優點，因為受質可在甲苯中自由地溶解而產物則否。因此，反應中當轉化作用到達40-50%範圍時產物可沉澱，產生一種三相混合物，由此產物可由過濾合宜地分離。在進行此製程步驟之轉化作用中，甲醇，乙酸乙酯，單獨的乙腈，THF及THF/水尚未被證明可如鹵化溶劑或甲苯般有效。

雖然三氯乙醯胺為高度較佳之試劑，也可使用其他的三鹵乙醯胺類，如三氟乙醯胺及氯二氟乙醯胺。也可使用三鹵甲基苄醯胺，及其他在電子吸收性三鹵甲基及醯胺之羰基間具有伸芳基，烯基或炔基部份之化合物(或其他可將電子吸收基之電子吸收作用轉移至醯胺羰基之基團)。也可使用七氟丁醯胺，但少有不錯之結果。一般而言，過氧化物活化劑可相當於下式：

$$R^{o}C(O)NH_2$$

其中R^{o}是其電子吸收強度(由δ常數可測及)至少和單氯甲基一樣高之基團。電子吸收基較好直接粘附至醯胺羰基以得最大效力。較好，過氧化物活化劑相當於下式：



其中R^{P}是可將電子吸收基團之電子吸收作用轉移至醯胺羰基之基團，且較好是選自伸芳基，烯基，炔基及-$(CX^4X^5)_n$-部份；X^1，X^2，X^3，X^4及X^5獨立選自鹵，氫，

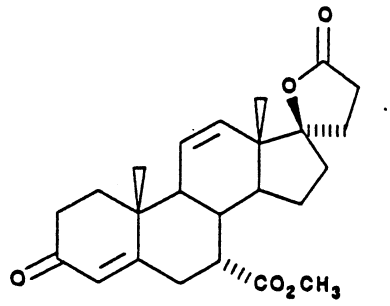
烷基，鹵烷基及氰基及氰烷基；且n是0，1或2；限制條件為當n是0，則X^1，X^2及X^3至少一者是鹵，且當R^P是-$(CX^4X^5)_n$-且n是1或2，則X^4及X^5至少一者是鹵。當X^1，X^2，X^3，X^4或X^5任一者非鹵時，其較好是鹵烷基，更好是全鹵烷基。特佳之活化劑包括其中n是0，且X^1，X^2及X^3至少二者是鹵；或其中R^P是-$(CX^4X^5)_n$-，n是1或2，X^4及X^5至少一者是鹵，X^4及X^5另一者是鹵或全鹵烷基，及X^1，X^2及X^3是鹵或全鹵烷基者。X^1，X^2，X^3，X^4及X^5各自較好是Cl或F，最好是Cl，然而混合的鹵化物也適合，如全氯烷基或全溴烷基及其組合，限制條件為直接粘附至醯胺羰基之碳為至少一個鹵基所替代。

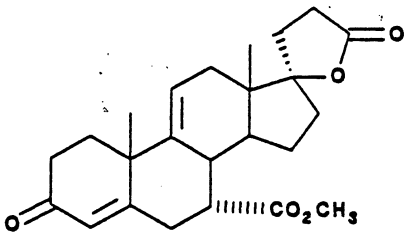
過氧化物活化劑之含量較好是最初存在之受質每當量有至少約1當量，較好約1.5及約2當量間之比例。過氧化氫應以至少中度過量加至反應中，或於環氧化作用反應進行時逐漸加入。雖然反應消耗在每莫耳受質下僅1至2當量之過氧化氫，相較於受質及最初存在之活化劑，過氧化氫較好以實質上較過量型式加入。不欲將本發明限制於特定理論中，咸信反應機制涉及活化劑及過氧化物陰離子加合物之形成，且此反應之形成是可逆的，而平衡有益於逆向反應，因此為了驅動反應以向前方向進行，過氧化氫有必要以實質上多於最初量之量加入。溫度並未嚴苛限制，且可在約0℃至約100℃範圍內有效率地進行。最適宜溫度依溶劑之選用而定。一般而言，較佳的溫度在約20℃及約30℃之間，但在某些溶劑中，如甲苯，反應可在約60℃至約70

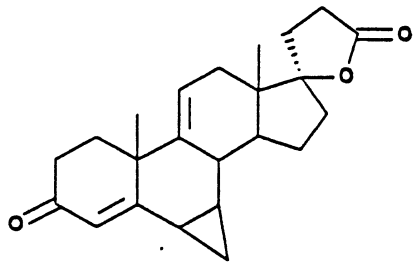
℃之範圍中有益地進行。在約25℃下，反應通常在10小時以下，通常約3至約6小時。若必要時，於反應循環末了可加入額外的活化劑及過氧化氫，以達到受質之完全轉化。

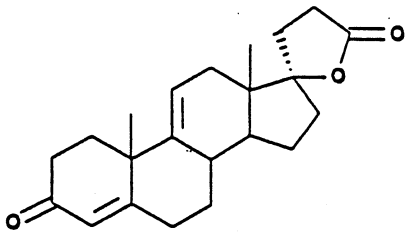
於反應循環末了，移去水相，有機反應溶液較好洗滌以移去水可溶性雜質，之後經由溶劑之移去可回收產物。於移去溶劑之前，反應溶液應以緩和至中度之鹼洗滌，如碳酸鈉。較好，反應混合物相繼以下列洗滌：緩和的還原溶液，如亞硫酸鈉於水中之弱(如約3%按重計)溶液；鹼溶液，如NaOH或KOH(較好約0.5N)；酸溶液如Hcl (較好約1N)；及最後含有水或鹽水之中性洗劑，較好飽和的鹽水，以使產物流失減至最低。在移去反應溶劑之前，另外的溶劑如有機溶劑，較好是乙醇，也可有益地加入，如此產物在蒸餾移去較具揮發性反應溶劑後可以結晶法回收。

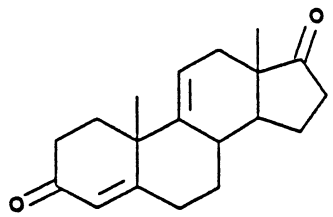
應了解，利用三氯乙醯胺或其他新穎過氧化物活化劑之新穎的環氧化作用方法，其應用性超過製備環氧美克瑞酮的各種流程，且事實上可用於環氧化物之形成，其可穿越液相中接受反應之各種受質之鏈烯雙鍵。反應對於不飽和化合物特別有效，其中鏈烯被四取代及三取代，即，$R^aR^bC=CR^cR^d$及$R^aR^bC=CR^cH$，其中R^a至R^d代表氫以外之取代基。當受質是環狀化合物且有三取代之雙鍵，或環狀或無環化合物有四取代之雙鍵，則反應可最快速且完全的進行。用於環氧化作用反應之示範受質包括$\triangle^{9,11}$-肯瑞酮，以及以下受質：

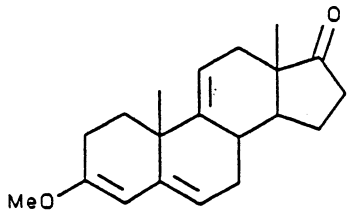






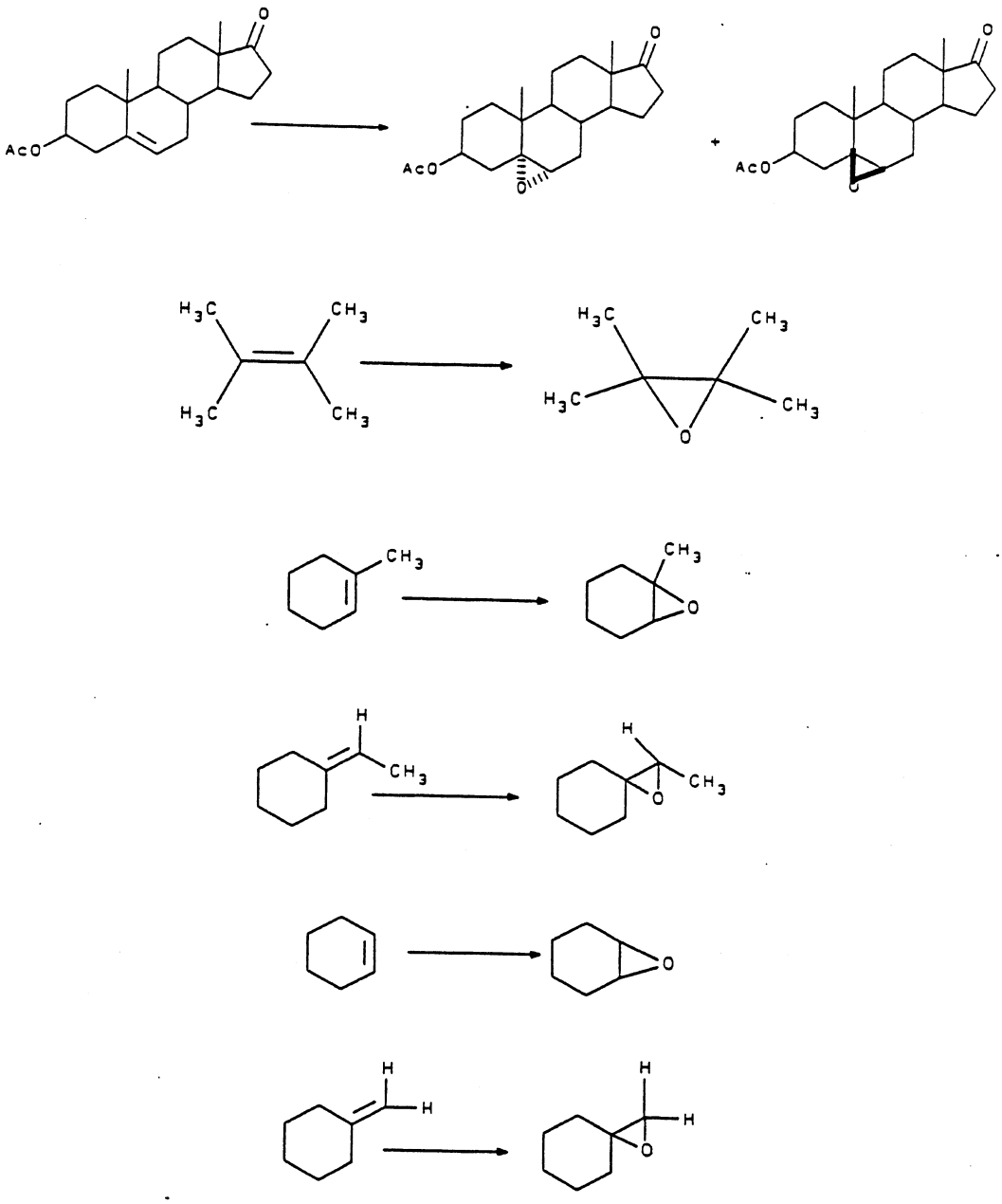






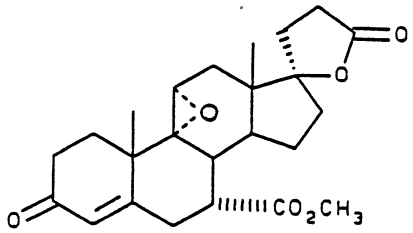
因為以三取代及四取代之雙鍵，反應可較快速且完全地進行，對於化合物中含有其他雙鍵且鏈烯碳被單取代或甚至二取代，穿越此雙鍵進行選擇性環氧化作用尤其有效率。

其他說明一般環氧化反應之非限制性實例包括以下的環氧化反應：



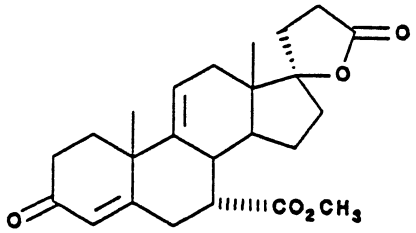
應進一步了解可使用反應以有利於單取代或甚至二取代雙鍵之環氧化作用，如於各種類固醇受質中之11,12-鏈烯。然而，因為其可差別地環氧化較高度取代的雙鍵，如9,11-鏈烯，亦具高度選擇性，本發明之製程在此中所述的各種反應流程環氧化步驟中，對於達到高產率及產製力上尤其有效。

所改進的方法已示出對下列之製備特別具有益之應用性：



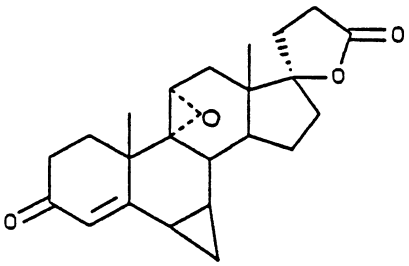
IB

即環氧化：



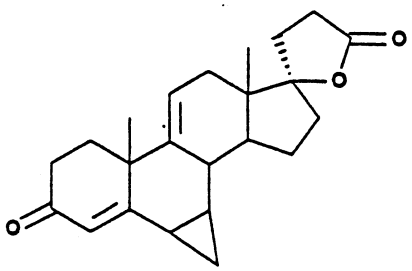
；及

及製備：



IC

即環氧化：



本發明製程已證明有許多優點，其中三氯乙醯胺替代三氯乙腈為環氧化反應之氧轉移試劑。三氯乙醯胺試劑系統對於電子較缺乏之鏈烯具有低的親和力，如α,β-不飽和酮

類。如可選擇性環氧化含有二型雙鍵受質之非共軛鏈烯。另外，在如類固醇之複雜受質中，二取代及三取代鏈烯可由反應予以區分。因此，在異構之△-9,11及△-11,12化合物環氧化作用中可觀察到良好之選擇性。在此例中可形成9,11環氧化物，而含有△-11,12雙鍵之異構物則少有反應。因此，與使用三鹵乙腈之反應比較下，反應產率，產物概況及最終純度均可實質地加強。進一步發現，使用三鹵乙腈時可觀察到的氧過度產生，於三氯乙醯胺時會減至最少，使環氧化作用更為安全。進一步和三氯乙腈促進之反應相反，三氯乙醯胺反應呈現最少的放熱作用，因此有助反應熱概況之控制。可觀察到攪動效應減至最少，且反應器之性能較一致，此又為優於三氯乙腈製程之進一步優點。反應較三氯乙腈促進之反應更易於擴大。產物之分離及純化十分簡易。在此並無使用間位一氯過氧基苯甲酸或其他過酸時所經驗到之羰基官能基之Bayer-Village氧化作用(過氧化物促進之酮至酯之轉化)。試劑不貴，易取得且易處理。

此外，將流程1合成步驟中之粗製產物層析，可觀察到以下化合物，其中式II之烯酯轉化成式I之化合物：

(1)式II烯酯新穎的11α,12α-環氧化物，如11α,12α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯；

(2)式II烯酯新穎的4,5:9,11-二環氧化物，如4α,5α:9α,11α-二環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-

(S)

二羧酸7-甲基酯，γ-內酯；

(3)式II烯酯新穎的12-酮，如17-羥基-3,12-二酮-17α-孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯；

(4)式II烯酯新穎的9,11-二羥基，如9α,11β,17-三羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯；

(5)式II烯酯新穎的12-羥基類似物，如12α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯；及

(6)式I化合物新穎的7-酸，如9,11α-環氧基17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯；

這些化合物在充作式I化合物製備時之合成中間物及/或層析標幟上有利用價值。特別是環氧美克瑞酮。

式II烯酯之11α,12α-環氧化物被假設在先前步驟中可經由產生之雜質而形成，其中式IV化合物轉化成式II之烯酯。此雜質層析分離，且是$\triangle^{11,12}$烯酯。其通常與$\triangle^{9,11}$烯酯一起產生，比例約90:10 ($\triangle^{9,11}$烯酯：$\triangle^{11,12}$烯酯)，然而此比例可變化。在式II烯酯轉化成式I化合物之中，$\triangle^{11,12}$烯酯之氧化作用可生成11α,12α-環氧化物。

式I烯酯之4,5:9,11-二環氧化物可層析分離。有假說指出其得自烯酯之過度環氧化作用。其通常在粗製產物中以約5%按重計以下之水平被觀察到，然此量可有所變化。

式II烯酯之12-酮可層析分離。其有假說指出得出烯酯之烯丙基氧化作用。其通常在粗製產物中以約5%按重計以下之水平被觀察到，然而此量可有所變化。當以三氯乙腈

為過氧化氫活化劑時，粗製產物中測及之12-酮水平較以三氯乙醯胺為活化劑時之水平還高。

式II烯酯之9,11-二羥基可層析分離。其在粗製產物中通常以約5%按重計以下之水平被觀察到，然而此量可有所變化。有假說指出其得自式I環氧化物之水解作用。

式II烯酯之12-羥基可析層分離。其在粗製產物中通常以約5%按重計以下之水平被觀察到，然而此量可有所變化。有假說指出其得自11,12-環氧化物之水解作用，繼而11β-羥基之消去作用。

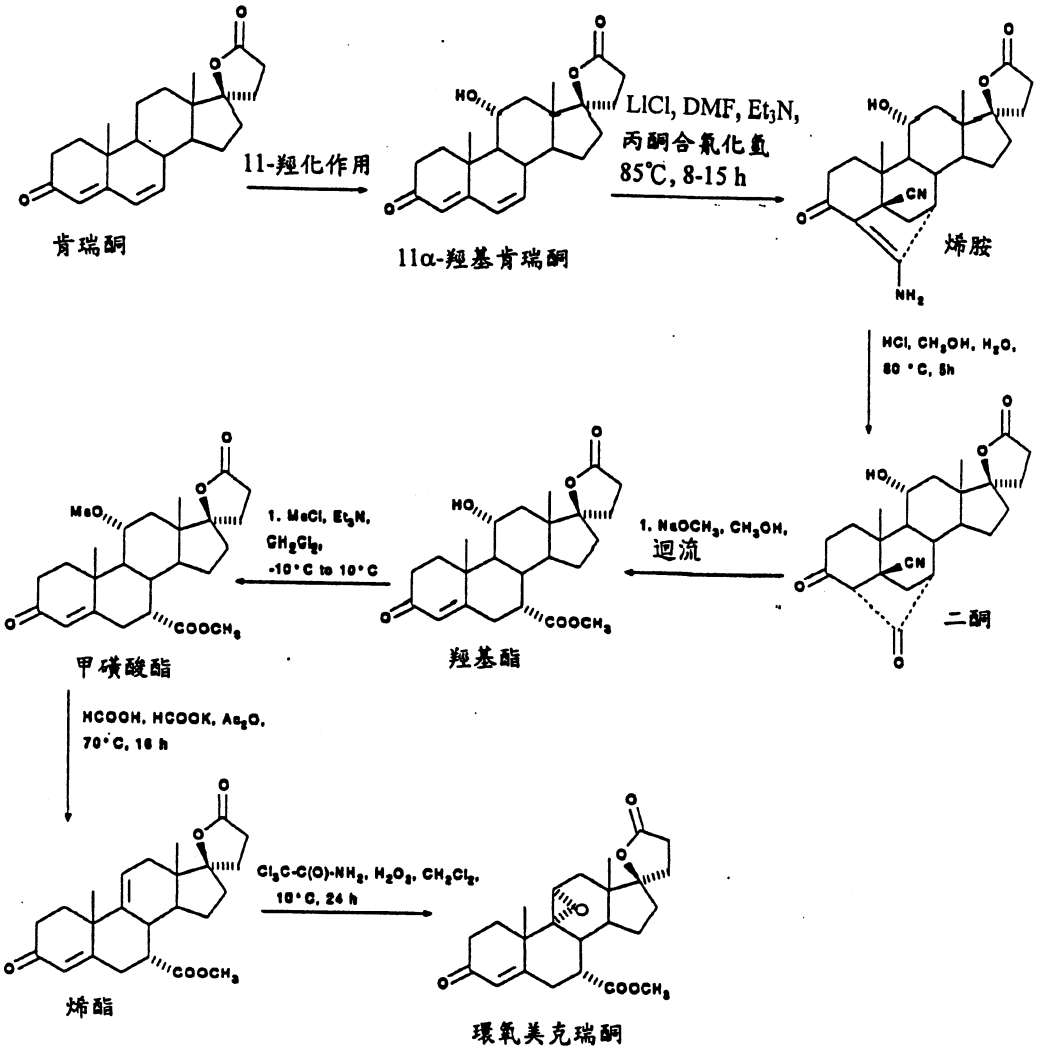
此外，依此揭示所製備之式I化合物可予以進一步變化，生成有改進特性之代謝物，衍生物，前藥等(如改進之溶解度及吸收性)有助環氧美克瑞酮之投藥及/或效力。式I化合物之6-羥基(如6β,17-二羥基-9,11α-環氧基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯)為新穎的化合物，其被鑑知為技藝中可能的代謝物。6-羥基代謝物可製備自相當的乙基烯醇醚(如，9,11α-環氧基-3-乙氧基-17-羥基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯)。式I化合物之乙基烯醇醚可依示於R.M. Weier及L.M. Hofmann (J. Med Chem 1977, 1304)之步驟而製備，其已列為此中之參考。乙基烯醇醚再與間位-氯過苯甲酸反應，以生成式I化合物相當的6-羥基。

進一步假說指出，環氧美克瑞酮單羧酸鹽，特別是鉀及鈉鹽之單羧酸鹽，是一種有助於式I化合物投予至個體之適合的變化型式，其中該個體有服用醛固酮拮抗劑。在緩

和鹼性條件下，選擇性打開式I化合物之螺內酯，但不水解C7酯取代基是有可能的，以生成相當的17β-羥基-17α-(3-丙酸)類似物。這些開鏈類似物較其內酯對應部份更具極性，且當以逆相HPLC分析時，有較短的滯留時間。酸性條件通常會造成內酯環之再生。

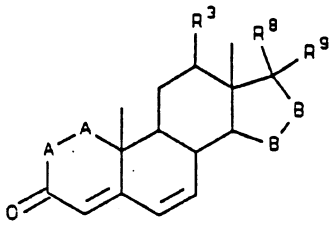
在較嚴格條件下，螺內酯被打開且C7酯水解，生成相當的副產物，即式I化合物之17β-羥基-17α-(3-丙酸)-7-酸類似物。這些二羧酸當以逆相HPLC分析時，有較單羧酸還短的滯留時間。酸性條件(如以稀酸處理，如0.1-4 M氫氯酸)通常造成二羧酸內酯環之再生。

本發明新穎的環氧化作用方法，在流程1合成之總結步驟上有高度有用性。在特佳之具體實例中，整體之流程，製程如下進行：



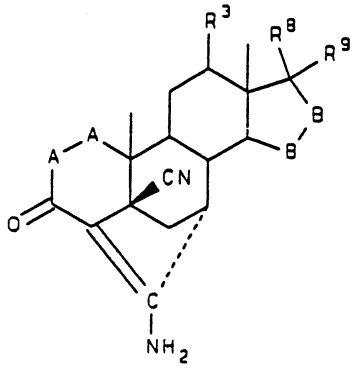
流程2

本發明第二新穎的反應流程(流程2)始自肯瑞酮或其他相當於式XIII之受質



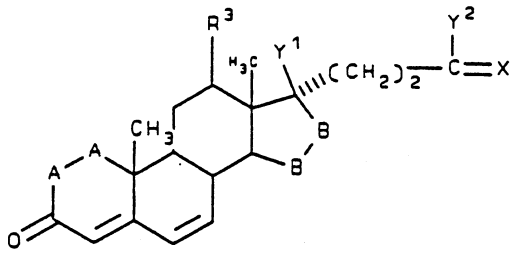
XIII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XII中所定義。在此製程的第一步驟，式XIII之受質轉化成式XII產物



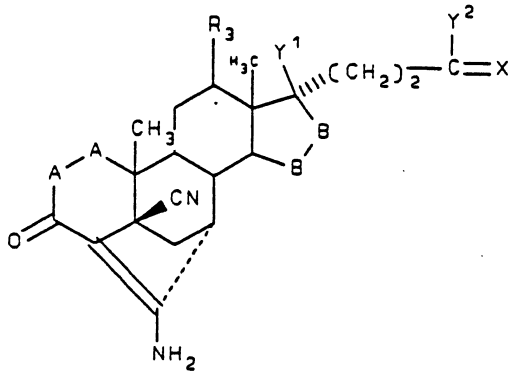
XII

利用氧化作用反應流程進行，其實質上和式VIII受質轉化成式VII中間物所述的相同。較好，式XIII受質相當於式XIIIA



XIIIA

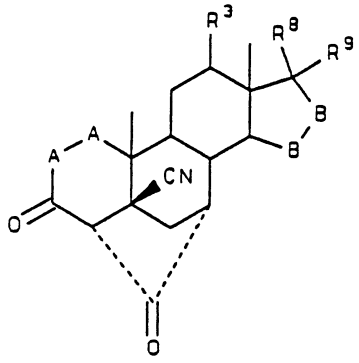
且烯胺產物相當於式XIIA



XIIA

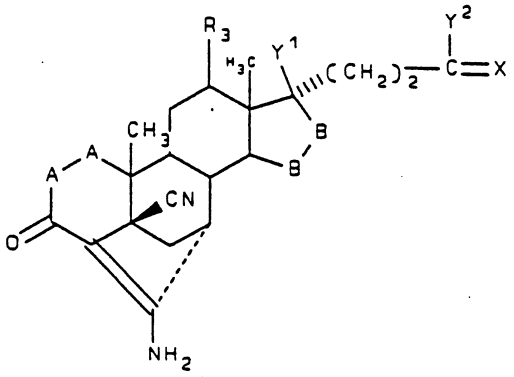
其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1及Y^2及X各自如式XIIIA中所定義。較好，R^3是氫。

而流程2第二步驟中，式XII之烯胺可水解生成式XI之中間物二酮產物



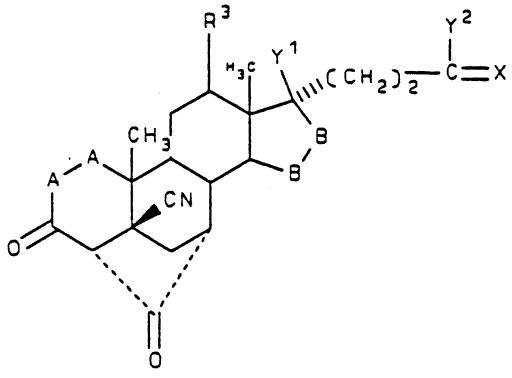
XI

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義，利用和式VIII受質轉化成式VII中間物所述相同之反應流程。較好，式XII受質相當於式XIIA



XIIA

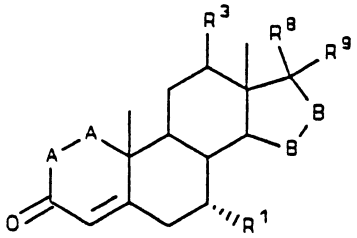
且二酮產物相當於式XIA



XIA

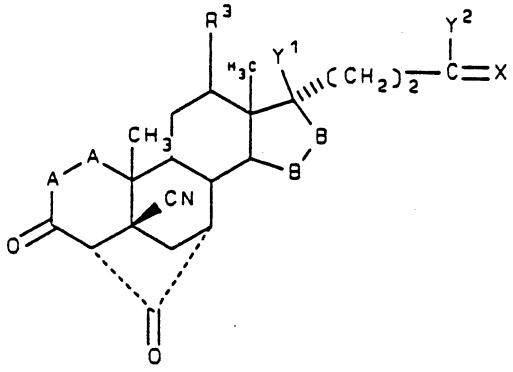
其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1及Y^2及X各自如式XIIIA中所定義。較好，R^3是氫。

進一步依據反應流程2，式XI之二酮與鹼金屬烷氧化物反應，形成相當於式X之美克瑞酮或其他產物：



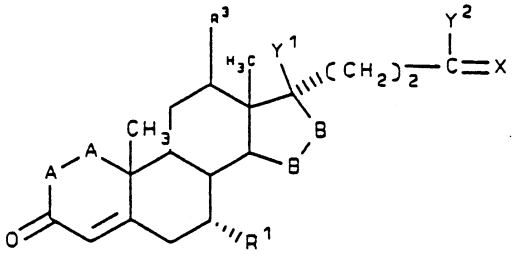
X

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9各自如式XIII中所定義，且R^1如式V中所定義。利用和式VI化合物轉化成式V之相同反應流程。較好，式XI受質相當於式XIA



XIA

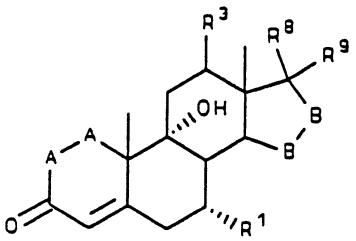
且中間物產物相當於式XA



XA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1及Y^2及X各自如式XIIIA中所定義，且R^1如式V中所定義。較好，R^3是氫。

美克瑞酮及式X其他化合物再行9α-羥化，利用新穎的生物轉化製程生成式IX產物



IX

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義，且R^1如式V所定義。此中可用於此羥化作用步驟中之有機體有：**Nocardia conicruria** ATCC 31548, **Nocaria aurentia** ATCC 12674, **Corynespora cassiicola**(山扁豆生棒孢)ATCC 16718, **Streptomyces hydroscopicus**(吸水鏈霉菌)ATCC 27438, **Mortierella isabellina** ATCC 42613, **Beauvria bassiana**(白僵菌)ATCC 7519, **Penicillum purpurogenum**(產紫青霉)ATCC 46581, **Hypomyces chrysospermus**(金孢菌寄生)IMI 109891, **Thamnostylum piriforme** ATCC 8992, **Cunninghamella blakesleeana**(短刺小克銀漢霉)ATCC 8688a, **Cunninghamella echinulata**(刺孢小克銀漢霉)ATCC 3655, **Cunninghamella elegans**(雅致小克銀漢霉)ATCC 9245, **Trichothecium roseum** (粉紅單端孢) ATCC 12543, **Epicoccum humicola** ATCC 12722, **Saccharopolyspora eythrae ATCC 11635, Beauvria bassiana** (白僵菌) ATCC 13144, **Arthrobacter simplex**(簡單節桿菌), **Bacterium cyclooxydans** ATCC 12673, **Cylindrocarpon radicicola** ATCC 11011, Nocardia aurentia ATCC 12674, Norcardia

restrictus ATCC 14887, **Pseudomonas testosteroni**睪丸酮假單孢菌ATCC 11996, **Rhodococcus egui** ATCC 21329, **Mycobacterium fortuitum**(偶發分枝桿菌)NRRL B8119，及 **Rhodococcus rhodochrous**(玫瑰色紅球菌)ATCC 19150。反應進行之方式實質上和圖1及圖2所述相關。以圖1之製程為特佳。

用於生物轉化之生長培養基，較好含有約0.05%及約5%按重計間之可用之氮；約0.5%及約5%按重計間之葡萄糖；約0.25%及約2.5%按重計間之酵母衍生物；及約0.05%及約0.5%按重計間之可用的磷。特佳之生長培養基包括下列：

大豆粉：約0.5%及約3%按重計間之葡萄糖；約0.1%及約1!按重計間之大豆粉；約0.05%及約0.5%按重計間之鹼金屬鹵化物；約0.05%及約0.5%按重計間之酵母衍生物，如自主溶解之酵母或酵母浸膏；約0.05%及約0.5%按重計間之磷酸鹽，如K_2HPO_4，pH=7；

蛋白胨-酵母浸膏-葡萄糖：約0.2%及約2%按重計間之蛋白胨；約0.05%及約0.5%按重計間之酵母浸膏；及約2%及約5%按重計間之葡萄糖；

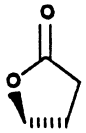
Mueller-Hinton：約10%及約40%按重計間之牛肉浸膏；約0.35%及約8.75%按重計間之酪胺酸；約0.15%及約0.7%按重計間之澱粉。

真菌可在大豆粉或蛋白胨營養物上生長，而放線菌及正常細菌則可在大豆粉(加上0.5%至1%按重計之羧酸鹽如甲

酸鈉，以供生物轉形)或在Mueller-Hinton肉汁中。

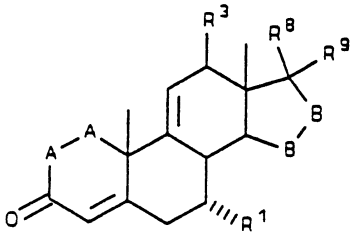
以醱酵自美克瑞酮產生11β-羥基美克瑞酮於實例19B中討論。可採用類似的生物轉化製程來製備其他的起始物質及中間物。實例19A揭示雄烯二酮至11β-羥基雄烯二酮之生物轉化。實例19C揭示美克瑞酮至11α-羥基美克瑞酮，$\triangle^{1,2}$-美克瑞酮，6β-羥基美克瑞酮，12β-羥基美克瑞酮，及9α-羥基美克瑞酮之生物轉化。實例19D揭示肯瑞酮至$\triangle^{9,11}$-肯瑞酮之生物轉化。

式IX產物為新穎的化合物，其可由過濾分離，以適合的有機溶劑洗滌，如乙酸乙酯，再自相同或類似的溶劑中再結晶。其在充作式I化合物製備之中間物中具相當價值，且尤指式IA。較好式IX化合物相當於式IXA，其中-A-A-，-B-B-為$-CH_2-CH_2-$，R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基，且R^8及R^9一起構成20-螺氧烷環：



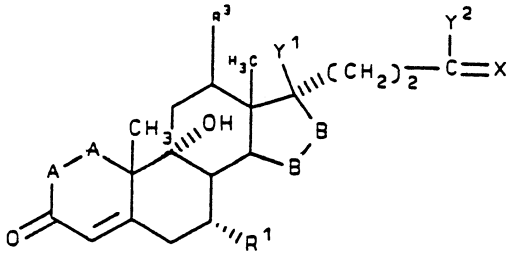
XXXIII

在流程2合成之下一步驟中，式IX產物與脫水劑反應(適合的脫水劑如PhSOCl或$ClSO_3H$為精藝者已知)以產生式II化合物



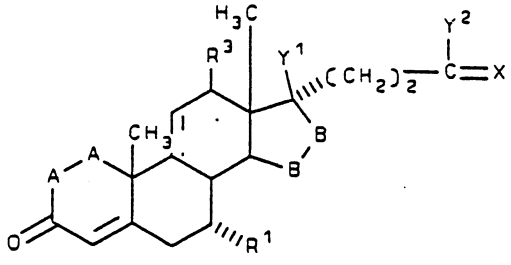
II

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義，且R^1如式V所定義。較好，式IX受質相當於式IXA



IXA

且中間產物相當於式IIA

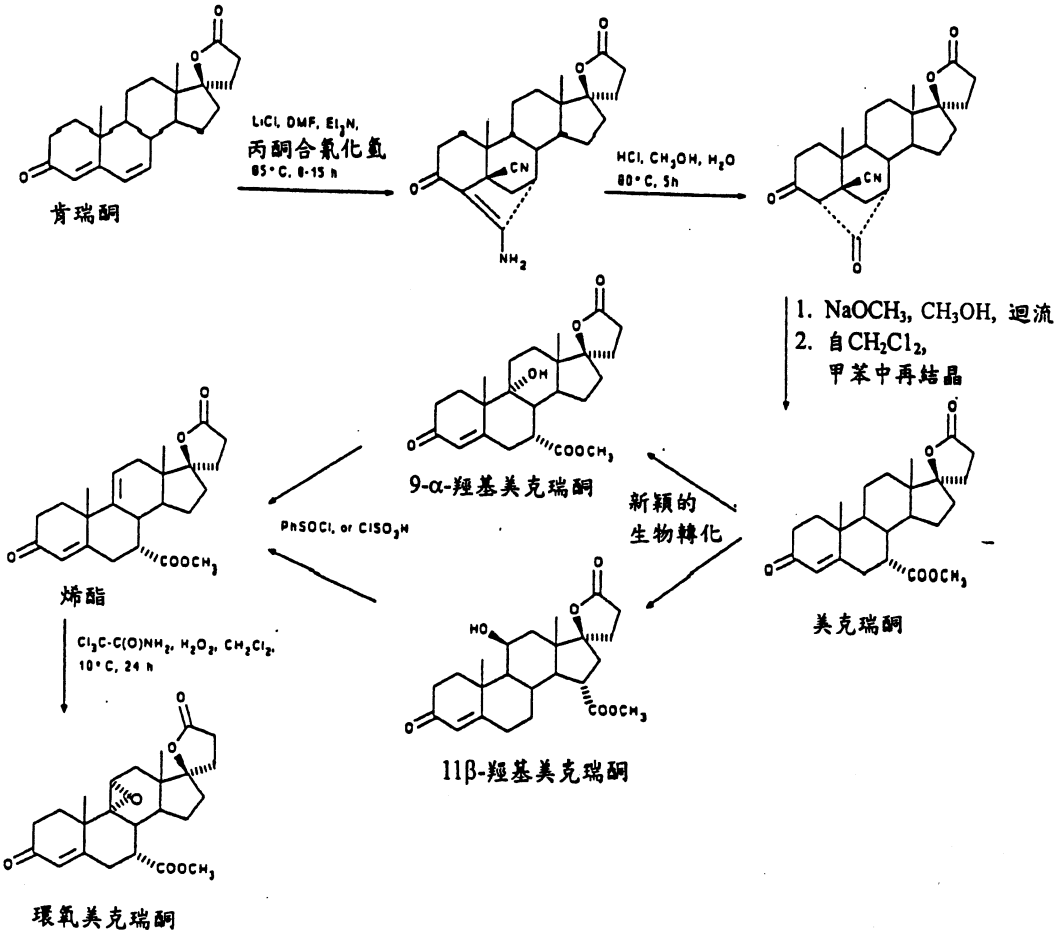


IIA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1及Y^2及X各自如式XIIIA中所定義，且R^1如式V中所定義，較好，R^3是氫。

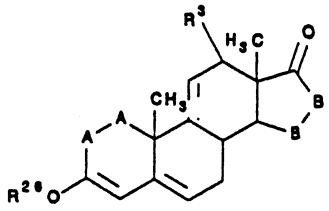
於合成流程的最後步驟中，式II產物轉化成式I，係依美國專利案No. 4,559,332所述之方法行環氧化作用；或較好是利用本發明上文所述之新穎的環氧化作用方法。

在特佳之具體實例中，整體之流程2製程如下進行：



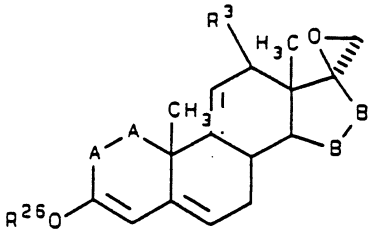
流程3

在此例中之合成始自相當於式XX之受質



XX

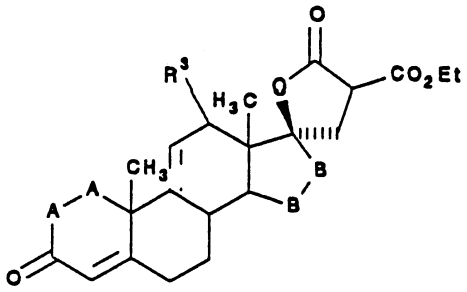
其中-A-A-及R^3如式XIII中所定義，-B-B-如式XIII中所定義，除了R^6及R^7均非在16,17位置上稠合至D環的環部份，且R^{26}是低碳烷基，較好是甲基。較好，R^3是氫。式XX受質與銃炔化物反應，可產生相當於式XIX之環氧化物中間物



XIX

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^{26}如式XX中所定義。較好，R^3是氫。

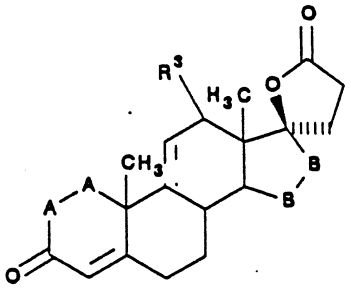
在合成流程3之下一步驟中，式XIX之中間物轉化成進一步的式XVIII中間物



XVIII

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。較好，R^3是氫。在此步驟中，式XIX受質轉化成式XVIII中間物，係在鹼於溶劑存在下與$NaCH(COOEt)_2$反應。

式XVIII化合物曝於熱，水及鹼鹵化物下可產生相當於式XVII之去羧化中間物

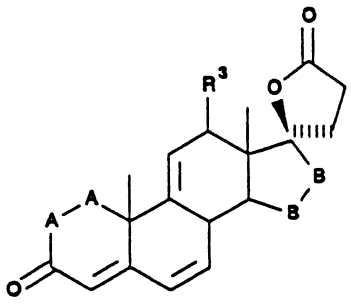


XVII

其中其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。較好，R^3是氫。式XX化合物至式XVII化合物之轉化過程，實質上相

當於美國專利案3,897,417，3,413,288及3,300,489中所述，其已自由地納入此中為參考。而雖然受質不同，試劑，機制及17-螺內酯部份引入之條件基本上是相同的。

式XVII中間物與去氫化試劑之反應，可生成進一步的式XVI中間物

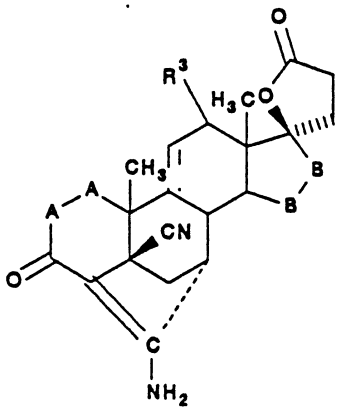


XVI

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。較好，R^3是氫。

有用之去氫化試劑包括二氯二氰基苯醌(DDQ)及氯醌(2,3,5,6-四氯-對位-苯醌)。另外，去氫化作用以在6-位置碳上依序鹵化，再行去氫鹵化反應也可達成。

式XVI中間物接下去可轉化成式XVB之烯胺



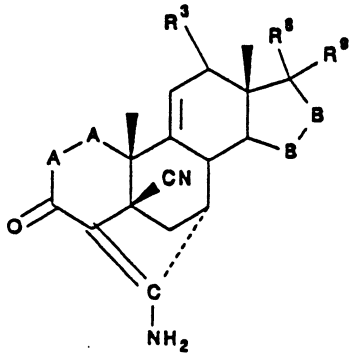
XVB

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。較好，R^3是氫。

以氰化作用轉化，基本上方式如上文式VIII之11α-羥基化合物轉化成式VII之烯胺。典型而言，氰化物離子來源可

以是鹼金屬氰化物。鹼較好是吡咯啶及/或四甲基胍。也可使用甲醇溶劑。

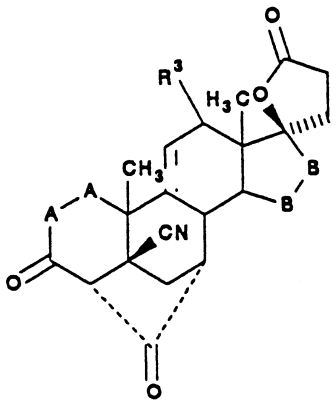
式XVB產物為新穎的化合物，其可由層析分離。這些及其他的式XV新穎化合物在充作中間物以製備式I化合物，尤其是式IA上具實質價值。式XV化合物相當於以下結構



XV

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義。在式XV及式XVB最佳化合物中，-A-A-及-B-B-是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。

依據上述產生式VI之二酮化合物之水解作用，式XVB之烯胺可轉化成式XIVB之二酮

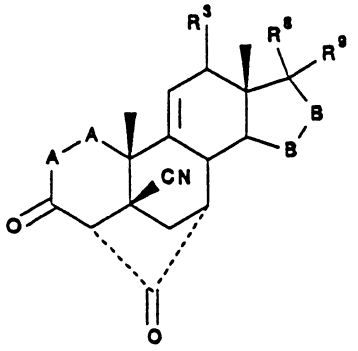


XIVB

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。較好，R^3是氫。用於合成環氧美克瑞酮之特佳化合物為式XIV，其也屬於

下文所定義之式XIVB範圍。

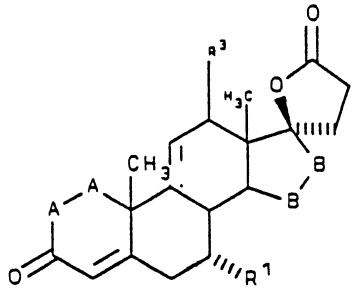
式XIVB產物為新穎的化合物，其可以沉澱分離。這些及其他新穎的式XIV化合物在充作中間物以製備式I化合物，尤其是式IA上，極具價值。式XIV化合物相當於以下結構



XIV

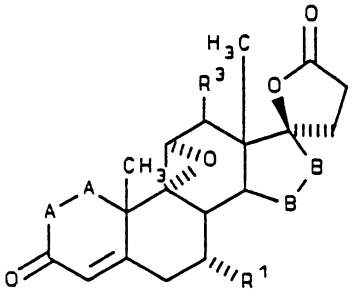
其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義。在式XIV及XIVB最佳化合物中，-A-A-及-B-B-是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。

式XIVB化合物進一步可轉化成式XXXI化合物，利用將式VI二酮轉化成式V羥基酯之基本上製程進行。在此例中，其必需分離中間物XXXI



XXXI

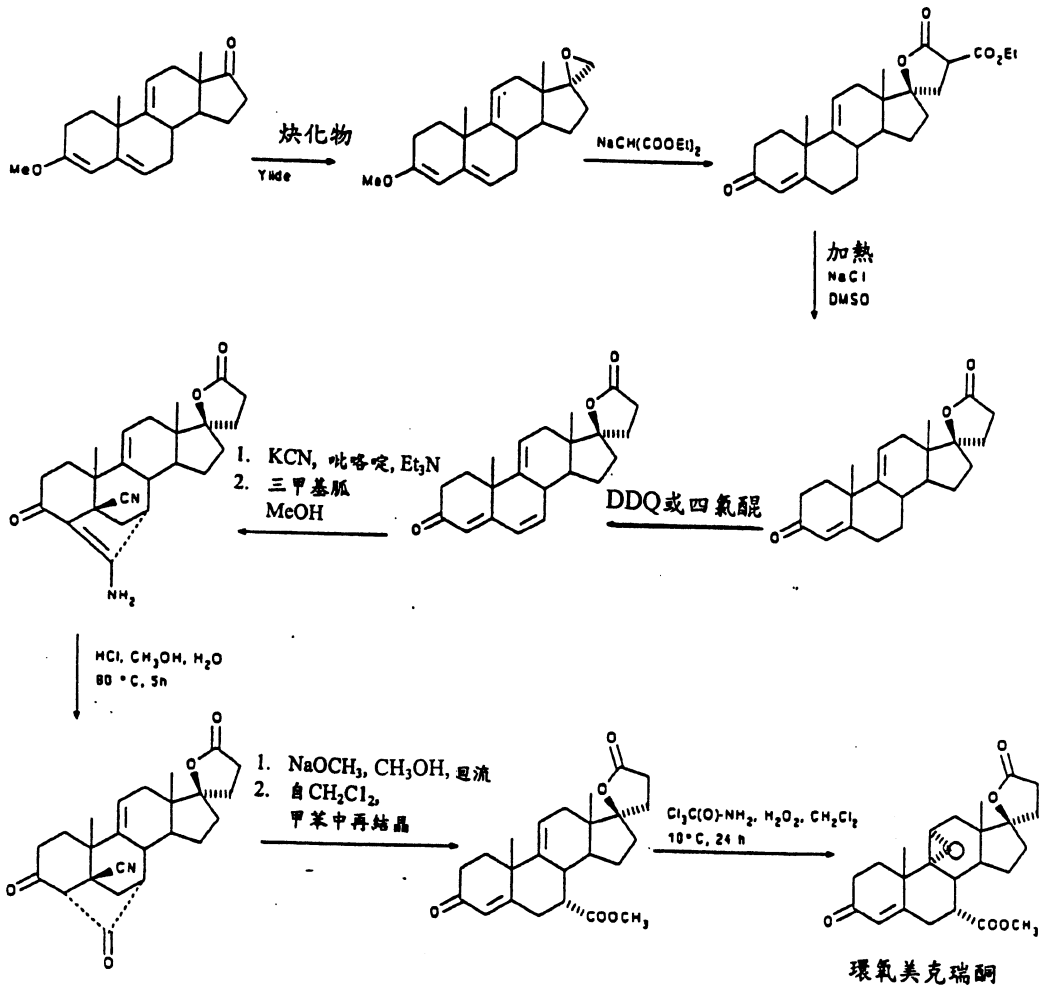
再可進一步轉化成式XXXII產物



XXXII

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義，且R^1如式V所定義。較好，R^3是氫。較佳之式XXXI化合物為屬於式IIA中者。式XXXI化合物轉化成式XXXII化合物，利用美國專利案4,559,332所述，或上文所述之方法。

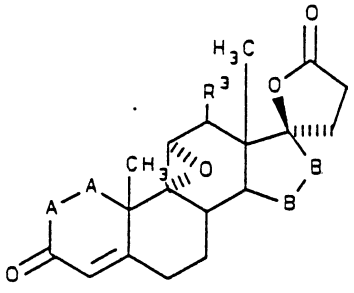
較好，式XIV化合物是4'S(4'α),7'α-1',2',3',4,4',5,5',6',7',8',10',12',13',14',15',16-'十六氫基-10β-,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]-環戊[a]菲]5'-腈；且式XV化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基-1',2',3',4,5,6',7',8',10',12',13',14',15',16'-十四氫基-10'α,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α (5'H)-[7,4]亞甲[4H]-環戊[a]菲]-5'-腈。在特佳之具體實例中，流程3整體之製程如下進行：



流程4

流程4前三個步驟和流程3相同，即，由相當於式XX之化合物開始式XVII中間物之製備。

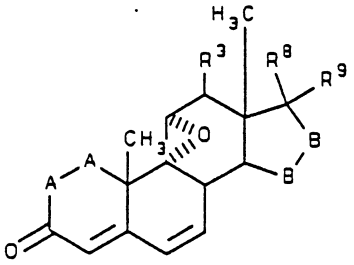
之後，式XVII中間物利用美國專利案No. 4,559,332之方法環氧化，生成式XXIV化合物



XXIV

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。然而，在本發明的特佳具體實例中，式XVII受質利用含有醯胺型過氧化物活化劑之氧化試劑，較好是三氟乙醯胺，穿越9,11-雙鍵環氧化，此依據上述流程1將式II之烯酯轉化為式I產物之製程。用於此反應之試劑條件及特性實質上如式II烯酯至環氧美克酮之轉化作用所述。特佳之式XXIV化合物為其中-A-A-及-B-B-如式XIII中所定義的，且R^3是氫。

頃發現式XVII受質之環氧化作用也可以極佳產率達成，可利用過酸如間位-氯過氧苯甲酸。然而，在減少Bayer-Villager氧化副產物形成上，三氟乙醯胺試劑可提供極佳結果。後一副產物可移去，但此需自溶劑，(如乙酸乙酯)中滴定，繼以自另一溶劑中結晶，如二氯甲烷。式XXIV之環氧化合物去氫化以產生介於6-及7-碳間之雙鍵，係與去氫化(氧化)劑反應，如DDQ或氯醌，或利用溴化/去氫溴化(或其他鹵化/去氫鹵化)次序，以產生式XXIII之另一新穎的中間物



XXIII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XX中所定義。特佳之式XXIII化合物為其中-A-A-及-B-B-如式XIII中所定義，且R^3是氫者。

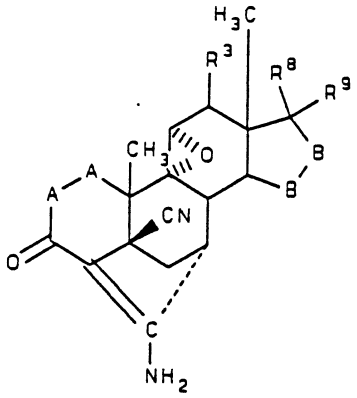
雖然直接氧化對於式XXIII產物之形成是有效的，然而

產率通常很低。因此，氧化作用較好以二步驟完成，先鹵化式XXIV受質中之C-6位置，再去氫鹵化成6,7-鏈烯。鹵化作用較好以N-鹵有機試劑達成，如N-溴琥珀醯亞胺。溴化作用於適合的溶劑中進行，如乙腈，並有鹵化促進劑之存在，如苄醯基化過氧。反應在約50℃至約100℃範圍中有效地進行，以大氣迴流溫度為合宜，且在溶劑中如四氯化碳，乙腈或其混合物。然而，為使反應完全通常需4至10小時。反應溶劑予以汽滌，且殘留物以水不相混溶之溶劑吸收，如乙酸乙酯。生成之溶液依序以緩和之鹼溶液(如鹼金屬碳酸氫鹽)及水、或較好是飽和之鹽水洗滌，以減少產物之流失，之後溶劑汽滌，且殘留物以另一溶劑吸收(如二甲替甲醯胺)，其適於去氫鹵化作用。

加適合的去氫鹵化試劑，如1,4-二吖二環[2,2,2]辛烷(DABCO)至溶液中，並加上鹼金屬鹵化物，如LiBr，溶液加熱至適合的反應溫度，如60℃至80℃，且反應可繼續數小時，通常4-15小時，以完成去氫溴化作用。於反應循環中依必要可加入額外的去氫溴化試劑，使反應可臻完全。再回收式XXIII產物，如加水使產物沉澱，其再以過濾分離，較好以額外份量之水洗滌。產物較好可自如二甲替甲醯胺中再結晶。

式XXIII產物，如9,11-環氧肯瑞酮，為新穎的化合物，其可以萃取/結晶法分離。其在充作中間物以製備式I化合物，且尤其是式IA上有實質的價值。例如，其可充作受質用於製備式XXIII化合物。

利用實質上上述之製程來製備式VII化合物，式XXIII化合物與氰化物離子反應，產生相當於式XXII之新穎的環氧烯胺化合物

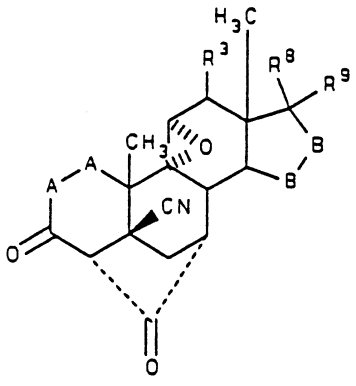


XXII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XX中所定義。特佳之式XXII化合物為其中-A-A-，-B-B-如式XIII所定義，且R^3是氫者。

式XXII產物是新穎的化合物，其可以沉澱及過濾法分離。在充作中間物製備式I化合物，且尤其是式IA上，其有實質的價值。式XXII最佳化合物中，-A-A-及-B-B-為-CH_2-CH_2-，且R^3是氫。

利用實質上式VI化合物上述之製程，式XXII之環氧烯胺可轉化成式XXI新穎的環氧基二酮化合物

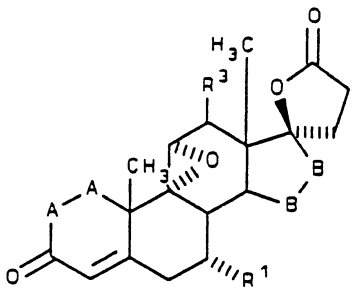


XXI

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如式XIII中所定義。在最佳的式XXI化合物中，-A-A-及-B-B-為$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。

式XXI產物為新穎的化合物，其可以沉澱及過濾法分離。其在充作中間物以製備式I化合物，尤其是式IA，上有實質價值。特佳的式XXI化合物為其中-A-A-及-B-B-如式XIII中所定義。在最佳之式XXI化合物中，-A-A-及-B-B-為$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。

利用實質上自式VI二酮化合物製備式V羥基酯化合物之製程，式XXI之環氧二酮化合物可轉化成式XXXII化合物



XXXII

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義，且R^1如式V中所定義。

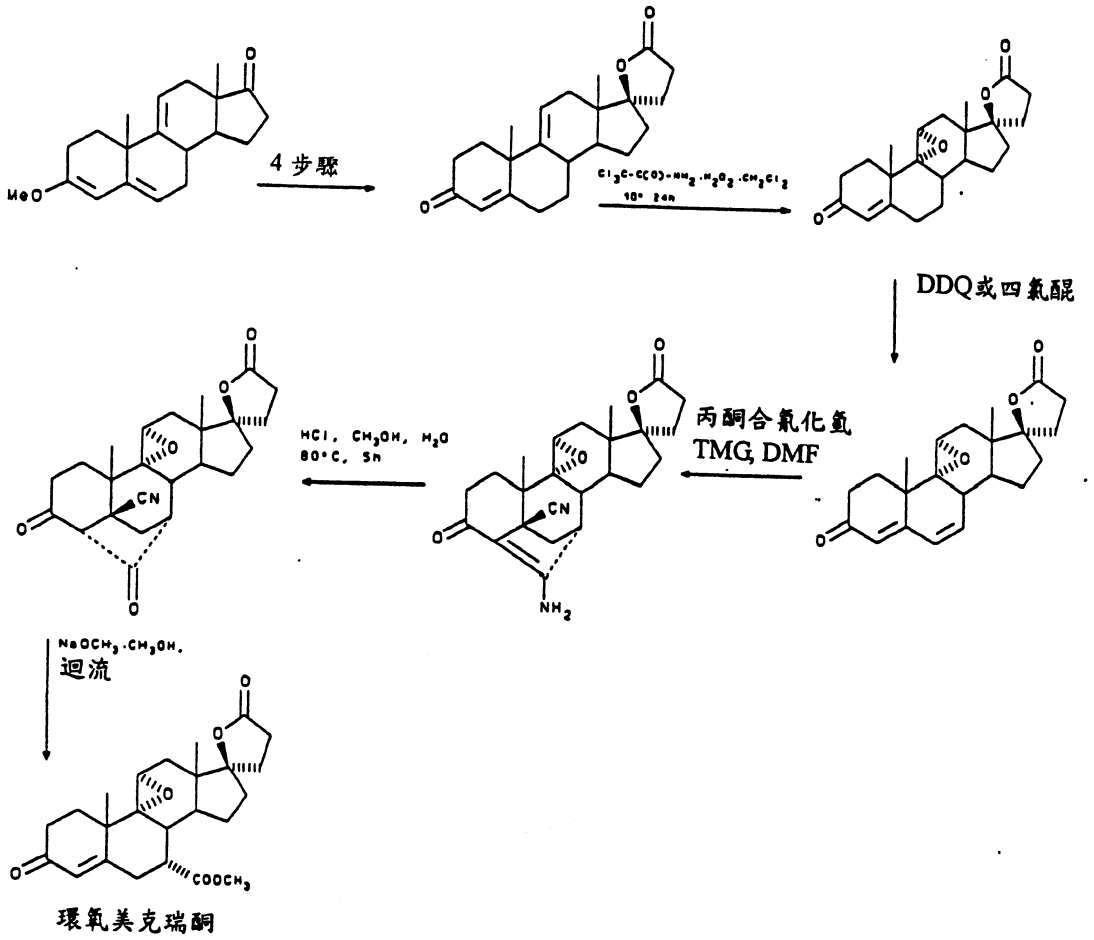
如式V二酮至式VI羥基酯之轉化，在式XXI環氧二酮至式XXXII之轉化過程中也可形成5-β-氰基-7-酯中間物。在二系列中之5-β-氰基-7-酯中間物，可由相當的二酮以醇處理而分離，如甲醇，並在鹼存在下如三乙胺。較好，中間物之製備由二酮於醇之混合物迴流而成，如甲醇，其中每莫耳二酮含有約0.1至約2當量的三乙胺，歷約4至約16小時。產物以純型式分離，即將混合物冷卻至約25℃再予以

過濾。所分離的中間物在以鹼處理下可轉化成式XXXII化合物，如鹼金屬烷氧化物，並於溶劑中，較好是醇如甲醇。在醇中使用烷氧化物可發展出平衡混合物，其和相當的式XXI二酮在相同條件下處理所形成的相似。

此外，式XXXII化合物之7β-酯(如9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7β,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯)已可在流程4製程最後步驟之粗製產物層析中觀察到。溶液中之烷氧化物及/或氧化物可反應及轉化7α-酯成為7α-酯及其7β-酯差向異構物之差向異構混合物。純的7β-酯可自差向異構物混合物中經選擇性結晶法分離。

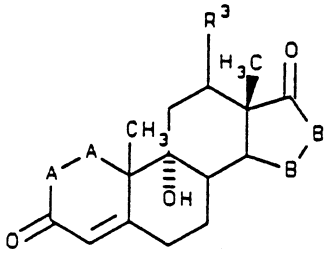
較好，式XXI化合物是4'S(4'α),7'α-9',11α-環氧十六氫-10β-13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]-環戊[a]菲-5'-腈；式XXII化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基-9,11β-環氧基十六氫-10',13'-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'a(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲-5'-腈；且式XXIII化合物是9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯。

在特佳之具體實例中，流程4整體之製程如下：



流程5

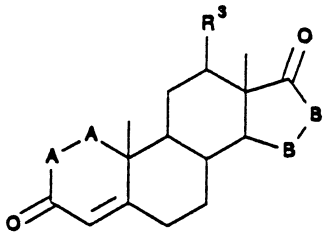
流程5之製程始自相當於式XXIX之受質



XXIX

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。以下微生物可進

行式XXXV化合物之9α-羥基化作用(如雄烯二酮)

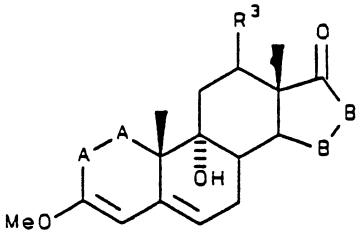


XXXV

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XIII中所定義，在類似實例19B所述之條件下生成式XXIX化合物：

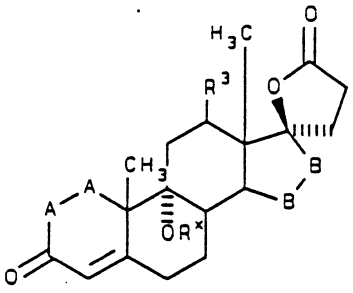
黑曲霉 ATCC 16888及26693, **Corynespora cassiicola** ATCC 16718, **Curvularia clavata** ATCC 22921，**偶發分枝桿菌** NRRL B8119，**犬股諾卡氏菌** ATCC 31548，**密孔菌** ATCC 12231，**小孢硬束霉** ATCC 2833，**總狀共頭霉** ATCC 18192，及**Thamnostylum piriforme** ATCC 8992。

相當於式XXIX之受質轉化成式XXVIII產物



XXVIII

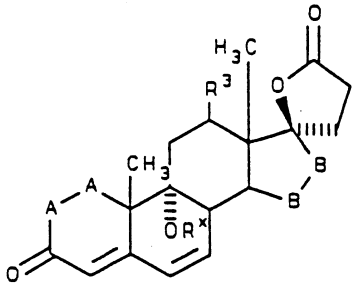
係與三甲基原甲酸酯反應，其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。式XXVIII化合物形成之後，利用式XX受質至式XVII之轉化作用所述方法，這些化合物可轉化成式XXVII化合物。式XXVII化合物有以下結構：



XXVII

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義，且R^x是普通羥基保護基任一者。另外，C9α-羥基可在此合成流程中較先前步驟時保護，此係若此保護步驟是必要時，即，式XXVIII化合物之C9羥基或式XXIX化合物之C9羥基可以普通的羥基保護基任一者保護。

利用上述式XVI化合物所述之製程，式XXVII化合物可氧化生成相當於式XXVI新穎化合物

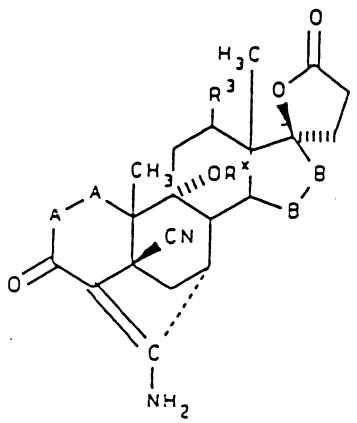


XXVI

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。特佳之式XXIX，XXVIII，XXVII及XXVI化合物為其中-A-A-及-B-B-如式XIII中所定義，且R^3是氫。

式XXVI產物是新穎的化合物，其可以沉澱/過濾法分離。其在充作中間物製備式I，且尤其是式IA方面有實質的價值。特佳之式XXVI化合物為其中-A-A-及-B-B-如式XIII中所定義，且R^3是氫。在式XXVI最佳化合物中，-A-A-及-B-B-是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。

利用上述式VIII化合物氰化作用所定義之方法，式XXVI新穎的中間物可轉化成式XXV新穎的9-羥基烯胺中間物



XXV

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中所定義。

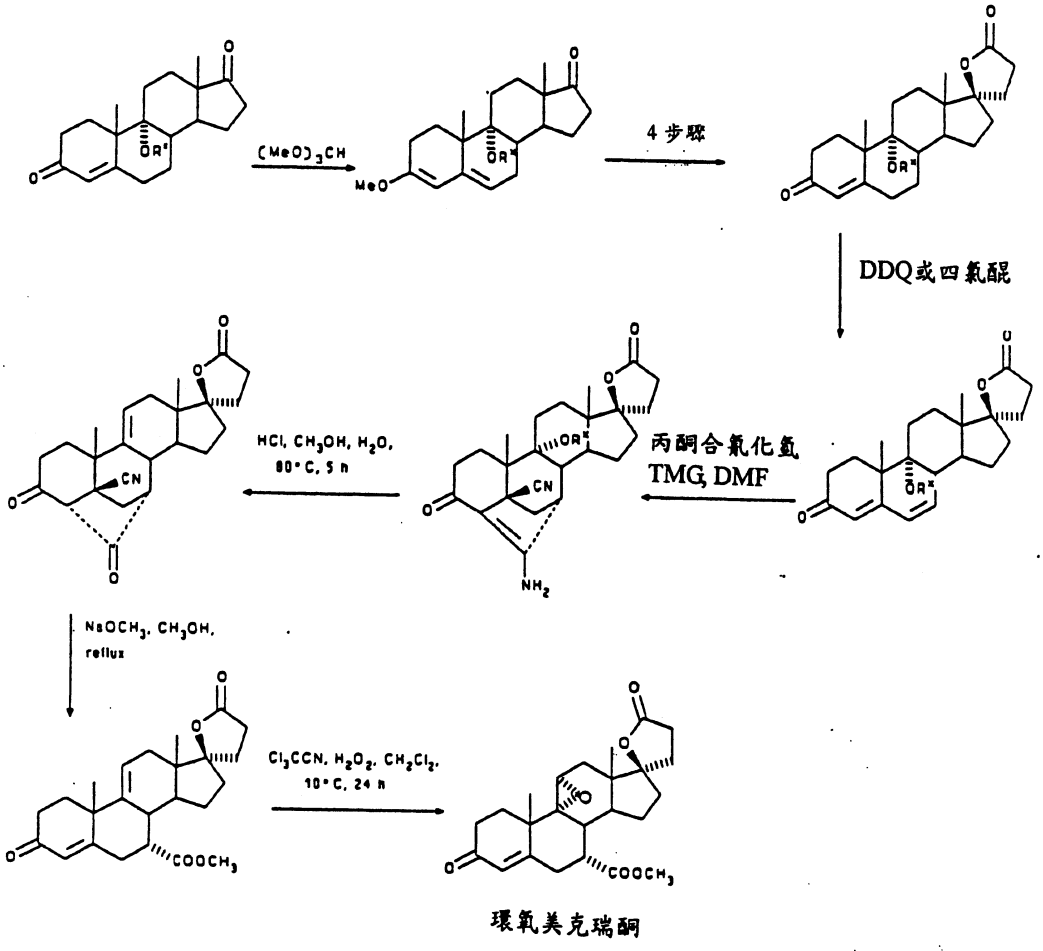
式XXV產物為新穎的化合物，其可以沉澱/過濾分離。其在充作中間物以製備式I化合物，且尤其是式IA，具有實質的價值。特佳之式XXV化合物為其中-A-A-且-B-B-如式XIII中所定義，且R^3是氫。在最佳之式XXVI化合物中，-A-A-及-B-B-是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫。

利用製備式VI二酮化合物之上述條件，式XXV之9-羥基烯胺中間物可轉化成式XIVB之二酮化合物。注意到在此例子中，反應可有效地同時進行烯胺結構之水解及9,11-位置之脫水引入9,11-雙鍵二種狀況。式XIV化合物再轉化成式XXXI化合物，之後成式XIII化合物，利用流程3上述之相同步驟。

較好，式XIV化合物是4'S(4'α),7'α-1',2',3',4,4',5,5',6',7',8',10',12',13',14',15',16'-十六氫基-10β-,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮基螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲基[17H]-環戊[a]菲]5'-腈；式XXV化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六

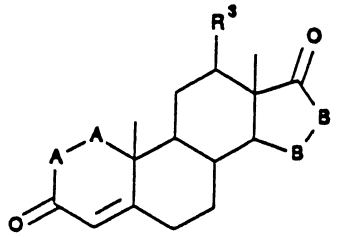
氫-9'β-羥基-10'a,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲基[4H]-環戊[a]菲]-5'-腈；式XXVI化合物是9α,17α-二羥基-3-酮孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯；且式XXVII化合物是9α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-21-羧酸，γ-內酯。

在一個特佳具體實例中，流程5之整體製程如下進行：



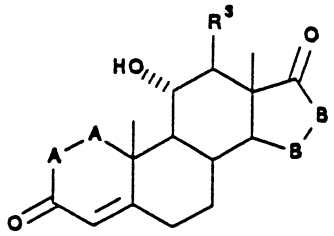
流程6

流程6提供製備環氧美克瑞酮及其他相當於式I化合物之有益方法，此方法始自雄烯二酮或其他式XXXV化合物之11α或11β-羥化作用



XXXV

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XIII中所定義，產生相當於式XXXVI之中間物或其相當的11β-羥基異構物



XXXVI

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XIII中所定義。除了受質之選擇，11α-羥基化作之製程如上文流程1所述。以下微生物可進行雄烯二酮或其他式XXXV化合物之11α-羥化作用：

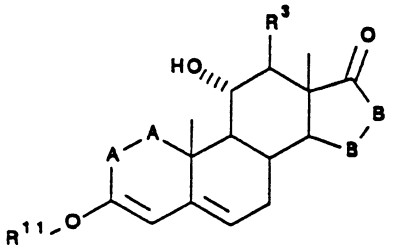
Absidia glauca(灰綠犁頭霉)ATCC 22752，**Aspergillus flavipes**(黃柄曲霉)ATCC 1030，**Aspergillus fumigatus**(臭曲霉) ATCC 10254，**Aspergillus fumigatus**(煙曲霉)ATCC 26934，**Aspergillus ochraceus**(赭曲霉)NRRL 405 (ATCC 18500)，**Aspergillus niger**(黑曲霉)ATCC 11394，**Aspergillus nidulans** (構巢曲霉)ATCC 11267，**Beauveria bassiana**(白僵菌)ATCC 7159，**Fusarium oxysporum**(尖鐮孢)ATCC 7601，**Fusarium oxysporum cepae**(尖鐮孢)ATCC 11171，**Fusarium lini**(亞麻鐮孢)ATCC IFO 7156，**Gibberella fujikori**(藤倉赤霉)ATCC 14842，**Hypomyces chyrsospermus**(金孢菌寄生)IMI 109891，**Mucobaterium**

fortuitum(偶發分枝桿菌)NRRL B8119，**Penicillum patulum**(展青霉) ATCC 24550，**Pycnosporium**(密孔菌)ATCC 12231，**Rhizopus arrhizus**(少根根霉)ATCC 11145，**Saccharopolyspora erythraea**(紅色糖多孢菌)ATCC 11635，**Thamnostylum piriforme** ATCC 8992，**Rhizopus oryzae**(米根霉)ATCC 11145，**Rhizopus stolonifer**(匍枝根霉) ATCC 6227b，及**Trichothecium roseum**(粉紅單端孢)ATCC 12519及ATCC 8685。

以下微生物可進行雄烯二酮或其他式XXXV化合物之11β-羥化作用：

Aspergillus fumigatus(煙曲霉)ATCC 26934，**Aspergillus niger**(黑曲霉)ATCC 16888及ACTT 26693，**Epicoccum oryzae**(稻附球菌)ATCC 716，**Curvularia lunata**(彎孢)ATCC 12017，**Cunninghamella blakesleeana**(短刺小克銀漢霉)ATCC 8688a，及**Pithomyces atro-olivaceous** IFO 6651。

式XXXVI之11α-羥基雄-4-烯-3,17-二酮，或其他化合物，再轉化成式(101)之11α-羥基-3,4-烯醇醚：

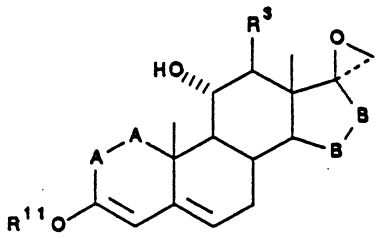


101

其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XIII中所定義，且R^{11}是甲基或其他低碳烷基(C_1-C_4)，係在酸催化劑存在下與醚化試劑反反應，如原甲酸三烷基酯。為進行此轉化作用，11α-羥基

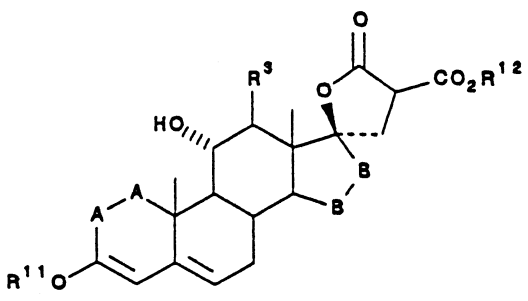
受質經由與酸，如苯磺酸水合物或甲苯磺酸水合物混合而酸化，再溶於低碳醇溶劑中，較好是乙醇。原甲酸三烷酯，較好是原甲酸三乙酯，以5至40分鐘期逐漸引入，同時混合物保持在冷處，較好是約0℃至約15℃。混合物再加溫，且反應在約20℃及約60℃下進行。較好，反應在30-50℃下進行1至3小時，再加熱迴流一段時間，通常2至6小時，以使反應完全。反應混合物冷卻，較好至0°-15°，較好約5℃，再於真空下移去溶劑。

利用如上流程3所述，將式XX化合物轉化成式XVII化合物之相同反應流程，式XXXIII之17-螺內酯部份可引入式101化合物中。例如，式101受質與銃炔化物反應，於鹼存在下如鹼金屬氫氧化物，於適合的溶劑中如DMSO，以產生相當於式102之中間物：



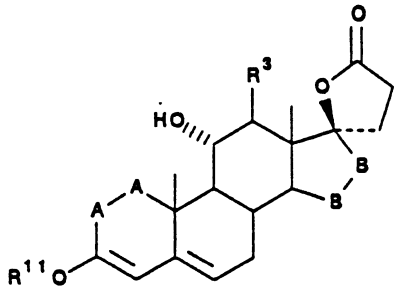
102

其中-A-A-，R^3，R^{11}及-B-B-如式101所定義。式102之中間物再與丙二酸二酯在鹼金屬烷氧化物存在下反應，形成五環螺內酯環，並產生式103之中間物



103

其中-A-A-，R^3，R^{11}及-B-B-如式102所定義，且R^{12}是C_1-C_4烷基，較好是乙基。最後，式103化合物於適合的溶劑中(如二甲替甲醯胺)接受熱，並有鹼金屬鹵化物之存在，可打開烷氧羰基部份，並產生式104中間物：



104

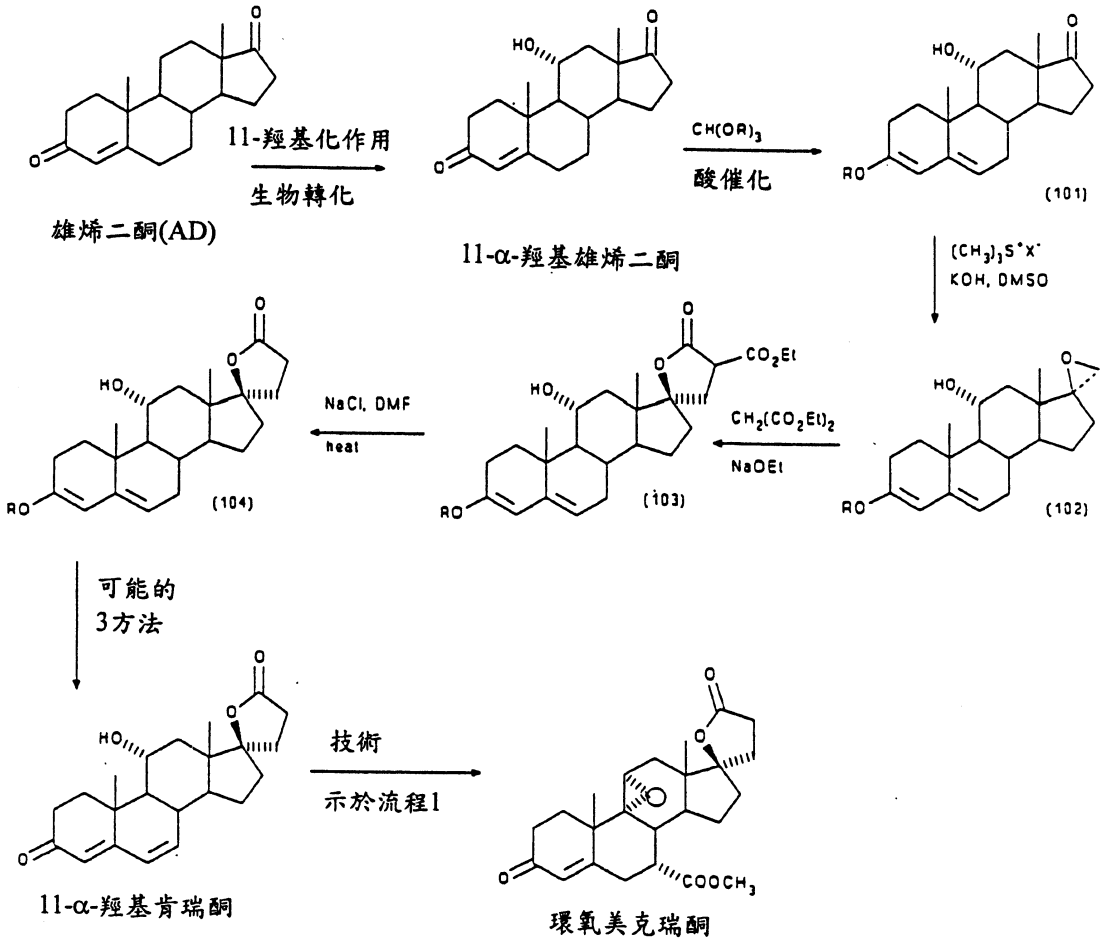
其中同樣的-A-A-，R^3，R^{11}及-B-B-如式102所定義。

接下來，3,4-烯醇醚化合物104轉化成式XXIII化合物，即，式VIII化合物，其中R^8及R^9一起形成式XXXIII部份。此氧化作用步驟實質上依式XXIV轉化成式XXIII中間物(於流程4合成中)之氧化步驟相同方式進行。直接氧化可利用試劑，如2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ)或四氯苯醌(氯醌)達成，或較好行二階段氧化作用，即先溴化，如以N-鹵溴化劑如N-溴琥珀醯胺(NBS)或1,3-二溴-5,5-二甲基內醯脲(DBDMH)，再以鹼去氫溴化，如以DABCO，並有LiBr及熱之存在。當以NBS行溴化作用時，也必需使用酸以將3-烯醇轉化成烯酮。DBDMH本身在溴化及將烯醇醚轉化成烯酮上是有效的。其是一種離子態而非自由基溴化試劑。

式VIII化合物再以流程1上述步驟轉化成式I環氧基美克瑞酮或其他化合物。

式101，102，103及104各中間物是新穎的化合物，在充作中間物製備式IA及I之環氧美克瑞酮或其他化合物上有實質的價值。式101，102，103及104各化合物中，-A-A-及-B-B-較好是$-CH_2-CH_2-$，且R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基。較好，R^3是氫。最好，式101化合物是3-乙氧基-11α-羥基雄-3,5-二烯-17-酮，式102化合物是3-乙氧基螺[雄-3,5-二烯-17β,2'-環氧乙烷]-11α-醇，式103化合物是3-乙氧基-11γ-17α-二羥基孕-3,5-二烯-21,21-二羧酸乙酯，γ-內酯，且式104化合物是3-乙氧基-11α-17α-二羥基孕-3,5-二烯-21-羧酸，γ-內酯。

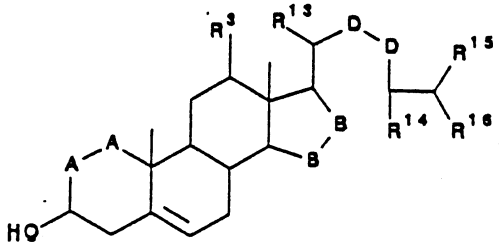
在特佳之具體實例中，流程6整體的製程如下進行：



有假說指出，相當於式I之環氧美克瑞酮及其他化合物，另外可由式XXXV 11β-羥基雄烯二酮或其他化合物製備，其中其已被11β-羥基化。換言之，相當於式I之環氧美克瑞酮及其他化合物可依流程6所示之一般製程製備，利用式XXXV之α-羥基化受質或相當的β-羥基化受質。

流程7

流程7提出利用含有β-麥胚脂醇，膽固醇，豆脂醇或其他式XXXVII化合物之起始受質，合成式I之環氧美克瑞酮及其他化合物之方法



XXXVII

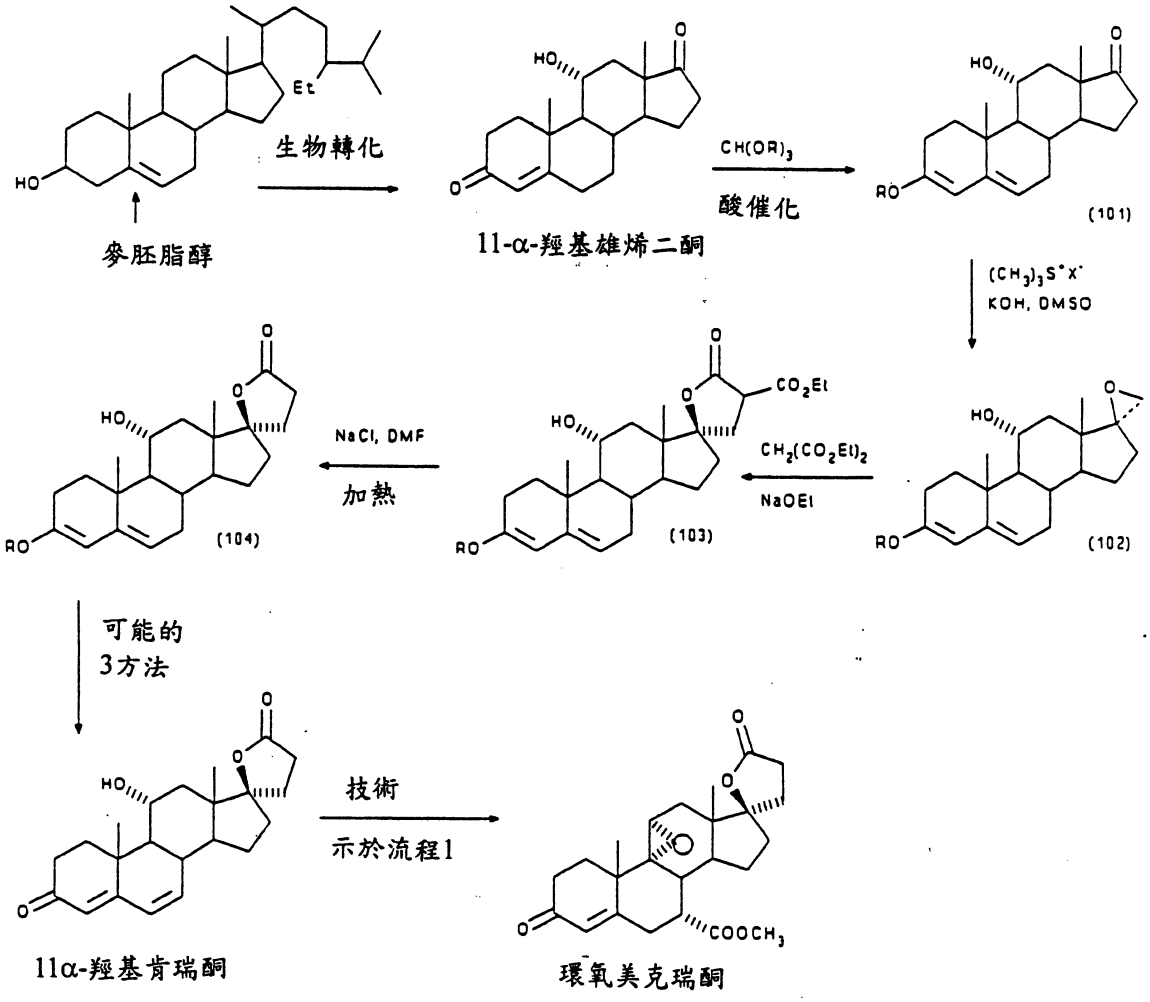
其中-A-A-，R^3及-B-B-如式XIII中所定義，D-D-是-CH_2-CH_2-或-CH=CH-；且R^{13}，R^{14}，R^{15}及R^{16}各自獨立選自氫或C_1-C_4烷基。R^3較好是氫。

在合成的第一步驟，11α-羥基雄烯二酮或其他式XXXVI化合物，由式XXXVII化合物生物轉化而製備。生物轉化之進行實質上依上述肯瑞酮(或其他式XIII受質)行11α-羥化作用之方法。

在11α-羥基雄烯二酮合成中，4-雄烯-3,17-二酮先由式XXXVII化合物之生物轉化而製備。此最初之生物轉化可依美國專利案3,759,791所述之方式進行，其已自由地列為本案參考。之後，4-雄烯-3,17-二酮轉化成11α-羥基雄烯

二酮，此實質上依上文肯瑞酮之11α-羥基作用方法進行(或其他的式XIII受質)。

流程7合成的其餘部份和流程6相同。在特佳之具體實例中，流程7整體之製程如下進行：



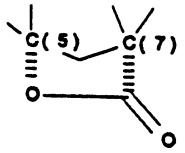
有假說指出，相當於式I之環氧美克瑞酮及其他化合物，當β-麥胚脂醇或其他式XXXVIII化合物之生物轉化產物是11β-羥基雄烯二酮或其他已被11β-羥基化之式XXXV化合物時，則其可依流程7所示之一般製程製備。換言之，相當於式I之環氧瑞酮及其他化合物，當β-麥胚脂醇或其他式XXXVIII化合物之生物轉化，造成式XXXVα-羥

化受質或相當的β-羥化受質之製備時，可依流程7所示之一般製程製備。

流程8

在環氧美克瑞酮及相關化合物合成中，一個顯著的混亂是需將α-烷氧羰基取代基在立體選擇性引入7-碳上，而在類固醇結構的其他位置上無非欲求之修飾作用。依據本發明，頃發現有效地引入7α-烷氧羰基取代基的合成路徑涉及以下步驟：(i)先在類固醇之7-碳上氧化，(ii)水解7-氧基類固醇形成7α-羧酸及7β-羧酸類固醇之混合物，(iii)自7α-羧酸類固醇形成5,7-內酯類固醇，及(iv)自5,7-內酯類固醇中分出7β-羧酸類固醇。5,7-內酯類固醇與烷化試劑之以鹼調介之開環反應，可產生欲求的7α-烷氧羰基類固醇。

因此，流程8之製程係指有3-酮基-7α-烷氧羰基取代之△^{4,5}-類固醇之製備，其中包括將烷化試劑與3-酮基-4,5-二氫-5,7-內酯類固醇受質在鹼存在下反應。內酯受質之3-碳上有酮基取代，進一步包括以下部份：



XXX

其中C(5)代表5-碳，且C(7)代表受質類固醇結構之7-碳。5,7-內酯轉化成7α-烷氧羰基較好由與烷基鹵在鹼存在下反應而達成。烷基鹵試劑較好是碘化物，且最好是甲基碘。

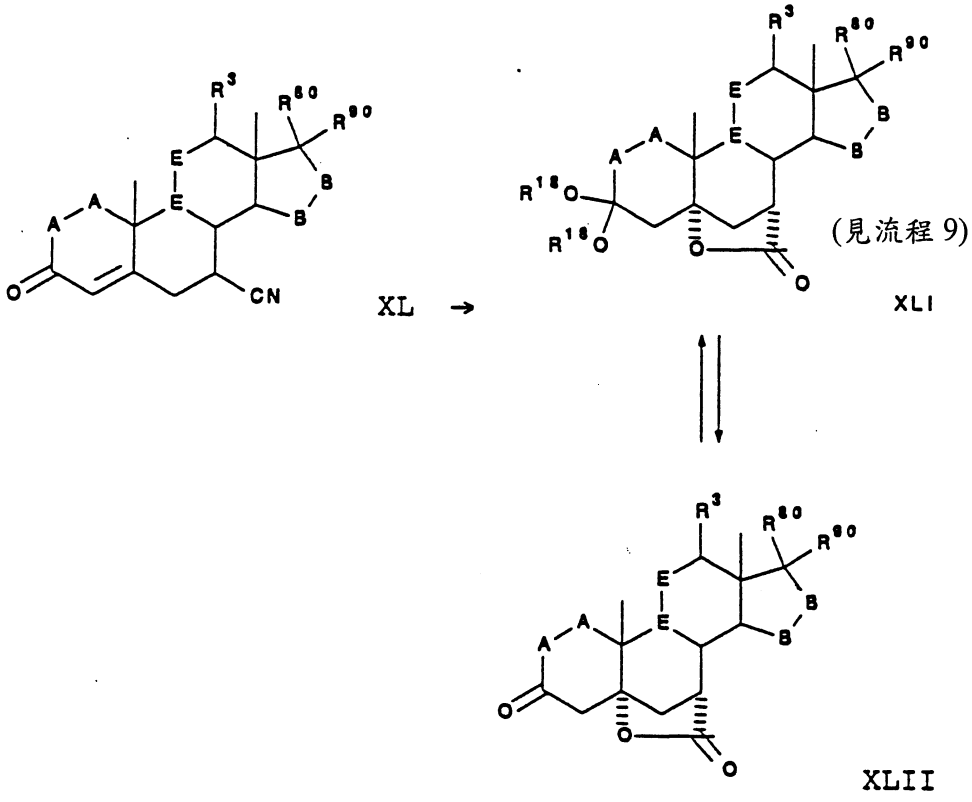
進一步依據本發明，已發現製備4,5-二氫-5,7-內酯類固醇(上述化合物)的一個有益製程。在此製程中，將3-酮基-

△^{4,5}-7α-氰基取代之類固醇受質轉化成7-羧酸，酸再與三烷基原甲酸酯於酸化之低碳醇溶劑中反應，以生成5,7-內酯。與原甲酸酯反應也可將3-酮基轉化成3-無環或環狀縮醛5,7-內酯(應了解會先形成內酯)。較好，3-縮醛5,7-內酯為3-二烷基縮醛5,7-內酯。更好，醇溶劑之烷基部份和原甲酸烷氧基之烷基部份相同(且最好全是甲基)，因為：縮醛之烷氧基部份可由原甲酸酯或醇衍生：混合的縮醛並非較佳；且以3-二甲氧基為較佳。當縮醛是乙烯縮醛時，醇溶劑之烷基部份未必要與原甲酸烷氧基酯之烷基部份相同。3-縮醛-5,7-內酯可容易地水解成3-酮基-5,7-內酯，一種可容易純化之結晶化合物。由於僅有7α-羧酸會進行內酯化反應，完全的立體特異性是被了解的。7β-酸可以其鹽型式再自反應混合物中移去，如以緩和的鹼處理7β-酸，如碳酸氫鈉。

用於形成5,7-內酯之7-氰基受質可以已知方式製備。例如，在7-碳上未經取代之受質可與略過量之氰化物離子反應，較好每當量受質約1.05至約1.25當量，並於含有水/DMSO溶劑混合物之弱酸溶液中。較好，反應混合物包括羧酸，如每當量受質約1當量乙酸。7α-及7β-CN異構物均可形成，而以7α-異構物為主要的異構物。其他技藝中已知方法，可用於此輔助製法。

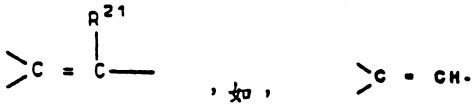
通常依據流程8，5,7-內酯可自7-羧基中間物形成(其本身由7-氰基中間物水解而製備)，其在17-位置上為酮，R^8或R^9所取代，其中R^8及R^9如上述，且在C-9及C-11上有脂

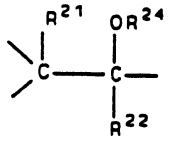
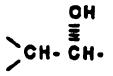
族，鏈烯，環氧化物或羥基取代之構型，即

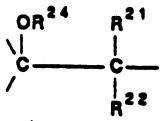
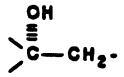


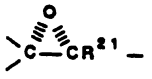
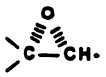
其中-A-A-，-B-B-及R^3如式XX中如上文所定義，R^{80}及R^{90}如R^8及R^9，或R^{80}及R^{90}一起構成酮基，且R^{18}如下流程9中所述，且-E-E-選自下列



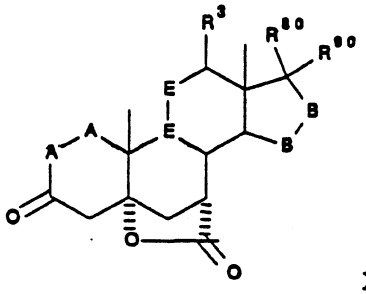


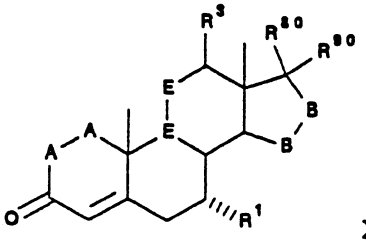

，如，

XLV


，如，

XLVI

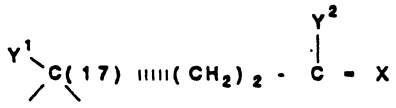

，通常是，

XLVII

式XLII化合物再轉化成7α-烷氧基-羰基：

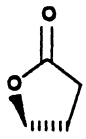

XLII →


XLVIII

在XL，XLI，XLII及XLVIII各式中，R^{80}及R^{90}較好一起含有酮基或


XXXIV

其中Y^1，Y^2，X及C(17)如上文所定義，且最好R^{80}及R^{90}一起含有



XXXIII

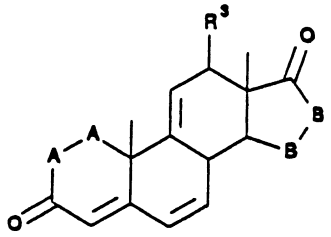
R^3較好是H，R^1較好是甲氧羰基，且-A-A-及-B-B-各自較好是$-CH_2-CH_2-$。應了解，反應也可在3-酮基保護下進行，即將之轉化且維持於各醚或縮醛型式，在整個反應次序中如此。流程8另外之製程包括使用在式XLI及XLII範圍內的各種中間物，如上文所示。

注意到，在流程8中由3-酮基-$\triangle^{4,5}$-7-羧酸形成5,7-內酯之試劑是原甲酸三烷基酯，和流程6 11α-羥基雄烯二酮轉化成3-烯醇醚-3,5-二烯-11α-羥基中間物101為相同試劑，咸信流程8反應路徑依C-7之取代作用而定。在H^+存在下與原甲酸酯之反應可形成在C-7上有羧基之中間物陽碳離子，且其正電荷在C-3及C-5之間平衡。一旦失去質子，C-3陽碳離子可生成式101化合物，而C-5陽碳離子生成內酯。在C-7是氫時，咸信3,5-二烯-3-烷氧基(烯醇醚)因雙鍵構型故是較佳的。若7α-CO_2取代在C-7，則C-5陽碳離子可為羧基捕獲，且可形成5,7-內酯。在此點時，3-酮基可差別地轉化成縮醛，由是驅使反應至完全。

流程8較佳具體實例述於下文流程9及10中。

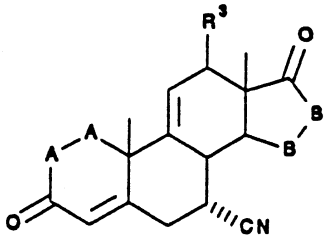
流程9

流程9始自如流程4相同之受質，即式XX化合物。此受質先氧化成式B化合物：



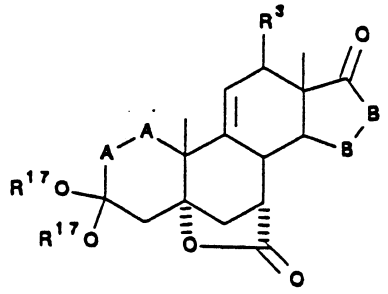
B

其中-A-A，R^3及-B-B-如式XIII中所定義。氧化作用反應依上述流程4中式XXIV化合物轉化成式XXIII中間物之任一反應流程進行。利用流程8所述之方法，式B化合物轉化成式C之7-氰基中間物



C

其中-A-A，R^3及-B-B-如式XIII中所定義。接下來，式C化合物轉化成式D之5,7-內酯：

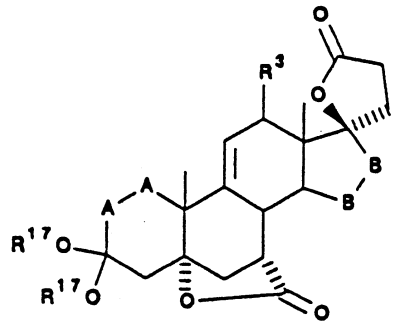


D

其中-A-A，R^3及-B-B-如式XIII中所定義，且R^{17}是C_1-C_4烷基，利用如流程6先前之原甲酸三烷基酯試劑。式D之5,7-內酯可容易地與未反應之7-β-COOH分離，如經由碳酸氫鹽洗滌移去酸，由是發展出欲求之C-7立體化學，並阻止

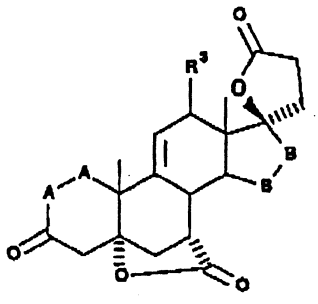
接下來反應中之差向異構化作用，其係在鹼性條件下會進行之反應。以烷基鹵化物酯化內酯，如流程8所述，可生成式II之烯酯中間物。

繼續流程9之合成，式D化合物可轉化成式II化合物。3-酮基以轉化成縮醛而保護，式XXXIII之20-螺氧烷在17-位置上依流程3及6所述之反應流程選擇性引入，由是產生式E化合物



E

因為3-酮被保護，可選擇水解條件使17-酮有最佳之粘附，而在3-位置反應中無副產物之形成。於式E之3-縮醛化合物水解成式F之3-酮基結構後



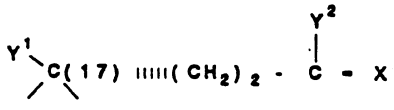
F

後一中間物與烷基碘在鹼存在下反應，依流程8之轉化，可產生式II之中間物烯酯。最後，利用上述流程1之方

法，後一中間物可轉化成環氧美克瑞酮或其他化合物。

流程9之益處不僅來自由5,7-內酯中間物所提供之立體化學之控制，進一步的優點包括可在未干擾17-螺內酯下有較大之水解作用條件。

就如同本發明其他的合成流程中之反應，流程9之反應可用於上文特述之外之受質。因此，如，3-酮基或3-縮醛-7-氧基類固醇轉化成3-酮基或3-縮醛-5,7-內酯，或3-酮基或3-縮醛-5,7-內酯轉化成7α-烷氧羰基，可在17-碳上有R^8及R^9取代(如上文所定義)，或較特別是以下式取代基取代之化合物上進行：

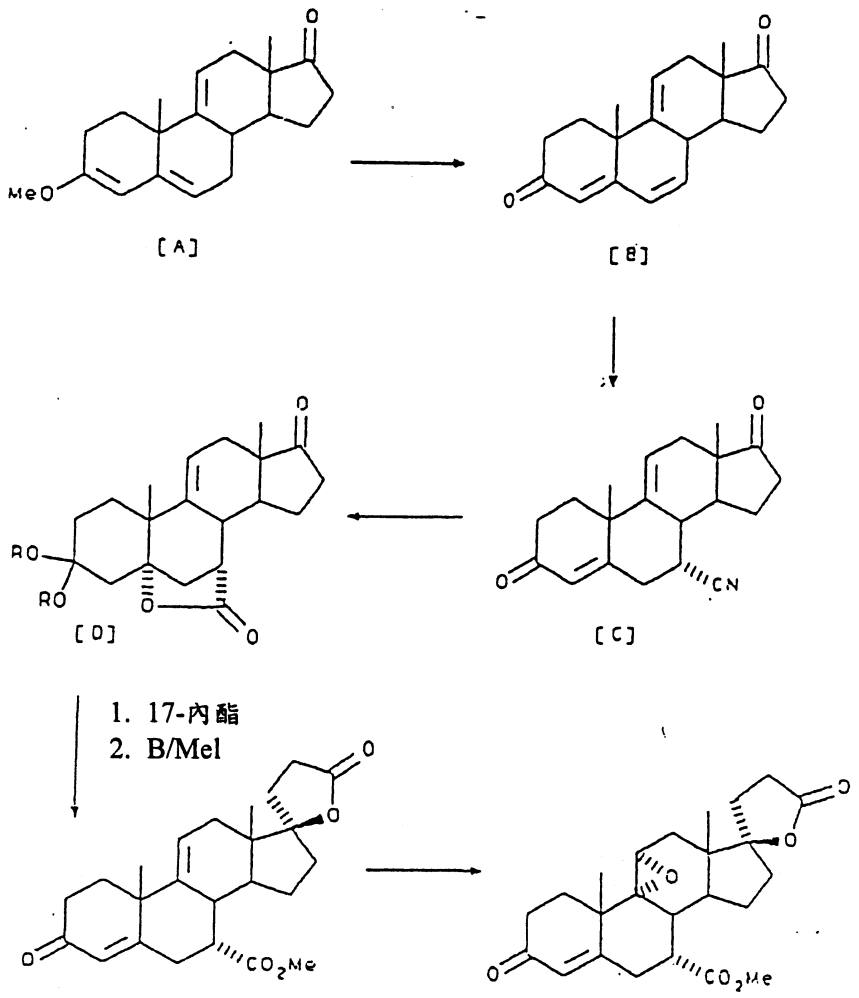


XXXIV

其中X，Y^1及Y^2如上文所定義，且C(17)表示17-碳。然而，重要的優點應了解，尤其在製程經濟上，係使用有17-酮基受質之特異反應次序，以及依循上述特異的反應流程，以將17-螺內酯及7α-烷氧羰基引入3-酮基-$\triangle^{9,11}$類固醇。

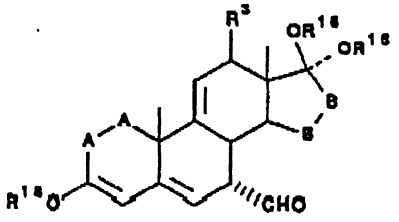
式D，E及F內酯為新穎的化合物，其可依據流程9之合成，用於製備式I及IA之環氧美克瑞酮及其他化合物。在這些化合物中，-A-A-及-B-B-較好是-CH_2-CH_2-，且R^3是氫，低碳烷基或低碳烷氧基。最好式D化合物中R^{17}是甲氧基。

在特佳之具體實例中，整體的流程9製程如下進行：



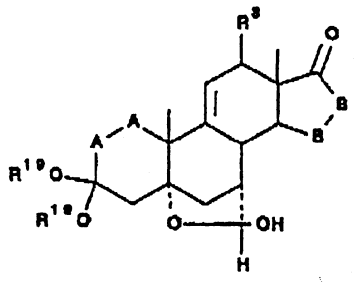
流程10

流程10和流程9相同，均是經由式C之7-氰基中間物之形成。在流程10之下一步驟，7-氰基類固醇與原甲酸三烷基酯於烷醇溶劑中反應，較好是原甲酸三甲基酯於甲醇中，以同時保護3-酮及17-酮基，係將前者轉化成烯醇醚，及將後者轉化成縮醛。之後，7-氰基還原成7-甲醯基，如與二烷基氫化鋁反應，較好是二異丁基氫化鋁，由是產生式203化合物：



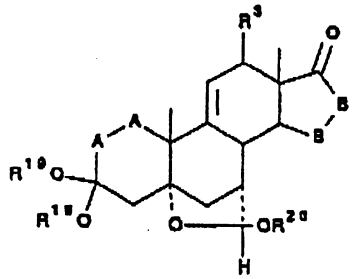
203

其中-A-A-，R^3，及-B-B-如式XIII中所定義，且R^{18}是C_1-C_4烷基。在酮基保護之前，如上述，可由二烷基氫化鋁預防其還原。式203之中間物再與稀的酸水溶液反應，以選擇性水解17-縮醛，並在過量醇之存在下($R^{19}OH$)產生式204之中間物：



[204]

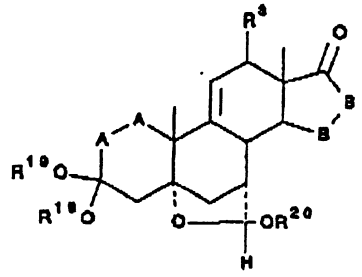
其中R^{19}選自低碳烷基(較好是C_1-C_4)，或在3-位置之R^{19}基，在3-碳上形成環狀O,O-氧伸烷氧取代基。半縮醛[204]進一步由烷醇($R^{20}OH$)在非水性酸存在下處理以進一步保護，以產生式205之中間物：



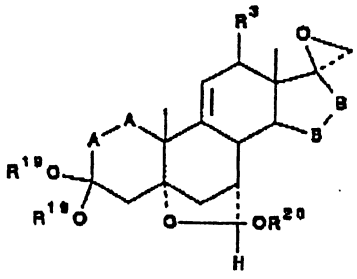
[205]

其中-A-A-，-B-B-，R^3及R^{19}如上文所定義，且R^{20}是C_1-C_4烷基。17-螺內酯部份可再依據流程3及6所述之反應步驟

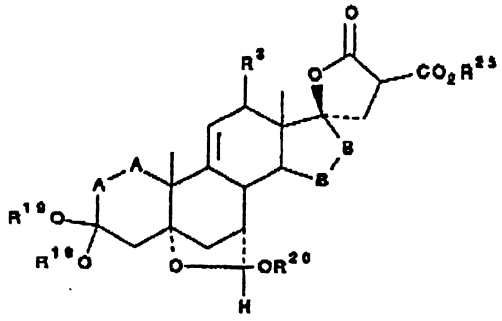
引入，如此經由下列之次序進行：



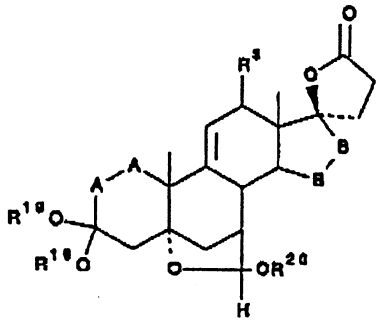
[205] →



[206] →



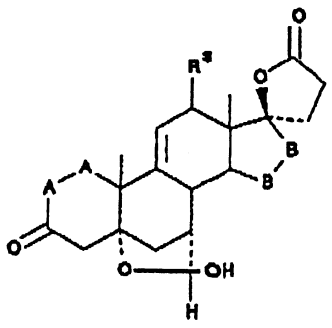
[207] →



[208]

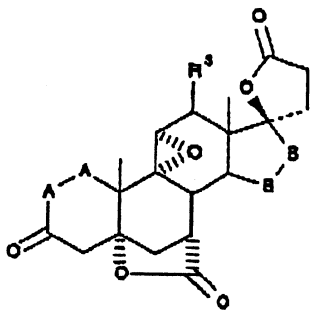
其中-A-A-，-B-B-，R^3及R^{19}如上文所定義，且R^{25}是C_1-C_4烷基。

之後，3-位置由傳統水解作用去保護，可再引入3-酮基及5,7-半縮醛，產生相當於式209之進一步的中間物：



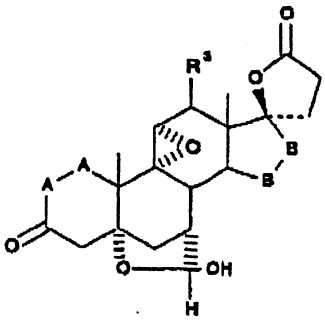
[209]

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。接下去，9,11環氧化物部份，依上述式II化合物至式I化合物轉化之任一方法引入。在氧化反應之氧化條件下，半縮醛可部份轉化成5,7-內酯，由是產生相當於式211之進一步中間物：



[211]

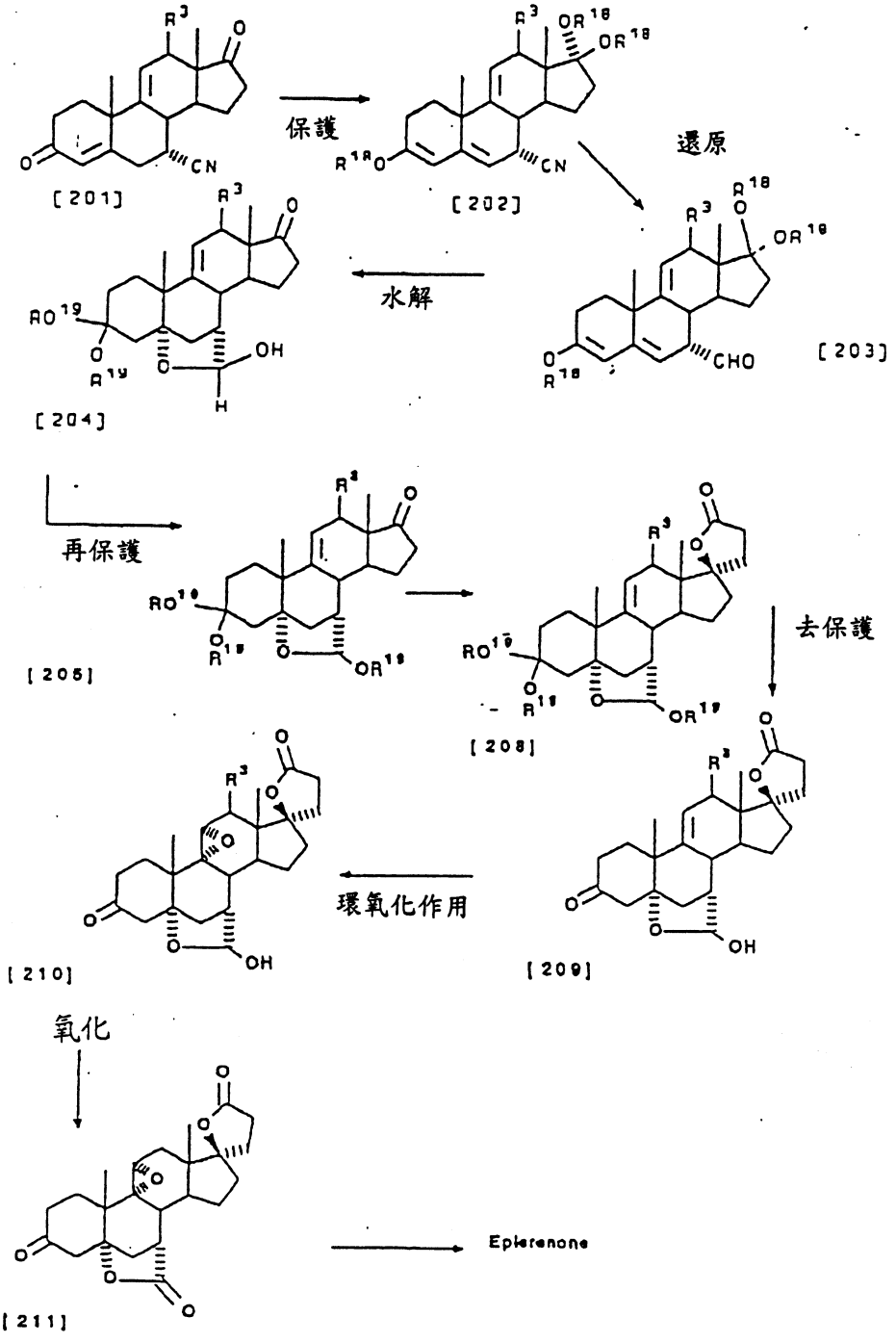
其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。任何留下的式210 9,11-環氧基-5,7-半縮醛中間物反應產物210：



[210]

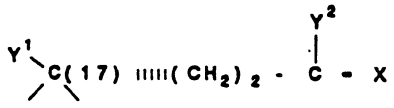
其中-A-A-，-B-B-及R^3如所定義，可容易地以傳統方法氧化成式211化合物。最後，式211之中間物利用流程8所述之由5,7-內酯轉化成7α-烷氧羰基化合物之方法，可轉化成

環氧基美克瑞酮或其他式I化合物。因此，整體而言，流程10如下進行，應了解至少以下步驟可於原位進行，而不必回收中間物。整體而言，流程10之合成如下進行：



如在流程9之例中，上述流程10之反應可提供重要的益處，尤其是關於製程經濟方面；但流程10之新穎反應對這

些特述者以外受質也有較一般性的應用。例如，將7-甲醯基引入3-烯醇醚類固醇，保護所生成之7-甲醯基-△5,6-3,4-烯醇醚，水解成5,7-半縮醛，再於17-位置上有R^8及R^9取代之類固醇上，或特別地是有下式取代基所取代之類固醇上進行去保護作用：

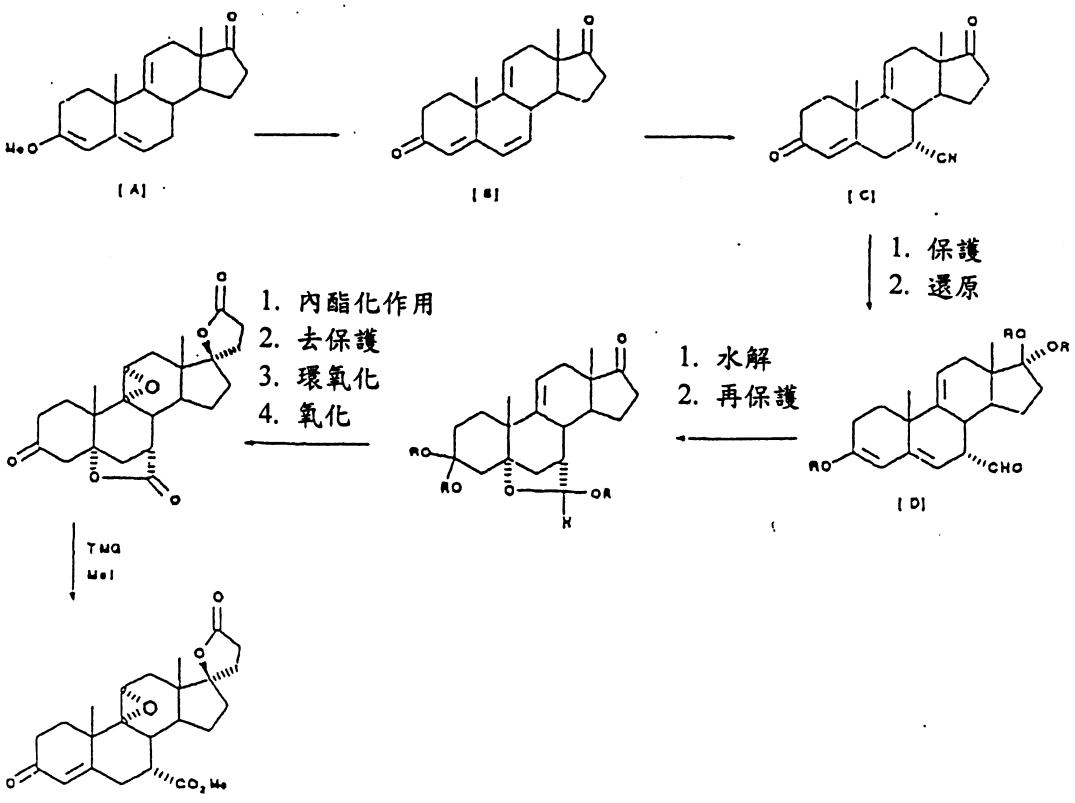


XXXIX

其中X，Y^1，Y^2及C(17)如上文所定義。

流程10的另外製程，包括分別使用在式A203至A210範圍內的各種中間物，如上文所述。式A203至式A211之各中間物為新穎的化合物，可依據流程10之合成用來製備式I及IA之環氧美克瑞酮及其他化合物。

在特佳之具體實例中，整體之流程10製程如下進行：



由上述的許多流程中，應了解用於本發明製程所選用之反應步驟，在製備環氧美克瑞酮及相關化合物上，可提供實質之可行性。關鑑特色尤其包括：(a)受質如肯瑞酮，雄烯二酮，或β-麥胚脂醇生物轉化成11α-或9α-羥基衍生物(同時將β-麥胚脂醇轉化成17-酮基結構)；(b)由含有11α-或9α-羥基化合物之脫水作用引入9,11雙鍵，繼由9,11雙鍵之氧化作用引入環氧基；(c)由烯胺之形成粘附7α-烷氧羰基，將烯胺水解成二酮，並將二酮與鹼金屬烷氧化物反應；(d)在17位置上形成20-螺氧烷環；(e)形成5,7-內酯，並將內酯酯化成7-烷氧羰基；(f)在其他位置之各種轉化之中，3-酮轉化成3-烯醇醚或3-縮醛以保護之(包括在17-位置上形成20-螺氧烷環)。在少有限制下，這4個組成製程要件(b)至(d)可以幾乎任何次序進行。製程要件(e)及(f)提供可比較之變通性。其可提供至式I環氧美克瑞酮及其他式I化合物的途徑，和美國專利案4,559,332之製程比較下其較簡化。再者，其可提供產製力及產率上重要的益處。

在如上示之反應流程說明中，反應產物之回收，分離及純化通常可利用精藝者熟知之方法進行。除非另有所示，條件，溶劑及試劑或是傳統的，或未狹窄地嚴格限定，或二者均是。然而，上文特述的某些特異步驟可提供優點，其可造成有益的整體產率及/或各種製程步驟及流程之產率力，及/或可提供高品質之中間物及最終之9,11-環氧化物類固醇產物。

依據本發明所產製之20-螺氧烷化合物，其利用性述於

Grob U.S.專利案4,559,332，其已自由列入此中為參考。

依據本發明所產生之20-螺氧烷化合物可由有益之生物特性予以區別，且因此為有價值之藥學活性組份。例如，其有強的醛固酮-拮抗作用，因為其可減少由醛固酮所造成之不當的高鈉滯留及鉀排泄，並常規化之。因此，其可充作保鉀之利尿劑，其中重要的治療性應用，如可用於治療高血壓，心官能障礙或肝硬化。

具有醛固酮-拮抗作用之20-螺氧烷衍生物是已知的，參見如：Fieser and Fieser; Steroids; p 708 (Reinhold Publ. Corp., New York, 1959)及英國專利案No. 1,041,534；類似具活性之17β -羥基-21-羧酸及其鹽也是已知的，參見如美國專利案No. 3,849,404。此類化合物在此之前係用於治療，然而，其因始終有某些性別-特異活性因此有相當的缺點，此在其傳統長期治療上遲早有麻煩的因果關係。尤其不想見的是，可歸因於已知抗-醛固酮製劑抗-雄激素活性之麻煩作用。

本發明之方法，製程及組成物，及此中所用之條件及試劑，進一步於以下實例中說明。

實例1

製備斜面培養基，其中之生長培養基如表1所示

表1-YPDA (用於斜面及盤之培養基)	
酵母浸膏	20克
蛋白腺	20克
葡萄糖	20克

瓊脂	20克
蒸餾水，適量加至 -pH為6.7 -以H_3PO_4 10% w/v調至pH 5	1000毫升

配給	
-於斜面培養： 7.5毫升於180x18毫米之試管	
-於培養盤(10公分直徑)	
25毫升於200x20毫米管	
-在120℃下滅菌20分鐘	
-滅菌後之pH值：5	

為產生第一代培養物，將赭曲霉之集落懸浮在試管內之蒸餾水中(2毫升)，取此懸液各0.15毫升至各斜面，其先前如上述製備。斜面在25℃下培育7天，之後表面培養基外觀為白色棉絮狀菌絲組織。其反面之下半部呈橘色，上半部呈黃橘色。

第一代斜面培養物懸浮在無菌溶液中(4毫升)，其中含有Tween 20非離子界面活性劑(3%按重計)，此懸液取一份0.15毫升接種於第二代斜面，其以表2所示之生長培養基製備。

表2 (用於第二代及例常之斜面)	
麥芽浸膏	20克
蛋白腖	1克
葡萄糖	20克
瓊脂	20克
蒸餾水加至 pH為5.3 分配於試管中(180x18	1000毫升

毫米)7.5毫升 在120℃下滅菌20分鐘	

第二代斜面在25℃下培育10天，產生大團金黃色孢子；反面呈棕橘色。

製備具有表3所示組成物之保護培養基。

表3-保護培養基	
脫脂牛奶	10克
蒸餾水	100毫升
在250毫升燒瓶中 其中含有50℃之蒸餾水，並加脫脂牛乳。在120℃下滅菌15分，在33℃下冷卻並於日子到之前使用	

將第二代斜面培養物5支懸浮在100毫升燒瓶之保護溶液中(15毫升)。懸液分裝(0.5毫升)在100x10毫升試管以冷凍乾燥。這些在丙酮/乾冰浴中預先於-70℃至-80℃下冷凍20分鐘，再立即轉移至預冷至-40℃至-50℃之乾燥室中。預冷的各份在50 μHg及≦-30℃下冷凍乾燥。於冷凍乾燥末了，於各管中加入3粒無菌矽膠，加上濕氣指示劑再以火焰封口。

為得適於工業規模醱酵用之母培養物斜面，將依上述方式製備之單一份經冷凍乾燥之培養物懸浮在蒸餾水中(1毫升)，並取一份0.15毫升之懸液用於接種斜面，斜面有具表2所示組成之生長培養基。母斜面培養物在25℃下培育7天。在培育末了，在斜面上發展成之培養物保存在4℃下。

為製備例常之斜面培養物，將來自母斜面培養之培養物

懸浮在含有吐溫80(3%按重計)之無菌溶液中(4毫升)，且生成的懸液以每份0.15毫升分裝在斜面上，其上已塗佈以表2所述之生長培養基。例常的斜面培養物可接種於第一次種子燒瓶，以供實驗或工業醱酵用。

為製備第一種子燒瓶培養物，將例常斜面中之培養物(其依上述製備)移出，並懸浮在含有吐溫80(3%按重計)之溶液中(10毫升)。生成之懸浮每份0.1毫升引入500毫升有阻板之燒瓶內，其中有具表4所示組成之生長培養基。

表4
(用於第一及轉形燒瓶培養及圓底燒瓶)

葡萄糖	20克
蛋白腺	20克
酵母自主溶解物	20克
蒸餾水加至 -pH為5.2 -以NaOH 20%調至pH 5.8 -分配於500毫升有阻板之燒瓶 100毫升 -分配在2000毫升圓底燒瓶 (3個阻板)500毫升 -在120℃下滅菌20分 -滅菌後之pH值約5.7	

種子燒瓶培育在28℃之旋轉震盪槽中(200 rpm，5公分之位移)歷24小時，由是可產生直徑具有3-4毫米之類小丸狀菌絲組織。在顯微鏡下觀察，頃發現種子培養物為純的培養物，有類似線蟲之生成，有大的菌絲且充分捲曲。懸液之pH值為5.4-5.6。以離心知PMV為5-8% (3000 rpm×5分

鐘)。

製備轉形燒瓶培養，係將生物團(1毫升)(來自種子培養燒瓶)接種至生長培養基中(100毫升)，其具有表4所示之組成，並置於第二個500毫升之震盪燒瓶內。生成之混合物在旋轉震盪器中培育(200 rpm，5公分之位移)於28℃下歷18小時。檢查培養物且發現含有直徑3-4毫米之小丸狀菌絲組織。在顯微鏡檢下，可決定出培養物是一種純的培養物，有類似線蟲及纖毛狀生長，其中頂部細胞充滿胞質，且老細胞少有空洞。培養物懸液之pH值為5-5.2，且以離心決定PMV知為10%及15%之間。因此，培養物確實適用於肯瑞酮至11α-羥基肯瑞酮之轉形作用中。

將肯瑞酮(1克)微粉化至約5 μ，且懸浮在無菌水中(20毫升)。在此懸液中加入下列：40% (w/v)無菌的葡萄糖溶液；16% (w/v)無菌的自主溶解酵母溶液；及無菌的抗生素溶液；以上均按表5所示之0小時反應時間之比例。抗生素溶液之製備係將硫酸康黴素(40毫克)，鹽酸四環素(40毫克)及頭孢菌素(cefalexin) (20毫克)溶於水中(100毫升)。在震盪燒瓶之培養物中，逐漸加入類固醇懸液，葡萄糖溶液及自主溶解之酵母溶液。

表5
在震盪燒瓶中，肯瑞酮生物轉化過程中類固醇及溶液(添加物及抗生物)之添加指示

反應時間小時	類固醇懸液 毫升　大約毫克	葡萄糖溶液，毫升	自主溶解之酵母溶液，毫升	抗生素溶液，毫升

0	1	50	1	0.5	1
8	2	100	2	1	
24	2	100	1	0.5	1
32	5	250	2	1	
48	2	100	1	0.5	1
56	5	250	2	1	
72	3	150	1	0.5	1
90					

當反應進行，反應混合物定期分析以決定葡萄糖含量，並利用薄層層析以決定至11α-羥基肯瑞酮之轉化作用。在反應之中加額外的肯瑞酮受質及營養物至醱酵反應混合物中，並控制速率以維持葡萄糖含量在約0.1%按重計範圍內。加入類固醇懸液，葡萄糖溶液，自主溶解之酵母溶液及抗生素溶液之程序示於表5中。轉形作用在旋轉震盪槽中，以25℃繼續96小時。(200 rpm及5公分之位移)。醱酵之中，pH範圍在4.5及6之間。當PMV上升至60%以上時，抽出一份10毫升肉汁，並以10毫升蒸餾水補充。於反應之中，在開始醱酵循環後4，7，23，31，47,55，71，80及96小時間隔下取樣，以追踪肯瑞酮之消失及11α-羥基肯瑞酮之出現，並以TLC分析肉汁樣品。由這些樣品中所決定之反應進展示於表6。

表6
震盪燒瓶中肯瑞酮生物轉化之時間過程

時間 小時	轉形比例 肯瑞酮 RF.=0.81	 11α-羥基肯瑞酮 RF.=0.29
0	100	0.0
4	50	50

7	20	80
23	20	80
31	30	70
47	20	80
55	30	70
71	25	75
80	15	85
96	~10	~90

實例2

依實例1所述方式製備第一次種子燒瓶培養物。製備營養混合物，其具有表7所示之組成

表7
用於10升玻璃醱酵槽之轉形培養

	量	克/升
葡萄糖	80克	20
蛋白胨	80克	20
自主溶解之酵母	80克	20
抗起泡劑SAG 471	0.5克	
去離水加至 -空醱酵槽在130℃下 滅菌30分鐘 -填加以3升去離子水， 在40℃下加熱 -在攪拌下加入培養基組份 -攪拌15分，使體積達到3.9升 -pH為5.1 -以NaOH 20% w/v 調至pH 5.8 -在120℃下滅菌20分鐘 -滅菌後之pH為5.5-5.7	4升	

此營養混合物之最初填料(4升)引入10升幾何體積之轉形醱酵槽內。醱酵槽為圓柱狀，具有2.58之高對直徑比例。其配備有400 rpm之渦輪攪動器，並有各具6個葉片之

No. 2圓輪2付。輪葉之外徑為80毫米，各葉片有25毫米之徑向直徑及30毫米高，上輪位在容器頂端距280毫米處，下輪則距365毫米，且容器之阻板高210毫米，並自容器內側壁向內放射狀延伸25毫米。

種子培養物(40毫升)與營養基填料於醱酵槽中混合，並在28℃下培育22小時，以0.5升/升-分之通氣速率，0.5公斤/公分^{2}壓力發展成轉形培養物。於22小時時，培養物之PMV為20-25%，且pH為5至5.2。

製備懸浮液，其中含有在無菌水(400毫升)中之肯瑞酮(80克)，並取10毫升加至轉形醱酵槽之混合物內。在此同時，將40% (w/v)無菌葡萄糖溶液，16% (w/v)無菌的自主溶解酵母溶液，及無菌的抗生素溶液，依表8在0小時反應時間所示比例加入。抗生素溶液之製備依實例1所述之方式製備。

表8
10升玻璃醱酵槽中，肯瑞酮生物轉化過程中類固醇及溶液(添加物及抗生物)之指示添加

反應時間小時	類固醇懸液 毫升	大約克數	葡萄糖溶液，毫升	酵母自主溶解溶液，毫升	抗生素溶液，毫升
0	10	4	25	12.5	40
4			25	12.5	
8	10	4	25	12.5	
12			25	12.5	
16	10	4	25	12.5	
20			25	12.5	
24	10	4	25	12.5	40
28	10	4	25	12.5	
32	12.5	5	25	12.5	

36	12.5	5	25	12.5	
40	12.5	5	25	12.5	
44	12.5	5	25	12.5	
48	12.5	5	25	12.5	40
52	12.5	5	25	12.5	
56	12.5	5	25	12.5	
60	12.5	5	25	12.5	
64	12.5	5	25	12.5	
68	12.5	5	25	12.5	
72	12.5	5	25	12.5	40
76	12.5	5	25	12.5	
80					
84					
88					

當反應進行，反應混合物定期分析以決定葡萄糖含量，並以薄層層析決定至11α-羥基肯瑞酮之轉化。依據反應肉汁樣品之TLC分析(如下述)，當肯瑞酮受質消耗時，在反應混合物中加入額外的肯瑞酮。也追踪葡萄糖水平，且當葡萄糖濃度下降至約0.05%按重計以下時，添加額外的葡萄糖溶液使濃度高至約0.25%按重計。於反應循環的不同時間，也加入營養物及抗生素。類固醇懸液，葡萄糖溶液，自主溶解之酵母溶液及抗生素溶液之添加程序示於表8。轉形反應繼續進行90小時，通氣率為每分鐘每體積液體0.5倍體積之空氣(vvm)，並有0.3公斤/公分^{2}之正的頭部壓力。溫度維持在28℃，直到PVM到達45%為止，之後降低至26℃，並當PVM由45%上升至60%時維持在此溫度，之後控制在24℃。最初攪動速率為400 rpm，40小時後增加至700 rpm。pH值維持在4.7及5.3間，係依所指示加入2M正磷酸或2M NaOH。加入數滴的Antifoam SAG 471以控制泡沫之生成。在反應之中以TLC分析肉汁，係以4小

時間隔追踪肯瑞酮之消失及11α-羥基肯瑞酮之出現。當大多數的肯瑞酮自肉汁中消失時，可加入額外的量。

一旦所有的肯瑞酮添加完畢，由TLC分析顯示肯瑞酮受質相較於11α-羥基肯瑞酮產物之濃度下降至約5%時可中止反應。

於反應循環總結，醱酵肉汁經由紗布過濾以將菌絲組織自液體肉汁中分離。菌絲體部份再懸浮於乙酸乙酯中，係以整個反應過程中每克負荷之肯瑞酮使用約65倍體積(5.2升)。乙酸乙酯中之菌絲體懸液，在攪動下迴流1小時，冷卻至約20℃，再於布氏漏斗上過濾。菌絲體塊相繼以乙酸乙酯(每克肯瑞酮負荷使用5倍體積；0.4升)及去離子水(500毫升)洗滌，以置換濾塊中之乙酸乙酯萃取物。濾塊可丟棄。豐富的萃取液，溶劑洗液及水洗液收集於分離器中，再靜置2小時以分相。

水相丟棄，有機相在真空下濃縮成350毫升殘留體積。底部冷卻至15℃，並在攪動下保持約1小時。過濾生成的懸液以移去晶狀產物，且濾塊以乙酸乙酯(40毫升)洗滌。乾燥後，11α-羥基肯瑞酮之產率經決定知為60克。

實例3

孢子懸液製備自例常的斜面培養物，採用實例1所述之方式。在2000毫升有阻板之圓底燒瓶(3個阻板，各50毫米x30毫米)中，將一份(0.5毫升)孢子懸液引入具有表4所示組成之營養溶液中(500毫升)。所生成的混合物在燒瓶中以25℃培育24小時，於交替震盪器中(每分鐘120動程；5公

分之位移)產生培養物，於顯微鏡檢下可觀察到菌絲充分扭曲之純的培養物。培養物之pH值介於約5.3及5.5之間，且PMV(由300 rpm離心5分鐘來決定)為8-10%。

利用如此製備之培養物，於垂直的圓柱不銹鋼醱酵槽中製備種子培養物，其有160升之幾何體積及2.31之縱橫比(高=985毫米；直徑=425毫米)。醱酵槽有一個具二個輪葉之圓盤渦輪攪動器，各輪有6個外徑240毫米之阻片，各阻片有80毫米之徑向直徑，高50毫米。上輪定位在距醱酵槽頂端780毫米處，而第二輪距995毫米。垂直阻片高890毫米，由醱酵槽內側壁向內輻射狀伸展40毫米。攪動器在170 rpm下操作。將具有表9所示組成之營養物混合物(10升)引入槽內，再引入依上述製備具有pH 5.7之部份預接種物(1升)。

表9
在160升醱酵槽中具生長力的培養需8升的種子產製醱酵槽

	量	克/升
葡萄糖	2公斤	20
蛋白胨	2公斤	20
自主溶解之酵母	2公斤	20
抗起泡劑SAG 471	0.010公斤	痕量
去離子水加至 -空醱酵槽在130℃下滅菌1小時 -填加以6升去離子水，在40℃下加熱 -加入並攪拌培養基之組份 -攪拌15分，使體積達95升 -在120℃下滅菌30分鐘 -滅菌後之pH是5.7	100升	

-加無菌去離子水至100升		

接種之混合物在0.5升/升-分之通氣率下培育22小時，頭部壓力為0.5公斤/公分^2。溫度控制在28℃直到PMV達到25%，再降低至25℃。pH值控制在5.1-5.3。菌絲組織之生長示於表10，並加上種子培養反應之pH及溶氧概況。

表10
種子培養醱酵中菌絲生長之時間過程

醱酵期 小時	pH	緊密的菌絲組織體積(pmv) % (3000 rpm 5分)	溶氧%
0	5.7±0.1		100
4	5.7±0.1		100
8	5.7±0.1	12±3	85±5
12	5.7±0.1	15±3	72±5
16	5.5±0.1	25±5	40±5
20	5.4±0.1	30±5	35±5
22	5.3±0.1	33±5	30±5
24	5.2±0.1	35±5	25±5

利用如此產製之種子培養物，在直徑1.02米，高1.5米及幾何體積1.4米^{3}之垂直圓柱不銹鋼醱酵槽中進行轉形醱酵。醱酵槽有具二個輪葉之渦輪攪拌器，一者在距反應器頂端867公分處，另一者距1435公分處。各輪葉有6個阻片，各自有95公分之徑向直徑及75公分之高度。垂直阻片高1440公分，自反應器內側壁向內放射狀伸展100公分。製備營養混合物，其具表11所示之組成。

表11
1000升醱酵槽中之生物轉化培養

	量	克/升

葡萄糖	16公斤	23
蛋白胨	16公斤	23
自主溶解之酵母	16公斤	23
抗起泡劑SAG 471	0.080公斤	痕量
去離子水加至 -空醱酵槽在130℃下 滅菌1小時 -填加以600升去離子水； 在40℃下加熱 -加入並攪拌培養基組份 -攪拌15分，使體積達650升 -在120℃下滅菌30分鐘 -滅菌後之pH是5.7 -加無菌去離子水至700升	700升	

將此營養混合物(pH=5.7)之最初負荷(700升)引入醱酵槽內，再加入依上述製備之此實例之種子接種物(7升)。

含有接種物之營養混合物在0.5升/升-分通氣率及0.5公斤/公分^{2}頭部壓力下培育24小時，且攪動速率為110 rpm。菌絲組織體積之生長示於表12，並加上種子培養反應之pH值及溶氧概況。

表12
轉形培養醱酵槽中菌絲組織生長之時間過程

醱酵期 小時	pH	緊密菌絲體積(pmv) %(3000 rpm×5分鐘)	溶氧%
0	5.6±0.2		100
4	5.5±0.2	12±3	100
8	5.5±0.2	12±3	95±5
12		15±3	90±5
16	5.4±0.1	20±5	75±5
20	5.3±0.1	25±5	60±5
22	5.2±0.1	30±5	40±5

在培養總結時，可觀察到菌絲組織成團塊狀，但團塊通

常較小且為相當鬆散的群集。四散的菌絲組織懸浮在肉汁中。最終的pH值為5.1-5.3。

對如此產生之轉形培養物中加入肯瑞酮(1.250公斤；微粉化成5微米)於無菌水(5升)之懸液。依表14反應時間0時所指示之比例加入無菌的添加物溶液及抗生素溶液。添加物溶液之組成示於表13中。

表13 添加物溶液
(用於轉形培養物)

	量
右旋糖	40公斤
自主溶解之酵母	8公斤
抗起泡劑SAG 471	0.010公斤
去離子水加至 -在130℃下將空的(150升) 醱酵槽滅菌1小時 -填加70升的去離子水； 在40℃下加熱 -在攪拌下加入"添加物溶 液"之組份 -攪拌30分鐘， 使體積達到95升 -pH值為4.9 -在120℃下滅菌20分鐘 -滅菌後之pH值約5	100升

生物轉化進行約96小時，其中有0.5升/升-分之通氣率，0.5公斤/公分^{2}之頭部壓力，及介於4.7及5.3間之pH值，依必要以7.5 M NaOH或4 M H_3PO_4調整。攪動率最初是100 rpm，在40小時增加至165 rpm，在64小時時250 rpm。最

初溫度為28℃，當PMV到達45%時降低至26℃，且當PMV上升至60%時下降至24℃。依必要加入細小滴狀之SAG 471以控制起泡。醱酵中之葡萄糖水平以4小時為間隔追踪之，且當葡萄糖濃度下降至1 gpl下，在其中加入無菌之添加物溶液(10升)。在反應之中以HPLC追踪肯瑞酮之消失及11α-羥基肯瑞酮之出現。當填入之最初肯瑞酮有至少90%轉化成11α-羥基肯瑞酮時，加入1.250公斤之肯瑞酮。當此中之肯瑞酮有90%已顯示出被轉化時，再引入另一份1.250公斤。利用相同之準則，進一步增量(每次1.250公斤)，直到引入總反應負荷(20公斤)為止。一旦全部的肯瑞酮負荷遞送至反應器後，相較於所產生之11α-羥基肯瑞酮含量，未反應之肯瑞酮濃度為5%時可中止反應。加入肯瑞酮，無菌添加物溶液及抗生物溶液之流程示於表14中。

表14
在醱酵槽中肯瑞酮生物轉化過程中類固醇及溶液(添加物及抗生素)之加入

反應時間 小時	懸液中之肯瑞酮 公斤	累進的公斤	無菌添加 溶液升	抗生素 溶液升	體積升
0	1.250	1.25	10	8	700
4			10		
8	1.250	2.5	10		
12			10		
16	1.250		10		
20			10		
24	1.250	5	10	8	800
28	1.250		10		
32	1.250		10		
36	1.250		10		
40	1.250		10		
44	1.250		10		

48	1.250	12.5	10	8	900
52	1.250		10		
56	1.250		10		
60	1.250		10		
64	1.250		10		
68	1.250		10		
72	1.250	20	10	8	1050
76			0		
80					
84					
88					
92					
總結					

當生物轉化達到完全時，在籃式離心機中離心以自肉汁中分出菌絲組織。濾液以HPLC決定，當收獲之肉汁中11α-羥基肯瑞酮之總量僅2%時即可丟棄。菌絲組織懸浮在乙酸乙酯中(1000升)，並置於容量2米^{3}之萃取槽內。此懸液在攪拌及乙酸乙酯迴流條件下加熱1小時，再冷卻並於籃式離心機內離心。菌絲組織塊以乙酸乙酯(200升)洗滌，再予以丟棄。富含類固醇之溶劑萃取物靜置1小時以分出水相。水相再以乙酸乙酯溶劑(200升)萃取，再丟棄。混合的溶劑相離心使澄明，再置濃縮機中(500升的幾何體積)並於真空下濃縮成100升之殘留體積。在進行蒸發時，混合萃液及洗液在濃縮器之最初負荷為100升，且由混合溶液連續或定期添加(當溶劑減少時)使此體積保持固定。一旦蒸發步驟完全後，底部冷卻至20℃，並攪拌2小時，再於布氏漏斗上過濾。濃縮器以乙酸乙酯(20升)洗滌，且此洗液再用於洗滌濾液中之濾塊。產物在50℃下真空乾燥16小時。11α-羥基肯瑞酮之產率為14公斤。

實例4

赭曲霉NRRL 405經冷凍乾燥之孢子，懸浮在具有表15所示組成之穀類浸漬液生長基中(2毫升)：

表15-穀物浸漬液 (用於一次種子培養之生長基)	
穀物浸漬液	30克
酵母浸膏	15克
單鹼式磷酸銨	3克
葡萄糖(於滅菌後才加入)蒸餾水，加至1000毫升pH為4.6，以20% NaOH調至pH 6.5，分裝50毫升至250毫升三角錐瓶內，其已在121℃下滅菌20分鐘	30克

生成之懸液可用於接種物中，以在瓊脂盤上使孢子增殖。準備10個瓊脂盤，各具表16所示組成之固態葡萄糖/酵母浸膏/磷酸鹽/瓊脂生長基：

表16-GYPA (用於盤子之葡萄糖/酵母浸膏/磷酸鹽瓊脂)	
葡萄糖(滅菌後加入)	10克
酵母浸膏	2.5克
K_2HPO_4	3克
瓊脂 蒸餾水，加至1000毫升pH值調整至6.5 在121℃下滅菌30分鐘	20克

一份0.2毫升之懸液轉移至各盤表面。盤在25℃下培育10天，之後來自各盤之孢子收至含有表17所示組成之無菌低溫保護性生長基中：

表17-GYP/甘油 (葡萄糖/酵母浸膏/磷酸鹽/甘油培養基用於貯液瓶)	
葡萄糖(滅菌後加入)	10克
酵母浸膏	2.5克
K_2HPO_4	3克
甘油 蒸餾水，加至1000毫升 在121℃下滅菌30分鐘	20克

生成之懸液分裝成20個小瓶，且在各小瓶中為1毫升。這些小瓶組成基礎細胞庫，其可用來產生操作細胞庫以用於製備接種物，以供肯瑞酮生物轉化成11α-羥基肯瑞酮。含有基礎細胞庫之小瓶貯於-130℃液態氮冰箱之蒸汽相中。

為開始製備操作細胞庫，來自單一基礎細胞庫小瓶之孢子，懸浮在具表15所示組成之無菌生長基中(1毫升)。此懸液以0.2毫升分裝成10份，各份用於接種瓊脂盤，其有表16所示組成之固體生長基。這些盤在25℃下培育10天。在3天的培育中，生長基底部呈棕橘色。在培育末了，可出現濃稠的金黃色孢子。以上述製備基礎細胞庫之步驟，回收來自盤之孢子。共可製備100個小瓶，各含有1毫升懸液。這些小瓶構成操作細胞庫。操作細胞庫小瓶也貯存在-130℃之液態氮冰箱之蒸汽相中以保存。

將具表15所示組成之生長基(50毫升)充入250毫升之三角錐瓶中。取一份(0.5毫升)操作細胞懸液引入燒瓶中，再與生長基混合。經接種之混合物在25℃下培育24小時，以產生一次種子培養物，其有約45%之緊密菌絲組織體積。一旦目視檢測培養物可發現其含有1-2毫米直徑之類似小

丸狀之菌絲體；而一旦以顯微鏡檢，則呈純的培養物。

二次種子培養物之培養係將具表15所示組成之生長培養基引入2.8升之Fernbach燒瓶中，並以部份(10毫升)的本實例一次種子培養物接種至培養基，其製備如上述。經接種之混合物，在旋轉震盪槽中(200 rpm，5公分移位)以25℃培育24小時。於培育末了，培養物呈現與一次種子培養物相同之特性，且適用於轉形醱酵，其中肯瑞酮可生物轉化成11α-羥基肯瑞酮。

轉形作用在Brann E Biostat醱酵槽中進行，其構造如下：

容量：	15升，有圓底
高度：	53公分
直徑：	20公分
H/D：	2.65
輪葉：	7.46公分直徑，有6個各2.2x1.4公分之槳
輪葉空間排列：	距桶底65.5，14.5及25.5公分
阻片：	4個1.9x48公分
噴霧器：	10.1公分直徑，21孔~1毫米直徑
溫度控制：	利用容器外之汽套

濃度20克/升之肯瑞酮懸浮於去離子水(4升)，將具有表18所示組成之生長基一部份(2升)加入，同時以300 rpm攪拌醱酵槽中之混合物。

表18 (於10升醱酵槽中用於生物轉化培養之生長基)		
	量	量/升
葡萄糖(滅菌後加入)	160克	20克
蛋白胨	160克	20克
酵母浸膏	160克	20克
抗起泡劑SAF471	4.0毫升	0.5毫升
肯瑞酮 去離子水，加至7.5升 在121℃下滅菌30分鐘	160克	20克

所生成之懸液攪拌15分鐘，之後加去離子水使體積達到7.5升。此時加入20%按重計之NaOH溶液使懸液之pH值由5.2至6.5，懸液再於Braun E醱酵槽中，以121℃加熱30分鐘滅菌。滅菌後之pH值為6.3±0.2，且最終體積是7.0升。無菌的懸液以部份(0.5升)二次種子培養物接種，其如上述製備，且由50%無菌葡萄糖溶液之加入使體積達到8.0升。醱酵在28℃下進行，直到PMV達50%為止，再降至26℃，且當PMV超過50%時將溫度降至24℃，以維持約60%以下一致的PMV。經由噴霧器引入空氣，速率依最初液體體積為準維持在0.5 vvm，且醱酵槽中之壓力維持在700毫巴標準。以600 rpm開始攪動，且依所需逐步增加至1000 rpm，以將溶氧量保持在30%按體積計以上。追踪葡萄糖濃度。於葡萄糖最初之高濃度因醱酵反應消耗而下降至1%以下後，以50%按重計之無菌葡萄糖溶液添加使整個批次循環其餘部份之濃度可保持在0.05%至1%範圍。接種前

之pH值是6.3±0.2。在最初醱酵期間，於pH值下降至約5.3以後，由氫氧化銨之加入使循環的其餘部份pH值可維持在5.5±0.2範圍中。為控制起泡，可加入抗起泡劑聚乙二醇，其以SAG 471之商品名購自OSI Specialties, Inc.。

培養物之生長主要在循環的前24小時中，此時PMV約40%，pH值約5.6，且溶氧約為50%按體積計。即使培養物在生長中，肯瑞酮之轉化也會開始進行。在生物轉化中，每天分析樣品可追踪肯瑞酮及11α-羥基肯瑞酮之濃度。樣品以熱的乙酸乙酯萃取，生成之樣品溶液以TLC及HPLC分析。當殘留的肯瑞酮濃度為最初濃度之約10%時，生物轉化作用確實完全。轉化時間大約是110-130小時。

當生物轉化完全時，可自肉汁中離心分出菌絲體生物團塊。上清液以等體積之乙酸乙酯萃取，水層再丟棄。菌絲體流份再懸浮於乙酸乙酯中，加入醱酵槽內之肯瑞酮每克使用65倍體積乙酸乙酯。菌絲體懸液在攪動下迴流1小時，冷卻至約20℃，再經布氏漏斗過濾。菌絲體濾塊以5倍體積乙酸乙酯(每克加至醱酵槽中之肯瑞酮計)洗二次，再以去離子水(1升)來替換出殘留的乙酸乙酯。將水性萃取物，濃溶劑，溶劑洗液及水洗液全混合。留下的已消耗盡之菌絲體塊可丟棄或再次萃取，依其中殘留的類固醇分析而定。令混合之液相沉降2小時。之後，分出水相再予以丟棄，且有機相在真空下濃縮直到殘留體積約為500毫升為止。蒸餾瓶再於緩和攪動約1小時後冷卻至約15℃。以過濾回收結晶產物，並以冷的乙酸乙酯(100毫升)洗滌。自

晶體上以蒸發移去溶劑，且晶狀產物在55℃真空下乾燥。

實例5

赭曲霉ATCC 18500經冷凍乾燥之孢子，懸浮在如實例4所述之穀類浸漬液生長基中(2毫升)。準備瓊脂盤，也和實例4相同方式。盤依實例4所述地培育及回收，以生成基礎細胞庫。含有基礎細胞庫之小瓶貯存在-130℃液態氮冰箱之蒸汽相中。

自基礎細胞庫小瓶中，如實例4所述般準備操作細胞庫，並貯於-130℃之氮冰箱中。

將具表19所示組成之生長基(300毫升)加至2升有阻片之燒瓶中。取一份(3毫升)操作細胞懸浮引入燒瓶內。已接種之混合物在28℃旋轉震盪槽中(200 rpm，5公分位移)培育20-24小時，以產生一次種子培養物，其中緊密之菌絲體體積約45%。一旦目視檢測培養物可發現含有1-2毫米直徑之類小丸狀菌絲體；而以顯微鏡檢則呈純的培養物。

表19
用於一次及二次種子培養之生長基

葡萄糖(滅菌後才加入)	20克
蛋白腺	20克
酵母浸膏	20克
蒸餾水加至1000毫升 在121℃下滅菌30分鐘	

二次種子培養物之培養由8升具表19所示組成之生長基引入14升玻璃醱酵槽中開始。以160毫升至200毫升本實例

之一次種子培養物接種醱酵槽。其製備如上述。

已接種之混合物在28℃下培育18-20小時，採用200 rpm攪動，及0.5 vvm之通氣率。於增殖末了，培養物呈現出如上一次種子般相同的特性。

於60升醱酵槽中進行轉形，依實例4所述之方式進行，除了生長培養基具表20所示之組成，且二次種子培養物之最初負荷為350毫升至700毫升。攪動率最初是200 rpm，但依所需增加至500 rpm，以使溶氧維持在10%按體積計以上。用於20克/升肯瑞酮的生物轉化時間大約為80-160小時。

表20
在60升醱酵槽中用於生物轉化培養之生長基

	量	量/升
葡萄糖(滅菌後加入)	17.5克	0.5克
蛋白胨	17.5克	0.5克
酵母浸膏	17.5克	0.5克
肯瑞酮(以20%於無菌水中之淤漿型式加入)	700克	20克
去離子水，加至35升 在121℃下滅菌30分鐘		

實例6

利用依實例4方法產生之操作細胞庫中之孢子懸液，可製備一次及二次種子培養物，其方式實質上也如實例4所述。利用以此方式產生之二次種子培養物，可依圖1所示方式之變化製程進行二次生物轉化，且依圖2所示製程進行二次生物轉化。轉形生長基，肯瑞酮之添加程序，收獲時間及這些行程之轉化程度示於表21。R2A行程中所用之

肯瑞酮添加程序和實例3之原則相同，而R2C行程則是變化實例3之流程，僅有二次添加，一者在之初，另一者在24小時後。於R2B及R2D行程中，整個肯瑞酮在之初即引入，且製程大體上依實例4所述方式進行，除了肯瑞酮在加至醱酵槽之前先在不同容器中滅菌，而葡萄糖於進行中加入。使用Waring摻合器減少滅菌中厚塊之產生。於製程R2A及R2B中，肯瑞酮於甲醇溶液中引入槽內，其中這些製程和實例3及4分別不同。

表21-最初肯瑞酮生物轉化過程

製程編號	R2A	R2B	R2C	R2D
培養基(克/升) 穀物浸漬液 酵母浸膏 $NH_4H_2PO_4$ 葡萄糖 OSA pH	 30 15 3 15 0.5亮升 以2.5N NaOH 調至6.0	和R2A同	 30 15 3 30 0.5亮升 以2.5N NaOH 調至6.5	和R2C同
肯瑞酮	10克/80亮升 MeOH，在0, 18, 24, 30, 36, 42, 50, 56, 62及68小時時加入	80克/640亮升 MeOH在0小時時一次全加入	滅菌及拌合；於0小時加25克，24小時加200克	滅菌及拌合；於0小時加200克
收獲時間	143小時	166小時	125小時	104小時
生物轉化	45.9%	95.6%	98.1%	95.1%

於R2A及R2B製程中，甲醇在醱酵槽中累積的濃度為約6.0%，頃發現其對培養物之生長及生物轉化具有抑制性。然而，基於這些製程之結果可結論，甲醇或其他水可相混溶溶劑，在較低濃度下可有效地用於增加肯瑞酮之負荷，且使肯瑞酮可呈細小粒子沉澱物型式，因而提供大的界面面積使肯瑞酮可更易反應。

在滅菌溫度下(121℃)已證明肯瑞酮是穩定的，但會凝結成厚塊。使用Waring摻合器將塊狀壓碎成細小粒子，其可成功地轉化成產物。

實例7

利用依據實例4所述方法產製之操作細胞庫之孢子懸液，可製成一次及二次種子培養物，其方式實質上如實例4所述。實例7之說明及結果示於表22。利用以此方式產生之二次種子培養物，可實質上依實例3所述進行一次生物轉化(R3C)，又依實例5所述步驟進行三次生物轉化。在後三次製程中(R3A，R3B及R3D)，肯瑞酮在攜帶式槽中滅菌，其中加有葡萄糖以外之生長基。葡萄糖由另一槽中無菌地加入。經滅菌的肯瑞酮懸液可在接種前或生物轉化早期階段引入醱酵槽內。於R3B製程，補充的無菌肯瑞酮及生長培養基於46.5小時時引入。於滅菌時所形成的肯瑞酮之厚塊，經由Waring摻合器打碎，由是生成可進入醱酵之細小微粒懸液。這些製程之醱酵生長培養基，肯瑞酮添加步驟，營養物添加步驟，回收時間，轉化程度示於表22及23中。

表22-最初肯瑞酮生物轉化之步驟

製程編號	R3A	R3B	R3C	R3D
培養基(克/升) 穀物浸漬液 酵母浸膏 $NH_4H_2PO_4$ 葡萄糖 OSA pH	 30 15 3 15 0.5亮升 以2.5N NaOH 調至6.5	和R3A同	 蛋白腺：20 酵母浸漬：20 葡萄糖：20 OSA：3毫升 以2.5N NaOH 調至6.5	和R3A同
肯瑞酮加入時	肯瑞酮予以滅菌及拌合。BI：50克 16.5小時：110克	和R3A同 BI：50克 16.5小時：110克 46.5小時：80克	未滅菌的肯瑞酮：依表23所列程序加入	和R3A同 BI：50克 16.5小時：110克
供給	見表23	見表23	見表23	見表23
回收時間	118.5小時	118.5小時	118.5小時	73.5小時
生物轉化	93.7%	94.7%	60.0%	68.0%

表23-在發展實驗中肯瑞酮，葡萄糖及生長基之供給步驟

添加時間 小時	R3C				R3A	R3B	R3D
	肯瑞酮 200克/2升 無菌 D1 克	葡萄糖50% 溶液 克	蛋白胨及酵母 浸膏 各20克 在1升中 克	抗生素 20毫克康黴素 20毫克四環素 100毫克頭孢 菌素 在50毫升中	肯瑞酮/ 生長培養基 見表22 克/升	肯瑞酮/ 生長培養基 見表22 克/升	肯瑞酮/ 生長培養基 見表22 克/升
0	--	--	--	--	50克/0.4升	50克/0.4升	50克/0.4升
14.5	16	100	25	50毫升	--	--	--
16.5	--	--	--	--	110克/1.2升	110克/1.2升	110克/1.2升
20.5	16	140	25	--	--	--	--
28.5	16	140	25	--	--	--	--
34.5	16	150	25	--	--	--	--
40.5	16	150	25	50毫升	--	--	--
46.5	880	130	25	--	--	80克/0.8升	--
52.5	160	120	25	--	--	--	--
58.5	160	150	25	--	--	--	--
64.5	160	180	25	50毫升	--	--	--
70.5	160	140	25	--	--	--	--

由於纖毛之生長，可在此實例4個製程中均見到高度粘稠之醱酵肉汁。為了克服高粘度在通氣，混合，pH控制及溫度控制方面之阻礙，於是在這些製程中增加通氣率及攪拌速度。在較嚴格條件下，轉化作用可令人滿意地進行，但可在肉汁液體表面上形成稠厚之團塊。某些未反應之肯瑞酮會為此團塊攜出肉汁之外。

實例8

實例8之說明及結果綜合於表24。進行4次醱酵製程，由肯瑞酮之生物轉化產生11α-羥基肯瑞酮。在這些製程中二者(R4A及R4D)實質上係依R3A及R3D(實例6)之相同方式進行生物轉化。於製程R4C中，11α-羥基肯瑞酮大體上依實例3所述之方式由肯瑞酮轉化而成。於製程R4B中，大體上依實例4所述進行步驟，即在接種前先於醱酵槽內將肯瑞酮及生長基滅菌，所有的氮及磷營養物均於批次之初引入，且加入僅含葡萄糖之添加溶液於醱酵槽中以維持製程進行中葡萄糖之水平。於後一製程中(R4B)，每6小時追踪葡萄糖濃度，而葡萄糖依指示加入以控制在0.5-1%範圍內。這些製程之肯瑞酮添加步驟示於表25中。

表24-肯瑞酮生物轉化之發展實驗說明

製程編號	R4A	R4B	R4C	R4D
培養基(克/升) 穀物浸漬液 酵母浸膏 $NH_4H_2PO_4$ 葡萄糖 OSA pH	 30 15 3 15 0.5亮升 以2.5N NaOH 調至6.5	同R4A	 蛋白胨：20 酵母浸膏：20 葡萄糖：20 OSA：3毫升 以2.5N NaOH 調至6.5	同R4A
肯瑞酮加入時	肯瑞酮滅菌及拌合。BI：50克 23.5小時：120克	160克肯瑞酮槽中滅菌	未滅菌的肯瑞酮：依表25所列步驟加入	肯瑞酮滅菌及拌合 BI：40克 23.5小時：120克
培養基負荷	見表25	見表25	見表25	見表25
收獲時間	122小時	122小時	122小時	122小時
生物轉化	95.6%	97.6%	95.4%	96.7%

表25-發展實驗中肯瑞酮，葡萄糖及生長基之添加步驟

添加時間 小時	R4C				R4A	R4B	R4D
	肯瑞酮 200克/2升 無菌 D1 克	葡萄糖50% 溶液 克	蛋白胨及酵母 浸膏 各20克 在1升中 克	抗生素 20毫克康黴素 20毫克四環素 100毫克頭孢 菌素於50毫升 中(加於肯瑞酮 淤漿中)	生長培養基 見表24	生長培養基 見表24	生長培養基 見表24
14	600	135	25	50毫升	--	--	--
20	--	100	--	--	--	--	--
23	--	--	--	--	120克/1.2升	--	120克/1.2升
26	--	100	25	--	--	--	--
32	--	135	25	--	--	--	--
38	500	120	25	50毫升	--	--	--
44	--	100	25	--	--	--	--
50	--	100	25	--	--	--	--
56	--	150	25	--	--	--	--
62	500	150	25	50毫升	--	--	--
68	--	200	25	--	--	--	--
74	--	300	25	--	--	--	--
80	--	100	25	--	--	--	--
86	--	125	25	--	--	--	--
92	--	175	25	--	--	--	--
98	--	150	--	--	--	--	--
104	--	175	--	--	--	--	--
110	--	175	--	--	--	--	--
116	--	200	--	--	--	--	--

所有的醱酵在大多數循環中均於高攪動及通氣下進行，因為在一天內或接種後一天內醱酵槽內會變得具高粘性。

實例9

此實例流程之醱酵生長基，肯瑞酮添加步驟，收穫時間及轉化程度示於表26。

生物轉化製程實質上依實例8之製程R4B進行。在製程R5B中，用於其他製程中之頂端渦輪圓盆輪葉，以向下泵給之船用輪葉替代。向下泵給作用，可將肉汁軸向倒入醱酵槽中央，減少厚塊之形成。於R5D製程接種後，立即加入甲醇(200毫升)。由於肯瑞酮在醱酵槽中滅菌，除了葡萄糖外的所有營養物均於製程之初加入，勿需連續加入氮源，磷源或抗生素。

表26-肯瑞酮生物轉化之發展實驗說明

製程編號	R5A	R5B	R5C	R5D
培養基(克/升) 穀物浸漬液 酵母浸膏 $NH_4H_2PO_4$ 葡萄糖 OSA pH	 30 15 3 15 0.5亮升 以2.5N NaOH 調至6.5	同R5A	 蛋白腺：20 酵母浸漬：20 葡萄糖：20 OSA：3毫升 以2.5N NaOH 調至6.5	同R5A
肯瑞酮加入	160克肯瑞酮 在槽中醱酵	160克肯瑞酮 在槽中醱酵	160克肯瑞酮 在槽中醱酵	160克肯瑞酮 在槽中醱酵
培養基供給	葡萄糖填加	葡萄糖	葡萄糖	葡萄糖
收獲時間	119.5小時	119.5小時	106小時	119.5小時
生物轉化	96%	94.1%	88.5%	92.4%

為了使長出液面之固相可維持浸入狀況，在製程開始之初96小時，於各醱酵槽中加入生長基(2升)。加入生長基或使用向下泵給之輪葉(R5B製程)並無法完全克服混合問題，但製程結果證明製程之可行性及優點，且顯示依據傳統實務可提供令人滿意之混合。

實例10

實質上依實例9所述方式進行三次生物轉化製程。此實例之轉化生長基，肯瑞酮添加步驟，回收時間及轉化程度示於表27：

表27-10升規模轉化作用之製程說明

製程編號	R6A	R6B	R6C
培養基(克/升) 穀物浸漬液 酵母浸膏 $NH_4H_2PO_4$ 葡萄糖 OSA pH	 30 15 3 15 0.5亮升 以2.5N NaOH 調至6.5	同R6A	 蛋白胨：20 酵母浸漬：20 葡萄糖：20 OSA：3毫升 以2.5N NaOH 調至6.5
肯瑞酮加入	160克在槽中滅菌	160克在槽中滅菌	160克在槽中滅菌
培養基之供給	葡萄糖供給； 在71小時時加入 1.3升培養基及 0.8升無菌水	葡萄糖供給； 在95小時時加入 0.5升培養基及 0.5升無菌水	葡萄糖供給； 無其他的添加
回收時間	120小時	120小時	120小時
生物轉化	95%	96%	90%
團塊平衡	59%	54%	80%

在R6A製程中，於71小時後加入生長基(1.3升)及無菌水(0.8升)以浸沒菌絲體塊，其係長出液態肉汁表面。於相同目的下，於製程R6B中在95小時後加入生長基(0.5升)及無菌水(0.5升)。物質平衡數據顯示，當將長出液體表面上之團塊減至最小時可有較佳之團塊平衡。

實例11

進行製程以比較肯瑞酮預滅菌，及肯瑞酮及生長基之滅菌。於製程R7A中，如圖2所說明的進行，所在之條件可與R2C，R2D，R3A，R3B，R3D，R4A及R4D相比。製程R7B於圖3中說明，其條件可與實例4，9及10及製程R4B相比。此實例製程中，轉形生長培養基，肯瑞酮之添加步驟，回收時間，及轉化程度示於表28中：

表28-10升規模生物轉化之製程說明

製程編號	R7A	R7B
培養基(克/升) 穀穀物浸漬液 酵母浸膏 $NH_4H_2PO_4$ 葡萄糖 OSA pH	 30 15 3 15 0.5毫升 以2.5 N NaOH 調至6.5	同R7A
肯瑞酮加入	160克肯瑞酮在槽外滅菌及拌合	160克肯瑞酮在槽中滅菌
培養基加入	葡萄糖供給； 肯瑞酮加上1.6升生長基加入	葡萄糖供給無其他添加
回收時間	118.5小時	118.5小時
生物轉化	93%	89%

團塊平衡，以取自製程R7B之最終樣品為準，為89.5%，顯示在生物轉化中無顯著的受質流失或降解。經決定知各製程中之混合均適宜。

於最初80小時之中，葡萄糖殘留濃度在欲求的每升5-10克控制範圍之上。製程性能顯然不受累積在醱酵槽頭部空間之不濃厚團塊所影響。

實例12

在一系列1升萃取製程中決定萃取效率，並綜合於表29中。在這些製程中，其各自利用乙酸乙酯自菌絲體中萃取類固醇(1升/升醱酵體積)。在各製程中進行二次相繼的萃取作用。依據RP-HPLC，總類固醇中約80%可在第一次萃取中回收；而在第二次萃取中回收可增加至95%。第三次萃取可回收另3%的類固醇。其餘的2%流失在上清液水相中。利用真空將萃取物抽至乾，但不以任何額外的溶劑洗滌。就製程經濟性判斷，以溶劑驅除可增加自最初萃取之回收率。

表29-1升萃取下11α-羥基肯瑞酮之回收(總數之%)

製程編號	1st萃取	2nd萃取	3rd萃取	上清液
R5A	79%	16%	2%	2%
R5A	84%	12%	2%	2%
R4A	72%	20%	4%	4%
R4A	79%	14%	2%	5%
R4B	76%	19%	4%	1%
R4B	79%	16%	3%	2%
R4B	82%	15%	2%	1%
平均	79%	16%	3%	2%

在1升肉汁規則中，以甲基異丁基酮(MIBK)及甲苯為萃取/結晶溶劑。利用如上述之萃取策略，在萃取效率及結晶性能上，MIBK及甲苯均可與乙酸乙酯比得上。

實例13

在這些製程的醱酵循環開始之初，於肯瑞酮受質上進行粒子大小的研究，此為圖2及3製程評估的一部份。如上述，填加至圖1製程之肯瑞酮在接種至醱酵槽前予以微粉化。在此製程中，肯瑞酮不予以滅菌，而非欲求微生物之生長可由抗生素之加入而控制。圖2及3之製程在肯瑞酮反應前先滅菌。在圖2的製程中，肯瑞酮引入醱酵槽前先在摻合器中完成此點。於圖3的製程中，在生長培養基中之肯瑞酮懸浮液於製程之初在槽中滅菌。如上述，滅菌極易造成肯瑞酮粒子之聚集。因為肯瑞酮在水性生長基中有限的溶解度，製程之產製力依團塊自固相之轉移而定，且因此預期由固體粒子受質所呈現之界面面積而定，其可再依粒子大小分佈而定。這些考慮因素先充作圖2及3製程之決定因素。

然而，在圖2拌合器中之攪動及在圖3醱酵槽中之攪動，加上圖2批次轉移中所用之剪切泵，頃發現可將聚集物降解至未滅菌前且已微粉化肯瑞酮填加至圖1製程之合理近似之粒子大小範圍內。此可由各製程反應循環開始取得之粒子大小分佈予以說明。見表30及圖4及5。

表30-三種不同肯瑞酮樣品之粒子分佈				
樣品	45-125微	<180微	平均粒子微米	製程#：生物轉化%
肯瑞酮出貨	75%	95%	--	R3C: 93.1% (120 h) R4C: 96.3% (120 h)
拌合的樣品	31.2%	77.2%	139.5	R3A: 94.6% (120 h) R3B: 95.2% (120 h)
滅菌的樣品	24.7%	65.1%	157.4	R4B: 97.6% (120 h) R5B: 93.8% (120 h)

由表30之數據可注意到，攪動器及剪切泵可有效地減少經滅菌肯瑞酮之平均粒子大小，使和未滅菌受質有相同的幅度，但未滅菌的受質係有顯著的大小差異。除了此差異，反應性能數據顯示，預滅菌製程至少在產製力上和圖1之製程相同。進一步的優點可由圖2製程中了解，即經由進一步減少及控制粒子大小的某些步驟，如將經滅菌之肯瑞酮濕粒輾磨及/或經由巴斯德法滅菌而非滅菌法。

實例14

依實例5所述方式製備種子培養物。在20小時時，接種醱酵槽中之菌絲體占40% PMV。其pH值為5.4，且留下未使用之葡萄糖有14.8克/升。

製備具表20所示組成之轉形生長基(35升)。在製備填加培養基中，葡萄糖及酵母浸膏分別滅菌，且一次一起加入，其中葡萄糖有30%按重計之最初濃度，酵母浸膏為

10%按重計。填加物之pH值調為5.7。

利用此培養基(表20)，進行二次生物轉化製程，以將肯瑞酮轉化作11α-羥基肯瑞酮。各製程均在60升的醱酵槽中進行，其配備有攪動器包括一個Rushton渦輪輪葉及二個Lightnin'A315輪葉。

生長培養基最初負荷至醱酵槽為35升。微粉化且未滅菌之肯瑞酮以0.5%最初濃度加入。醱酵槽內之培養基中接種以種子培養物，後者依實例5所示方式製備，最初之接種比例為2.5%。醱酵在28℃，200-500 rpm攪動率，及0.5 vvm通氣率下進行，則反應應足以維持至少20%按體積計之溶氧水平。在產製製程中所發展之轉形培養物係呈極小的卵丸型式(約1-2毫米)。肯瑞酮及補足的營養物通常依實例1所述方式連續加至醱酵槽中。營養物之添加每4小時一次，比例為每升醱酵槽肉汁有3.4克葡萄糖及0.6克酵母浸膏。

表31示出在本發明各製程中之通氣率，攪動率，溶氧，PMV及pH，以及各批次中葡萄糖之添加。表32示出肯瑞酮之轉化概況。R11A製程在46小時後中止；R11B製程繼續96小時。於後一製程中，於81小時時可達到93%轉化，於第84小時時再一次添加；之後中止。可注意到在停止添加及製程結束之間，粘度會有顯著的變化。

表31

醱酵作用R11A

時間	空氣(1pm)	rpm	% DO	反壓	PMW(%)	pH	Gluc cc (克/升)
0.1	20	200	93	0	2	6.17	5.8
7	20	200	85.1	0	5	6.03	5.5
12.4	20	300	50.2	0		5.43	
21.8	20	400	25.5	0	38	6.98	0
29	20	500	17	0	35	5.22	
30.2	20	500	18.8	10		5.01	
31	20	500	79	10		4.81	1
35.7	20	500	100	10	45	5.57	0
46.2	20	500	23	6	45	5.8	1

葡萄糖總重：27.5克/升

酵母浸膏總量：8.75克/升

醱酵作用R11B

時間	空氣(1pm)	rpm	% DO	反壓	PMW(%)	pH	Gluc cc (克/升)
0.1	20	200	92.9	0	2	5.98	5.4
7	20	200	82.3	0	5	5.9	5
12.4	20	300	49.5	0		5.48	
21.8	20	400	18	0	40	5.48	0

29	20	500	36.8	0	35	5.1	3
35.7	20	500	94.5	10		4.74	0
46.2	20	500	14.5	6	45	5.32	2
55	20	500	16.7	10		5.31	0.5
58.6	20	500	19.4	15	45	5.32	1
61.9	20	500	13	15	40	5.36	2
71.7	20	500	13	15	42	5.37	0
81.1	20	500	22.9	15		5.42	2.5
85.6	20	500	22	15	45	5.48	1
97.5	20	500	108	15	45	6.47	0
117.7	20	500		15		7.38	0
葡萄糖總重：63克/升 酵母浸膏總量：14.5克/升							

表 32

醱酵 R11A：肯瑞酮轉化								
濃度(克/升)					轉化	Calc OH-can	轉化率(克/升/小時)	
樣品	時間	OH-can	肯瑞酮	總量	(%)	(克/升)	估計值	實測值
R11A-0	0.10	0.00	5.41	5.41				
R11A-7	7.00	0.18	4.89	5.07	3.58	0.18	0.03	0.03
R11A-22	21.80	2.02	2.12	4.14	48.75	2.44	0.15	0.12
R11A-29	29.00	3.67	4.14	7.81	47.03	4.48	0.28	0.23
R11A-36	35.70	6.68	1.44	8.12	82.27	7.74	0.49	0.45
R11A-46	46.20	7.09	0.41	7.51	94.48	8.59	0.08	0.04
醱酵 R11B：肯瑞酮轉化								
濃度(克/升)					轉化	Calc OH-can	轉化率(克/升/小時)	
樣品	時間	OH-can	肯瑞酮	總量	(%)	(克/升)	估計值	實測值
R11B-0	0.1	0.00	5.60	5.60				
R11B-7	7.0	0.20	4.98	5.18	3.78	0.19	0.03	0.03
R11B-22	21.8	2.51	2.46	4.97	50.49	2.52	0.16	0.16

R11B-29	29.0	4.48	16.99	21.47	20.87	4.69	0.30	0.27
R11B-36	35.7	8.18	10.35	18.53	44.16	9.70	0.75	0.55
R11B-55	55.0	17.03	13.20	30.23	56.33	19.50	0.32	0.36
R11B-59	58.6	20.80	11.73	32.53	63.95	21.97	0.69	1.05
R11B-62	61.9	22.19	8.62	30.81	72.02	24.50	0.77	0.42
R11B-72	71.7	26.62	3.61	30.23	88.06	29.46	0.51	0.45
R11B-81	81.1	27.13	2.05	29.18	92.97	30.32	0.09	0.05
R11B-86	85.6	26.87	2.02	28.88	93.02	30.11	-0.04	-0.06
R11B-97	97.5	23.95	1.71	25.66	93.34	30.22	0.01	-0.25
R11B-118	117.7	24.10	1.68	25.79	93.47	30.26	0.00	0.01

實例15

依據大體上上述之方法，可測試肯瑞酮生物轉化成11α-羥基肯瑞酮中各種培養物之效力。

依實例5所述方式製備黑曲霉ATCC 11394，少根根霉ATCC 11145及匍枝根霉ATCC 6227b之各操作細胞庫。將具有表18所示組成之生長基(50毫升)以來自操作細胞庫之孢子懸液接種，並置於培育箱中。於培育箱中製備種子培養物，係在26℃下醱酵約20小時。培育箱在200 rpm下攪拌。

以一份(2毫升)各微生物之種子培養物來接種於含有表18生長培養基(30毫升)之轉形燒瓶中。每一種培養物接種二個燒瓶，共6個。肯瑞酮(200毫克)溶於36℃之甲醇中(4毫升)，取此溶液0.5毫升引入各燒瓶中。生物轉化在實例5所述條件下進行，且各瓶並加入50%按重計之葡萄糖溶液(1毫升)。在前72小時後，在各別的轉形醱酵燒瓶中觀察菌絲體之發展：

ATCC 11394-良好一致的生長

ATCC 11145-在前48小時有良好的生長，但菌絲體群生成球狀；在最後24小時無明顯的生長；

ATCC 6227b-良好的生長；菌絲體團塊形成群生之球，

取出肉汁樣品分析生物轉化之程度。於三天後，利用ATCC 11394醱酵可提供11α-羥基肯瑞酮80-90%轉化；ATCC 11145提供50%轉化；而ATCC 6227b提供80-90%轉化。

實例16

利用實例15所述之方法，測試額外的微生物將肯瑞酮轉化成11α-羥基肯瑞酮之效力。受試之微生物及結果示於表33中：

表 33-測試肯瑞酮生物轉化成 11α-羥基肯瑞酮之培養物					
培養物	ATTC#	培養基[1]	結果	大約之轉化率	
米根霉	1145	CSL	+	50%	-
匍枝根霉	6227b	CSL	+	80-90%	-
構巢曲霉	11267	CSL	+	50%	80%
黑曲霉	11394	CSL	+	80-90%	-
赭曲霉	NRRL 405	CSL	+		90%
赭曲霉	18500	CSL	+		90%
枯草桿菌	31028	P & CSL	-	0%	0%
枯草桿菌	31028	CSL	-	0%	0%
桿菌屬	31029	P & CSL	-	0%	0%
桿菌屬	31029	CSL	-	0%	*
巨大芽孢桿菌	14945	P & CSL	+	5%	80%*
巨大芽孢桿菌	14945	CSL	+	5%	10%
粉紅木霉	12519	CSL	+	80%*	90%*
粉紅木霉	8685	CSL	+	80%*	90%*
弗氏鏈霉菌	10745	CSL	+	＜5%	＜10%

弗氏鏈霉菌	10745	TSB	-	*	*
淡紫灰鏈霉菌	13664	CSL	-	0%	*
淡紫灰鏈霉菌	13664	TSB	-	0%	0%
單純諾卡氏菌	6946	BP	-	0%	0%
單純諾卡氏菌	13260	BP	-	*	*
假單胞菌	14696	BP	-	*	*
假單胞菌	14696	CSL	+	＜5%	＜10%
假單胞菌	14696	TSB	-	0%	*
假單胞菌	13261	BP	+	*	＜10%
克羅斯韋假單胞菌	13262	BP		#	＜10%
惡具假單胞菌	15175	BP	-	0%	0%

[1]培養基：CSL-穀物浸漬液；TSB-胰化蛋白大豆肉汁；P&CSL-蛋白腖及穀物浸漬液

BP-牛肉浸膏及蛋白腖。

實例17

測試各種微生物將肯瑞酮轉化成9α-羥基肯瑞酮之效力。此實例製程之醱酵培養基依表34所示製備：

表34

大豆粉：

右旋糖	20克
大豆粉	5克
NaCl	5克
酵母浸膏	5克
KH_2PO_4	5克
水	至1升
pH	7.0

蛋白胨/酵母浸膏/葡萄糖：

葡萄糖	40克
蛋白胨	10克
酵母浸膏	5克
水	至1升

Mueller-Hinton：

牛肉浸漬液	300克
酪胺酸	17.5克
澱粉	1.5克
水	至1升

真菌培養在大豆粉培養基及蛋白胨-酵母浸膏葡萄糖；放線菌及真菌培養在大豆粉(加上0.9%按重計之甲酸鈉，以供生物轉形)及Mueller-Hinton肉汁中。

開始之培養物以冷凍的孢子貯液接種(20毫升之大豆粉於250毫升三角錐瓶)。燒瓶覆以牛奶濾紙並防止生物。起始之培養物(24或48小時之久)用來接種代謝培養物(也是20毫升於250毫升三角錐瓶)-有10-15%之交叉體積-且後者在加入類固醇受質以供轉形反應之前培育24-48小時。

肯瑞酮溶解/懸浮於甲醇中(20毫克/毫升)，無菌過濾，並加至培養物中使達0.1毫克/毫升之終濃度。所有的轉形醱酵燒瓶均在250 rpm下(2"衝程)於26℃溫控及60%濕度下震盪。

在加入受質後5及48小時時，或24小時時回收生物轉形物。加乙酸乙酯(23毫升)或二氯甲烷至醱酵燒瓶中以開始回收。燒瓶再震盪2分鐘，之後各瓶中之內容物倒入50毫升錐形管內。為了分相，管子在室溫下以4000 rpm離心20分鐘。各管之有機層轉移至20毫升硼矽玻璃小瓶中，並在速動真空下蒸發。小瓶加蓋並貯於-20℃。

為取得可決定結構之物質，將震盪醱酵瓶數目增加至25可使生物轉形規模擴大至500毫升。在回收時(加入受質24或48小時後)，在各燒瓶中個別加入乙酸乙酯，且燒瓶加蓋再擺回震盪槽中20分鐘。燒瓶之內容物再倒入聚丙烯瓶中，並離心以分相，或倒至分液漏斗中，在此中以重力分相。有機相乾燥，生成含於反應混合物中粗製的類固醇萃取物。

反應產物先以薄層層析分析，在矽膠(250微米)螢光襯底之板上(254毫微米)進行。將乙酸乙酯(500微升)加至各小瓶中，其中有來自反應混合物中經乾燥之乙酸乙酯萃取物。進一步分析以高性能液相層析及質譜進行。TLC板在95:5 v/v氯仿/甲醇溶劑混合物中展開。

以高性能液相層析及質譜進一步分析，採用Waters HPLC，其配備有Millennium軟體，光偶極排列之偵測器及

自動取樣器。逆相HPLC使用waters Novapak C18 (4微米粒子大小)RadialPak 4毫米匣。25分鐘之線性溶劑梯度，由水：乙腈(75:25)開始，於水：乙腈(25:75)結束。之後繼以3分鐘梯度到100%乙腈，且於管柱在最初條件下再生前進行4分鐘的等濃度洗滌。

於LC/MS中，在乙腈及水相中均加入2 nM濃度之乙酸乙酯。層析未被顯著地影響。由管柱出來之溶離液呈22:1之分裂，大多數導向PDA偵測器。其餘4.5%導向Sciex API III質譜儀之電噴灑離子化室。在陽性模式下完成質譜。由HPLC上之PDA偵測器中有一個類似的數據線路，可將單一波長色層譜轉移至質譜儀上，以共同分析UV及MS數據。

已證明質譜之段片型式可用於分類羥化之受質。二個預期的羥化肯瑞酮，11α-羥基及9α-羥基，在不同的頻率下失去水份，此一致的方式可用於診斷上。同時，9α-羥基肯瑞酮形成銨加合物較11α-羥基肯瑞酮來得更容易。示於表35的是肯瑞酮片段TLC，HPLC/UV及LC/MS數據之綜合，顯示受試的微生物可將肯瑞酮有效地生物轉化成9α-羥基肯瑞酮。在此中較佳的微生物是山扁豆生棒孢ATCC 16718。

表35-肯瑞酮醱酵作用之TLC，HPLC/UV及LC/MS數據總覽			
	9αOH-肯瑞酮之證據		
培養物	在9αQH-AD之TLC點	在9αOH-肯瑞酮之HPLC-峰	MS:357 (M+H)，339(-H_2O) & 375 (+NH_4)
藍色犁頭霉ATCC 6647	n	y	y/n
灰綠犁頭霉ATCC 22752	n		
雅致放射毛霉ATCC 6476	tr	y	tr
黃柄曲霉ATCC 1030	tr		
煙曲霉ATCC 26934	tr	y	n
構巢曲霉ATCC 11267	tr	y	y
黑曲霉ATCC 16888	n	y	y
黑曲霉ATCC 26693	n	y	n
赭曲霉ATCC 18500	n	y	n
環桿菌ATCC 12673	n	tr	n
白僵菌ATCC 7159	tr	y	y
白僵菌ATCC 13144	y	y	y
葡萄座腔菌IMI 038560	y	tr	tr
麗赤殼ATCC 14767	n	tr	y
螺卷毛殼ATCC 10195	tr	tr	y/n
叢毛單胞菌ATCC 11996	tr	tr	n
山扁豆生棒孢ATCC 16718	y	y	y
短刺小克銀漢霉ATCC 8688a	y	y	y
刺孢小克銀漢霉ATCC 3655	y	y	y
雅致小克銀漢霉ATCC 9245	y	y	y
Curcularia clavata ATCC 22921	n	y	y/n
彎孢ATCC 12071	y	n	n
放射柱孢ATCC 11011	tr	n	n
Epicoccum humucola ATCC 12722	y	y	y
稻附球菌ATCC 12724	tr	tr	tr
尖鐮孢ATCC 7601	tr		
Fusarium oxysporum f.sp. **cepae** ATCC 11171	n		
藤倉赤霉ATCC 14842	tr	y	
融粘帶霉ATCC 10097	y	tr	tr
卵形孢球托霉ATCC 22822	y	y UV?	y

金孢菌寄生IMI 109891	y	y	y
產油油脂酵母ATCC 10792	n		
黑孢殼ATCC 26180	tr	n	n
深黃被孢霉ATCC 42613	y	y	n
灰藍毛霉ATCC 1207a	n		
大毛霉ATCC 4605	tr	y	y
偶發分枝桿菌NRRL B8119			
疣孢漆斑菌ATCC 9095	tr	tr	y
黃色諾卡氏菌ATCC 12674	n	tr	n
犬股諾卡氏菌ATCC 31548	y	y	n
珊瑚諾卡氏菌ATCC 19070	n		
犬擬青霉ATCC 46579	n	y	n
產黃青霉ATCC 9480	n		
展青霉ATCC 24550	y	y	y/n
產紫青霉ATCC 46581	tr	y	y
Pithomyces atroolivaceus ATCC 6651	tr	y	tr
Pithomyces cynodotis ATCC 26150	n	tr	tr
布拉克黴霉IMI 118496	y	y	y/n
密孔菌ATCC 12231	y	y	y/n
黴腹菌ATCC 36060			
少根根霉ATCC 11145	tr	y	n
匍枝根霉ATCC 6227b	n		
馬血紅球菌ATCC 14887	n	tr	n
馬血紅球菌ATCC 21329	tr	tr	n
紅球菌ATCC 19070	n	n	n
赤紅球菌ATCC 19150	n	tr	n
紅霉素糖多孢菌ATCC 11635	y	y	y
瘤孢IMI 203033	n	n	n
黃瘤孢ATCC 13378	n		
Septomyxa affinis ATCC 6737	n	y UV?	y/n
Stachylidium bicolor ATCC 12672	y	y	y/n
Streptomyces californicus ATCC 15436	n		
燼灰鏈霉菌ATCC 3443	n		
天藍色鏈霉菌ATCC 10147	n		
團片鏈霉菌ATCC 25453			
弗氏鏈霉菌ATCC 10745	n		
灰色鏈霉菌灰色亞種 ATCC 13968	n		
灰色鏈霉菌ATCC 11984	n		

產氫鏈霉菌ATCC 19631	n		
吸水鏈霉菌ATCC 27438	y	y	y
淡紫灰鏈霉菌105	n		
寡生孢鏈霉菌ATCC 25489	n		
淺絳紅鏈霉菌ATCC 25489	n	tr	tr
玫瑰產色鏈霉菌ATCC 13400			
壯觀鏈霉菌ATCC 27465	n		
小孢硬束霉ATCC 2833			
總狀共頭霉ATCC 18192	n		
致枝霉雅ATCC 18191			
Thamnostylum piriforme ATCC 8992	y	tr	y
梭孢殼ATCC 13807			n
Trichoderma viride ATCC 26802	n		
粉紅木霉ATCC 12543	tr	y	y/n
可可輪枝孢ATCC 12474	y	tr	tr

實例18

測試各種培養物，大體上依上述將雄烯二酮生物轉化成11α-羥基雄烯二酮之效力。

基本上依實例4所述，製備**赭曲霉**NRRL 405 (ATCC 18500)；黑曲霉ATCC 11394；**構巢曲霉**ATCC 11267；**米根霉**ATCC 11145；**匍枝根霉**ATCC 6227b；**粉紅單端孢**ATCC 12519及ATCC 8685各操作細胞庫。具表18所示組成之生表基(50毫升)及來自操作細胞庫之孢子懸液(1毫升)接種，再置培育箱中。在26℃下醱酵約20小時，可在培育箱中製備種子培養物。培育箱以200 rpm速率攪動。

取各微生物種子培育物一份(2毫升)，接種於含有表15生長基(30毫升)之轉形燒瓶中。各培養物接種於二個燒瓶，共16個。雄烯二酮(300毫克)溶於36℃之甲醇中(16毫升)，且此溶液取一份0.5毫升引各燒瓶中。進行生物轉化，大體上是在實例6所述之條件下，歷48小時。48小時

後，匯集肉汁樣品，以乙酸乙酯萃取，如實例17所述。乙酸乙酯以蒸發濃縮，樣品再以薄層層析分析，以決定是否有層析移動性類似11α-羥基雄烯二酮標準品(Sigma Chemical Co., St. Louis)之產物之存在。結果示於表36。陽性結果以"+"表示。

表36
雄烯二酮生物轉化成α-羥基雄烯二酮

培養物	ATCC#	培養基	TLC結果
米根霉	11145	CSL	+
匍枝根霉	6227b	CSL	+
構巢曲霉	11267	CSL	+
黑曲霉	11394	CSL	+
赭曲霉	NRRL 405	CSL	+
赭曲霉	18500	CSL	+
粉紅單端孢	12519	CSL	+
粉紅單端孢	8685	CSL	+

表36之資料證明所列的各培養物可自雄烯二酮產生具有和11α-羥基雄烯二酮相同Rf值之化合物。

赭曲霉NRRL 405 (ATCC 18500)以上述相同的步驟再測試，並以正常相的膠管柱層析，以甲醇為溶劑，分離及純化培養產物。以薄層層析分析流份。TLC板為Whatman K6F矽膠60Å，10x20大小，250微米厚。溶劑混合物為氯仿：甲醇，95:5，v/v。結晶產物及11α-羥基雄烯二酮標準品均以LC-MS及NMR光譜分析。二化合物均可得到相似概況及分子量。

實例19A

依實例17及18之基本方式，試驗各種微生物在雄烯二酮生物轉化成11α-羥基雄烯二酮上之效力。

煙曲霉ATCC 26934，黑曲霉ATCC 16888及ATCC 26693，稻附球菌ATCC 7156，彎孢ATCC 12017，短刺小克銀漢霉ATCC 8688a，及Pithomyces atro-olivaceus IFO 6651基本上依實例17所述方式生長。生長及醱酵培養基(30毫升)具表34所示之組成。

利用實例17及18鑑定產物之相同方法，分析上列微生物對雄烯二酮之11β-羥基化作用。結果示於表19A-1。

表19A-1
各種微生物之雄烯二酮11β-羥化作用

有機體	TLC	LC/MS
發煙曲霉ATCC 26934	+	+
黑曲霉ATCC 16888及ATCC 26693	+	+
稻附球菌ATCC 7156	+	+
彎孢ATCC 12017	+	+
短刺小克銀漢霉ATCC 8688a	+	+

在表19A-1中，"+"表示陽性結果，即R_f如薄層層析中所預期的，及在LC/MS上近似正確之分子量。

這些結果證明，所列出之微生物可以進行雄烯二酮之11β-羥化作用。

實例19B

測試各種微生物，將美克瑞酮轉化作11β-羥基美克瑞酮之效力。用於此實例之醱酵培養基如表34所述地製備。

醱酵條件及分析方法和實例17的相同。TLC板及溶劑系統如實例18所述。層析分析之理論如下：11α-羥基美克端酮及11α-羥基美克瑞酮有相同的層析移動性。11α-羥基肯

瑞酮及9α-羥基肯瑞酮呈現和11α-羥基雄烯二酮及11β-羥基雄烯二酮相同之移動型式。因此，11β-羥基美克瑞酮應有如9α-羥基肯瑞酮之相同移動性。因此，自生長培養基中萃取之化合物可以9α-羥基肯瑞酮為標準品而進行。結果示於表36中。

表37
自美克瑞酮形成11β-羥基美克瑞酮之TLC數據綜合

微生物	培養基[1]	點特性[2]
藍色犁頭霉ATCC 6647	M,S	強
黑曲霉ATCC 16888	S,P	弱(S) ?(P)
自僵菌ATCC 7159	P	強
自僵菌ATCC 13144	S,P	?,?
葡萄座腔菌IMI 038560		弱
短刺小克銀漢霉ATCC 8688a 刺孢小克銀漢霉ATCC 3655 雅致小克銀漢霉ATCC 9245	S,P S,P S,P	強 強 強
彎孢ATCC 12017	S	強
卵形孢球托霉ATCC 22822	S,P	強
展青霉ATCC 24550	S,P	強
產紫青霉ATCC 46581	S,P	強
Pithomyces atro-olivaceus IFO 6651	S,P	弱
馬血紅球菌ATCC 14887	M	弱
紅霉素糖多孢菌ATCC 11635	M, SF	弱
吸水鏈霉菌ATCC 27438	M, SF	強
淺絳紅鏈霉菌ATCC 25489	S,P	弱
雅致枝霉ATCC 18191	S,P	弱
Thamnostylum piriforme ATCC 8992	S,P	弱
粉紅單端孢ATCC 12543	P,S	弱(P) ? (S)

[1] M=Mueller-Hinton

P=PYG(蛋白腺/酵母浸膏/葡萄糖)

S=大豆粉

SF=大豆粉加上甲酸鹽

[2] ?=與無受質對照組之可置疑之差異

這些數據顯示，在此表中所列的大多數有機體可產生產物，類似或相同於由美克瑞酮來之11β-羥基美克瑞酮。

實例19C

測試各種微生物，在美克瑞酮轉化成11α-羥基美克瑞酮，△[1,2]-美克瑞酮，6β-羥基美克瑞酮，12β-羥基美克瑞酮，及9α-羥基美克瑞酮之效力。美克瑞酮依Weier，美國專利案No. 3,787,396及R.M. Weier et al., J. Med. Chem., Vol. 18, pp. 817-821 (1975)所述方式製備，其已列為本案參考。如實例17所述製備醱酵培養基，除了包括有美克瑞酮。醱酵條件基本上和實例17所述相同；分析方法也和實例17及18的相同。TLC板及溶劑系統如實例17及18所述。

受試的微生物及所得的結果示於表19C-1。

表19C-1

以各種微生物自美克瑞酮產製11α-羥基美克瑞酮

有機體	TLC	HPLC	m/z 417:399
白僵菌ATCC 7159	+	+	5:1
白僵菌ATCC 13144	+	+	10:1
深黃被孢霉ATCC 42613	+	+	1:1
短刺小克銀漢霉ATCC 8688a	+	+	1:1
刺孢小克銀漢霉ATCC 3655	+	+	1:2
雅致小克銀漢霉ATCC 9245	+	+	1:1

藍色犁頭霉ATCC 6647	+	+	1:1
黑曲霉ATCC 16888	+	+	4:1
卵形孢球托霉ATCC 22822	+	+	3:1
Pithomyces atro-olivaceus ATCC 6651	+	+	3:1
吸水鏈霉菌ATCC 27438	+	+	3:1

在表19C-1，"+"表示陽性結果，如有在薄層層析中所預期之R_f值，及如HPLC所預期之滯留時間。m/z 417:399表示417分子(羥基美克瑞酮)及399分子(美克瑞酮)之峰高比例。標準品對m/z 417及m/z 399有10:1之峰高比例。

得自白僵菌ATCC 13144之產物係分離自培育混合物，並以NMR分析，且由結構概況證實是11α-羥基美克瑞酮。類似的，列於表19C-1其他有機體所得之產物也假設是11α-羥基美克瑞酮。

表19C-2

各種微生物由美克瑞酮產製$\triangle^{1,2}$-美克瑞酮

有機體	**m/z 399**	**HPLC**	**TLC**
馬血紅球菌ATCC 148875	+	+	+
環氧桿菌ATCC 12673	+	+	+
叢毛單胞菌ATCC 11996	+	+	+
黃色諾卡氏菌ATCC 12674	+	+	+
馬血紅球菌ATCC 21329	+	+	+

在表19C-2中，"+"表示陽性結果，如有在薄層層析中所預期之R_f值，及HPLC中預期之滯留時間。

得自環氧桿菌ATCC 12673之產物係分離自培育混合物，並以NMR分析，由結構概況證實是$\triangle^{1,2}$-美克瑞酮。類似地，由表19C-2所列的其他微生物中所得之產物也證

實是△^{1,2}-美克瑞酮。

6β-及12β-羥基美克瑞酮之產製

深黃被孢霉ATCC 42613如實例17所述在美克瑞酮存在下生長。醱酵產物以快速層析分離及純化。經純化之產物以LC/MS如實例17及18般分析，而且也以質子NMR及碳-13 NMR分析。數據顯示產物中包括有6β-及12β-羥基美克瑞酮。

表19C-3
各種微生物由美克瑞酮產製9α-羥基美克瑞酮

有機體	m/z 417	HPLC	TLC
吸水鏈霉菌ATCC 27438	+	+	+
卵形孢球托霉ATCC 22822	+	+	+
短刺小克銀漢霉ATCC 8688a	+	+	+
刺孢子克銀漢霉ATCC 3655	+	+	+
雅致小克銀漢霉ATCC 9245	+	+	+
深黃被孢霉ATCC 42613	+	+	+
藍色犁頭霉ATCC 6647	+	+	+
白僵菌ATCC 7159	+	+	+
黑曲霉ATCC 16888	+	+	+

列於表19C-3之微生物，在如實例17所述相同條件下生長，並有美克瑞酮之存在。醱酵產物如實例17及18般，以TLC及LC/MS分析。"+"表示陽性結果，如有在薄層層析中所預期之R_f，及在HPLC中預期之滯留時間等。數據建議產物中包括有9α-羥基美克瑞酮。

實例19D

測試各種微生物將肯瑞酮轉化成△^{9,11}-肯瑞酮之效力。

醱酵培養基及生長條件基本上如實例17，除了在培養基中包括有肯瑞酮。分析方法如實例17及18。微生物及結果示於下表19D-1。

表19D-1
各種微生物由肯瑞酮產製△^{9,11}-肯瑞酮

有機體	m/z 339	HPLC	TLC
環氧桿菌ATCC 12673	+	+	+
叢毛單胞菌ATCC 11996	+	+	+
放射柱孢ATCC 11011	+	+	+
犬擬青霉ATCC 46579	+	+	+
Septomyxa affinis ATCC 6737	+	+	+
紅球菌ATCC 19070	+	+	+

醱酵產物以TLC及LC/MS，如實例17及18所述分析。"+"表示陽性結果，如有在薄層層析中所預期之R_f，及在HPLC中預期之滯留時間。

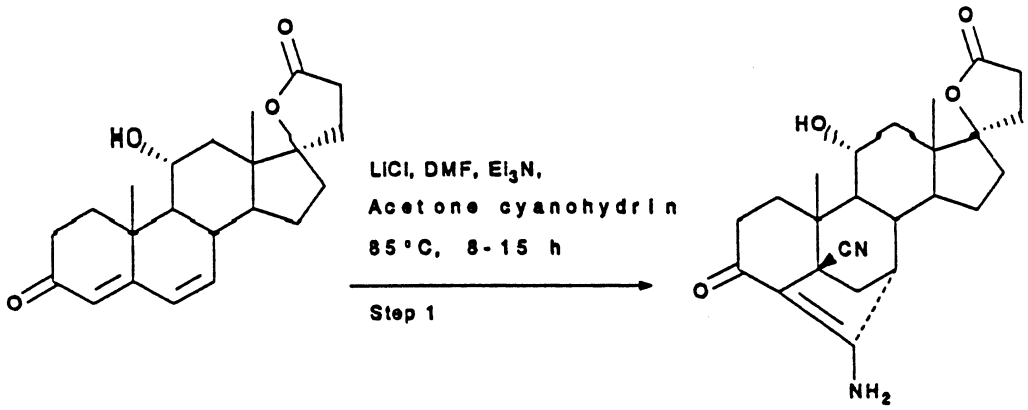
得自**Comomonas testosteroni** ATCC 11996之產物係分離自生長培養基，並以UV光譜分析。分光概況證實△^{9,11}-肯瑞酮之存在。類似地，得自表19D-1所列其他微生物之產物也假設是△^{9,11}-肯瑞酮。

實例20A

流程1：步驟1：方法A：製備5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六氫-11'β-羥基10'a,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H[環戊[a]菲]-5'-腈。

在50加侖的玻璃反應槽中，加入61.2升(57.8公斤)DMF，再加23.5公斤的11-羥基肯瑞酮1，並拌以攪拌。在

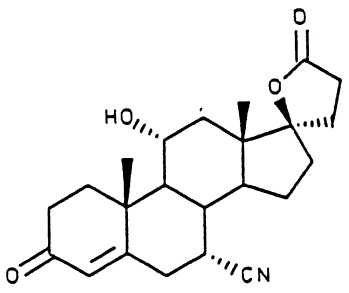
混合物中加入7.1公斤的氯化鋰。混合物攪拌20分鐘，再加入16.9公斤的丙酮合氰化氫繼以5.1公斤的三乙胺。混合物加熱至85℃，並維持在此溫度下13-18小時。反應後加入353升水，再加5.6公斤的碳酸氫鈉。混合物冷卻至0℃，轉移至200加侖的玻璃反應器，再以130公斤6.7%次氯酸鈉溶液緩慢驟冷。產物過濾，再以3x40升水洗滌，可生成21.4公斤的產物烯胺。



H^1 NMR (DMSO-d_6): 7.6 (2H, bd), 4.53 (1H, d, J=5.9), 3.71 (1H, m), 3.0-1.3 (17H, m), 1.20 (5H, m), 0.86 (3H, s), 0.51 (1H, t, J=10)。

實例20B

製備7α-氰基-11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-21-羧酸，γ-內酯



50.0克的11α-羥基瑞瑞酮及150.0毫升二甲基乙醯胺加至清潔，乾燥的三頸燒瓶中，其中配備有機械攪拌器，冷凝管，熱偶極及加熱罩。在此混合物中加入16.0毫升的硫酸溶液(由50.0毫升硫酸(98.7% Baker級)混合以50.0毫升水而製成)。再加入氰化鈉溶液，其中含有15.6克氰化鈉及27.0毫升水。

所生成的混合物在80℃下加熱7小時，轉化程度以TLC或HPLC定期檢查。約7小時後，混合物的HPLC顯示存在有7-氰基化合物。混合物再攪拌一夜，並令其冷卻至室溫(約22℃)。在混合物中加入200毫升水，再加200毫升二氯甲烷，且令生成之二相混合物攪拌，再分相。水層為凝膠。在水層加入100毫升碳酸氫鈉溶液企圖打破凝膠。水層再丟棄。

分出的二氯甲烷層以100毫升水洗滌，生成的二相混合物再予以攪拌。令其分相，且分出之二氯甲烷層經由200克矽膠過濾(Aldrich 200-4009孔篩，60Å)。濾液在45℃之減壓下濃縮至乾，利用吸氣器可生成約53.9克粗製的固體產物。粗製的固體產物再溶於二氯甲烷中，並以40毫升4N氫氯酸處理(於分液漏斗中進行)，再分相。二氯甲烷層以50毫升水洗滌。混合的水層以50毫升二氯甲烷萃取。混合的二氯甲烷層再於硫酸鈉上乾燥，生成45克固體為11α-羥基肯瑞酮及產物，7α-氰基-11α,17-二羥-3-酮基-17α-孕-4-烯-21-羧酸，γ-內酯之混合物。

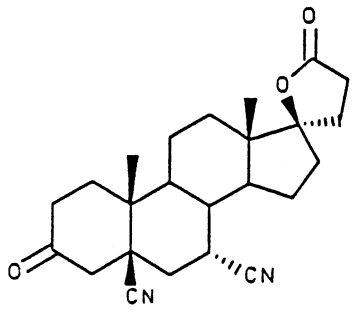
產物樣品以HPLC分析(管柱：25公分×4.6毫米，5微米

Altima C_{18}LL)；溶劑梯度：溶劑A=水/三氟乙酸=99.9/0.1，溶劑B=乙腈/三氟乙酸=99.9/0.1，流速=1.00毫升/分，梯度=65:30 (v/v)(A:B--最初)，35:65 (v/v) (A:B，於20分鐘後)，10:90(v/v) (A:B--25分鐘後)；偶極排列偵測器)其顯示出238毫微米之λ_{max}。

反應混合物以HPLC-NMR分析，利用以下的條件：HPLC--管柱：Zorbax RX-C8 (25公分x4.6毫米，5微米)利用由75% D_2O，25%乙腈至25% D_2O，75%乙腈之溶劑梯度，歷25分鐘，流速1毫升/分；^{1}H-NMR(利用WET溶劑遏止作用獲得)：5.84 (s, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.2 (m, 1H), 2.9-1.4 (m，積分並無意義乃因乙腈為溶劑遏止之故)，0.93-0.86 (s, 重疊3H, 及t, 2H)。

實例20C

製備5β,7α-二氰基-17-羥基-3-酮基-17α-孕烷-21-羧酸，γ-內酯



在三升，三頸圓底燒瓶中，將102克(0.3莫耳)17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯(肯瑞酮)與46.8克(0.72莫耳)的氰化鉀，78.6毫升(1.356莫耳)乙酸及600毫升甲醇淤漿混合。在混合物中加入64.8毫升(0.78莫耳)的吡

咯啶，且所得之淤漿加熱至迴流(64℃)，再維持約1.5小時。令淤漿之溫度降至25℃-30℃，歷10分鐘(利用冷卻浴)。於冷卻中在褐色固體沉澱時緩緩加入120毫升濃縮的氫氯酸。

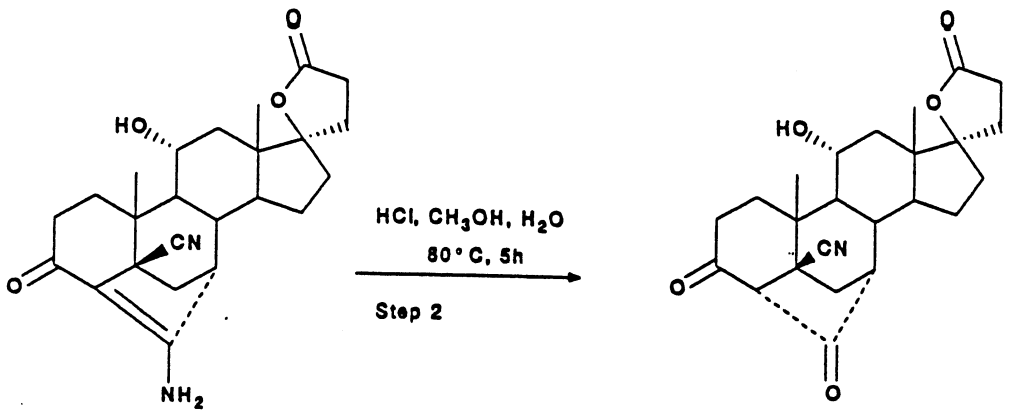
混合物在25℃-30℃下攪拌1.5小時，再於30分鐘中加入500毫升水。混合物在冰浴下冷卻至5℃，由加入100毫升9.5M氫氧化鈉(0.95莫耳)將pH值調至3-55(利用pH條追踪)。過多的氰化物由加入家用漂白水而破壞。加入25毫升(0.020莫耳)以達到陰性的澱粉碘化物試驗。過濾冷混合物(10℃)，且固體以水洗直到潤洗液呈中性pH值(pH條)為止。固體在60℃下乾燥至111.4克恆重。

所分離出之固體於Fisher Johns熱板上以244℃-246℃會熔化。含有固體之甲醇溶液在210-240毫微米之UV區域中並無吸收。IR ($CHCl_3$)公分$^{-1}$ 2222(氰化物)，1775(內酯)，1732 (3-酮)，^{1}H NMR(吡啶d_5)) ppm 0.94 (s, 3H), 1.23 (s, 3H)。

實例21A

流程1：步驟2：製備4'S(4'α),7'α-十六氫-11'α-羥基10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮基螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]-5'β (2'H)-腈

在200加侖的玻璃反應器中加入50公斤的烯胺2，約445升的0.8 N稀鹽酸及75升甲醇。混合物加熱至80℃歷5小時，冷卻至0℃歷2小時。固體產物過濾可生成36.5公斤的無水產物二酮。



H^1 NMR (DMSO-d_6): 4.53 (1H, d, J=6), 3.74 (2H, m), 2.73 (1H, dd, J=14,7) 2.65-2.14 (8H, m), 2.05 (1H, t, J=11), 1.98-1.71 (4H, m), 1.64 (1H, m), 1.55 (1H, dd, J=13, 5), 1.45-1.20 (7H, m), 0.86 (3H, s)。

實例21B

流程1：步驟1及2：在原位製備4'S(4'α),7'α-十六氫-11'α-羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲-[17H]環戊[a]菲]-5'β (2'H)-腈，製備自11α-羥基肯瑞酮

在配備有冷卻冷凝管，機械攪拌器，加熱罩及控制器及漏斗之反應器內加入100克(280.54毫莫耳)11-羥基肯瑞酮(其依實例1方式製備)，再加300毫升二甲基乙醯胺(Aldrich)。混合物攪拌直到11-羥基肯瑞酮溶解為止。在此混合中加入31.5毫升的50%硫酸(Fisher)，其可造成生成混合物之溫度上升至約10℃至15℃。再以2至3分鐘期間加入氰化鈉溶液，後者由31.18克(617.20毫莫耳)(Aldrich)氰化鈉溶於54毫升去離子水中而製備。生成之混合物在加入氰化鈉溶液後溫度會上昇至20℃至25℃。

混合物加熱至80℃，在此溫度下可維持2-3小時。一旦由HPLC分析知由11α-羥基肯瑞酮至烯胺之轉化實質上完全了(大於98%之轉化)，熱源即可移去。在未分離出混合物中所含之烯胺後，以3-5分鐘加入額外的148毫升50%硫酸。經10分鐘後，再加入497毫升去離子水。

混合物加熱至102℃，並維持在此溫度下直到自混合物中移去約500克餾出物為止。在反應1蒸餾之中，500毫升去離子水分4次125毫升加至混合物中。各份在等量之餾出物(125毫升)被移出後才加至混合物中。反應繼續2小時。當HPLC分析顯示將烯胺水解成二酮之反應實質上完全後(大於98%的轉化)，混合物可以20分鐘冷卻至約80℃。

混合物經玻璃漏斗過濾。反應器以1.2升去離子水潤洗，以移去殘留的產物。在濾瓶上之固體利用等量(約0.4升)的潤洗水洗滌三次。在反應器中製備1升的甲醇及去離子水(1:1 v/v)溶液，且濾液以此溶液500毫升洗滌。濾液再以留下的500毫升甲醇/水溶液洗第二次。在漏斗上應用真空，以充份乾燥濾液以供轉移。濾液轉移至乾燥烘箱上(在此於真空下乾燥16小時生成84克乾燥的產物二酮，4'S(4'α),7'α-十六氫-11'α-羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲-[17H]環戊[a]菲]-5'β(2'H)-腈。HPLC分析顯示有94%欲求之二酮。

實例22

流程1：步驟3A：方法A：製備11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

採用4頸的5升圓底燒瓶，其配備有機械攪拌器，壓力平衡之添液漏斗及氮氣入口管路，溫度計及有起泡器之冷凝管。起泡器經由聚乙烯管子連接至2個2升的閥內，第一個是空的且其安置是為避免第二閥內之物質(1升濃縮的次氯酸鈉溶液)回抽至反應容器中。二酮**3** (79.50克；[重量未校正，純度為85%])加至燒瓶內，於3升甲醇中。25%甲醇甲氧化鈉溶液(64.83克)置於漏斗中，再於攪拌及氮下，歷10分鐘期逐滴加入。一旦完全加入，橘黃色反應混合物加熱至迴流歷20小時。在此時期之後，經添液漏斗將167毫升的4 N HCl逐滴加至仍迴流中之反應混合物中(小心：在此時HCN會逸出)。反應混合物的顏色會變淡些呈淺金黃色。冷凝管再以取出之頭部替代，並由蒸餾移出1.5升甲醇，而1.5升水經由漏斗同時加至燒瓶內，與蒸餾速率一致。反應混合物冷卻至環境溫度，並以2.25升的二氯甲烷萃取二次。混合的萃取物相繼以750毫升的冷的飽和NaCl溶液，1N NaOH及飽和的NaCl洗滌。有機層於硫酸鈉上乾燥一夜，過濾，再減少體積至~250毫升(真空下)。加入甲苯(300毫升)且留下之二氯甲烷在減壓下汽滌，此時期產物開始在燒瓶壁上形成白色固體。燒瓶之內容物冷卻一夜，固體再以過濾移去。其以250毫升甲苯及二次250毫升乙醚洗滌，經在真空漏斗上乾燥生成58.49克的白色固體，以HPLC知純度為97.3%。在濃縮母液時，可得6.76克額外的77.1%純度產物。總產率，針對純度調整，為78%。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): 5.70 (1H, s), 4.08 (1H, s), 3.67 (3H,

s), 2.9-1.6 (19H, m), 1.5-1.2 (5H, m), 1.03 (3H. s)。

實例23

流程1：步驟3B：11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧甲酯，γ-內酯轉化成17α-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

如上配置5升的四頸燒瓶，除了在起泡器上不備置截留系統。在燒瓶中加入138.70克的羥基酯，再加1425毫升二氯甲烷，在氮下攪拌進行。反應混合物利用鹽/冰浴冷卻至-5℃。快速加入甲烷磺醯氯(51.15克，0.477莫耳)，再緩慢逐滴加入三乙胺(54.37克)於225毫升二氯甲烷。調整添加之速率，此需~30分鐘，使反應溫度絕不超過約5℃。加完後繼續攪拌1小時，且反應內容物轉移至12升的分液漏斗，此中加入2100毫升的二氯甲烷。溶液以各700毫升的1N HCl，1N NaOH及飽和的NaCl水溶液洗滌。水性洗液混合，再以3500毫升二氯甲烷回萃取。所有的有機洗液均混合在9升之瓶內，此中並加入500克的中性礬土，活性II級，及500克無水的硫酸鈉。瓶中之內容物混合均勻30分鐘，再過濾。濾液在真空下使乾燥，可生成膠狀黃色泡沫。此溶於350毫升二氯甲烷中，再於攪拌下逐滴加入1800毫升乙醚。調整加入之速率，使一半的乙醚以30分鐘期加入。約加入750毫升後，產物開始呈晶狀固體而可分離。留下之乙醚於10分鐘中加入。固體過濾移出，濾塊以2升的乙醚洗滌，再於50℃之真空烘箱中乾燥一夜，可生成144.61克(88%)幾乎白色之固體，mp 149℃-150℃。以此

方式製備之物質以HPLC知純度通常為98-99%(面積%)。在一次製程中，可得熔點為153°-153.5℃之物質，以HPLC面積決定之純度為99.5%。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): 5.76 (1H, s), 5.18 (1H, dt), 3.68 (3H, s), 3.06 (3H, s), 2.85 (1H, m), 2.75-1.6 (19H, m), 1.43 (3H, s), 1.07 (3H, s)。

實例24

流程1：步驟3C：方法A：製備17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

如第二實例般裝置1升的四頸燒瓶。在攪拌下，於氮下加入甲酸(250毫升)及醋酐(62毫升)。加入甲酸鉀(6.17克)，且反應混合物在油浴加熱下使內部溫度達到40℃(此點於後以70℃重覆進行可有更好的結果)歷16小時。16小時後，加入甲磺酸酯使內部溫度上升至100℃。繼續加熱攪拌2小時，之後溶劑在旋轉蒸發器上真空移去。殘留物與500毫升冰水共攪拌30分鐘，再以每份500毫升之乙酸乙酯萃取二次。有機相混合，相繼以冷的250毫升飽和的氯化鈉溶液(二次)，1N氫氧化鈉溶液，及再次的飽和的氯化鈉洗滌。有機相再於硫酸鈉上乾燥，過濾，並真空乾燥生成黃白色泡沫，其當以藥匙接觸時即粉碎成玻璃狀。所形成之粉末，經分析有14.65克(以HPLC面積%計)，呈82.1% 17α-羥基-3-酮基孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲基酯，γ-內酯；7.4% 17α-羥基-3-酮基孕-4,11-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，內酯；及5.7% 9α,17-羥基-3-酮基-17α-孕-

4-烯-7α,21-二羧酸，雙(γ-內酯)之混合物。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): 5.74 (1H, s), 5.67 (1H, m), 3.61 (3H, s), 3.00 (1H, m), 2.84 (1H, ddd, J=2,6,15), 2.65-2.42 (6H, m), 2.3-2.12 (5H, m), 2.05-1.72 (4H, m), 1.55-1.45 (2H, m), 1.42 (3H, s), 0.97 (3H, s)。

實例25

流程1：步驟3C：方法B：製備17α-羥基-3-酮基孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

如上實例般備置5升的四頸燒瓶，再於氮下及攪拌下加入228.26克醋酸及41.37克醋酸鈉。使用油浴，將混合物加熱至100℃之內部溫度。加入甲磺酸酯(123.65克)，再繼續加熱30分鐘。在此時期末了，停止加熱再加200毫升的冰水。溫度下降至40℃，再繼續攪拌1小時，之後反應混合物緩緩倒至5升攪拌燒瓶中之1.5升冰水內。產物呈膠狀油狀分離。油溶於1升乙酸乙酯中，再以各1升冷的飽和氯化鈉溶液，1N氫氧化鈉，及最後的飽和氯化鈉洗滌。有機相於硫酸鈉上乾燥並過濾。濾液真空乾燥，可生成泡沫，其可收縮成膠狀油。以乙醇研磨一些時間，最終可固化。固體過濾，並以一些乙醚洗滌可生成79.59克的黃白色固體。此中包括70.4%欲求的△^{9,11}烯酯**6**，12.3%△^{11,12}烯酯**8**，10.8% 7-α,9-α-內酯**9**及5.7%未反應的**5**。

實例26

流程1：步驟3D：方法A：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

四頸加套的500毫升反應器，其中配備有機械攪拌器，冷凝管/起泡器，溫度計及有氮入口之添液漏斗。反應器中加入8.32克粗製的烯酯於83毫升二氯甲烷，並在氮下及攪拌下進行。在此中加入4.02克二鹼式磷酸鉀，再加12毫升的三氯乙腈。外部之冷卻水經由反應器外套流過，且反應混合物冷卻至8℃。在添液漏斗中以10分鐘加入36毫升30%過氧化氫。一旦完全加完後，最初的淺黃色反應混合物轉成幾乎無色。在整個添加過程中反應混合物均維持在9±1℃，共繼續攪拌一夜(共23小時)。在反應混合物中加入二氯甲烷(150毫升)，且整個內容物加至~250毫升冰水中。此以150毫升二氯甲烷萃取三次。混合的二氯甲烷萃取物以400毫升冷的3%硫酸氫鈉溶液洗滌，以分解任何殘留的過氧化物。之後再以330毫升冷的1N氫氧化鈉，400毫升冷的1N氫氯酸，及最後400毫升水洗滌。有機相於硫酸鎂上乾燥，過濾，且濾塊以80毫升二氯甲烷洗滌。溶劑於真空下移去，可生成9.10克粗製產物，呈淺黃固體。此自~25毫升2-丁酮中再結晶，可生成5.52克幾乎白色之結晶。最後自丙酮中再結晶(~50毫升)可生成3.16克長形，非環狀物質，mp 241-243℃。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): 5.92 (1H, s), 3.67 (3H, s), 3.13 (1H, d, J=5), 2.89 (1H, m), 2.81-2.69 (15H, m), 1.72 (1H, dd, J=5, 15), 1.52-1.22 (5H, m), 1.04 (3H, s)。

實例27

流程1：步驟3：選擇第1：由4'S(4'α),7'α-十六氫-11'α-

羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]-5'β (2'H)-腈，至9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

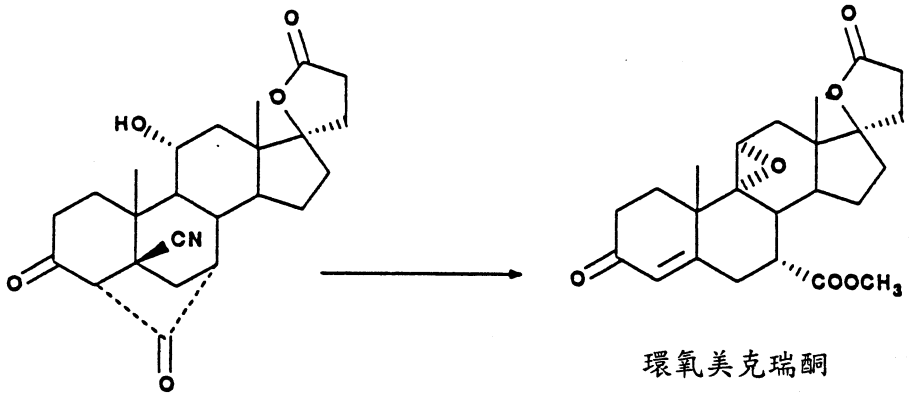
二酮(20克)加至清潔及乾燥的反應器中，再加820毫升MeOH及17.6毫升的25% NaOMe/MeOH溶液。反應混合物加熱至迴流(~67℃)，可達16-20小時。產物以40毫升4N HCl驟冷。溶劑在大氣壓力下以蒸餾移去。加入100毫升甲苯且殘留的甲醇與甲苯共沸蒸餾而移去。濃縮後，粗製的羥基酯4溶於206毫升二氯甲烷中，再冷卻至0℃。加入甲烷磺醯氯(5毫升)，再緩緩加入10.8毫升的三乙胺。產物攪拌45分鐘。溶劑於真空蒸餾下移去，可生成粗製的甲烷磺酸酯**5**。

在另一乾燥的反應器內加入5.93克甲酸鉀，240毫升甲酸及118毫升醋酐。混合物加熱至70℃，歷4小時。

甲醇混合物加至於上製備之濃縮甲磺酸酯溶液5中。混合物加熱至95-105℃歷2小時。產物混合物冷卻至50℃，揮發組份再於50℃真空蒸餾下移去。產物分配在275毫升的乙酸乙酯及275毫升水中。水層再以137毫升乙酸乙酯萃取，以240毫升冷的1N氫氧化鈉再以120毫升飽和的NaCl回萃取。經分相後，有機層在真空蒸餾下濃縮，可生成粗製的烯酯。

產物溶於180毫升二氯甲烷中，再冷卻至0-15℃。加入8.68克磷酸氫二鉀，再加2.9毫升的三氯乙腈。在混合物中以3分鐘加入78毫升的30%過氧化氫溶液。反應混合物在0-

15℃下攪拌6-24小時。反應後，二相混合物分離。有機層以126毫升的3%硫酸氫鈉溶液，126毫升的0.5N氫氧化鈉溶液，126毫升1N氫氯酸及126毫升10%鹽水洗滌。產物於無水硫酸鎂上乾燥，或經Celite過濾，且溶劑二氯甲烷在大氣壓力下以蒸餾移去。產物自甲基乙基酮中結晶二次，可生成7.2克的環氧基美克瑞酮。



二酮　　環氧美克瑞酮

實例28

流程1：步驟3：選擇第2：轉化1'S(4'α),7α-十六氫-11'α-羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]-5'β (2'H)-腈至9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯，未分離中間物。

準備四頸的5升圓底燒瓶，其配備有機械攪拌器，添液漏斗加有氮氣入口，溫度計及有起泡器之冷凝器，其並粘附有次氯酸鈉刮除器。二酮(83.20克)加至燒瓶中之3.05升甲醇內。添液漏斗中加入67.85克的25% (w:w)甲氧化鈉於甲醇之溶液。在氮及攪拌下，以15分鐘將甲氧化物逐滴加

至燒瓶內。可發展成暗橘色/黃色淤漿。反應混合物迴流加熱20小時，再於繼續迴流下逐滴加入175毫升的4N氫氯酸(小心，在此操作中HCN會逸出!)。迴流冷凝管換上可取出之頭，再以蒸餾移去1.6升甲醇，同時經由漏斗逐滴加入1.6升10%氯化鈉水溶液，以配合蒸餾速率之速率進行。反應混合物冷卻至環境溫度，再以各2.25升的二氯甲烷萃取二次。混合的萃取物以冷的750毫升1N氫氧化鈉及飽和的氯化鈉溶液洗滌。有機層在一大氣壓下由甲醇之共沸蒸餾而乾燥，使最終體積為1升(共移出0.5%以供分析)。

濃縮的有機溶液(羥基酯)再加回至原有的反應燒瓶中，其如前般備置，但無HCN閥。燒瓶冷卻至0℃，再將30.7克的甲烷磺醯氯於氮攪拌下加入。添液漏斗中填入32.65克三乙胺，其再以15分鐘期逐滴加入，溫度保持在5℃下。繼續攪拌2小時，同時反應混合物加溫至環境溫度。製備含有250克Dowex 50 Wx8-100酸性離子交換樹脂之管柱，並在用前使用250毫升水，250毫升甲醇及500毫升二氯甲烷洗滌。反應混合物流經此管柱，並收集之。製備新鮮管柱，再重覆上述過程。第三根250克管柱，含有Dowex 1x8-200鹼性離子交換樹脂，製備好再如上述之酸性樹脂般預處理。反應混合物流過此管柱並收集之。製備第4根鹼性樹脂管柱，並將反應混合物再次流過管柱並收集之。通過各管柱後繼以250毫升二氯甲烷洗滌管柱，共二次，每次需~10分鐘。溶劑洗液與反應混合物混合，且體積在真空下減至~500毫升，再取出此混合物2%以供品

管之用。其餘的進一步減量至150毫升終體積(粗製的甲磺酸酯溶液)。

在原先的5升反應裝置中，加入960毫升甲酸，472毫升醋酐及23.70克甲酸鉀。此混合物在氮下攪拌加熱至70℃，歷16小時。溫度再增加至100℃，且粗製的甲磺酸溶液經由添液漏斗以30分鐘期間加入。當二氯甲烷自反應混合物中蒸餾除去時，溫度下降至85℃。於其全部移去後，溫度再回升至100℃，並保持2.5小時。反應混合物再冷卻至40℃，甲酸再於壓力下移去，直到達到最少攪拌體積為止(~150毫升)。殘留物冷卻至環境溫度，再加入375毫升二氯甲烷。稀的殘留物以冷的1升飽和氯化鈉溶液，1N碳酸鈉及氯化鈉溶液洗滌。有機相於硫酸鎂上(150克)乾燥，再過濾生成暗紅棕色溶液(粗製的烯酯溶液)。

準備4頸加套之1升反應器，其配備有機械攪拌器，冷凝器/起泡器，溫度計及有氮入口之添液漏斗。反應器填以於600毫升二氯甲烷中之粗製的烯酯溶液(估計為60克)，在氮下攪拌進行。此中加入24.0克二鹼式磷酸鉀，再加87毫升的三氯乙腈。外部的冷卻水流過反應器外套，且反應混合物冷卻至10℃。在添液漏斗中加入147毫升的過氧化氫，歷30分鐘。於完全加完後，最初之暗紅棕色反應混合物可回復成淺黃色。反應混合物於整個添加過程中維持在10±1℃，並繼續攪拌一夜(共23小時)。分相，且水性部份以各120毫升的二氯甲烷萃取二次。混合的有機相再以210毫升3%硫酸氫鈉溶液洗滌。此重覆二次，之後有機及水

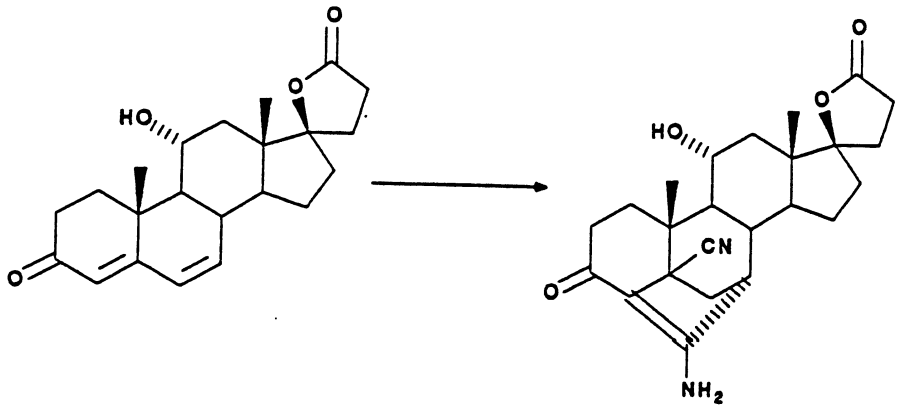
性部份由澱粉/碘化物試紙知為過氧化物陰性。有機相以210毫升冷的1N氫氧化鈉，1N氫氯酸，及最後二次鹽水洗滌。有機相共沸乾燥至~100毫升體積，再加入新鮮的溶劑(250毫升)並共沸蒸餾至相同的100毫升，且留下的溶劑於真空下移出，可生成57.05克粗製產物，呈膠狀黃色泡沫。取一部份(51.01克)進一步乾燥至44.3克之恆重，再以HPLC定量分析。經分析為27.1%環氧基美克瑞酮。

實例29-自11α-羥基雄烯二酮形成3-乙氧基-11α-羥基-雄-3,5-二烯-17-酮

11α-羥基雄烯二酮(429.5克)及甲苯磺酸水合物(7.1)在氮下加至反應燒瓶內。乙醇(2.58升)加至反應器中，生成的溶液冷卻至5℃。在溶液中以15分鐘加入原甲酸三乙酯(334.5克)，於0-15℃下。一旦原甲酸三乙酯完全加入後，反應混合物加溫至40℃，在此溫度下歷2小時，之後溫度增加至迴流，且反應在迴流下再歷3小時。反應混合物在真空下冷卻，且溶劑於真空下移去，可生成3-乙氧基-11α-羥基-雄-3,5-二烯-17-酮。

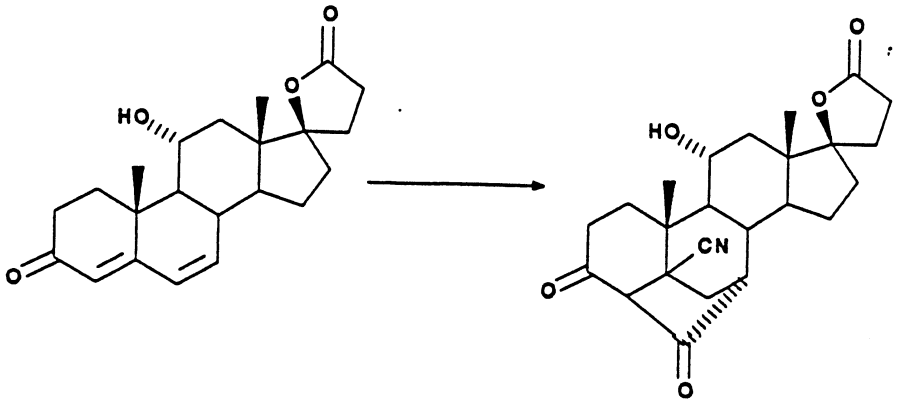
實例30-自11α-羥基肯瑞酮形成烯胺

流程1：步驟1：方法B：製備5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六氫-11'β-羥基-10'a,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α (5'H)-[7,4]亞甲基[4H[環戊[a]菲]-5'-腈。



氰化鈉(1.72克)置於25毫升配備有機械攪拌器之3-頸燒瓶中。加水(2.1毫升)且混合物在加熱下攪拌直到固體粒子溶解為止。加入二甲替甲醯胺(15毫升)，再加11α-羥基肯瑞酮(5.0克)。在混合物中加入水(0.4毫升)及硫酸(1.49克)之混合物。混合物加熱至85℃歷2.5小時，此時HPLC分析顯示已完全轉化成產物。反應混合物冷卻至室溫。加入硫酸(0.83克)，且混合物攪拌1.5小時。反應混合物加至冰浴中之60毫升水內。燒瓶以3毫升DMF及5毫升水洗滌。淤漿攪拌40分鐘，再過濾。濾塊以40毫升洗二次，再於60℃真空烘箱下乾燥一夜，生成11α-羥基烯胺，即，5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六氫-11'β-羥基-10'α,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α (5'H)-[7,4]亞甲基[4H]環戊[a]菲]-5'-腈(4.9克)。

實例31-11α-羥基肯瑞酮至二酮之單壺轉化



氰化鈉(1.03克)加至50毫升配備有機械攪拌器之3-頸燒瓶中。加水(1.26毫升)且燒瓶略加熱以溶解固體。加入二甲替乙醯胺(或二甲替甲醯胺)(9毫升)再加11α-羥基肯瑞酮(3.0克)。硫酸(0.47毫升)及水(0.25毫升)的混合物在攪拌下加至反應燒瓶中。混合物加熱至95℃，歷2小時。HPLC分析顯示反應已完全。加入硫酸(0.27毫升)且混合物攪拌30分。引入額外的水(25毫升)及硫酸(0.90毫升)，反應混合物再攪拌16小時。混合物於冰浴中冷卻至5-10℃。固體以多孔玻璃濾器過濾分離，再以水(20毫升)洗二次。固體二酮，即，4'S(4'α),7'α-十六氫-11'α-羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲基[17H]環戊[a]菲]-5'β(2'H)-腈，在真空烘箱中乾燥，可生成3.0克的固體。

實例32A-1

流程1：步驟3A：方法B：製備11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

5.0克二酮(依實例31所述方式製備)於甲醇(100毫升)之懸液，加熱至迴流，再以1分鐘加入25%甲氧化鉀於甲醇

之溶液(5.8毫升)。混合物變得均質。15分鐘後，出現沉澱物。混合物在迴流下加熱，並於約4小時後再次變得均質。繼續迴流加熱共23.5小時，並加入4.0N HCl (10毫升)。以蒸餾共可移去60毫升氯化氫於甲醇之溶液。以15分鐘加水(57毫升)至蒸餾殘留物中。溶液的溫度在加水中升高至81.5℃，再由蒸餾移出4毫升的氯化氫/甲醇溶液。一旦完全加完後，混合物變混濁，且熱源可移去。混合物攪拌3.5小時，且產物可緩慢結晶。過濾懸浮液，所收集到固體以水洗，於漏斗置空氣氣流下乾燥，並經92℃乾燥達(26英吋Hg柱)16小時後可生成2.98克的摻白色固體。固體為91.4%羥基酯，即，11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯，按重計。產率為56.1%。

實例32A-2

製備11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

依實例31所述方式產製之二酮(40克)填加至清潔，乾燥，加套之1升反應器內，其中配備有底部可排水，冷凝管，RTD探針及流份收集槽。再於反應器中加入甲醇(800毫升)，並攪拌混合物。生成之淤漿加熱至約60℃至65℃，再加入25%甲氧化鉀溶液(27.8毫升)。混合物變均質。

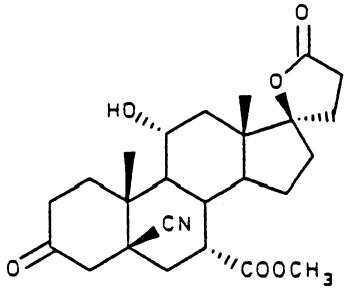
混合物在迴流下加熱。約迴流1.5小時後，在混合物中加入額外的16.7毫升25%甲氧化鉀，同時保持迴流。混合物維持在迴流下又6小時。二酮至羥基酯之轉化可以HPLC分析。一旦HPLC顯示二酮與羥基酯之比例少於約10%，再

於混合物中加入77毫升的4M HCl (1.5 M-3 M可比較量之硫酸可替代氫氯酸)，歷約15分鐘且繼續進行迴流。

混合物再蒸餾，收集約520毫升甲醇/HCN蒸餾液且丟棄之。濃縮的混合物冷卻至約65℃。在混合物中以約90分鐘加入約520毫升的水，且溫度於加入之中維持在約65℃。混合物以約4小時逐漸冷卻至約15℃，再攪拌及維持在約15℃下又2小時。混合物過濾，且濾出之產物以各約200毫升的水洗二次。濾出的產物於真空下乾燥(90℃，25毫米汞柱)。可得到約25-27克摻白色之固體，其中含有主要的11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧甲酯，γ-內酯。

實例32B-1

製備5β-氰基-11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



反應燒瓶中加入4.1克以實例31所述方式產製之二酮，75毫升甲醇及1毫升1N甲醇氫氧化鈉。懸浮液在室溫下攪拌。可在數分鐘內得到均勻的溶液，且於約20分鐘後可觀察到沉澱物。在室溫下繼續攪拌70分鐘。在此時末了，過濾出固體，再以甲醇洗滌。固體於蒸汽小室中乾燥，可生成3.6克的5β-氰基-11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-

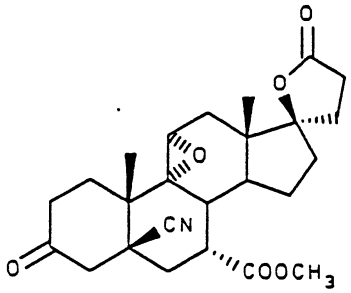
二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

1H NMR ($CDCl_3$) ppm 0.95 (s, 3H), 1.4 (s, 3H), 3.03 (d, 1H, J15), 3.69 (s, 3H), 4.1 (m, 1H)。

13C NMR ($CDCl_3$) ppm 14.6, 19.8, 22.6, 29.0, 31.0, 33.9, 35.17, 35.20, 36.2, 37.7, 38.0, 38.9, 40.8, 42.8, 43.1, 45.3, 45.7, 47.5, 52.0, 68.0, 95.0, 121.6, 174.5, 176.4, 207.0。

實例32B-2

製備5β-氰基-9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



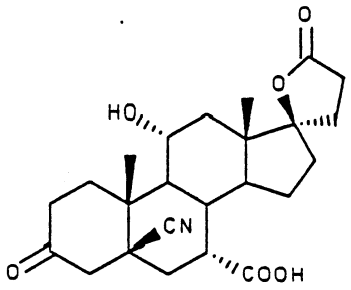
對2.0克(4.88毫莫耳)9,11-環氧二酮(式21)懸浮於30毫升無水甲醇中，加入0.34毫升(2.4毫莫耳)的三乙胺。懸浮加熱迴流，且於4.5小時後以HPLC判定無起始物留下(Zorbax SB-C8 150×4.6毫米，2毫升/分，直線梯度35:65 A:B至45:55 A:B，歷15分鐘，A=乙腈/甲醇，1:1，B=水/0.1%三氟醋酸，在210毫微米下偵測)。混合物冷卻，再維持在25℃左右歷16小時。所生成之懸液過濾可生成1.3克的5β-氰基-9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯，呈白色固體。濾液濃縮至乾(在旋轉蒸發器上進行)，且殘留物以3-5毫升的甲醇研磨。過濾後可再得

260毫克的5β-氰基-9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。產率為74.3%。

1H-nmr (400 MHz，次氯仿)d 1.00 (s, 3H), 1.45 (m, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.65 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 2.15-2.65 (m, 8H), 2.80 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 3.12 (d, J=13, 1H), 3.35, (d, J=7, 1H), 3.67 (s, 3H)。

實例32C

製備5β-氰基-11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸，γ-內酯



反應燒瓶內加入6.8克二酮(依實例31所述方式製備)，68毫升乙腈，6.0克醋酸鈉及60毫升水。混合物加溫並在迴流下攪拌。約1.5小時後，混合物幾乎呈均質。在3小時末了，於50毫升乙腈蒸餾時再加入100毫升水。混合物冷卻，且沉澱的固體(1.7克)經由過濾移去。濾液(pH=5.5)以氫氯酸處理，以將pH降至4.5，再沉澱出固體。固體分離，以水洗再乾燥生成4.5克的5β-氰基-11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸，γ-內酯。

^{1}H NMR (DMSO) ppm 0.8 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 3.82 (m, 1H)。

^{13}C NMR (DMSO) ppm 14.5, 19.5, 22.0, 28.6, 30.2, 33.0, 34.1, 34.4, 36.0, 37.5, 37.7, 38.5, 42.4, 42.6, 45.08, 45.14, 47.6, 94.6, 122.3, 176.08, 176.24, 207.5。

實例33

流程1：步驟3A：方法C：製備11α,17α-二羥基-3-酮基孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

依實例31方式製備的二酮(30克)填入清潔且乾燥之3-頸反應燒瓶中，其配備有溫度器，Dean-Stark閥及機械攪拌器。在室溫(22℃)下填加甲醇(24毫升)，且生成的淤漿攪拌5分鐘。25%按重計之甲氧鈉於甲醇(52.8毫升)之溶液填加至反應器中，且混合物攪拌10分鐘，此在室溫下進行，且反應混合物會轉變成淺棕色澄清溶液，並可觀察到些微的放熱(2-3℃)。控制添加速率，以避免槽內溫度超過30℃。之後混合物加熱至迴流狀況(約67℃)，並再繼續迴流16小時。取樣，再以HPLC分析轉化作用。反應在迴流下繼續進行，直到殘留的二酮不超過填入之二酮之3%。在迴流中將4 N HCl (120毫升)加至反應槽內，可造成HCl生成，其再於排除器中驟冷。

一旦反應總結後，90-95%的中醇溶劑可在大氣壓力下自反應混合物中蒸餾出去。在蒸餾中頭部溫度在67-75℃中變化，且含有HCN之蒸餾物在丟棄前以鹼及漂白水處理。於甲醇移去後，反應混合物冷卻至室溫，當混合物冷卻至40-45℃時，混合物開始沉澱。將25℃下含有5%按重計(視所需)之碳酸氫鈉之水溶液(1200毫升)填加至冷的淤漿中，

所生成之混合物再以約1小時冷卻至0℃。碳酸氫鈉的處理可有效地消除反應混合物中殘留未反應之二酮。淤漿在0℃下攪拌2小時以使沉澱及結晶完全，之後固體產物11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯以過濾回收，再以水(100毫升)洗滌濾塊。產物在80-90℃及26"汞真空下乾燥至恆重。乾燥後之水含量少於0.25%按重計。經調整後之莫耳濃度產率為約77-80%按重計。

實例34

流程1：步驟3A：方法D：製備11α,17α-二羥基-3-酮基孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

依實例31製備二酮(1當量)，並在碘化鋅存在下(1當量)與甲醇溶劑中之甲氧化鈉(4.8當量)反應。反應產物之處理或依據此中所述之萃取過程，或利用非萃取過程，其中省去二氯甲烷之萃取，鹽及鹼之洗滌，及硫酸鈉乾燥步驟。同時在非萃取過程中，甲苯以5%按重計之碳酸氫鈉溶液替換。可分離出產物，即11α,17α-二羥基-3-酮基孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

實例35

流程1：步驟3C：方法C：製備17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

依實例34製備之羥基酯(1.97克)與四氫呋喃(20毫升)混合，且生成的混合物冷卻至-70℃，加入硫醯氯(0.8毫升)，且混合物攪拌30分，再加入咪唑(1.3克)。反應混合物加溫至室溫，再攪拌2小時。混合物再以二氯甲烷稀

釋，並以水萃取。有機層濃縮可生成粗製產物，17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯(1.97克)。取粗製產物少量樣品以HPLC分析。分析顯示，9,11-鏈烯：11,12-鏈烯：7,9-內酯之比例為75.5:7.2；17.3。當在0℃下進行，而其他的如上述，反應生成之產物比例為77.6:6.7:15.7之9,11-鏈烯：11,12-鏈烯：7,9-內酯。此步驟可組合成一步驟，即離去基之引入及其消除以引入烯酯之9,11-鏈烯結構，即與硫醯氯反應，使式V羥基酯之11α-羥基為鹵化物所取代，之後行去氫鹵化作用以生成$\Delta^{9,11}$結構。因此烯酯之形成可在未使用強酸(如甲酸)或乾燥劑(如醋酐)下達成。同時可省去另一過程之迴流步驟，此中會產生一氧化碳。

實例36A

流程1：步驟3C：方法D：製備17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

如實例34般製備羥基酯(20克)，再加二氯甲烷(40毫升)於乾燥且乾淨之三頸圓底燒瓶，其中已配備有機械攪拌器，添液漏斗及熱偶極。生成的混合物在室溫下攪拌直到得到完全的溶液為止。溶液利用冰浴冷卻至5℃。快速地加甲烷磺醯氯(5毫升)至含有羥基酯之CH_2-CH_2溶液中，再將三乙胺逐滴緩慢加入(10.8毫升)。調整添加速率，使反應溫度不會超過5℃。反應極為放熱；因此必需冷卻之。反應混合物在約5℃下攪拌1小時。當反應完全(以HPLC及TLC分析)，混合物在約0℃及26 Hg真空下濃縮，直到其變

成稠厚之淤漿為止。生成之淤漿以CH_2Cl_2 (160毫升)稀釋，混合物在約0℃及26 Hg真空下濃縮，可得濃縮物。濃縮物之純度(式IV之甲磺醯酯產物，其中R^3=H，且-A-A-及-B-B-均為$-CH_2-CH_2-$，即11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯，至17α-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯)為82% (HPLC面積%)。此物質可用於下一反應中勿需再分離。

將甲酸鉀(4.7克)，甲酸(16毫升)及醋酐(8毫升，0.084莫耳)加至清潔且乾燥的反應器中，其中配備有機械攪拌器，冷凝管，熱偶極及加熱罩。所生成的溶液加熱至70℃，並攪拌約4-8小時。醋酐之加入是放熱的，且可產生氣體(CO)，如此必需調整添加速率以控制溫度及氣體的產生(壓力)。製備活性消除試劑所需的反應時間，依存在於反應中之水量而定(甲酸及甲酸鉀含有約3-5%水份)。消除反應對水量敏感；若存在有＞0.1%的水(KF)，7,9-內酯純度之水平可能會增加。此副產物難以自終產物中移去。當KF顯示＜0.1%水份時，活性消除劑可轉移至於前一步驟中製備之甲磺酸酯濃縮物中(0.070莫耳)。所生成之溶液加熱至95℃，且揮發物質蒸餾除去，再收集於Dean Stark截水閥中。當揮發物質之逸出停止時，Dean Stark閥以冷凝管替代，且反應混合物再於95℃下加熱1小時。一旦完全後(TLC及HPLC顯示＜0.1%的起始物)，內容物冷卻至50℃，再開始真空蒸餾(26 Hg/50℃)。混合物濃縮成稠厚之淤漿，再冷卻成環境溫度。生成之淤漿以乙酸乙酯稀釋(137

毫升)，溶液攪拌15分鐘，再以水稀釋(137毫升)。分層，且水性之下層以乙酸乙酯(70毫升)再萃取。混合的乙酸乙酯溶液以鹽水(120毫升)洗一次，再以冰冷的1 N NaOH溶液(各120毫升)洗二次。偵測水性溶液之pH值，當測及洗液pH值L8時再洗滌有機層。當洗液之pH值>8時，乙酸乙層以鹽水洗滌(120毫升)，再利用50℃水浴旋轉蒸發而濃縮至乾。生成之烯酯，固體產物，即17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯，重92克(77%莫耳產率)。

實例36B

製備17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

對清潔且乾淨的250毫升三頸圓底燒瓶中，其配備機械攪拌器，添液漏斗及熱偶極，加入25克(53.12毫莫耳)的11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21二羧酸甲酯，γ-內酯(如實例34般製備)，再加150毫升二氯甲烷(Burdick & Johnson)。生成的混合物在環境溫度下攪拌，直到可得到淺色淤漿為止。溶液利用水浴冷卻至-5℃。甲烷磺醯氯(7.92，69.06毫莫耳)快速加至含有羥基酯之二氯甲烷溶液中，繼以三乙胺(7.53克)緩慢的逐滴加入(Aldrich)。調整添加率使反應之溫度不會超過0℃。反應極放熱，因此必需冷卻之。添加時間為35分鐘。反應混合物在約0℃下攪拌再45分鐘。當完全加完時(由HPLC及TLC分析知留下的羥基酯少1%)，混合物，在大氣壓下汽滌約100-125毫升之

二氯甲烷溶劑而濃縮。於汽滌中，反應器溫度達到約40℃-45℃。再45分鐘後若反應尚未完全，可在反應器內加入額外0.1當量的甲烷磺醯氯及額外0.1當量的三乙胺，再檢查反應是否完全。生成的混合物含有粗製產物，17α-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧基-3-酮基孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。此物質勿需分離即可用於下一反應。

將無水醋酸鈉(8.7克)(Mallinkrodt)，冰醋酸(42.5毫升)(Fisher)及醋酐(0.5毫升)(Fisher)加至第二個250毫升乾淨且乾燥之反應器中，其中配備有機械攪拌器，冷凝管，熱偶極及加熱罩。生成的溶液加熱至90℃，並攪拌約30分鐘。醋酐之加入是放熱的，如此添加速率必須調整以控制溫度及壓力。加入醋酐以減少溶液中之含水量到可接受之水平(少於約0.1%)。當KF顯示＜0.1%水時，醋酸溶液轉移至甲磺酸酯濃縮物中(依此實例第一段所述製備)。生成混合物之溫度在轉移後約55℃-60℃。利用醋酸及醋酸鈉替代甲酸及甲酸鉀(於實例30A)，可將產生之氣體減少。

混合物加熱至135℃，並在此溫度下維持約60-90分鐘，直到揮發性物質之逸出停止為止。將自混合物中蒸餾出之揮發物質收集在Dean Stark閥內。一旦完全後(TLC及HPLC分析；＜0.1%起始物)可移去熱源。當混合物之溫度達到80℃，150毫升的水可緩緩加至混合物中，歷60-90分鐘。於加水末了，混合物已冷卻至約35℃-45℃，並有淤漿開始形成。混合物進一步冷卻至15℃，並在此溫度下維持約30-60分鐘。

混合物經由玻璃漏斗過濾。濾液以100毫升水潤洗。濾液再以又100毫升水二次洗滌。生成的濾液在70℃之真空下乾燥，可生成25.0克的乾燥產物烯酯，17α-羥基-3-酮孕4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。HPLC分析顯示有70%欲求之9,11-鏈烯，15% 11,12-鏈烯，及5% 7,0-內酯。

此方法有以下有益結果(和相似製程比較下)：(i)減少溶劑之量，(ii)減少自羥酯產生烯酯所必需之分別操作步驟次數，(iii)減少所必要之洗滌，(iv)在分離終產物時以沉澱習代水萃取，及(v)可減少先前與使用甲酸替代乙酸有關之混合酐形成及氣體產生相關之安全顧慮。

實例37A

流程1：步驟3C：方法E：製備17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

依實例34製備之羥基酯(100克；0.22莫耳)填加至2升三頸圓底燒瓶中，其配備有機械攪拌器，添液漏斗，及熱偶極。使用有自動溫控之循環冷卻浴。燒瓶於反應前乾燥，因為甲烷磺醯氯對水極敏感。

二氯甲烷(1升)加至燒瓶中，且在攪拌下將羥基酯溶於其中。溶液冷卻至0℃，再經添液漏斗將甲烷磺醯氯(25毫升；0.32莫耳)加至燒瓶內。三乙胺(50毫升；0.59莫耳)經由添液漏斗填加至反應器中，且漏斗以額外的二氯甲烷(34毫升)潤洗。三乙胺之加入會高度放熱。添加時間約10分鐘，並拌以攪拌及冷卻。加入之混合物冷卻至0℃，再

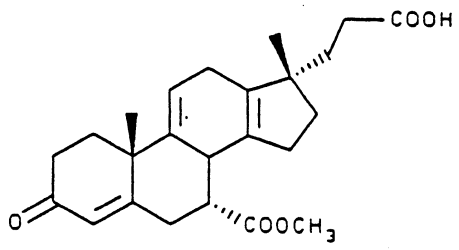
以此溫度在攪拌下再45分鐘，此時反應燒瓶的頭部空間之氮冲之。再以薄層層析及高性能液相層析分析反應混合物樣品，以檢查反應是否完全。之後混合物在0℃下攪拌又30分鐘，並再次檢查反應是否完全。分析顯示反應在此時可實質地達完全；溶劑二氯甲烷在0℃之26"汞真空下汽滌。蒸餾物之氣相層析顯示，存在有甲烷磺醯氯及三乙胺。之後二氯甲烷(800毫升)加至反應器中，生成的混合物再攪拌5分鐘，溫度範圍在0-15℃。溶劑在0-5℃，26"汞柱下再次汽滌，可生成式IV甲磺酸酯，其中R^3是H，-A-A-，且-B-B-是$-CH_2-CH_2-$，且R^1是甲氧基羰基。產物之純度約90-95面積%。

為製備消去試劑，甲酸鉀(23.5克；0.28莫耳)，甲酸(80毫升)及醋酐(40毫升)混合在分別的乾燥反應器中。甲酸及醋酐泵入反應器中，且溫度維持在不超過40℃(於醋酐添加之中)。消去試劑混合物加熱至70℃，以消除反應系統中之水份。此反應繼續直到以Karl Fisher分析測知水含量少於0.3%按重計為止。消去試劑溶液再轉移至反應器中，其中含有如上述所製備之濃縮的粗製甲磺酸酯溶液。生成的混合物加熱至95℃之最高溫度，並收集揮發性蒸餾物直到產生進一步的蒸餾物為止。蒸餾在約90℃時停止。於蒸餾完全後，反應混合物在95℃下再攪拌2小時，並以薄層層析檢查反應是否完全。當反應完全時，反應器冷卻至50℃，再於50℃，26"汞真空下自反應混合物中移出溶劑及甲酸。濃縮物冷卻至室溫，之後將乙酸乙酯(688毫升)引

入，乙酸乙酯及濃縮物再攪拌15分鐘。在此時，引入12%鹽水溶液(688毫升)，以助自有機相中移去水溶性雜質。再令相沉降20分鐘。水層轉移至另一容器中，且加入額外量的乙酸乙酯(350毫升)。水層的此回萃取進行30分鐘，之後令相沉降，再混合乙酸乙酯層。於混合的乙酸乙酯層中，加入飽和的氯化鈉溶液(600毫升)，且攪拌30分鐘。令相再沉降。水層移去。進行額外的氯化鈉(600毫升)洗滌。有機相自第二次洗液中分出。有機相再以1 N氫氧化鈉(600毫升)於攪拌下洗滌30分鐘。令相沉降30分鐘，以移去水層。水層之pH值檢查，頃發現為＞7。進行進一步的洗滌，以飽和的氯化鈉(600毫升)歷15分鐘。有機相最後在26"汞真空及50℃下濃縮，並由過濾回收產物。終產物於乾燥時為泡沫狀之棕色固體。進一步在45℃，減壓下乾燥24小時，可生成95.4克的烯酯產物，17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯，分析為68.8%。針對起始的羥基酯及最終的烯酯校正，莫耳濃度產率是74.4%。

實例37B

製備17-甲基-3-酮基-18-正孕-4,9(11),13-三烯-7α,21-二羧酸7-甲酯



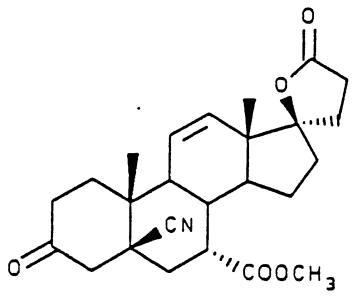
反應燒瓶中加入5.5克，依實例23所製備之甲磺酸酯，55毫升，94.3%甲酸及1.38克甲酸鉀。混合物加熱並迴流攪拌(104℃)2小時。於2小時期末了，在減壓下蒸餾去甲酸。殘留物溶於乙酸乙酯，再以10%碳酸鉀(50毫升)洗滌。所回收的水性部份呈黃色。乙酸乙酯以5%氫氧化鈉(50毫升)洗滌。水性部份混合，再以稀鹽酸酸化，不溶物以乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯在減壓下蒸發至乾，可生成1.0克殘留物，17-甲基-3-酮基-18-正孕-4,9(11),13-三烯-7α,21-二羧酸7-甲酯。

^{1}H NMR ($CDCl_3$) ppm 1.5 (s, 3H), 1.4 (s, 3H), 3.53 (s, 3H), 5.72 (m, 1H)。

^{13}C NMR (CDCl3) ppm 25.1及25.4 (18 CH_3及19 CH_3), 40.9 (10 C), 48.5 (17 C), 51.4 (OCH_3), 118.4 (11 CH), 125.4 (4 CH), 132.4 (9 C), 138.5及139.7 (13 C及14 C), 168.2 (5 C), 172.4 (7 CO), 179.6 (22 CO), 198.9 (3 CO)。

實例37C

製備5β-氰基-17-羥基-3-酮-17α-孕-11-烯-7α,21-二羧酸7-甲基，γ-內酯



在反應燒瓶中加入，依實例23方式製備之5.5克甲磺酸

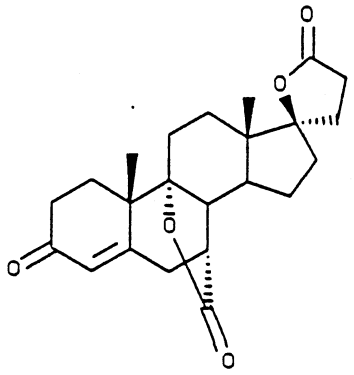
酯，55毫升94.3%甲酸及1.35克甲酸鉀。混合物加熱，並迴流攪拌(104℃)2小時。於2小時期末了，甲酸在減壓下蒸餾。殘留物溶於乙酸乙酯中，再以10%碳酸鉀(50毫升)洗滌。回收之水性部份呈黃色。乙酸乙酯以5%氫氧化鈉洗滌(50毫升)。乙酸乙酯在減壓下蒸發至乾，可生成3.7克殘留物。3.4克殘留物在267克Merck矽膠(40-63微)上層析。產物以乙酸乙酯及甲苯37:63 (v/v)之溶離流程回收。此產物乾燥後，可得0.0698克殘留物，5β-氰基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-11-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

^{1}H NMR ($CDCl_3$) ppm 1.03 (s, 3H), 1.22 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 5.60 (d, 1H, J10), 5.98 (d, 1H, J10)。

MIR公分$^{-1}$ 2229 (CN), 1768(內酯), 1710(酯)。

實例37D

分離9α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸雙(γ-內酯)



9α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸雙(γ-內酯)為11-甲磺酸酯消去作用之副產物。自實例37A之反應混合物中分離純的樣品，係經由製備式液相層析再行逆

相製備式HPLC。因此，73克殘留物在2.41公斤的Merck矽膠上(40-63微升)層析，利用乙酸乙酯及甲苯(20:80，30:70，40:60，60:40，v/v)之梯度溶離流程。在60:40流份中可得到烯胺及7,9-內酯加豐之混合物(10.5克)。純化過程經由EMF板上行TLC可觀察到，利用60:40 (v/v)之乙酸乙酯；甲苯溶離劑，且經硫酸，SWUV具像化。部份(10.4克)混合物經由逆相HPLC在Kromasil C8 (7微)上進一步純化，且以30:70 (v/v) milliQ水及乙腈為移動相。可自移動相中分離出呈晶體之7,9-內酯(2.27克)。

MIR公分$^{-1}$ 1762 (7,9-內酯及17-內酯)，1677, 1622 (3-酮-$\triangle^{4,5}$)。

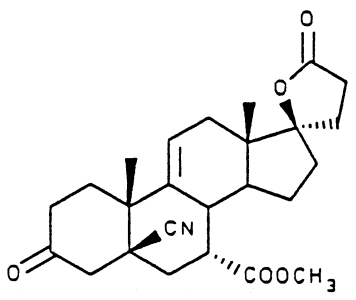
^{1}H NMR ($CDCl_3$) ppm 1.00 (s, 3H), 1.4 (s, 3H), 2.05 (d, 1H), 2.78 (d, 1H), 5.87 (s, 1H)。

^{13}C NMR ($CDCl_3$) ppm 13.2, 19.0, 22.2, 23.2, 26.8, 28.8, 29.5, 30.8, 33.1, 34.4, 35.1, 42.5, 43.6, 43.9, 45.0, 45.3, 89.9, 94.7, 129.1, 161.5, 176.0, 176.4, 196.9。

理論值C, 71.85, H, 7.34；實測值C, 71.68, H, 7.30。

實例37E

分離5-氰基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-11-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



化合物5-氰基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-11-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯，於消去11-甲磺醯氧基後所得之反應混合物上行多重製備式液相層析後分離(實例24)。其就TLC知為較不具極性雜質群中的一部份，此TLC在EMF板上以30:70 (v/v)乙酸乙酯及二氯甲烷溶離系統進行，並經硫酸(SWUV)具像化。一般而言，這些較不極性之雜質可以製備式液相層析與粗製的烯胺分離。特言之，9.6克粗製的烯胺溶液在534克Merck矽膠(40-63微)上層析，利用乙酸乙酯及甲苯梯度溶離流程(20:80，30:70，40:60，60:40，v/v)。較不具極性之雜質在30:70流份中濃縮。可以此方式收集12.5克較不極性之雜質匯集。此物質在550克Merck矽膠上(40-63微)進一步層析，利用乙酸乙酯及二氯甲烷梯度溶離流程(5:95，10:90，20:80，30:70，v/v)。20:80流份之加豐部份可生成1.2克的殘留物。1.2克殘留物在53克Merck矽膠(40-63微)之額外層析，利用丙酮及二氯甲烷梯度(3:97，6:94，10:90，15:85，v/v)可生成0.27克的5-氰基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-11-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯，其來自10:90流份之加豐部份。

MS M+425，估計$C_{25}H_{31}NO_5$ (425.52)。

MIR 2222公分$^{-1}$(腈)，1767公分$^{-1}$(內酯)，1727公分$^{-1}$(酯及3-酮)。

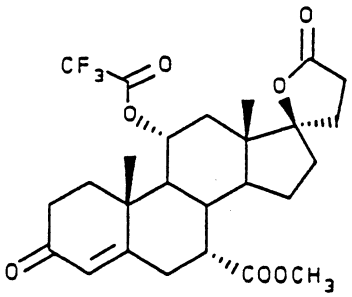
^{1}H NMR ($CDCl_3$): ppm 0.92 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 2.95 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 5.90 (m, 1H)。

^{13}C NMR ($CDCl_3$) ppm 14.0 (18 CH_3), 23.5 (15 CH_2),

27.0 (19 CH_3), 37.8 38.5及40.9 (7, 8及14 CH), 52.0 (OCH_3), 95.0 (17 C), 121.5 (23 CN), 123.5 (11 CH), 135.3 (9 C), 174.2及176.2 (22及24 CO), 206 (3CO)。

實例37F

製備17-羥基-3-酮基-11α-(2,2,2-三氟-1-酮乙氧基)-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯



依實例34方式製備之羥基酯(2.0克，4.8毫莫耳)加至40毫升二氯甲烷中，於清潔，乾燥之三頸圓底燒瓶中，其並配備有機械攪拌子。再於溶液中加入三乙胺(0.61克，6.10毫莫耳)及三氟醋酐(1.47克，7.0毫莫耳)。此混合物在環境溫度下攪拌一夜。

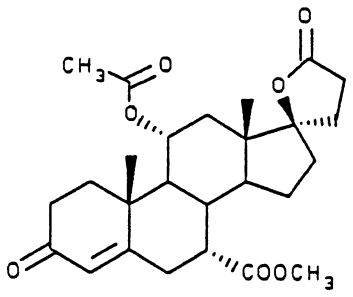
混合物再以又40毫升二氯甲烷稀釋。混合物再相繼以40毫升水，40毫升，1N HCl及40毫升1N NaOH溶液洗滌。生成的溶液再於硫酸鎂上乾燥，並濃縮至乾以生成3.2克的殘棕色固體，17-羥基-3-酮基-11α-(2,2,2-三氟-1-酮乙氧基)-17α-孕-4-烯-7α-21-二羧酸7-甲酯。

殘留物進一步分析及以層析純化。HPLC條件：管柱-Waters Symmetry C18 (150毫米x4.6毫米，內徑，5微米粒子大小)；管柱溫度--環境溫度；移動相--乙腈/水，30/70

按體積計；流速--1.0毫升/分；射入體積--20微升；樣品濃度--1.0毫克/毫升；偵測，UV在210毫微米；壓力1500 psi；進行時間--45分鐘。TLC條件：吸附劑--Merck矽膠60 F_{254}；溶劑系統--乙酸乙酯/甲苯，65/35按體積計；具象化技術--短波；施加量--100微克。

實例37G

製備11α-(乙醯氧基)-17α-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



羥基酯(2.86克，6.87毫莫耳)依實例34方式製備，加至15毫升二氯甲烷中，再於清潔，乾燥之三頸圓底燒瓶，其中配備有機械攪拌器。再將三乙胺(1.39克，13.7毫莫耳)，二甲基胺基吡啶(0.08克，0.6毫莫耳)及醋酐(1.05克，10.3毫莫耳)加至溶液中。此混合物在環境溫度下攪拌一夜。

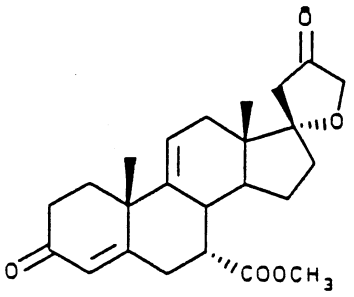
混合物再以150毫升乙酸乙酯及25毫升水稀釋。此乙酸乙酯溶液再以25毫升檸檬酸溶液洗滌。溶液再於無水硫酸鎂上乾燥，並濃縮乾燥生成3.33克淺棕色固體，11α-(乙醯氧基)-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

殘留物進一步分析再層析純化。HPLC條件：管柱--

Waters Symmetry C18 (150毫米x4.6毫米內徑，5微米粒子大小)；管柱溫度--環境溫度；移動相--乙腈/水，30/70按體積計；流速--1.0毫升/分；射入體積--20微升；樣品濃度--1.0毫克/毫升；偵測--UV，210毫微米；壓力--1500 psi；及進行時間--45分鐘。TLC條件：吸附劑--Merck矽膠60 F_{254}；溶劑系統--二氯甲烷/甲醇，95/5按體積計；具象化技術--短波，及施加量--100微克。

實例37H

流程1：步驟3C：方法F：製備17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。



甲酸鉀(1.5克，0.018莫耳)，甲酸(60毫升，1.6莫耳)及醋酐(29.5毫升，0.31莫耳)加至乾淨，乾燥之25毫升反應器中，其中並備配有機械攪拌器，冷凝管，熱偶極及加熱罩。溶液再於70℃下攪拌4小時，並冷卻至環境溫度以生成消去試劑，並可用於將式IV之甲磺酸酯轉化成本實例之產物。

預形成之TFA/TFA酐消去試劑加至70.0克(0.142莫耳)以實例23方式製備之甲磺酸酯中。生成之混合物加熱至95℃-105℃，歷2.5小時。轉化程度可以TLC或HPLC定期檢

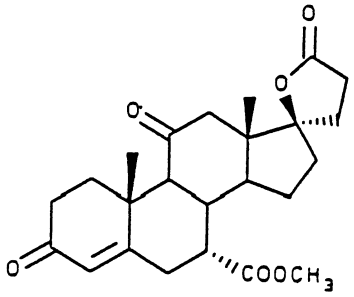
查。生成之殘留物冷卻至50℃，以冰水(1.4升)稀釋，再攪拌1小時。混合物令其在環境溫度下靜置一夜。分層，且水層以乙酸乙酯(75毫升)，另一水/鹽水混合物(60毫升)，1N氫氧化鈉(60毫升)及第三份水/鹽水混合物(60毫升)洗滌。鹽水濃度為12%按重計。乙酸乙酯溶液再於硫酸鈉上乾燥，以旋轉蒸發器過濾及濃縮，可生成4.5克欲求產物及未知雜質之混合物。以HPLC知之雜質/產物比例為約50/15(面積)。自此反應中所得之主產物為雜質，經鑑知為17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

混合物以管柱層析純化，可生成1.9克分析上純的17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

殘留物進一步分析，並以層析純化。HPLC條件：管柱--Waters Symmetry C18 (150毫米x4.6毫米內徑，5微米粒子大小)；管柱溫度--環境溫度；移動相--乙腈/水，30/70按體積計；流速--1.0毫升/分；射入量--20微升；樣品濃度--1.0毫克/毫升；偵測--UV在210毫微米下；壓力--1500 psi；流動時間--45分鐘。TLC條件：吸附劑--Merck矽膠60 F_{254}；溶劑系統--氯仿/甲基第三-丁基醚/異丙醇，70/28/2按體積計；具象化技術--50%按體積計之H_2SO_4水溶液/LWUV及50%按體積計之H_2SO_4/磷鉬酸；及施加量--100微克。

實例37I

製備17-羥基-3,11-二酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



製備Jones試劑，係將6.7克鉻酐(CrO_3)溶於6毫升濃硫酸中，再與蒸餾水混合至50毫升而小心地稀釋。此試劑1毫升足以將2毫莫耳的第二醇氧化成酮。

依實例34方式製備之羥基酯(10.0，24.0毫莫耳)溶解/懸浮於1200毫升丙酮中。在此混合物中加入8.992毫升Jones試劑，且混合之混合物攪拌10分鐘。取一份反應混合物，在以水處理及以二氯甲烷萃取後，以HPLC分析之(管柱：Beckman Ultrasphere ODS C18，4.6毫米x250毫米，5微米；溶劑梯度：乙腈/水=1/99至100/0。於20分鐘內，流速1.5毫升/分；偵測器：UV210毫微米)。反應以反應混合物中起始物缺乏任何顯著量而證知反應是否完全。起始物之HPLC滯留時間(羥基酯)是13.37分鐘，產物酮是14.56分鐘。

反應加200毫升水及300毫升二氯甲烷以操作。有機層自水層分出，再以200毫升水洗滌。有機層自水層分出，並於硫酸鎂上乾燥。溶劑蒸發可生成9.52克摻白色固體(95.6%粗製產率)17-羥基-3,11-二酮-17α-孕-4-烯-7α,21-

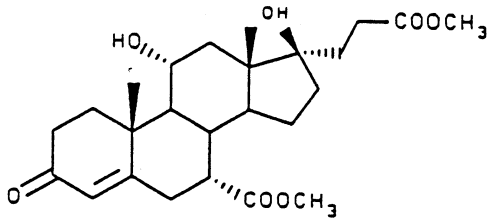
二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

結構設計以質譜(m/e 414), HNMR (DMF-d7)及CNMR (DMF-d7)為準。於HNMR，見於羥基酯之11-H特性高峰(4.51 ppm，雙峰，j=5.8 Hz)並不存在。於CNMR，高峰出現在208.97 ppm處，此為11-酮基碳所預期的。

CNMR (400 Mhz, DMF-d7) 208.97 (11-酮), 197.70 (3-酮), 176.00 (22-內酯), 173.34 (7-COOMe), 167.21 (C5), 125.33 (C4), 93.63 (C17)，及在15-57 ppm範圍內其他的高峰。

實例37J

製備11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸二甲酯，γ-內酯



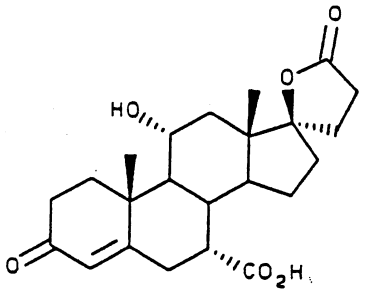
3.5克(8.4毫莫耳)依實例34方式製備之羥基酯，於42毫升甲醇之溶液，與4毫升甲醇4N氫氧化鉀(8毫莫耳)混合。淤漿在室溫下攪拌一夜，並加熱至迴流歷1小時。甲醇在真空下蒸發，且殘留物與50毫升乙酸乙酯混合。乙酸乙酯在真空下蒸發，且殘留物以50毫升乙酸乙酯水解。乾燥的固體與50毫升丙酮及2毫升甲基碘(32.1毫莫耳)混合。混合物在室溫下攪拌18小時。於此時大多數固體粒子會溶解。混合物過濾且濾液在真空下蒸發至乾。殘留物以乙酸乙酯

水解，固體粒子經過濾移去，且溶劑在真空蒸餾下移去。殘留物經決定為78:22 (v/v)的11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸二甲酯，γ-內酯及起始物羥基酯之混合物，此經^{1}H NMR證知。此混合物適合充作HPLC標誌勿需再純化。

^{1}H NMR ($CDCl_3$)顯示以下特色：ppm 0.93 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 3.69 (s, 3H)。

實例37K

製備11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸，γ-內酯



11.86克(28.5毫莫耳)依實例34之方式製備之羥基酯，加入50毫升甲醇及20毫升2.5 M NaOH。懸浮液加熱至迴流。25分鐘後，部份起始酯以HPLC判斷知未反應(Zorbax SB-C8 150x4.62毫米，2毫升/分，線性梯度35:65 A:B至45:55 A:B，歷15分鐘，A=乙腈/甲醇1:1，B=水/0.1%三氟乙酸，在210毫微米下偵測)，並加入10毫升10 M NaOH。1.5小時後，以HPLC判斷知痕量的酯保留未反應。反應混合物令其在約25℃下靜置約64小時。

混合物以100毫升水稀釋，再以20毫升濃HCl使呈強酸。

(S)

生成之膠狀沉澱物攪拌直到沉澱物變成懸液為止。固體以過濾分離，再懸浮於甲醇中，並過濾生成3.75克的棕色固體。物質溶於8毫升熱DMF中，且混合物以40毫升甲醇稀釋。酸會結晶，以過濾分離可生成1.7克棉狀白色固體，11α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸酯，γ-內酯。

1H-nmr (400 MHz, 次二甲亞硫)d 0.80 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.2-2.7 (m, 20H), 3.8 (brs, 1H), 4.45 (m, 1H), 5.50 (s, 1H)。羧基質子由於在3.4 ppm處有HOD峰故未觀察到。

實例38

流程1：步驟3C：方法G：製備17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

實例37A之步驟重覆，除了以離子交換樹脂，鹼性礬土或鹼性矽石處理溶液，以避免多重洗滌步驟。以鹼性礬土或鹼性矽石處理之條件示於表38中。這些處理頃發現可有效地移去雜質，而勿需實例44之多重洗滌，可產生17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

表38

因素	定點	實驗目的	關鑑結果
鹼性礬土	2克/125克產物	以鹼性礬土處理反應混合物以移去Et_3N•HCl鹽，並省去1N NaOH及1N HCl洗滌	產率93%
鹼性矽土	2克/125克產物	以鹼性矽石處理反應混合物以移去Et_3N•HCl鹽，並省去1N NaOH及1N HCl洗滌	產率95%

實例39

流程1：步驟3C：方法H：製備17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

乙酸鉀(4克)及三氟乙酸(42.5毫升)混合於100毫升反應器中。再加三氟醋酸(9.5毫升)至混合物中，其加入之速率可控制溫度在30℃以下。溶液再加熱至30℃，歷30分鐘，以生成消除試劑，可用於將式IV甲磺酸酯轉化成式II之烯酯。

預形成之TFA/TFA酐消去試劑加至先前如實例37A所製備之式IV甲磺酸溶液中。所生成的混合物在40℃下加熱4 1/2小時，轉化程度定期以TLC或HPLC檢查。當反應完全時，混合物轉移至單頸燒瓶中，並在減壓及室溫(22℃)下濃縮至乾。在混合物中加入乙酸乙酯(137毫升)，使固相物質有完全的溶解，之後加入水/鹽水混合物(137毫升)，生成的二相再攪拌10分鐘。令相分離達20分鐘。鹽水濃度為24%按重計。水相與額外量的乙酸乙酯接觸(68毫升)，且將如此製備之二相混合物攪拌10分鐘，之後令其靜置15分鐘以分相。混合來自二次萃取之乙酸乙酯層，並以24%按重計之鹽水(120毫升)，另一份24%按重計之鹽水(60毫升)，1 N氫氧化鈉溶液(150毫升)及另一份鹽水(60毫升)洗滌。於水相加入後，混合物攪拌10分鐘，再令其靜置15分以分相。生成的溶液在45℃之減壓下利用吸水器濃縮至乾。固體產物(8.09克)以HPLC分析，且發現包括有83.4面積%之17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-

甲酯，γ-內酯；2.45面積%之11,12-鏈烯；1.5% 7,9-內酯；及1.1%未反應之甲磺酸酯。

實例40

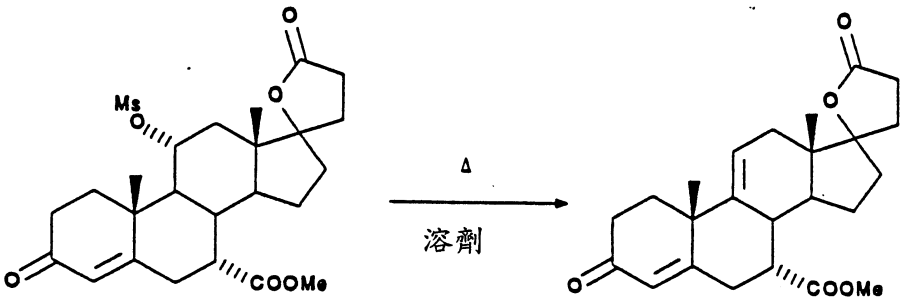
流程1：步驟3C：方法I：製備17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

依實例23所製備之甲磺酸酯(1.0克)，醋酸異丙烯基酯(10克)及對位-甲苯磺酸(5毫克)置於50毫升燒瓶中，再於90℃下攪拌加熱。5小時後，混合物冷卻至25℃，再於10毫升汞柱下真空濃縮。殘留物溶於CH_2-CH_2中(20毫升)，再以5% $NaHCO_3$水溶液洗滌。CH_2Cl_2層在真空下濃縮可生成1.47克褐色油。此物質自CH_2Cl_2/Et_2O中再結晶，可生成0.50克的式IV(2)烯醇醋酸酯。

此物質加至醋酸鈉(0.12克)及醋酸(2.0毫升)之混合物中，其先前已在攪拌下加熱至100℃。60分鐘後，混合物冷卻至25℃，再以CH_2Cl_2稀釋(20毫升)。溶液以水洗(20毫升)再於$MgSO_4$上乾燥。乾燥劑以過濾移去，濾液真空濃縮以生成0.4克欲求的9,11-鏈烯，17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。粗製產物含少於2%的7,9-內酯雜質。

實例41-甲磺酸酯於DMSO之熱消去作用

流程1：步驟3C：方法J：製備17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。



2克甲磺酸酯及5毫升DMSO之混合物置燒瓶中，在80℃下加熱22.4時。反應混合物之HPLC分析顯示無起始的物質被測及。對反應中加入水(10毫升)，且沉澱物以二氯甲烷萃取三次。混合的二氯甲烷層以水洗，於硫酸鎂上乾燥，並濃縮生成烯酯17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

實例42

流程1：步驟3D：方法B：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

在50毫升梨形燒瓶內，在攪拌下將式IIA之烯酯(1.07克，分析有74.4%烯酯)，三氯乙醯胺(0.32克)，磷酸氫二鉀(0.70克)(呈固體)與二氯甲烷(15.0毫升)混合。過氧化氫(30%按重計；5.0毫升)經由滴量管歷1分鐘加入。生成之混合物在室溫下攪拌6小時，此時HPLC分析顯示，反應混合物中環氧美克瑞酮對烯酯之比例為約1:1。在反應混合物中加入額外的三氯乙醯胺(0.32克)，且反應在攪動下進行再8小時以上，之後顯示烯酯留下的比例減少到10%。加入額外的三氯乙醯胺(0.08克)且反應混合物令其靜置一夜，此時反應混合物中相較於環氧美克瑞酮，留下之未反應烯酯僅5%。

實例43

流程1：步驟3D：方法C：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

式IIA之烯酯(5.4克，分析知有74.4%烯酯)加至100毫升反應器中。在烯酯中加入均呈固體型式之三氯乙醯胺(4.9克)及磷酸氫二鉀(3.5克)。混合物冷卻至15℃，再以10分鐘期加入30%過氧化氫(25克)。反應混合物令其達到20℃，再於此溫度下攪拌6小時，此時以HPLC檢查轉化情形。留下之烯酯經決定知少於1%按重計。

反應混合物加至水中(100毫升)，再分相，且移出二氯甲烷層。在二氯甲烷層中加入氫氧化鈉(0.5 N；50毫升)。20分鐘後，分相，再於二氯甲烷層中加入HCl，之後再分相且有機相以飽和的鹽水洗滌(50毫升)。二氯甲烷層於無水硫酸鎂上乾燥，並移去溶劑。可得到白色固體(5.7克)。氫氧化鈉水層酸化並萃取，處理萃取物後可生成0.2克額外的產物。環氧基美克瑞酮之產率為90.2%。

實例44

流程1：步驟3D：方法D：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮基孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

式IIA之烯酯依實例43所述之方式轉化成環氧基美克瑞酮，但有以下的變化：最初之填入物中含有烯酯(5.4克分析74.4%烯酯)，三氯乙醯胺(3.3克)及磷酸氫二鉀(3.5克)。加入過氧化氫溶液(12.5毫升)。反應在20℃下進行一夜，之後HPLC顯示烯酯至環氧基美克瑞酮之轉化達90%。加入

額外的三氯乙醯胺(3.3克)及30%過氧化氫(5.0毫升)，且反應再進行6小時，此時依烯酯填入量為準，殘留的烯酯僅2%。如實43所述操作後，可生成5.71克的環氧美克瑞酮。

實例45

流程1：步驟3D：方法E：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

式IIA之烯酯依實例43所述之方法轉化成環氧美克瑞酮。在此實例之反應中，烯酯填加量是5.4克(分析74.4%烯酯)，三氯乙醯胺填加量是4.9克，過氧化氫是25克，磷酸氫二鉀是3.5克。反應在20℃下進行18小時。殘留的烯酯少於2%。經處理後，可生成5.71克環氧美克瑞酮。

實例46

流程1：步驟3D：方法F：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

式IIA之烯酯依實例43所述轉化成環氧美克瑞酮，除了在此實例中之反應溫度為28℃。填入反應器中之物質包括烯酯(2.7克)，三氯乙醯胺(2.5克)，磷酸氫二鉀(1.7克)，過氧化氫(17.0克)及二氯甲烷(50毫升)。4小時後，反應中未反應之烯酯按填入量為準僅2%。經如實例43所述處理後，可得30克的環氧美克瑞酮。

實例47-1

流程1：步驟3D：方法G：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮基孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

式IIA之烯酯(4.00，分析68.4%烯酯)填入1000毫升，加

套之反應器中，並溶於175毫升二氯甲烷之中。當三氯乙醯胺(22.3克)及磷酸氫二鉀(6.0克)以固體粒子型式加入時，溶液即攪拌之。混合物以400 rpm攪拌，且溫度利用恆溫浴調至27℃，以控制液體經由反應器套之循環。以3-5分鐘期加入過氧化氫(72.8毫升，30%分析)。於加入過氧化氫後，混合物在400 rpm及27℃下攪拌。HPLC分析顯示反應在5小時內可達到99%完全。在6小時末了，加入72.8毫升水。分出過氧化氫水溶液，再以50毫升二氯甲烷回萃取一次。混合的二氯甲烷以6%硫酸氫鈉(62.3毫升)洗滌以破壞任何存在的過氧化物。以大氣蒸餾開始移去二氯甲烷，並在真空下終止。可得黃色的殘留物(48.7克，55.4%分析)。此與以莫耳濃度產率調整的94.8%分析一致。

一部份(47.8克)殘留物與498毫升乙醇3A (95%乙醇以5%甲醇變性)混合。混合物加熱至迴流，再於大氣壓力下蒸餾移去249毫升。混合物冷卻至25℃再過濾。使用乙醇3A潤洗(53毫升)以助轉移。欲求的固體重27.6克(87.0%分析)，其與91%回收率一致。部份固體(27.0克)溶於292毫升迴流中之甲基乙基酮中。熱溶液經由solka floc(纖維素粉末)盤過濾，以另一份48.6毫升的甲基乙基酮來助轉移。經由大氣蒸餾移去146毫升的甲基乙基酮。溶液冷卻至50℃，且當產物結晶時攪拌1小時。1小時後，混合物冷卻至25℃。再繼續攪拌1小時，且固體以48.6毫升甲基乙基酮潤洗下過濾。固體乾燥至20.5克恆重，其代表87.2%再結晶之回收。反應產率及乙醇，甲基乙基酮回收混合得75%

之總產率。

甲基乙基酮母液適於與來自接續反應之新進的二氯甲烷溶液再循環。混合的二氯甲烷及甲基乙基酮混合物以大氣及真空蒸餾使蒸發至乾。殘留物與19倍體積的乙醇3A混合，以環氧美克瑞酮含量為準。在大氣蒸餾下移去一半的溶劑。於冷卻至25℃，固體過濾再乾燥。乾燥的固體溶於12倍體積之迴流中之甲基乙基酮中。熱溶液經由solka floc過濾，並加入2倍體積的甲基乙基酮為潤洗劑。濾液以大氣蒸餾6倍體積之甲基乙基酮使濃縮。溶液冷卻至50℃，並於產物結晶時攪拌1小時。1小時後混合物冷卻至25℃。繼續攪拌1小時，且固體以2倍體積之甲基乙基酮潤洗過濾。固體乾燥至恆重。納入甲基乙基酮母液可提高整體產率至80-85%。

此方法似乎特別適於擴大規模，因其可將結果擴至最大而洗滌體積及廢液減至最少。

實例47A

流程1：步驟3D：方法H：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

式IIA之烯酯(17克，分析72%烯酯)溶於二氯甲烷中(150毫升)，之後將三氯乙醯胺(14.9克)在緩慢攪動下加入。混合物的溫度調至25℃，再將磷酸氫二鉀(10.6克)於水(10.6毫升)之溶液攪拌至400 rpm攪動下之烯酯受質溶液中。過氧化氫以3-5分鐘加至受質/磷酸鹽/三氯乙醯胺混合物中。並未觀察到放熱或氧之逸出。如此製備之反應混合物在

400 rpm及25℃下攪拌18.5小時。在整個反應過程中未觀察到氧之逸出，但過氧化氫之消耗分析顯示在反應中形成一些氧。反應混合物以水(69.4毫升)稀釋，且混合物在約250 rpm下攪拌15分鐘。在此操作中勿需溫度控制，且其基本上在室溫下進行(在5-25℃範圍內之溫度均是可接受的)。令水及有機層分離，移去下層之二氯甲烷層。

水層以二氯甲烷(69.4毫升)在250 rpm攪動下回萃取15分鐘。分層，且較下方之二氯甲烷層移去。水層(177克，pH=7)接受過氧化氫決定。結果顯示(12.2%)，在0.0307莫耳鏈烯反應中會消耗0.0434莫耳的過氧化氫。過氧化氫過度消耗可用於偵測反應中氧之產生。以少量二氯甲烷體積回萃取足以確保水層中環氧美克瑞酮不流失。此結果由應用第二大量二氯甲烷萃取可證實，其中僅回收三氯乙醯胺。

將來自上述萃取之混合的二氯甲烷溶液混合，再以3%按重計之硫酸氫鈉溶液(122毫升)洗滌，在約250 rpm下歷至少15分鐘。於攪拌期末了可觀察到陰性的澱粉碘化物試驗(KI試紙；無顏色可觀察到；於陽性試驗中紫色顯示過氧化物之存在)。

令水及有機層分離，且移去較下層之二氯甲烷。丟棄水層。注意，硫酸氫鈉溶液之加入可造成略放熱，如此加入應在溫控下進行。

二氯甲烷相以0.5 N氫氧化鈉(61毫升)洗滌，在約250 rpm及15-25℃溫度範圍內(pH=12-13)歷45分鐘。在此過程

中可移去三氯乙醯胺中之雜質。酸化鹼水部份，繼以二氯甲烷萃取，證實在此操作中極少的環氧美克瑞酮會流失。

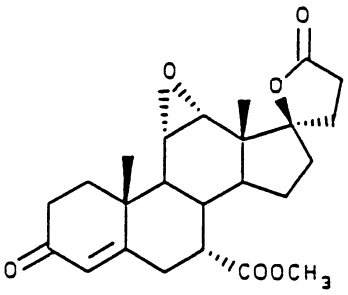
二氯甲烷相以0.1 N氫氯酸(61毫升)在250 rpm攪動及15-25℃溫度下歷15分鐘。再分層，且移去下層之二氯甲烷，再以10%按重計之氯化鈉水溶液(61毫升)洗15分鐘，於250 rpm及15-25℃範圍內。再次分層，且移去有機層。有機層經由solka floc盤過濾，再於減壓下蒸發至乾。以65℃之水浴溫度可令乾燥完全。可得摻白色固體(17.95克)並接受HPLC分析。環氧美克瑞酮分析為66.05%。針對反應所調整之莫耳濃度產率為93.1%。

產物溶於熱甲基乙基酮(189毫升)中，且生成之溶液在大氣壓力下蒸餾，直到移去95毫升之酮溶劑為止。當產物結晶時，溫度可下降至50℃。在50℃下繼續攪拌1小時。溫度降至20-25℃，並繼續再攪拌2小時。固體過濾，以MEK (24毫升)潤洗，且固體乾燥至9.98克恆重，其以HPLC分析知含有93.63%環氧美克瑞酮。此產物再溶於熱MEK中(106毫升)，且熱溶液經10微米濾膜在壓力下過濾。另8毫升的MEK充作潤洗劑，且濾過的MEK溶液在大氣壓下蒸餾，直到移去53毫升溶劑為止。當產物結晶時令溫度下降至50℃；在50℃下繼續攪拌1小時。再將溫度下降至20-25℃，並保持在該溫度下，同時再繼續攪拌2小時。固體產物過濾，再以MEK (18毫升)潤洗。固體產物乾燥至8.32克恆重，其中每個定量HPLC分析含有99.6%環氧美克瑞酮。乾燥後最終流失少於1.0%。依據反應且操作此

實例，環氧美克瑞酮整體之產率為65.8%。此整體產率反映93%之反應產率，78.9%之最初結晶回收率，及89.5%再結晶回收率。

實例47B

製備11α,12α-環氧基-17-羥基-3-酮-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



烯酯之△^{11,12}鏈烯是11-甲磺酸酯消去作用之副產物。自反應混合物(依實例37A方式製備)中利用重覆的製備式液相層析可分離純樣品。因此，73克殘留物(依實例37A所述製備)在2.41公斤之Merck矽膠(40-63微)上層析，利用乙酸乙酯，甲苯梯度溶離流程(20:80，30:70，40:60，60:40，v/v)。加豐之△^{11,12}鏈烯部份自所選擇之30:70部份中混合。在EMF板上行TLC，以乙酸乙酯/甲苯60:40 (v/v)，並以硫酸SWUV具象化，充作選擇適合流份之引導。於溶劑移去後所得之7.9克粗製的△^{11,12}鏈烯(80%面積%，經HPLC)在531克Merck矽膠上層析(40-63微)，以乙酸乙酯/二氯甲烷梯度溶離流程進行(10:90，20:80，35:65，v/v)。自所選擇之20:80部份中，可得到純的17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,11-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯(3.72克)。

流份之選擇依TLC評估為準，如先前狀況。

MIR公分$^{-1}$ 1767(內酯)，1727(酯)，1668及1616 (3-酮基-$\triangle^{4,5}$)。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): ppm 1.05 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 5.58 (dd, 1H), 5.80 (s, 1H), 5.88 (dd, 1H)。

^{13}C NMR ($CDCl_3$) ppm 17.41, 18.58, 21.73, 28.61, 32.28, 33.63, 34.91, 35.64, 35.90, 38.79, 42.07, 44.12, 48.99, 49.18, 51.52, 93.81, 126.43, 126.69, 133.76, 166.24, 172.91, 176.64, 198.56。

1.6克(3.9毫莫耳)17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,11-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯於16毫升二氯甲烷之溶液，混合以2.2毫升的三氯乙腈(22.4毫莫耳)及0.75克磷酸二鉀(4.3毫莫耳)。混合物攪拌並以6.7毫升30%過氧化氫混合(66毫莫耳)。在25℃下繼續攪拌45小時。於此時末了，加入28毫升二氯甲烷及39毫升水。有機部份分離，再相繼以a) 74毫升3%硫酸氫鈉，b) 62毫升1 N氫氧化鈉，c) 74毫升1 N氫氯酸，及d) 31毫升10%鹽水洗滌。有機部份再次分開，於硫酸鎂上乾燥，並於真空下蒸發至乾。1.25克殘留物在138.2克Merck矽膠(40-63微)上層析，利用甲基第三-丁基醚及甲苯梯度系統(40:60，60:40，75:25，v/v)。於TLC評估後混合60:40及75:25之適合流份，可生成0.66克純的11α,12α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，內酯。TLC系統利用EMF板，及75:25(v/v)甲基-第三-丁基醚及甲苯溶離流程，以硫酸及SWUV

具象化。

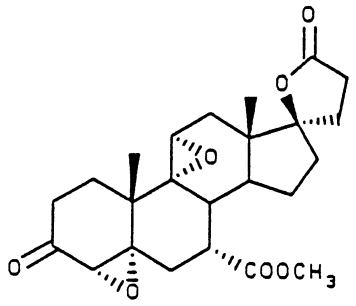
^{1}H NMR ($CDCl_3$): ppm 1.09 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 3.05 ($AB^{11,12}$ 2H), 3.67 (s, 3H), 5.80 (s, 1H)。

^{13}C NMR ($CDCl_3$) ppm 14.2, 18.0, 21.2, 28.8, 31.9, 33.5, 34.6, 34.7, 35.1, 35.5, 37.4, 38.3, 41.8, 46.0, 47.2, 50.4, 51.7, 56.7, 94.0, 126.7, 165.2, 172.5, 176.7, 198.1。

理論值：C, 69.54及H, 7.30；實測值：C 69.29及H, 7.17。

實例47C

分離4α,5α：9α,11α-二環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



粗製的環氧美克瑞酮(157克)製備自200克實例26之烯酯，接受4.4公斤Merck矽膠(40-63微)之層析。以乙腈及甲苯10:90 (v/v)溶離流程回收88.1克部份。所分離之固體溶於880毫升熱的甲基乙基酮，並經由solk floc盤過濾。應用另一88毫升甲基乙基酮為潤洗劑。濾液經643毫升溶劑之移去而濃縮，混合物再冷卻至室溫。固體粒子過濾，再以甲基乙基酮潤洗。乾燥後可得60.2克環氧美克瑞酮，分析知有96.8% (HPLC)。濾液在減壓下濃縮至乾。9.3克殘留

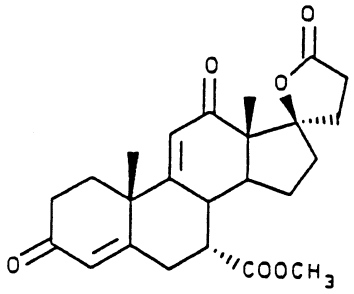
物自99毫升甲基乙基酮中再結晶，以生成2.4克乾的固體。固體取400毫克接受YMC ODS AQ管柱上之逆相製備式HPLC。可以乙腈(24%)，甲醇(4%)水(72%)之溶離流程分離出純的4α,5α:9α,11α-二環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕烷-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯(103毫克)。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): ppm 0.98 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 2.89 (m, 1 H), 3.07 (s, d, 2H), 3.73 (s, 3H)。

MS, M+430，估計$C_{24}H_{30}O_7$ (430.50)。

實例47D

分離17-羥基-3,12-二酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



以實例26方式所得之甲基乙基酮母液，在減壓下蒸發至乾。殘留物取4.4克接受58.4克BTR Zorbax LP (40微)之層析。以甲基乙基酮及二氯甲烷梯度(25:75至50:50，v/v)溶離，可生成1.38克物質。此物質1.3克進一步經由逆相製備式HPLC純化，以乙腈(30%)，甲醇(5%)及水(65%)為移動相，並利用YMC ODS AQ管柱(10微)。產物經由二氯甲烷萃取得自加豐的部份。二氯甲烷蒸發至乾，且175毫克殘留物經由逆相製備式HPLC純化，以乙腈(24%)，甲醇(4%)

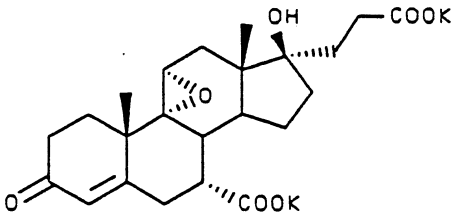
及水(72%)為移動相及YMC ODS AQ管柱。加豐流份經二氯甲烷萃取可生成30.6毫克純的17-羥基-3,12-二酮-17α-孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，內酯。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): 1.17 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 3.13 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 5.77 (s, 1H), 5.96 (s, 1H)。

^{13}C NMR ($CDCl_3$) ppm 13.1, 21.0, 28.0, 29.4, 33.1, 33.4, 33.9, 35.5, 36.7, 40.3, 41.5, 43.0, 43.4, 52.0, 55.0, 91.0, 123.7, 126.7, 163.2, 167.9, 171.8, 176.8, 197.4, 201.0。

實例47E

製備9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸，二水合物，二鉀鹽

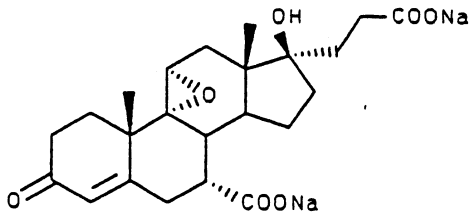


製備含有2.0克(4.8毫莫耳)依實例43方式製備之環氧美克瑞酮，10毫升水，3毫升二噁烷及9.3毫升1.04 N氫氧化鈉水溶液(9.7毫升)之懸液。混合物在25℃下攪拌3小時。於前2小時內可形成均質之黃色溶液。溫度升高至70℃，再繼續攪拌3小時。溶劑經吸空蒸餾移去，且殘留物經由90克C18矽膠上行逆相層析而純化，利用水為溶離劑。欲求之流份經EMF板行TLC後混合，以二氯甲烷，甲醇(7:3)為溶離劑，SWUV具象化之。混合的流份在真空下濃縮至乾，且殘留物接受逆相純化，如先前所述。欲求的流份在

減壓下濃縮至乾，且殘留物溶於乙醇中。加乙酸乙酯至濁點，再加庚烷使完全沉澱。可分離出0.55克產物，9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸，二水合物，二鉀鹽，呈黃色固體。碳分析與水合結構一致，$C_{33}H_{28}O_7K_2 \bullet 1.75\ H_2O$：理論值C, 52.50對55.85(無水型式)；實測值C, 52.49。在EMF板上行TLC，以二氯甲烷，甲醇，水(6:3:0.5，v/v)為溶離劑，並經SWUV具象化，可觀察到0.29之R_f值。

實例47F

製備9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸，二鈉鹽



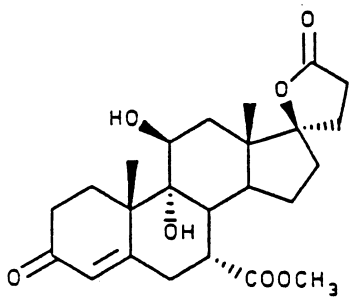
約5毫克(0.01毫莫耳)依實例43方式製備之環氧美克瑞酮懸浮在約200微升甲醇中，於4毫升小瓶內，再以約200微升2.5 N NaOH稀釋。生成的混合物為黃色均質狀。混合物再於70℃油浴中加熱。10分鐘後，取1微升樣品以HPLC分析(Zorbax SB-C8 150×4.6毫米，2毫升/分，梯度=35:65 (v/v) A:B，A=乙腈/甲醇(1:1)，B=水/0.1%三氟乙酸，在210毫微米下偵測)顯示在4.86及2.93分鐘滯留時間處有二物質，與羥基酸(開環之內酯)及開環內酯7-羧酸，分別符合。30分鐘後，取出第二份樣品(0.05毫升)，並以0.05毫

升3 N HCl酸化，再以約0.5毫升碳酸氫鈉中和。HPLC分析如上顯示具有6.59及10.71分鐘之預期的閉環類固醇。9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯(10.71分鐘)對相當的7-羧酸比例為7:89。

在緩和條件下，內酯之選擇性水解是可能的。第二個4毫升小瓶如上製備，但未加熱。混合物震盪5分鐘。0.05毫升樣品以0.5毫升1:1 (v/v)甲醇/乙腈之混合物稀釋，再以HPLC分析，勿需先酸化。生成之開環的內酯羧酸7-酯，具有4.85分鐘之滯留時間，如上文所觀察的，且未為7-羧酸所污染。

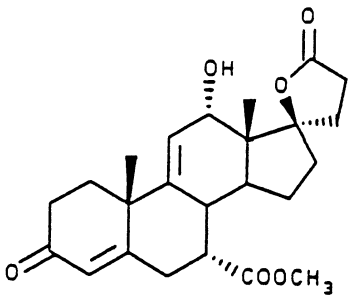
實例47G

分離9α,11β,17-三羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



及

12α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



9α,11β,17-三羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯及12α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯於2-丁酮母液之製備式液相層析後分離，其依實例26所述之烯酯行環氧化作用而回收(三氯乙腈策略)。因此，利用2-丁酮如所示行第一次結晶作用。然而，結晶作用是利用2-丁酮(10倍體積/克)替代丙酮。以此方式可得到2.8克殘留物，並經由逆相製備式HPLC純化。以Cromasil C8 (10微)為固定相；而移動相含有milliQ水及乙腈，比例為70:30 (v/v)。在一個加豐的流份中可觀察到結晶作用。固體(46.7毫克)分離，並鑑知為9α,11β,17-三羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。母液在減壓下蒸發至乾，且殘留物(123毫克)鑑知為12α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。

9α,11β,17-三羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯：

MS M+432，估計$C_{24}H_{32}O_5$ (432.51)。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): ppm 1.23 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 3.00 (m, 1H), 3.14 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 5.14 (s, 1H, 緩慢可交

換), 5.79 (s, 1H)。

^{13}C NMR ($CDCl_3$) ppm 16.8, 22.7, 24.8, 29.0, 29.3, 32.1, 34.1, 34.7, 35.2, 35.7, 36.8, 40.7, 43.0, 45.0, 45.9, 52.9, 72.8, 77.4, 95.9, 127.4, 163.7, 176.7, 177.3, 199.4。

12α,17-二羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯：

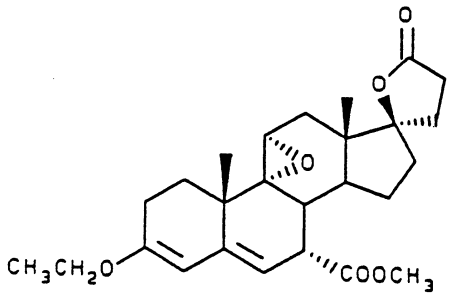
MS M+441，估計$C_{24}H_{30}O_6$ (414.50)。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): ppm 0.87 (s, 1H), 1.40 (s, 1H), 3.05 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.99 (m, 1H), 5.72 (s, 1H), 5.96 (m, 1H)。

^{13}C NMR ($CDCl_3$) ppm 14.8, 24.0, 26.1, 29.7, 33.6, 33.8, 34.0, 36.3, 37.0, 37.4, 40.7, 40.9, 43.8, 48.1, 51.9, 69.1, 95.5, 122.7, 126.3, 145.9, 164.5, 173.2, 177.6, 198.2。

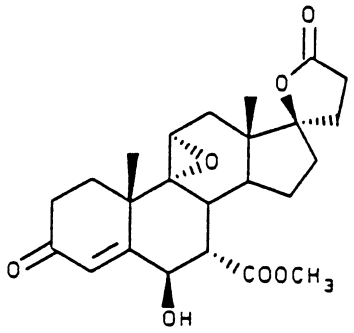
實例47H

製備9,11α-環氧基-3-乙氧基-17-羥基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



及

6β,17-二羥基-9,11α-環氧基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



9,11α-環氧基-3-乙氧基-17-羥基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯依R.M. Weier及L.M. Hofmann (J. Med Chem 1977, 1304)之方法製備，其納為本案參考。依實例43方式製備之148克(357毫莫耳)的9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯，混合以311毫升絕對乙醇及155毫升(932毫莫耳)的原甲酸三乙酯。淤漿在室溫下攪拌，並加入10.4克(54.7毫莫耳)甲苯磺酸(單水合物)為催化劑。繼續攪拌30分鐘，且反應加41.4克(505毫莫耳)醋酸鈉粉末及20.7毫升(256毫莫耳)吡啶以驟冷。以過濾移出固體粒子(70.2克)，且濾液在真空下濃縮至乾。殘留物以300毫升乙酸乙酯水解，再經由過濾移出9.8克固體粒子。

濾液濃縮至乾，且殘留物以100毫升含有2毫升吡啶之甲醇水解。以過濾移出29.7克固體粒子。在濾液中可觀察到額外的沉澱。因此，濾液再過濾以移去額外21.9克的固體粒子。濾液濃縮至乾，且殘留物以50毫升含有1毫升吡啶之甲醇水解。33.8克的固體粒子經過濾分離。定量HPLC顯示，此最後一份固體粒子足夠純(90面積%的9,11α-環氧-3-乙氧基-17-羥基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內

酯)可用於下一個反應步驟中。

9,11α-環氧基-3-乙氧基-17-羥基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯：^{1}H NMR ($CDCl_3$): ppm 1.02 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.30 (t, 3H), 3.12 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.78 (m, 2H), 5.20 (s, 1H), 5.29 (d, 1H)。

8克的烯醇醚(9,11α-環氧基-3-乙氧基-17-羥基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯)(18毫莫耳)依先前步驟製備，溶於120毫升1,4-二噁烷中。溶液與6.8克55%間位-氯過苯甲酸(20.9毫莫耳)，18.5毫升1.0 N氫氧化鈉(18.5毫莫耳)及46毫升二噁烷/水(9:1)混合。溫度維持在-3℃，且混合物攪拌2小時。溫度上升至25℃，並繼續再攪拌20小時。混合物混合以400毫升冷水(10℃)及23.5毫升1.0 N氫氧化鈉(23.5毫莫耳)。混合物以100毫升(每次)二氯甲烷萃取4次。混合的二氯甲烷部份於硫酸鎂上乾燥，且上清液溶劑在真空蒸餾下移去。13.9克殘留物以50毫升二乙醚研磨，可生成2.9克白色固體。2.4克固體於100克Merck矽膠上層析(60微)。經1升1:1乙酸乙酯/庚烷先洗滌，產物以7:3乙酸乙酯/庚烷溶離。依TLC評估混合加豐之流份(EMF板；乙酸乙酯/庚烷7:3 (v/v)溶離劑；SWUV具象化)。因此，可得0.85克加豐的物質，並自10毫升異丙醇中再結晶，以生成0.7克6β,17-二羥基-9,11α-環氧基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。較污染的部份混合，可得0.87克粗製的6β,17-二羥基-9,11α-環氧基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯。此物質在

67.8克Merck矽膠(40-63微)層析。以含有0.5-2.5%甲醇之甲苯可再回收0.69克產物。

6β,17-二羥基-9,11α-環氧基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯：

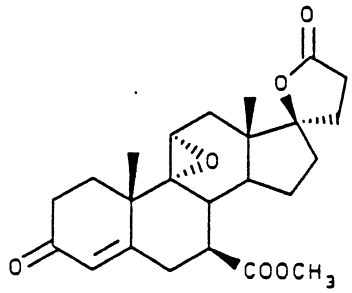
理論值：C, 66.96及H, 7.02；實測值：C, 66.68及H, 7.16。

^{1}H NMR ($CDCl_3$): ppm 1.06 (s, 3H), 1.36 (dm, 1H), 1.63 (s, 3H), 2.92 (m, 1H), 3.02 (dd, 1H), 3.12 (d, 1H), 3.64 (s, 3H), 4.61 (d, 1H), 5.96 (s, 1H)。

^{13}C NMR ($CDCl_3$) ppm 16.17, 21.32, 21.79, 24.36, 27.99, 28.94, 30.86, 31.09, 32.75, 33.19, 34.92, 36.77, 39.16, 43.98, 47.74, 51.56, 51.66, 65.36, 72.23, 94.79, 165.10, 171.36, 176.41, 199.59。

實例47I

製備9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯



對2克(4.8毫莫耳)9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯，依實例43方式製備，加入3.3毫升(14.4毫莫耳)25%甲氧化鈉於甲醇。生成的黃

色懸液加熱至50℃。固體不會溶解。對此混合物中加入3.3毫升甲醇(Aldrich，無水)。混合物加熱至迴流條件(65℃)，並變成均質狀。30分鐘後，固體沉澱會阻礙攪拌。

加入約25毫升的無水甲醇，混合物轉移至100毫升燒瓶內。混合物在迴流條件下加熱16小時，此時混合物為暗色且均質狀。混合物冷卻至25℃，加入70毫升3 N HCl(放熱)。加入數克的冰以冷卻混合物，且溶液以二次各25毫升二氯甲烷相繼萃取。暗色溶液在硫酸鈉上乾燥，並經由2.5公分矽膠盤過濾(E. Merck，70-230孔篩，60Å大小)。矽石以100毫升二氯甲烷溶離。溶離出之二氯甲烷再於真空下濃縮以生成1克棕色泡沫，其加入乙酸乙酯後會結晶。矽盤以第二次100毫升的10%乙酸乙酯/二氯甲烷溶離，溶離出之溶液可濃縮生成650毫克棕色泡沫。

薄層層析(E. Merck 60 F-2549矽膠，0.25毫米，甲苯/乙酸乙酯(1;1，v/v))顯示存在有二種樣品，9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯，及9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7β,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯，然而在第一樣品中存在極少的7α-羧基表位異構物。第一樣品以熱的乙酸乙酯(77℃)研磨，並令其冷卻至25℃。混合物再過濾以生成400毫克摻白色之固體，mp 254-258℃。H，^{13}C及^{13}C-APT符合設定之結構。在樣品中保有少量的乙酸乙酯，但以HPLC證知並無起始物(Zorbax SB-C8 150×4.6毫米，2毫升/分，等濃度40:60 (v/v) A:B，A=乙腈/甲醇(1:1)，及B=水/0.1%三氟乙

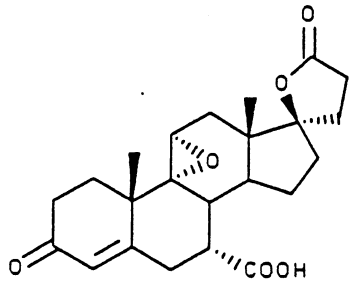
酸，在210毫微米下偵測)(HPLC顯示98.6面積%)，及TLC(甲苯-乙酸乙酯1:1，v/v)也證知如此。

FAB-MS證實414之分子量，及415.2之M_+H。

^1H NMR (400 MHz，次氯仿) δ 0.95 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.45 (m, 3H), 1.55-2.7 (m, 15H), 2.85 (t, J=13, 1H), 3.25 (d, J=6, 1H), 3.65 (s, 3H), 5.78 (s, 1H)。

實例47J

製備9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸，γ-內酯



對774毫克(1.82毫莫耳)9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯，依實例43方式製備，且懸浮在3毫升乙腈中，加入3毫升(7.5毫莫耳，2.0當量)2.5 M氫氧化鈉。混合物變成黃色，且10分鐘後呈均質狀。

為追踪反應之進行，取一份(0.1毫升)混合物以0.01毫升3M硫酸驟冷，再萃取於4毫升玻璃小瓶內，以乙酸乙酯(0.2毫升)進行。分相，利用吸量管移去下水層。有機相汽滌，且殘留物以HPLC分析，利用實例47H所述之方法。25℃下歷50分鐘後，在混合物組成中少有變化。

混合物在迴流條件下加熱(約90℃)歷50分鐘。混合物之HPLC分析顯示有6面積%之起始物留下。混合物在25℃下攪拌65小時。如上述酸化，萃取及HPLC分析，證實未留下起始物。

混合物以4毫升3M硫酸以強烈酸化，並以二份(約10毫升)二氯甲烷萃取。混合有機相，並於硫酸鈉上乾燥。於旋轉蒸發器上濃縮可生成780克固體。固體自二甲替甲醯胺/甲醇中再結晶，生成503毫克(67%)褐色結晶固體。樣品當快速加熱時，在近260℃會熔化並有氣體之逸出。當緩緩加熱至285℃時，樣品慢慢變暗但仍為固體。

^{1}H MMR(二甲亞碸d-6, 400 MHz) δ 0.85 (s, 3H), 1.4 (s, 3H), 1.3-2.9 (m, 19H), 3.15 (m, 1H), 5.55 (s, 1H), 11.8 (br, 1H)。

實例47K

流程1：步驟3D：方法I：合成9,11α-環氧基-17-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，內酯。

0.2 M式IIA烯酯於二氯甲烷之溶液，與2當量磷酸二鉀(於等重水中，50% w/w水溶液)，3當量氯二氟乙醯胺及22當量過氧化氫(呈30%水溶液型式加入)混合。混合物在25℃下攪拌23小時。反應以相當於加入之過氧化氫之水量稀釋，再分出二氯甲烷。二氯甲烷部份以3%硫酸氫鈉溶液洗一次(體積相當於所加入之過氧化氫之1.75倍)。分出二氯甲烷部份，於硫酸鈉上乾燥。溶液在大氣蒸餾下濃縮，直到達到70℃之頭部溫度為止。殘留物經由HPLC，$_1$H及

^{13}C NMR ($CDCl_3$)評估。環氧美克瑞酮之產率經決定為54.2面積% (HPLC)。

實例47L

流程1：步驟3D：方法J：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

實例47K之步驟重覆，使用七氟丁醯胺($CF_3CF_2CF_2CONH_2$)替代氯二氟乙醯胺。環氧美克瑞酮之產率為58.4面積%(以HPLC知)。

實例48-利用甲苯環氧化式IIA之烯酯

流程1：步驟3D：方法K：合成9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

式IIA之烯酯依實例46之一般方法轉化成環氧美克瑞酮，除了使用甲苯為溶劑。加入反應器內之物質包括烯酯(2.7克)，三氯乙醯胺(2.5克)，磷酸氫二鉀(1.7克)，過氧化氫(17.0克)及甲苯(50毫升)。反應放熱至28℃，可在4小時內完全。生成的三相混合物冷卻至15℃，過濾，以水洗，真空乾燥可生2.5克產物。

實例49-流程4：方法A：9,11-二烯酮之環氧化作用

命名為XVIIA之化合物(XVII化合物，其中-A-A-及-B-B-均為$-CH_2-CH_2-$)(40.67克)溶於二氯甲烷中(250毫升)，於1升之三頸燒瓶內，並由冰鹽混合物外在地冷卻。加入磷酸二鉀(22.5克)，及三氯乙腈(83.5克)且混合物冷卻至2℃，之後緩緩加入30%過氧化氫(200克)歷1小時。反應混合物在12℃下攪拌8小時，在室溫下4小時。取出一滴有機層，

檢查有否含有任何的起始烯酮，且發現＜0.5%。加水(400毫升)，攪拌15分鐘再分層。有機層以200毫升碘化鉀(10%)，200毫升硫代硫酸鈉(10%)及100毫升飽和的碳酸氫鈉溶液相繼洗滌，各次均分層。有機層於無水硫酸鎂上乾燥，並濃縮生成粗製的環氧化物(41克)。產物自乙酸乙酯：二氯甲烷中結晶，可生成14.9克純物質。

實例50-流程4：方法B：化合物XVIIA利用間位-氯過苯甲酸行環氧化作用

化合物XVIIA (18.0克)溶於250毫升二氯甲烷，再冷卻至10℃。在攪拌下，加入固體間位-氯過苯甲酸(50-60%純，21.86克)歷15分鐘。未觀察到溫度之上升。反應混合物攪拌3小時，並檢查是否存在有二烯酮。反應混合物以硫酸氫鈉溶液(10%)，氫氧化鈉溶液(0.5N)，氫氯酸溶液(5%)相繼處理，最後是50毫升飽和的鹽水溶液。經以無水硫酸鎂乾燥後，蒸發，可生成17.64克環氧化物，並可立即用於下一步驟。產物發現含有Baeyer-Villiger氧化作用產物，其移去必須自乙酸乙酯中研磨再自二氯甲烷中結晶。於500克之規模中，濾出沉澱的間位-氯苯甲酸，係依循一般之處理方式。

實例51-流程4：方法C：化合物XVIIA利用三氯乙醯胺行環氧化作用

化合物XVIIA (2克)溶於25毫升二氯甲烷中。加入三氯乙醯胺(2克)，磷酸二鉀(2克)。在室溫攪拌下，加入30%過氧化氫(10毫升)，並繼續攪拌18小時，以生成環氧化物

(1.63克)。未形成Baeyer-Villiger產物。

實例52

氫氧化鉀(56.39克；1005.03毫莫耳；3.00當量)加至2000毫升燒瓶中，再以二甲亞碸(750.0毫升)於室溫下淤漿。相當於式XX之三烯酮(其中R^3是H，且-A-A-及-B-B-均為-CH_2-CH_2-)(100.00克；335.01毫莫耳；1.00當量)加至燒瓶內，並加上THF (956.0毫升)。在燒瓶中加入甲基硫酸三甲基銃(126.14克；670.02毫莫耳；2.00當量)，並將生成之混合物在迴流下加熱，80-85℃。自反應混合物中汽滌約1升的THF，在真空下進行，之後加水(460毫升)歷30分鐘，而反應混合物冷卻至15℃。生成之混合物過濾，固體環氧乙烷產物以各200毫升的水洗二次。產物為高度結晶，且可容易地進行過濾。之後產物在40℃真空下乾燥。可分離出104.6克3-甲基烯醇醚△-5,6,9,11,-17-環氧乙烷類固醇產物。

實例53

乙氧化鈉(41.94克，616.25毫莫耳；1.90當量)在氮下加至乾燥的500毫升反應器內。加乙醇(270.9毫升)至反應器中，再將甲氧化鈉於乙醇中淤漿。丙二酸二乙酯(103.90克，648.68毫莫耳；2.00當量)加至淤漿中，之後依實例52所述方式製備之環氧乙烷類固醇(104.60克；324.34毫莫耳；1.00當量)再加入，且生成的混合物加熱至迴流，即80-85℃。繼續加熱4小時，之後反應是否完全以HPLC檢查。水(337.86毫升)以30分鐘加至反應混合物中，同時混

合物冷卻至15℃。繼續攪拌30分鐘，之後反應淤漿過濾產生含有細碎無晶形粉末之濾塊。濾塊以水(各200毫升)洗滌，之後在環境溫度及真空下乾燥。可分離出133.8克的3-甲基烯醇醚-△5,6,9,11,-17-螺內酯-21-乙氧羰基中間物。

實例54

3-甲基烯醇醚-△5,6,9,11,-17-螺內酯-21-乙氧羰基中間物(式XVIII，其中R^3是H，且-A-A-及-B-B-各自是-CH_2-CH_2-；133.80克；313.68毫莫耳；1.00當量)依實例53產生，加至反應器中並加上氯化鈉(27.50克，470.52毫莫耳；1.50當量)，再加入二甲替甲醯胺(709毫升)及水(5毫升)至2000毫升反應器中，並拌以攪動。生成之混合物加熱至迴流，138-142℃歷3小時，之後反應混合物檢查反應是否完全，以HPLC得知。之後在混合物中加水歷30分鐘，同時混合物冷卻至15℃。再繼續攪動30分鐘，之後反應淤漿過濾可得呈濾塊之無晶形固體反應產物。濾塊洗二次(各200毫升的水)，之後再予以乾燥。產物3-甲基烯醇醚-17-螺內酯乾燥，可生成91.6克(82.3%產率；96面積%分析)。

實例55

依實例54產生之烯醇醚(91.60克；258毫莫耳；1.00當量)，乙醇(250毫升)，醋酸(250毫升)及水(250毫升)加至2000毫升反應器中，生成之淤漿加熱至迴流歷2小時。以30分鐘加水(600毫升)，而反應混合物冷卻至15℃。反應淤漿再過濾，且濾塊以水洗二次(各200毫升)。濾塊再乾燥；

可分離出84.4克產物3-酮基△4,5,9,11,-17-螺內酯(式XVII化合物，其中R^3是H，且-A-A-及-B-B-是$-CH_2-CH_2-$；95.9%產率)。

實例56

化合物XVIIA (1公斤；2.81莫耳)加上四氯化碳(3.2升)填至22升4-頸燒瓶中。加N-溴-琥珀醯亞胺(538克)至混合物中，再加乙腈(3.2升)。生成之混合物加熱至迴流，並在68℃迴流溫度下保持約3小時，可生成澄清之橘色溶液。5小時加熱後，溶液變暗。6小時後，移去熱源，再取樣。溶劑於真空下汽滌，再加乙酸乙酯(6升)至殘留物中(其在蒸餾鍋之底部)。生成之混合物攪拌，再加5%碳酸氫鈉溶液(4升)，且混合物攪拌15分鐘，再令相沉降。水層移出，將飽和的鹽水溶液(4升)引入混合物中，再攪拌15分鐘。再次分相，且有機層在真空下汽滌產生稠厚之淤漿。再加入二甲替甲醯胺(4升)，並繼續汽滌至55℃之鍋溫。令蒸餾鍋底靜置一夜，再加入DABCO (330克)及溴化鋰(243克)。混合物再加熱至70℃。經1.5小時加熱後,取出層析樣品，於3.50小時加熱後，再加入額外的DABCO (40克)。4.5小時加熱後，引入水(4升)，且生成之混合物冷卻至15℃。淤漿過濾，濾塊以水洗(3升)再於濾紙上乾燥一夜。濕塊(978克)再回至22升燒瓶內，並加入二甲替甲醯胺(7升)。如此產生之混合物加熱至105℃，此時濾塊完全吸收至溶液中。移去熱，且混合物在燒瓶中攪拌及冷卻。加冰水至反應罩中，且反應器內之混合物冷卻至14℃，再保持2小

時。生成之淤漿過濾，再以2.5升水洗二次。濾塊在真空下乾燥一夜。可得510克淺棕色固體產物。

實例57

在2升4頸燒瓶中加入：9,11-環氧基肯瑞酮，其依實例56產製(100.00克；282.1毫莫耳；1.00當量)，二甲替甲醯胺(650.0毫升)，氯化鋰(30.00克；707.9毫莫耳；2.51當量)及丙酮合氰化氫(72.04克，77.3毫升；846.4毫莫耳；3.00當量)。生成的懸液機械攪拌，並以四甲基胍處理(45.49克；49.6毫升；395.0毫莫耳；1.40當量)。系統再以水冷式冷凝管及乾冰冷凝管(充滿乾冰/丙酮)過濾，以避免HCN逸出。乾冰冷凝管之出口通入一個滌氣器中，其備有大量的氯漂白水。混合物加熱至80℃。

18小時後，可得暗紅-棕色溶液，再以攪拌冷卻至室溫。於冷卻過程中，氮充入溶液中以將殘留的HCN移走，利用通路到達滌氣器中之漂白水內。2小時後，溶液以乙酸(74克)處理，並攪拌30分鐘。粗製混合物再倒入冰水中(2升)，並拌以攪拌。經攪拌的懸液進一步以10% HCl水溶液(400毫升)處理並攪拌1小時。之後混合物過濾以生成暗紅色固體(73克)。濾液置於4升分液漏斗中，再以二氯甲烷萃取(3×800毫升)；有機層混合，再以水回萃取(2×2升)。二氯甲烷溶液於真空下濃縮，可生成61克暗紅色油。

於水性洗滌部份靜置一夜後，可發展或相當多之沉澱物。此沉澱物以過濾收集，再決定為純的產物烯胺(14.8克)。

(S)

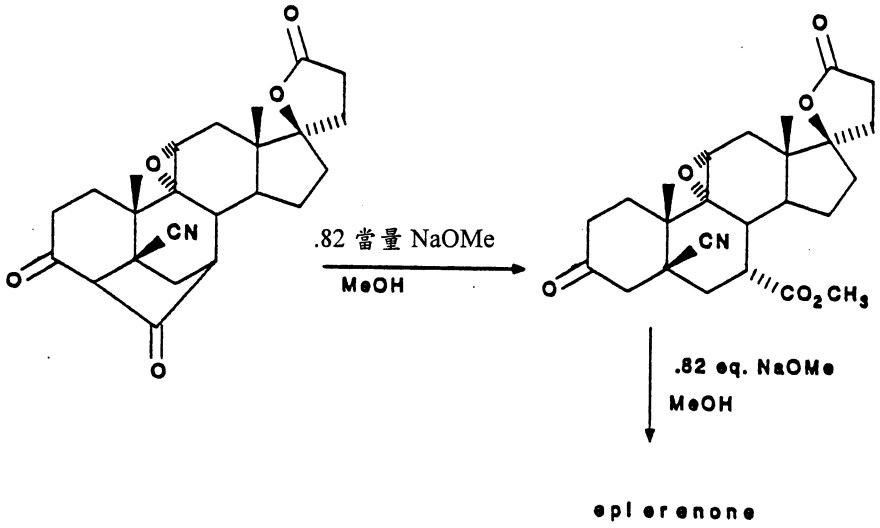
原先的紅色固體乾燥後(73克)以HPLC分析，並決定知主組份是9,11-環氧基烯胺。HPLC進一步顯示烯胺是得自二氯甲烷處理之紅色油狀物之主要組份。烯胺估計之莫耳濃度為46%。

實例58

依實例57製備9,11-環氧基烯胺(4.600克，0.011261莫耳；1.00當量)引入1000毫升圓底燒瓶中。在混合物中加入甲醇(300毫升)及0.5%按重計之HCl水溶液(192毫升)，之後迴流17小時。之後在真空下移出甲醇，將蒸餾罐內物質之量減至50毫升，並可令白色沉澱物形成。加水至淤漿中，之後過濾產生白色濾塊，再以水洗三次。固體9,11-環氧二酮產物之產率為3.747克(81.3%)。

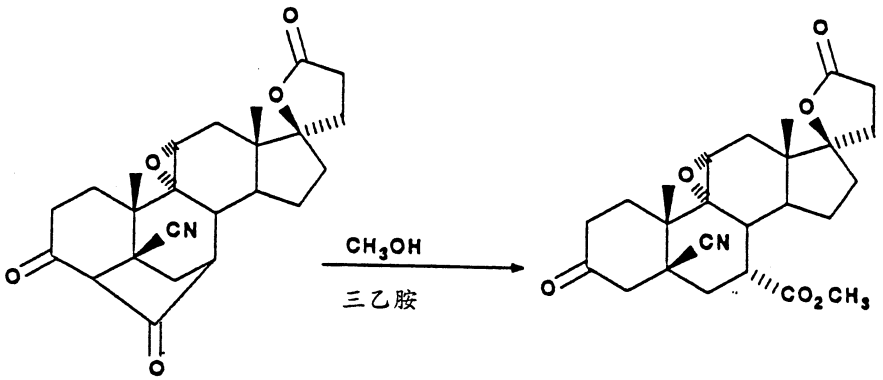
實例59

依實例58製備之環氧基二酮(200毫克；0.49毫莫耳)懸浮在甲醇中(3毫升)，再加1,8-二吖二環[5,4,0]十一碳-7-烯(DBU)至混合物中。一旦在迴流下加熱24小時，混合物變得均質。再於30℃，旋轉蒸發器上濃縮至乾，且殘留物分配於二氯甲烷及3.0 N HCl中。有機相濃縮可生成黃色固體(193毫克)，經決定知為22%按重計之環氧基美克瑞酮。產率是20%。



實例60

對100毫克二酮(依實例58製備)懸浮於1.5毫升甲醇，加入10微升(0.18當量)25%(w/w)甲氧化鈉於甲醇之溶液。溶液加熱至迴流。30分鐘後未留下二酮，並存在有5-氰基酯。在混合物中加入46微升的25% (w/w)於甲醇之甲醇鈉溶液。混合物在迴流下加熱23小時，此時主產物以HPLC判斷知為環氧美克瑞酮。



實例61

對2克二酮(依實例58製備)懸浮於30毫升無水甲醇，加入0.34毫升三乙胺。懸液在迴流下加熱4.5小時。混合物在

25℃下攪拌16小時。生成之懸液過濾，可生成1.3克呈白色固體之5-氰基酯。

對6.6克二酮懸浮於80毫升甲醇，加入2.8毫升三乙胺。混合物在迴流下加熱4小時，再於25 rpm下攪拌88小時，此時產物可自溶液中結晶。過濾再以甲醇洗滌，可生成5.8克呈白色粉末之氰基酯。物質自氯仿/甲醇中再結晶，可生成3.1克晶狀物質，以HPLC知呈均質狀。

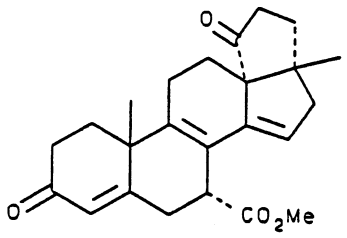
基於上述，可看出本發明的許多目的及其他有益結果可達到。

由於在上述組組成物及過程中可有各種變化，只要不偏離本發明範圍，在上述說明中所含的所有事情及示於附圖中者意欲納入說明，且不因此予以限制。

新穎化合物

本發明進一步是有關額外的多環有機部份，可充作層析標幟以製備具有益生物活性之類固醇化合物，如螺內酯固醇或環氧美克瑞酮。

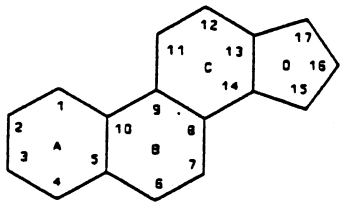
簡言之，頃發現某些化合物，其含有一個經取代或未經取代之類固醇核，及一個經取代或未經取代之碳環，稠合至類固醇核之13，17位置，可充作類固醇製備中之內部或層析標幟，如螺內酯固醇及環氧美克瑞酮。特言之，化合物2，3，3a，4，6，7，9，10，11，11a，12，13-十二氫-3aβ，11aβ-二甲基-1,9-二酮-1H-茂?並[1,6a-a]菲-6α-羧酸甲酯：



(C-1)

可充作層析標幟。本化合物及相關化合物新穎特色之一是稠合的碳環粘附至類固醇核之D核。螺內酯固醇及環氧美克瑞酮缺少此特色，並替代以20-螺內酯環。

如此中所用的，化合物之類固醇相當於以下結構：

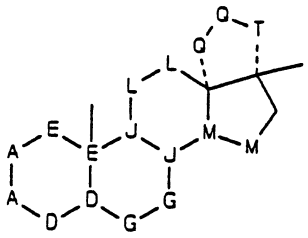


(C-2)

此結構反映出針對類固醇化合物之傳統編號及環命名。類固醇核可飽和，不飽和，經取代或未經取代。較好，其含有至少1至4個不飽和鍵。較好，A，C及D環各含有至少1個不飽和鍵。類固醇核也可被取代，如下文較特異地討論。較好，核至少為一個C7酯基所取代。

此中所用的，碳環稠合至類固醇核，其相當於一個4，5或6元碳之環狀架構。其可為飽和的，不飽和，經取代或未取代。較好，其係飽和的或有一個雙鍵，且其為一個羥基或酮基所取代。此外，碳環較好有α-方向(此相較類固醇核而言)。

在一個較佳具體實例中，碳環含有一個5碳環狀骨架，且有α-方向，且化合物選自下列包括相當於以下化式之化合物：



(C-3)；

其中

-A-A-代表以下基團-$CR^{102}R^{102a}$-$CR^{103}R^{103a}$-或-CR^{102}=CR^{103}-，其中-$CR^{102}R^{102a}$及-CR^{102}=相當於C2碳，且-$CR^{103}R^{103a}$-及=CR^{103}-相當於C3碳；

-D-D-代表-CHR^{104}-CH-或-CR^{104}=C-基團；

-E-E-代表-CH_2-CR^{110}-或-CH=C-；

-A-E-代表-$CR^{102}R^{102a}$-CH_2-或-CR^{102}=CH，

其中-$CR^{102}R^{102a}$-及-CR^{102}=相當於C2碳，且-CH_2-及=CH-相當於C1碳；

-G-G-相當於-$CR^{106}R^{106a}$-CHR^{107}-或-CR^{106}=CR^{107}-，其中-$CR^{106}R^{106a}$-及-CR^{106}=相當於C6碳，且-CHR^{107}-及$CR^{=107}$-相當於C7碳；

-J-J-代表-CR^{108}-CR^{109}-或-C=C-，其中-CR^{108}-相當於C8碳，且-CR^{109}-相當於C9碳；

-L-L-代表-$CR^{111}R^{111a}$-CH_2-或-CR^{111}=CH-，其中-$CR^{111}R^{111a}$-及-CR^{111}=相當於C11碳，且-CHR^2-及=CH-相當於C12碳；

-J-L-代表-CR^{109}-$CR^{111}R^{111a}$-或-C=CR^{111}-，其中-CR^{109}-及-C=相當於C9碳，且$CR^{111}R^{111a}$-及-CR^{111}=相當於C11碳；

-M-M-代表-CR^{114}-CH_2-或-C=CH-，其中-CR^{114}-及-C=相當於C14碳，且-CH_2-及-C=H-相當於C15碳；

-J-M-代表-CR^{108}-CR^{114}-或-C=C-，其中-CR^{108}-相當於C8碳且-CR^{114}-相當於C14碳；

-Q-Q-代表-$CR^{120}R^{120a}$-$CR^{119}R^{119a}$-或-CR^{120}=CR^{119}-，其中-$CR^{120}R^{120a}$-及-CR^{120}=CR^{119}-相當於C20碳，且-$CR^{119}R^{119a}$-及=CR^{119}-相當於C19碳；

-Q-T-代表-$CR^{119}R^{119a}$-CHR^{118}-或-CR^{119}=CR^{118}-，其中-$CR^{119}R^{119a}$-及-CR^{119}=相當於C19碳，且-CHR^{118}-及=CR^{118}-相當於C18碳；

R^{102}是氫，烷基，烯基或炔基；

R^{102a}是氫，或代表介於C2碳原子及C3碳原子間之鍵，當-A-A-代表-CR^{102}=CR^{103}-且-A-E-代表-$CR^{102}R^{102a}$-CH_2-；或代表介於C1碳原子及C2碳原子間之鍵，此當-A-E-代表-CR^{102}=CH-且-A-A-代表-$CR^{102}R^{102a}$-$CR^{103}R^{103a}$-時；

R^{103}是氫，羥基，經保護之羥基，R^{130}O-，R^{130}C(O)O-，R^{130}0C(O)O-，或加上R^{103a}一起形成酮基；限制條件為-A-A-是-$CR^{102}R^{102a}$-$CR^{103}R^{103a}$-，此當R^{103}加上R^{103a}形成酮基時；

R^{103a}是氫或加上R^{103}形成酮基；限制條件為-A-A-是-$CR^{102}R^{102a}$-$CR^{103}R^{103a}$-，此當R^{103}加上R^{103a}形成酮基時；

R^{104}是氫，烷基，烯基或炔基；

R^{106}是氫，羥基或經保護之羥基，或加上R^{106a}形成酮

基，或加上R^{106a}及其所粘附之碳原子形成環丙基，環丁基或環戊基環；限制條件為-G-G-是-$CR^{106}R^{106a}$-$CR^{107}R^{107a}$-，此當R^{106}加上R^{106a}形成酮基時；

R^{106a}是氫，羥基或經保護之羥基，或加上R^{106a}形成酮基，或加上R^{106}及其所粘附之碳原子形成環丙基，環丁基或環戊基環；或加上R^{107}及其所粘附之碳原子形成環丙基，環丁基或環戊基環；

R^{107}是氫；羥基羰基；低碳烷基，烯基，炔基，芳基，雜芳基或芳烷基；鹵烷基；羥烷基；烷氧烷基；低碳烷醯基，烯醯基，炔醯基，芳醯基，雜芳醯基或芳烷醯基；低碳烷氧羰基，烯氧羰基，炔氧羰基，芳氧羰基，雜芳氧羰基或芳烷氧羰基；低碳烷醯基硫基，烯醯基硫基，炔醯基硫基，芳醯基硫基，雜芳醯硫基，或芳烷醯基硫基；低碳烷硫基，烯硫基，炔硫基，芳硫基，雜芳硫基或芳烷硫基；胺甲醯基；烷氧羰胺基；或氰基；或

R^{107}加上R^{106a}及與之粘附之碳原子形成環丙基，環丁基或環戊基環；或

R^{107}及R^{114}加上C7，C8及C14碳原子，形成γ-內酯；

R^{108}是氫，羥基，經保護之羥基，烷基，烯基，炔基，$R^{140}O$-，$R^{140}C(O)O$-，或$R^{140}0C(O)O$-；或代表C8及C9碳原子間之鍵，當-J-J-代表-C=C-且-J-M-代表-CR^{108}-CR^{114}時；或代表介於C8及C14碳原子間之鍵，此當-J-M-代表-C=C-且-J-J-代表CR^{108}-CR^{114}-；

R^{109}是氫，羥基，經保護之羥基，烷基，烯基，炔基，

$R^{150}O$-，$R^{150}C(O)O$-，或$R^{150}0C(O)O$-；或代表介於C9及C11碳原子間之鍵，此當-J-L-代表-C=CR^{111}-且-J-J-代表-CR^{108}-CR^{109}；或代表介於C8及C9碳原子間之鍵，此當-J-J-代表-C=C-，且-J-L-代表CR^{109}-$CR^{111}R^{111a}$-；

R^{110}是氫或甲基；

R^{111}是氫，羥基或經保護之羥基，或加上R^{111a}形成酮基，限制條件為-J-L-代表-CR^{109}-$CR^{111}R^{111a}$-，且-L-L-代表-$CR^{111}R^{111a}$-CH_2-，當R^{111}加上R^{111a}形成酮基時；

R^{111a}是氫，或加上R^{111}形成酮基，限制條件為-J-J-代表-CR^{109}-$CR^{111}R^{111a}$，且-L-L-代表-$CR^{111}R^{111a}$-CH_2-，當R^{111a}加上R^{111}形成酮基；或R^{111a}代表介於C11碳原子及C9碳原子間之鍵，此當-J-L-代表-C=CR^{111}-，且-L-L-代表-$CR^{111}R^{111a}$-CH_2-；或R^{111a}代表介於C11碳原子及C12碳原子間之鍵，此當-L-L-代表-CR^{111}=CH-且-J-L-代表-$CR^{109}R^{109a}$-$CR^{111}R^{111a}$時；

R^{114}是氫，羥基，經保護之羥基，烷基，烯基，炔基，$R^{160}O$-，$R^{160}C(O)O$-，或$R^{160}0C(O)O$-；或R^{114}及R^{107}加上C7，C8及C14碳形成γ-內酯；或R^{114}代表介於C14及C8碳原子間之鍵，此當-J-M-代表-C=C-，且-M-M-代表-CR^{114}-CH_2時；或R^{114}代表介於C14及C15碳原子間之鍵，此當-M-M-代表-C=CH-且-J-M-代表-CR^{108}-CR^{114}-；

R^{118}是氫，烷基，烯基，炔基，芳基，雜芳基，烷硫基，烯硫基或氰基；

R^{118a}是氫，或代表介於C18及C19碳原子間之鍵，此當

-Q-T 代表 -CR^{118}=CR^{119}- 且 -Q-Q- 代表 -$CR^{119}R^{119a}$-$CR^{120}R^{120a}$-時；

R^{119}是氫，烷基或烯基；

R^{119a}是氫，或代表介於C19及C20碳原子間之鍵，此當-Q-Q- 代表 -CR^{120}=CR^{119}- 且 -Q-T- 代表 -$CR^{119}R^{119a}$-$CR^{118}R^{118a}$-；或代表介於C19及C18碳原子間之鍵，此當-Q-T代表-CR^{119}=CR^{118}-且-Q-Q-代表-$CR^{119}R^{119a}$-$CR^{120}R^{120a}$-時；

R^{120}是氫，羥基，經保護之羥基，或加上R^{120a}形成酮基；限制條件為-Q-Q-代表-$CR^{119}R^{119a}$-$CR^{120}R^{120a}$-，此當R^{120}加上R^{120a}形成酮基；

R^{120a}是氫，或加上R^{120}形成酮基；限制條件為-Q-Q-代表-$CR^{119}R^{119a}$-$CR^{120}R^{120a}$，此當R^{120a}加上R^{120}形成酮基；

且R^{130}，R^{140}，R^{150}及R^{160}為獨立的烷基，烯基，炔基，芳基或雜芳基。

較好，化合物相當於式C-3化合物，其中R^{107}是氫，羥基羰基，低碳烷基，低碳烷醯基，低碳烷氧羰基，低碳烷醯硫基，低碳烷硫基，胺甲醯基，或R^{107}加上R^{106a}及與之粘附之碳原子形成環丙基環；R^{106}是氫，羥基，或加上R^{106a}及與之粘附之碳原子形成環丙基環；R^{106a}是氫，羥基，或加上R^{106}及與之粘附之碳原子形成環丙基環；或R^{106a}加上R^{107}及與之粘附之碳原子形成環丙基環；且R^{120}是酮基。

以下定義被用來討論於本案中揭示之13,17-稠合環化合物：

"低碳烷基"表示具有1至6個碳原子之烷基，如甲基，乙基，丙基，異丙基，丁基，異丁基，第二-丁基及第三-丁

基，戊基及己基。基團可為直，分支鏈或環狀且經取代(特別是為芳基所取代)，未經取代或雜取代。

"低碳烷醯基"表示較好衍自具有1至7個碳原子之直鏈烷基之基團，且經由一個羰基粘附至母分子部份。尤佳是是甲醯基及乙醯基。

"低碳烷氧羰基"表示較好衍自具有1至7個碳子之直鏈烷基之基團，其並粘附至氧原子，該氧原子經由羰基粘附至母分子部份。尤佳者為甲氧羰基，乙氧羰基，異丙氧羰基及正己氧羰基。

"低碳烯基"表示具有2至6個碳原子之烯基，如乙烯基，丙烯基，異丙烯基，丁烯基，異丁烯基，第二-丁烯基，及第三-丁烯基，戊烯基及己烯基。基團可為直或分支鏈，且經取代，未經取代或經雜取代。"低碳烯醯基"及"低碳烯氧羰基"和"低碳烷醯基"及"低碳烷氧羰基"分別以相同方式定義，除了其衍自直鏈烯基而非直鏈烷基。較好，粘附至任何烯氧羰基之烯基上之氧，可由至少一個亞甲基與任何不飽和碳分隔。

"低碳炔基"表示具有2至6個碳原子之炔基，如乙炔基，丙炔基，異丙炔基，丁炔基，異丁炔基，第二-丁炔基及第三-丁烯基，戊炔基及己炔基。基團可為直或分支鏈，且經取代，未經取代或雜取代。"低碳炔醯基"及"低碳炔氧羰基"和"低碳烷醯基"及"低碳烷氧羰基"分別以相同方式定義，除了其係衍自直鏈炔基而非直鏈烷基。較好，粘附至任何炔氧羰基之炔基之氧與任何不飽和碳以至少一個亞

甲基分隔。

"芳基"部份較好含有，或單獨的各種取代基，5至15個原子，且包括苯基。

"低碳烷硫基"表示較好衍自具有1至7個碳原子之直鏈烷基之基團，其並經由硫原子粘附至母分子部份。尤佳者是甲硫基。

"低碳烷醯硫基"表示較好衍自具有1至7個碳原子之直鏈烷基之基團，其並粘附至羰基，該羰基經由硫原子粘附至母分子部份。尤佳者是乙醯基硫基。

"低碳烯基硫"及"低碳烯醯基硫"和"低碳烷硫基"及"低碳烷醯硫基"分別以相同方式定義，除了其係衍自直鏈烯基而非直鏈烷基。較好，任何烯基硫基之硫原子與任何不飽和碳有至少一個亞甲基之分隔。

"低碳炔硫基"及"低碳炔醯硫基"和"低碳烷硫基"及"低碳烷醯硫基"分別以相同方式定義，除了其係衍自直鏈炔基而非直鏈烷基。較好，任何炔硫基之硫原子與任何未飽和碳以至少一個亞甲基所分隔。

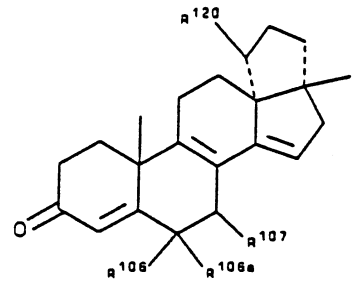
"胺甲醯基"表示-NH_2基團經由羰基粘附至母分子部份。胺甲醯基可單取代或二取代，且取代基可包括有烷基，烯基，炔基及芳基。

上文所定義之基團可未經取代或額外的取代。此額外的取代基可包括烷基，烯基，炔基，芳基，雜芳基，羧基如烷氧基，羧烷基，醯基，醯氧基，鹵如氯或氟，鹵烷氧基，硝基，胺基，醯胺基，及酮基。如上定義，以及額外

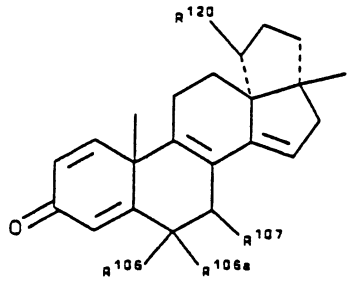
的取代基，也可含有氧，硫，磷及/或氮。

如此中所用的，"Me"表示甲基，"Et"表示乙基；且"Ac"表示乙醯基。

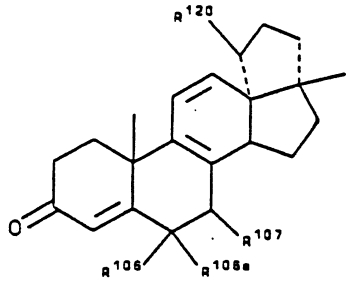
又較佳之具體實例中，化合物選自下列包括具以下化式之化合物：



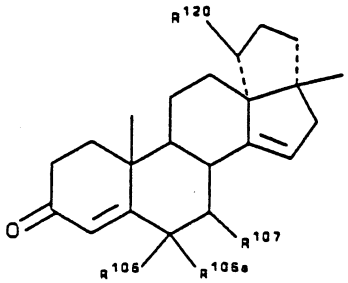
(C-5)；



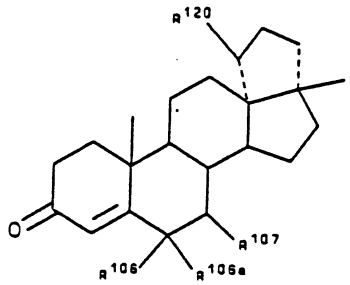
(C-6)；



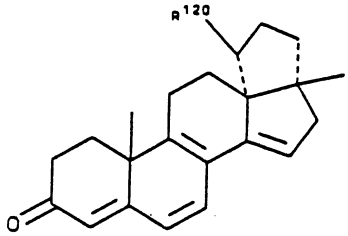
(C-7)；



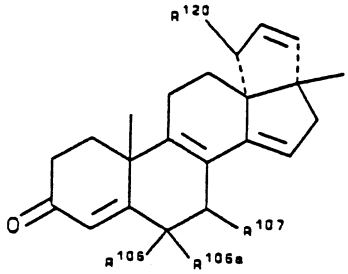
(C-8)；



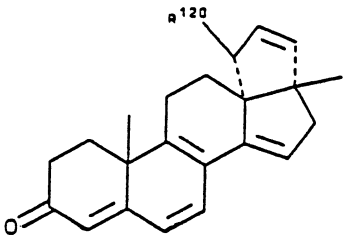
(C-9)；



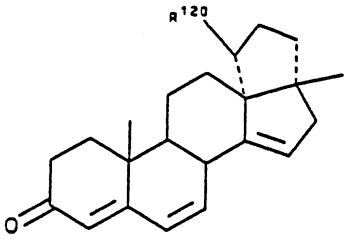
(C-10)；



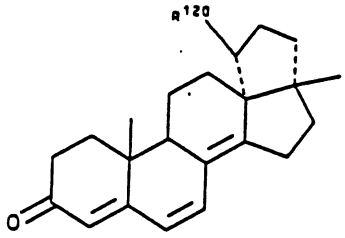
(C-11)；



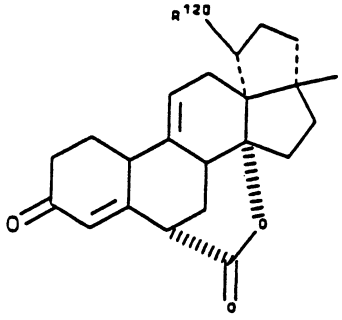
(C-12)；



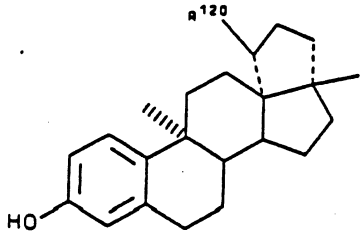
(C-13a)；



(C-13b)；



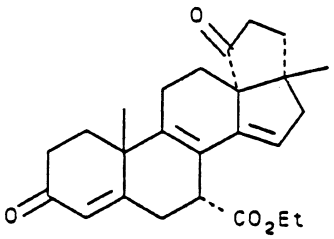
(C-13c)；



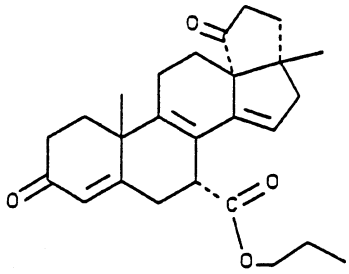
(C-13d)；及

其中R^{107}，R^{106}，R^{106a}及R^{120}如上文所定義。較好，R^{107}是氫，羥基羰基，低碳烷基，低碳烷醯基，低碳烷氧羰基，低碳烷醯硫基，低碳烷硫基，胺甲醯基，或加上R^{106a}及與之粘附之碳原子形成環丙基；R^{106}是氫，羥基，或加上R^{106a}及與之粘附之碳原子形成環丙基環；R^{106a}是氫，羥基，或加上R^{106}及與之粘附之碳原子形成環丙基環；或加上R^{107}及與之粘附之碳原子形成環丙基環；且R^{120}是酮基。又較好，化合物進一步相當式C-5化合物。

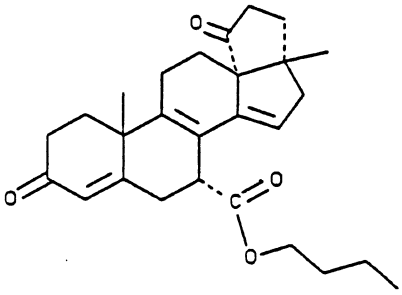
再又一較佳具體實例中，式C-3化合物選自下列包括以下化合物：



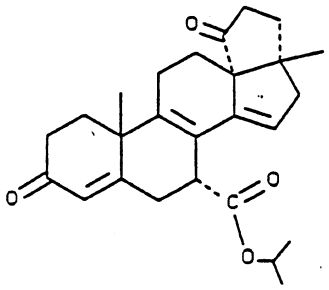
(C-14)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮環戊[13R,17]
-18-原雄-4,8,14-三烯-7α
-羧酸乙酯



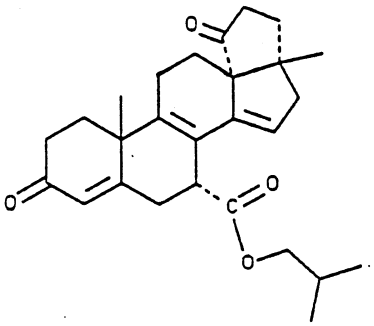
(C-15)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮環戊[13R,17]
-18-原雄-4,8,14-三烯-7α
-羧酸丙酯



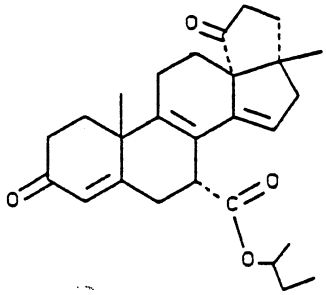
(C-16)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮環戊[13R,17]
-18-原雄-4,8,14-三烯-7α
-羧酸丁酯



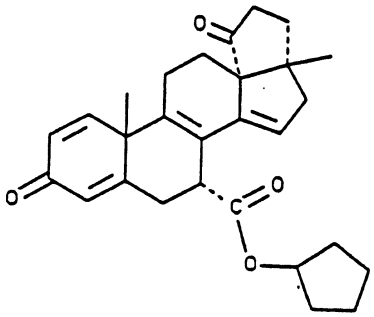
(C-17)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮基環戊[13R,17]
-18-原雄-4,8,14-三烯-7α
-羧酸1-甲基乙基酯



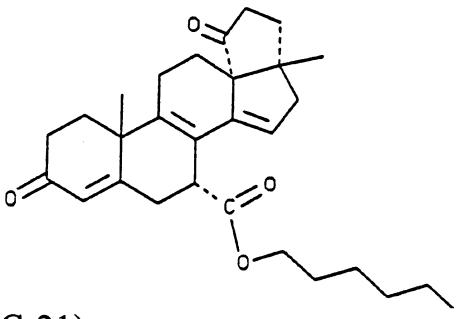
(C-18)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮基環戊[13R,17]
-18-原雄-4,8,14-三烯-7α
-羧酸2-甲基丙基酯



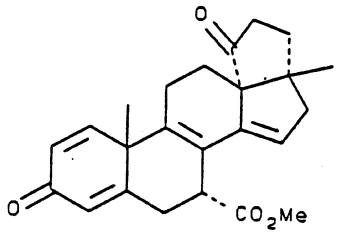
(C-19)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮基環戊[13R,17]
-18-原雄-4,8,14-三烯-7α
-羧酸1-甲基丙基酯



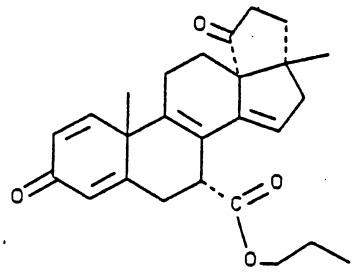
(C-20)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮基環戊[13R,17]
-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α
-羧酸環戊基酯



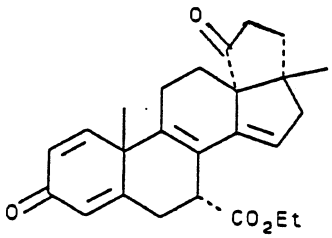
(C-21)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮環戊[13R,17]
-18-原雄-4,8,14-三烯-7α
-羧酸己基酯



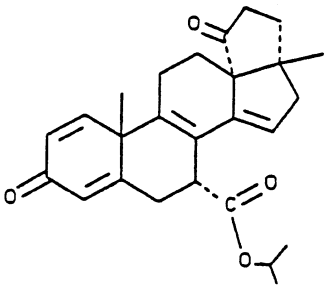
(C-22)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮基環戊[13R,17]
-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α
-羧酸甲酯



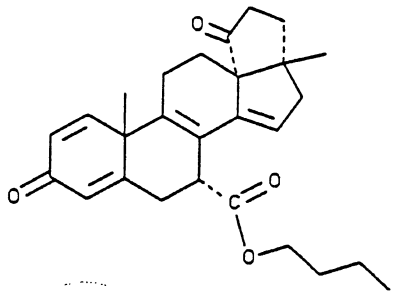
(C-23)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮基環戊[13R,17]
-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α
-羧酸丙酯



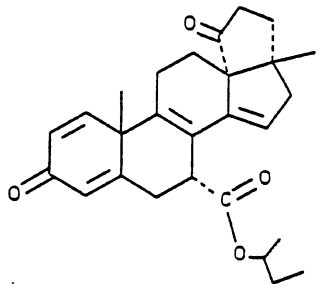
(C-24)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮基環戊[13R,17]
-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α
-羧酸乙酯



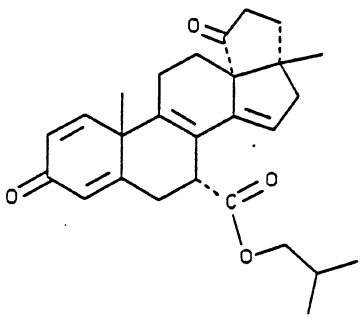
(C-25)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基
-3,5'-二酮環戊[13R,17]
-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α
-羧酸1-甲基乙基酯



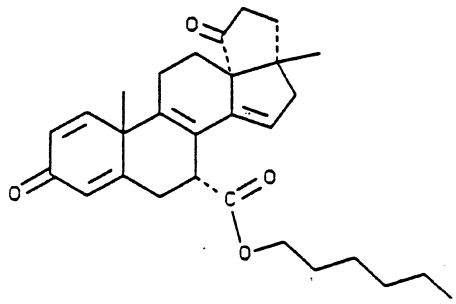
(C-26)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α-羧酸丁酯



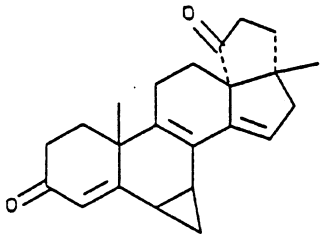
(C-27)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α-羧酸1-甲基丙酯



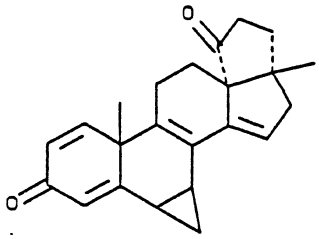
(C-28)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α-羧酸2-甲基丙基酯



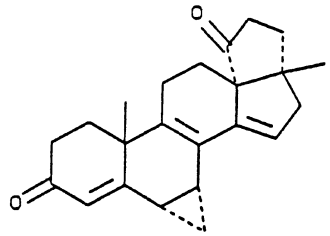
(C-29)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮基環戊[13R,17]-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α-羧酸己酯



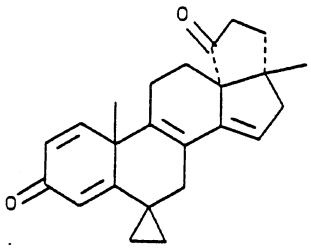
(C-30)
1,2,4bR(4 bR*),5,5aS*,7,7aR*,8,9,11,12bS*-十二氫-7a,12b-二甲基-10aR*-環丙醛[1]茂苓並[1,6a-a]菲-3,10-二酮



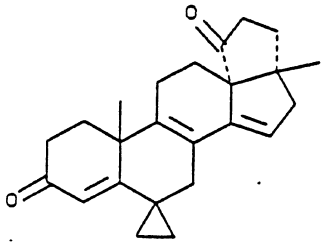
(C-31)
4bR(4 bR*),5,5aS*,7,7aR*,8,9,11,12,12bS*-十氫-7A,12b-二甲基-10R*-環丙醛(1)茂苓並[1,6a-a]菲-3,10-二酮



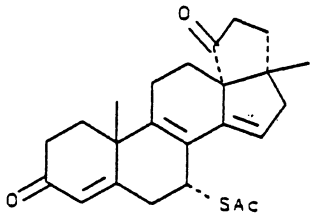
(C-32)
1,2,4bS(4 bR*),5,5aS*,
8,9,11, 12,12bR*-十二氫-
7a,12b-二甲基-10aS*-
環丙醛[1]茂苓並
[1,6a-a]菲-3,10-二酮



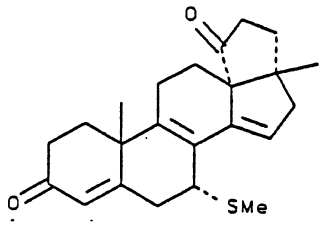
(C-33)
2',3',3'α,4',6',11'aα,12',13'
-八氫-3'9aR,3'a,11'a-二甲基
-13'aR*-螺[環丙烷-1,7'
(9'H)-[1H]茂苓並[1,6a-a]
菲]-1',9'-二酮



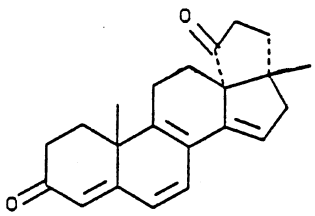
(C-34)
2',3',3'aα,4',6',10,11',11'aα,
12',13-十氫-3'aR,3'a,11'a-
二甲基-13'aR*-螺[環丙烷-1,7'
(9'H)-[1H]茂苓並[1,6a-a]
菲]-1',9'-二酮



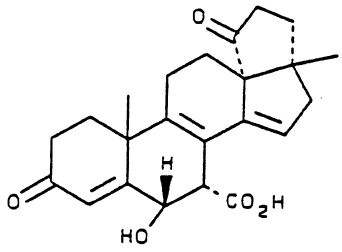
(C-35)
7α-(乙醯基硫)-3',4'-二氫
-17-甲基-環戊[13,17]-18-
原雄-4,8,14-三烯-3,5'
(2'H)-二酮



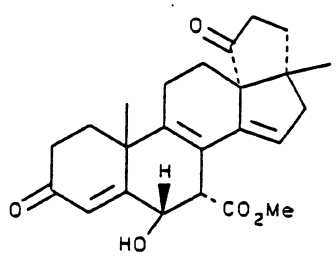
(C-36)
3',4',-二氫-17-甲基-7α-(甲
硫基)-環戊[13,17]-18-
原雄-4,8,14-三烯-3,5'
(2'H)-二酮



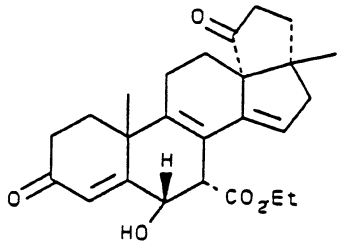
(C-37)
3',4',5,5',6,17-六氫-17β-
甲基環戊[13R,17]-18-
原雄-4,8,14-三烯-3,5'
(2'H)-二酮



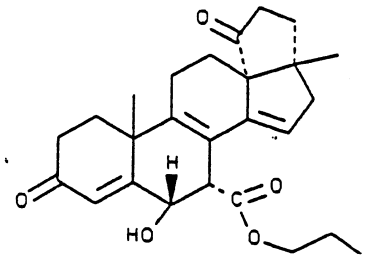
(C-38)
3',4',5',17-四氫-6α-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸



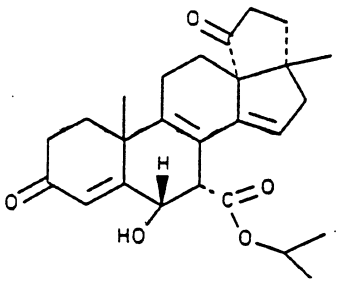
(C-39)
3',4',5',17-四氫-6α-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸甲酯



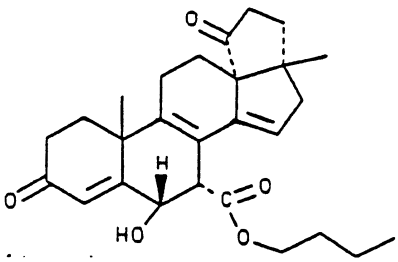
(C-40)
3',4',5',17-四氫-6α-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸乙酯



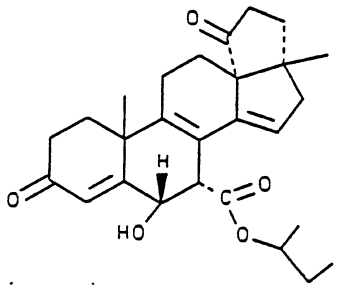
(C-41)
3',4',5',17-四氫-6α-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸丙酯



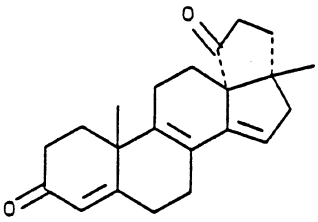
(C-42)
3',4',5',17-四氫-6α-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸1-甲基乙基酯



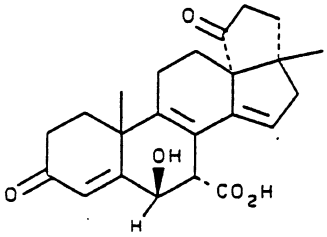
(C-43)
3',4',5',17-四氫-6α-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮基環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸丁酯



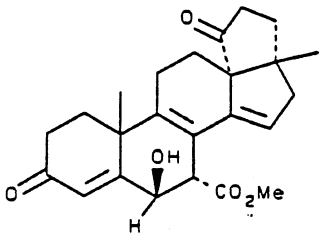
(C-44)
3',4',5',17-四氫-6α-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸1-甲基丙酯



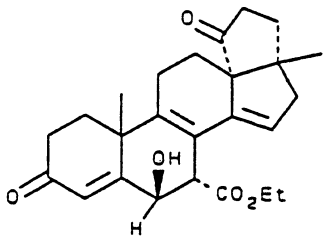
(C-45)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-3,5'(2'H)-二酮



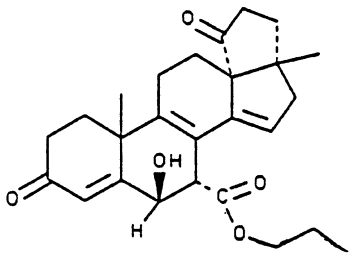
(C-46)
3',4',5',17-四氫-6β-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸



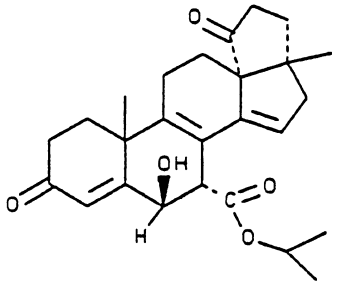
(C-47)
3',4',5',17-四氫-6β-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸甲酯



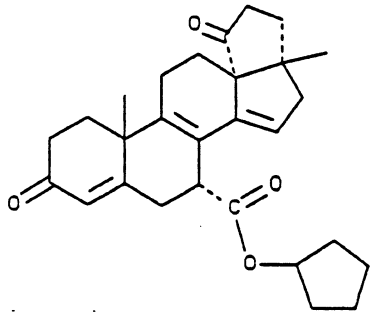
(C-48)
3',4',5',17-四氫-6β-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸乙酯



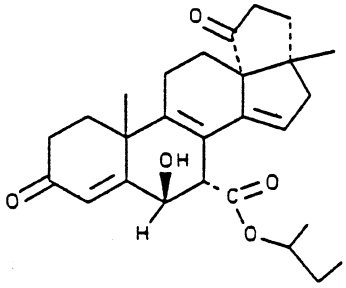
(C-49)
3',4',5',17-四氫-6β-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸丙酯



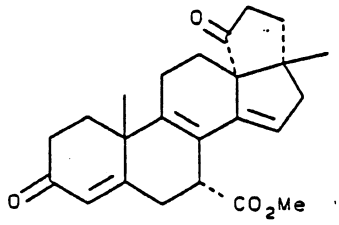
(C-50)
3',4',5',17-四氫-6β-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸1-甲基乙基酯



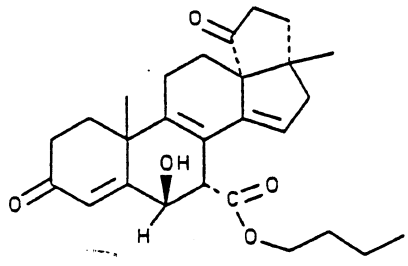
(C-51)
3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸環戊酯



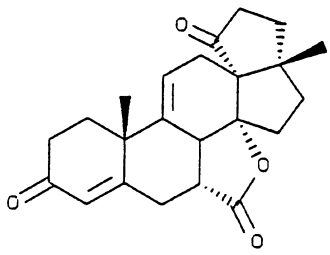
(C-52)
3',4',5',17-四氫-6β-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸1-甲基丙酯



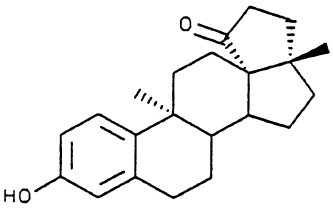
(C-1)
2,2,3a,4,6,7,9,10,11,11a,12,13-十二氫-3αβ,11αβ-二甲基-1,9-二酮-(1H)-茂苓並[1,6a-a]菲-6α-羧酸甲酯



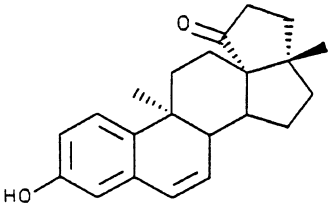
(C-53)
3',4',5',17-四氫-6β-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸丁酯



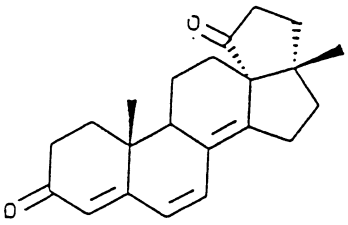
(C-201)
(7α,13R,17β)-3',4',5',17-四氫-14-羥基-17-甲基-3,5'-二酮基-γ-內酯，環戊[13,17]-18-原雄-4,9 (11)-二烯-7-羧酸



(C-202)
(13S,17β)-3',4'-二氫-3-羥基-9,17-二甲基環戊[13,17]性腺-1,3,5 (10)-三烯-5'-[2'H]-酮

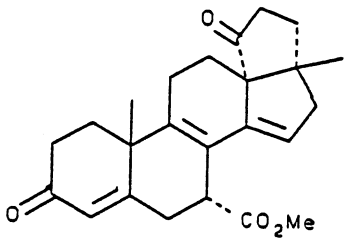


(C-203)
(13S,17β)-3',4'-二氫-3-羥基-9,17-二甲基環戊[13,17]性腺-1,3,5 (10),6-四烯-5'-[2'H]-酮



(C-204)
(13S,17β)-3',4'-二氫-17-甲基-環戊[13,17]-18-原雄-4,6,8 (14)-三烯-3,5'-[2'H]-二酮

在最佳之具體實例中，化合物為2,2,3a,4,6,7,9,10, 11,11a, 12,13-十二氫-3αβ,11αβ-二甲基-1,9-二酮-1H-茂?並[1,6a-a]菲-6α-羧酸甲酯：



(C-1)

此式C-1化合物為製備環氧美克瑞酮中特別欲求之層析標幟。

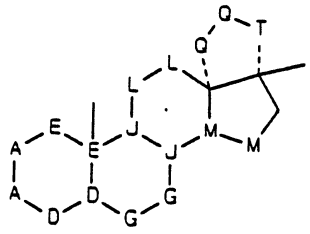
此中所討論之新穎化合物也可呈其鹽型式。

新穎化合物之製備

一般而言，上述之新穎化合物可由具有一個20-螺哼烷環及上述之類固醇核之類固醇與三鹵化的烷酸反應而得。有益地，反應中之試劑可進一步包括有所利用烷酸之鹼金屬鹽。特佳者為反應之試劑包括有三氟醋酸及該酸之鹼金屬鹽，如三氟醋酸鉀。此外，在反應中較好應用乾燥劑，

如三氟醋酐以減少存在於酸中之自由態水份。

充作起始物之類固醇化合物較好有具有以下之結構式：



(C-3)；

其中-A-A，-D-D，-E-E-，-A-E-，-G-G-，-J-J-，-L-L-，-J-L-，-M-M-，-J-M-，-Q-Q-，及-Q-T-如上文般定義。此種起始物可以類似先前所述之環氧美克瑞酮合成過程流程1之方法製備及/或分離。另外，起始物是買得到的。

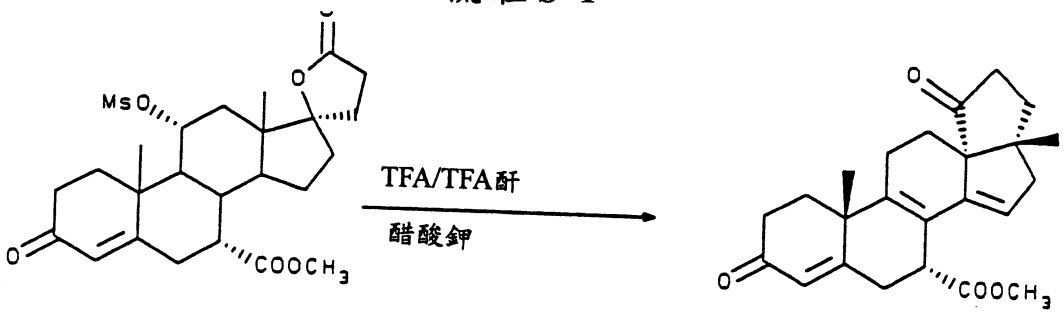
式C-3類固醇化合物最初濃度較好為總反應混合物之至少約0.1%按重計，較好約2%-約20%按重計，且更好是約5%至約15%按重計。較好存在有過量的三鹵烷酸。當使用三氟乙酸時，其存在之比例為至少總反應混合物之約3%按重計，較好約5%-約25%按重計，又更好是約105%至約15%按重計。

此外，反應溫度應超過室溫(22℃)。較好，反應溫度在約40℃及100℃間，較好約50℃及80℃間，又再好是約60℃及70℃間，且最好約60℃及65℃間。將反應溫度增加至70℃以上可增加反應中所產生之副產物C14內酯之量。反應時間應至少約30分鐘，較好約30分鐘及約6小時間，又再好是約45分鐘及約4小時間，且更好是約1小時至約2小時間。於較佳具體實例中，反應時間介於約1小時至2小時間，且反應溫度維持在約60℃下。

(S)

流程S-1說明此過程之特佳具體實例：

流程S-1



在整個類固醇不同位置上有不同取代基之稠合環之類固醇，可依下文反應流程所示的製備。精藝者應了解將各種取代基引入類固醇不同位置的一些此中未特別揭示之額外過程及方法。起始物可以是稠合環類固醇或20-螺哼烷環類固醇。當起始物是稠合環類固醇，為簡化說明，以下反應流程應用類固醇特異之基團及特異類固醇為說明用之起始物。然而應了解，應用不同的稠合環類固醇為起始物於相同反應系列中，可生成其他的稠合環類固醇衍生物或同系物。類似地，當起始物是20-螺哼烷類固醇，為簡化說明，可以某些特異的20-螺哼烷環類固醇為起始物。然而應了解，利用不同的20-螺哼烷環類固醇為起始物，可在相同反應系列中產生其他的20-螺哼烷環類固醇衍生物或同系物。

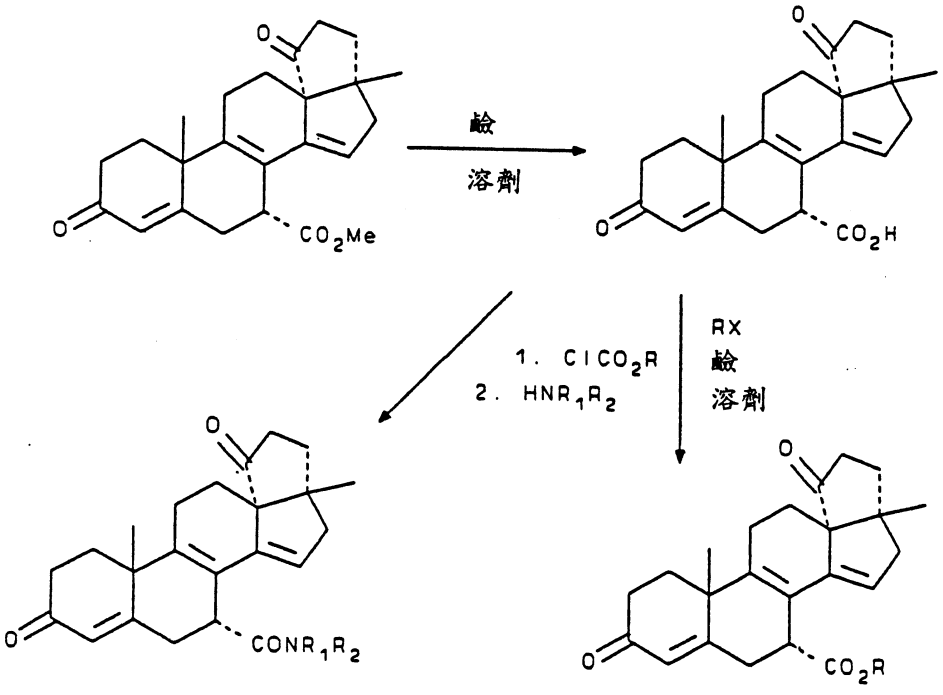
具有C7羧酸取代基之類固醇，可由具有C7烷氧羰基取代基之類固醇行皂化而製備，如式C-1化合物。皂化作用反應之進行，係以鹼性試劑(如氫氧化鈉或鉀)在適合的溶劑中，如甲醇，乙醇，異丙醇等處理起始之類固醇而成，

溫度可高達溶劑之沸點，並可有或無水之存在。如流程S-2中所述，式C-1化合物之皂化可生成式C-101之羧酸。

具有C7羧酸酯取代基(甲酸酯以外)之類固醇，可利用羧酸，如C-101，為起始物而製備。此羧酸以烷化劑處理，如烷基鹵於鹼存在下(如碳酸氫鈉，碳酸鈉，碳酸氫鉀，或三乙胺)於溶劑如二甲替甲醯胺中，可生成欲求之酯。適合的烷化劑實例包括乙基碘，乙基溴，異丙基碘，己基碘，苄基溴，烯丙基碘等。

羧酸C-101也是合成胺甲醯類適合的起始物。以氯甲酸酯如氯甲酸異丁酯或氯甲酸乙酯處理酸，於鹼存在下，可生成混合酐。混合酐以胺處理(如二甲胺，甲胺或苄胺)可生成胺甲醯，其中R_1及R_2為各種胺上之取代基。

流程S-2



利用不飽和酮，如式C-105化合物(示於流程S-3)為起始

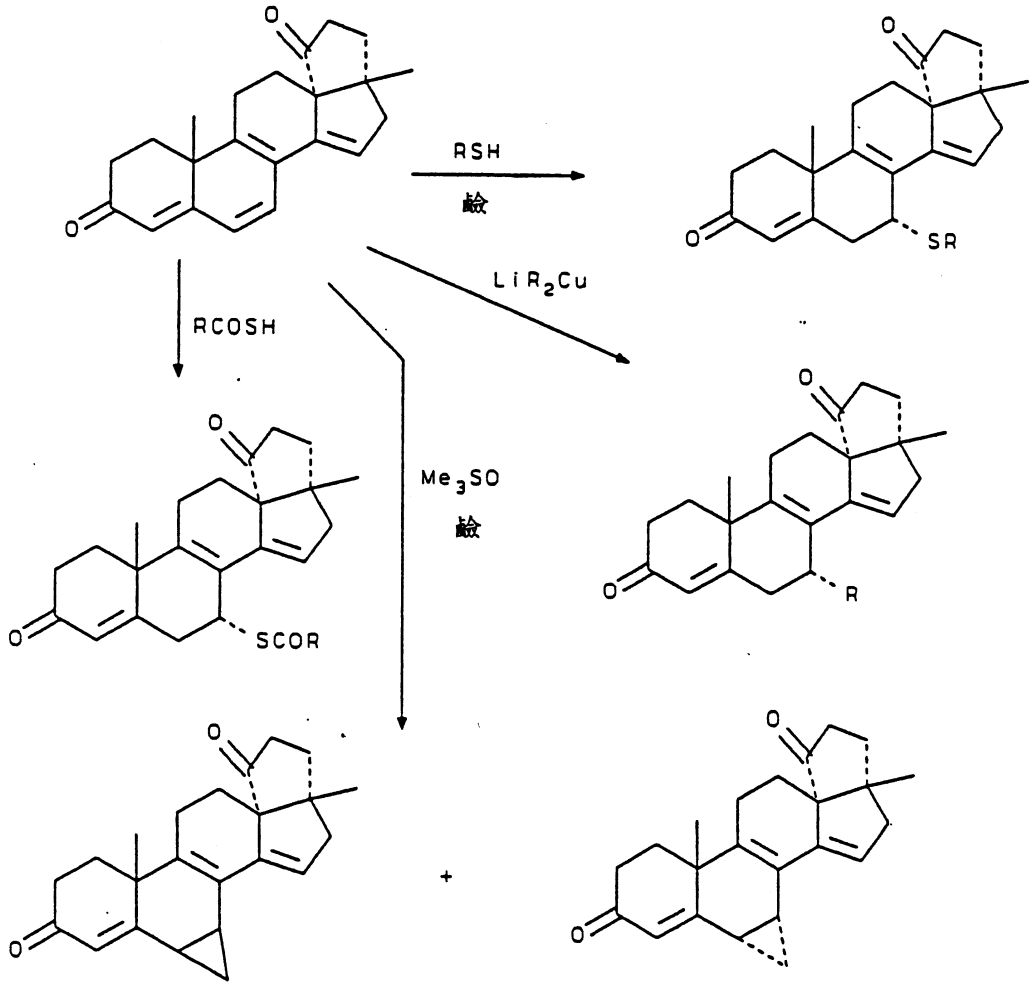
物，可在C7位置上做許多變化。在鹼性條件下加入適合的硫醇可合成硫化物。適合硫醇之實例有甲基硫醇，乙基硫醇及其他。適合的鹼包括六氫吡啶，三乙胺等。

以硫烷酸如硫乙酸處理不飽和酮(如式C-105化合物)，可生成C7硫醯基化合物，如乙醯基硫基。

稠合的C6，C7環丙基取代基可由不飽和酮(式C-105化合物為例)以二甲亞鋶化甲處理而加入，後者之生成係以適合的鹼(如氫化鈉)處理三甲基亞鋶鹵化物處理而產生，並於適合的溶劑中進行。

這些各種的合成流程於下流程S-3中說明：

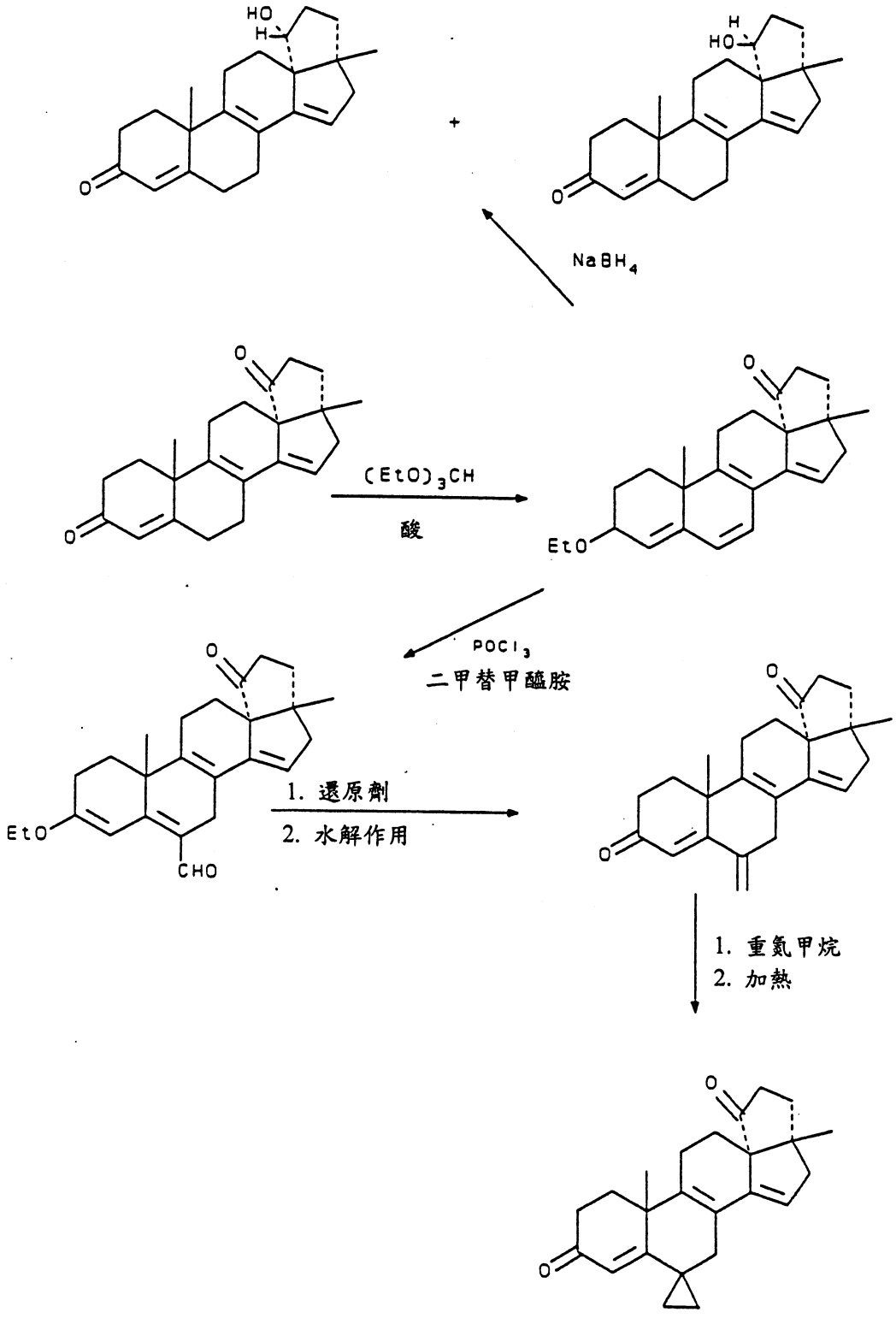
流程S-3



具有C6螺環丙基環的類固醇依下流程S-4所述步驟合成。烯酮如式C-110化合物先保護成C3烯醇醚，係在酸存在下(如對位-甲苯磺酸)以原酸酯處理而成，如原甲酸三乙酯或三甲酯。生成之烯醇醚以Vilsmeier試劑處理，後者是在原位將磷醯氯加成至二甲替甲醯胺上而產生，以生成甲醯基化合物，如式C-112化合物。甲醯基利用氫化物還原劑可達成還原作用，如三-第三-丁氧基鋁氫化鋰，於如四氫呋喃之溶劑中。此可產生一個中間物醇，其一旦以酸處理可除去水份，生成6-亞甲基化合物，如式C-113化合物。適合的酸包括於水性介質中之氫氯酸。以重氮甲烷處理6-亞甲基化合物可生成中間物吡唑啉，其一旦加熱會分解，生成產物螺環丙基化合物，如式C-114化合物。經保護之烯醇醚(如式C-111化合物)為多變的中間物，且以氫化物還原劑處理(如氫硼化鈉)，再行酸水解，可生成羥基化合物，如式C-115及C-116化合物。

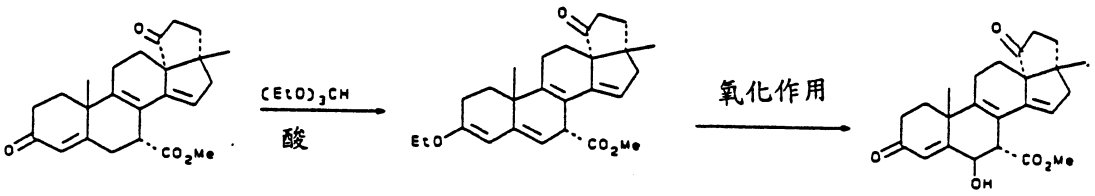
這些各種合成步驟於下流程S-4中說明：

流程 S-4


HO
H
O
+
H
HO
O
NaBH4
O
O
(EtO)3CH
酸
EtO
O
POCl3
二甲替甲醯胺
O
EtO
CHO
1. 還原劑
2. 水解作用
O
O
1. 重氮甲烷
2. 加熱
O
O

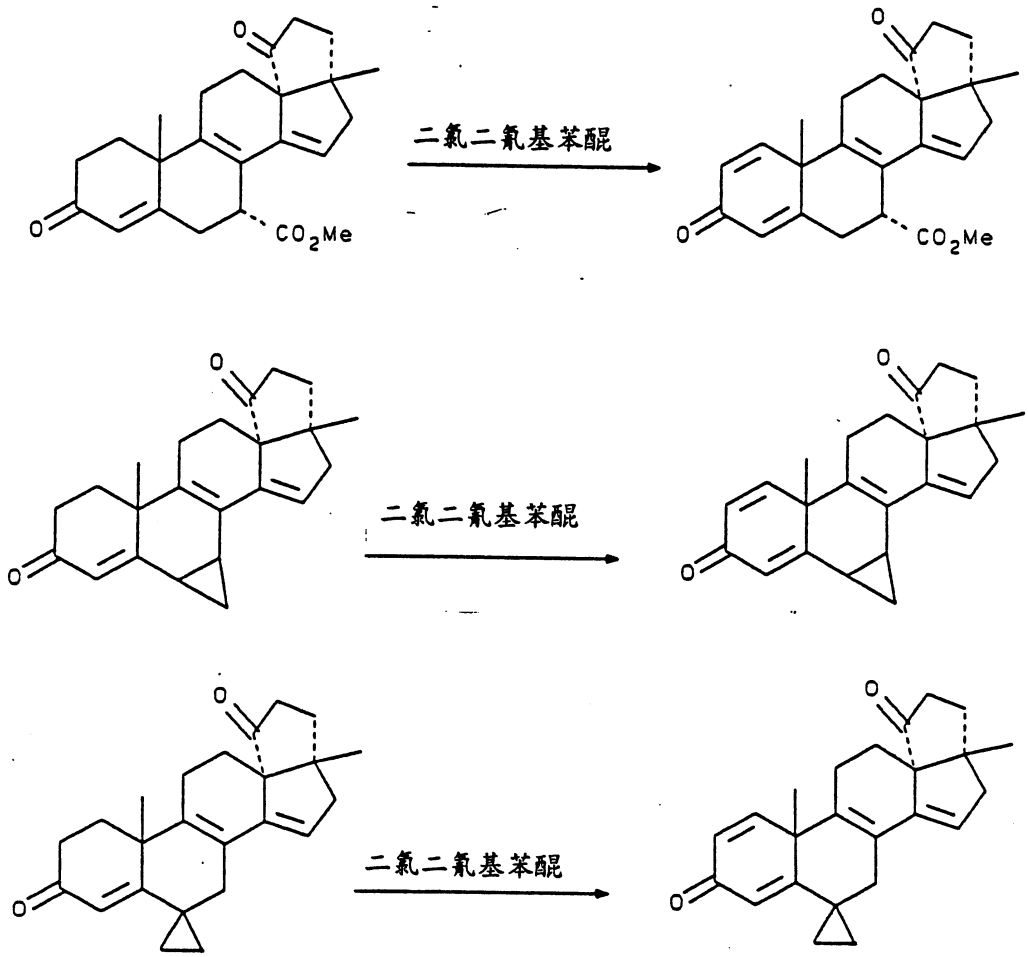
具有C6羥基取代基及C7酯取代基之類固醇，可依下文流程S-5所述之步驟合成。在C3羰基上保護酯(如式C-1化合物)，係利用原酸酯如原甲酸三乙酯或三甲酯，於酸存在下形成3,5-二烯醇醚(如式C-117化合物)。適合的酸是對位-甲苯磺酸。烯醇醚以氧化劑處理，如偏氯過氧苯甲酸，可造成羥基化合物之形成，如式C-118化合物。

流程S-5



流程S-6說明類固醇C1-C2位置上雙鍵之引入。為進行此係以適合的氧化劑，如二氯二氰基苯醌，於適合的溶劑中(如二噁烷)處理欲求之類固醇(如式C-1，C-108及C-114化合物)，溫度可高達沸點。可依此步驟製備C1-C2不飽和化合物，如式C-127，C-128及C-129化合物。

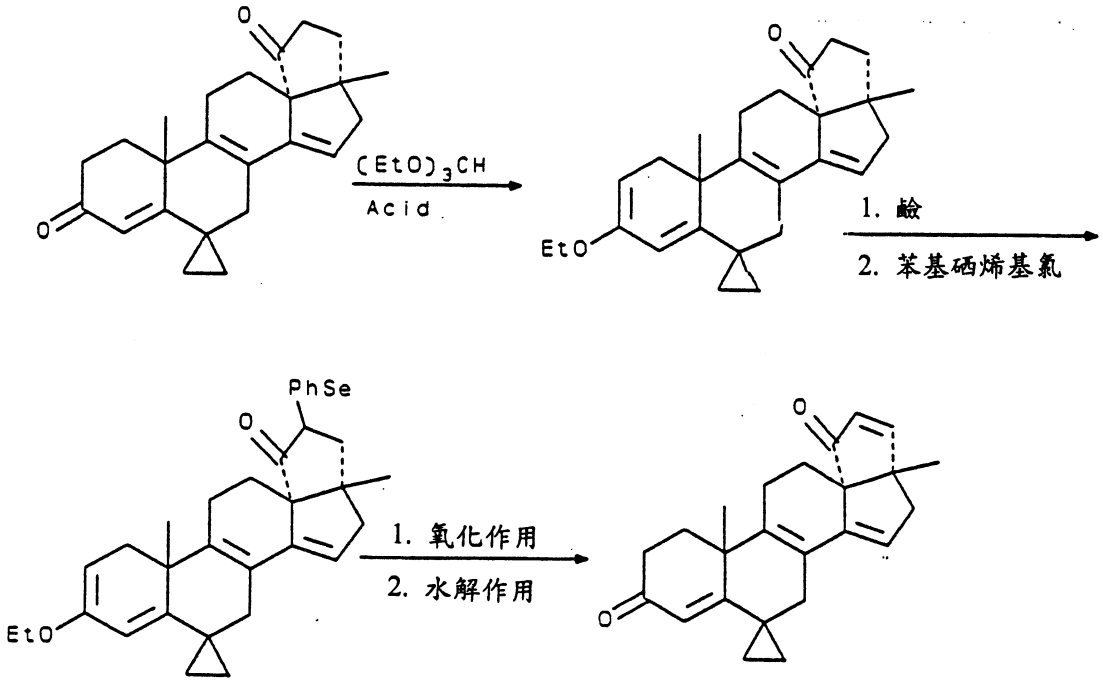
流程S-6



流程S-7說明將雙鍵引入稠合環中。類固醇(如式C-114化合物)以原酸酯處理(如原甲酸三乙酯或三甲酯)於酸催化劑存在下(對位-甲苯磺酸)生成其中C3羰基受保護之烯醇醚。在式C-114例子中，因為C6位置完全被取代，所形成之烯醇醚是C2-C3烯醇醚(如式C-131化合物)。以強鹼處理烯醇醚，如二異丙基醯胺鋰，在低溫如-78℃至-30℃下，以硒化劑處理，如苯基硒烯基氯，可生成硒基衍生物如式C-132化合物。硒衍生物以氧化劑氧化，如過氧化氫，在

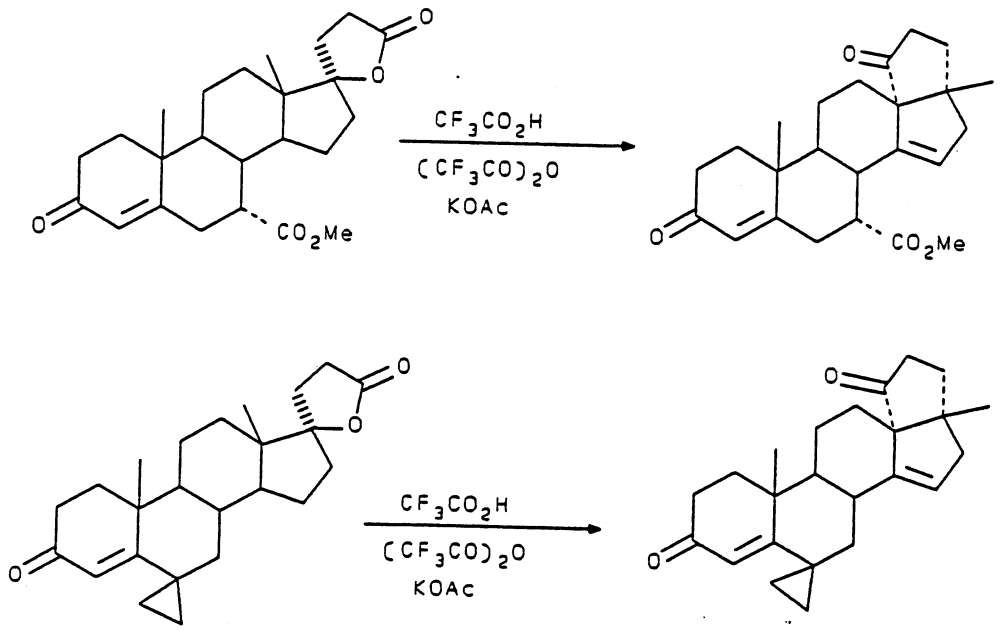
如室溫，鹼存在下(如吡啶)於溶劑中(如二氯甲烷)可造成硒基之消去及引入雙鍵。烯醇醚之水解作用可生成酮，如式C-134化合物。

流程S-7



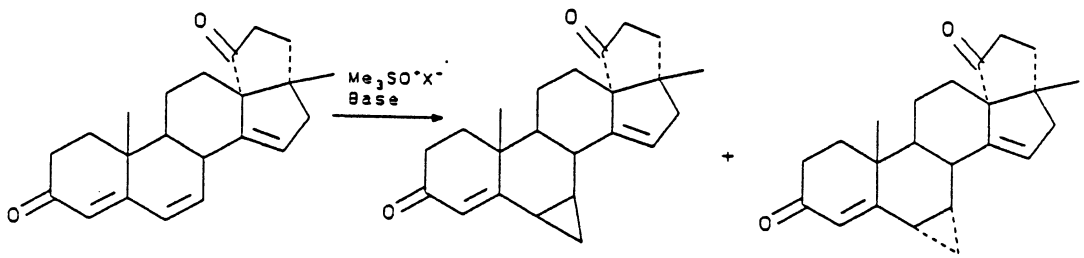
流程S-8說明合成式C-1化合物之雙鍵異構物。各種螺哼烷化合物，如流程S-8中所示者，以醋酸鉀，三氟醋酐及三氟醋酸處理，在類似式C-1化合物合成之條件下，可生成式C-121及C-123化合物。

流程S-8



流程S-9說明合成此類固醇族中雙鍵異構物之另外方法。始自預形成之烯酮(如式C-24化合物，其合成上述)且已攜有稠合環，利用上述流程3合成如式C-108及C-109化合物之化學，可引入C6-C7稠合的環丙烷。

流程S-9

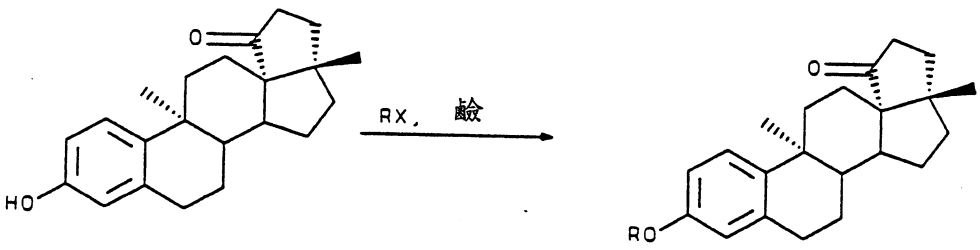


其中X是鹵。

具有芳族A環之稠合環類固醇，可由三氟醋酸，醋酸鉀及三氟醋酐處理如P. Compain, et al., Tetrahedron, 52 (31), 10405-10416 (1996)(其已列為本案參考)所述之類固醇而製備，依依流程S-1上述之實質相同方式進行。

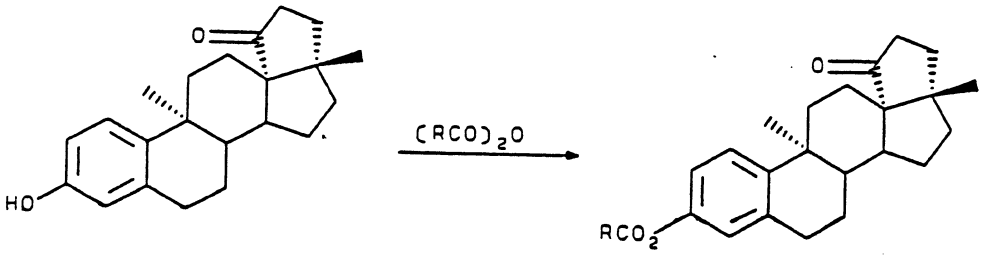
這些新穎的稠合環類固醇具有一個芳族A環，及一個3-羥基取代基，預期可進行酚類所有典型的化學反應。流程S-10說明自此稠合環類固醇中合成3-酚醚。特言之，以鹼以及烷基鹵或磺酸烷酯處理這些酚式化合物，預期可產生相當的酚酯。如見，Feuer and Hooz, **In The Chemistry of the Ether Linkage**, Patai (Ed.), Interscience: New York, pp. 446-450, 460-468 (1967); 及Olson, W.T., **J. Am. chem. Soc.**, 69, 2451 (1947); 其已列為本案參考。

流程S-10



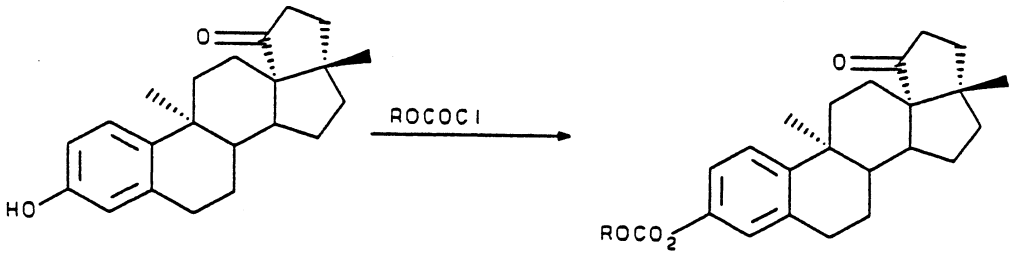
類似地，流程S-11說明自具有芳族A環及3-羥基取代基之稠合環類固醇合成3-酚酯。特言之，以羧酸酐或以羧酸鹵處理這些酚式化合物，預期可生成相當的酚酯。如見，March, J., **Advanced Organic Chemistry**, Wiley: New York, pp. 346-347 (1985)，其已列為本案參考。

流程S-11



流程S-12說明自具有芳族A環及3-羥基取代基之稠合環類固醇，合成3-酚式碳酸酯。特言之，以鹵甲酸烷酯處理這些酚式化合物，預期可生成相當的酚式碳酸酯。如見，March, J., **Advanced Organic Chemistry**, Wiley: New York, pp. 346-347 (1985)，其已列為本案參考。

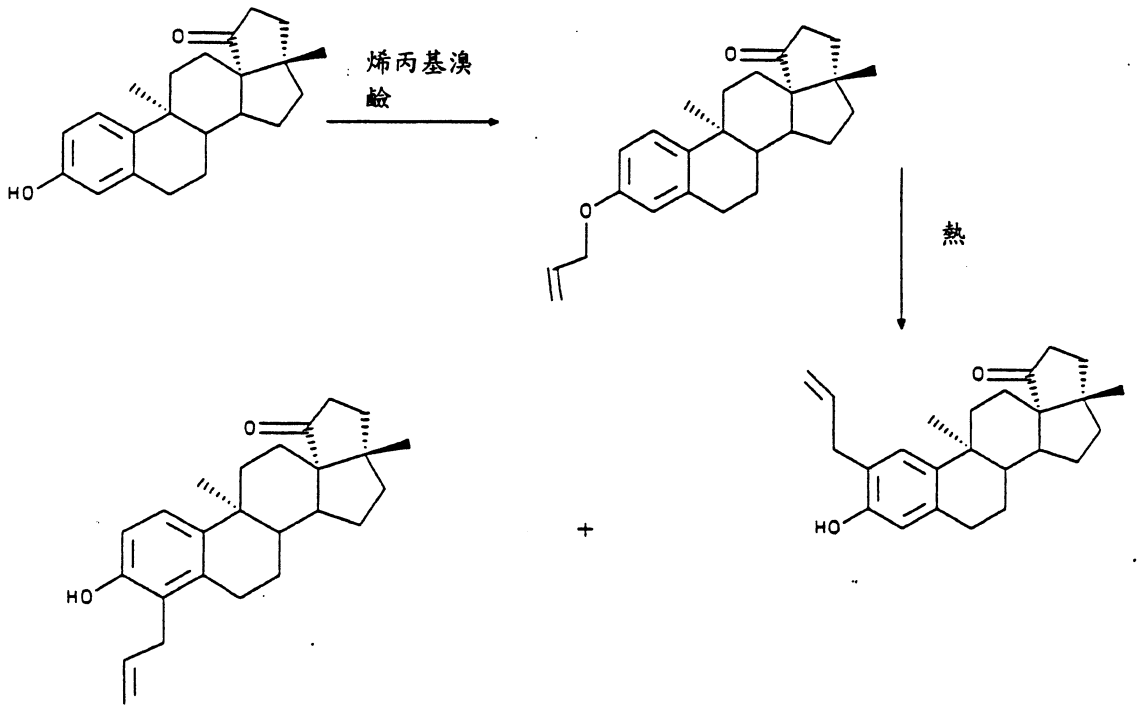
流程S-12



流程S-13說明自具有芳族A環及3-羥基取代基之稠合環類固醇合成鄰位烯丙基取代之苯基衍生物。特言之，這些化合物以鹼及烯丙基鹵處理，預期可生成相當的烯丙基苯基醚。烯丙基苯基醚應在熱重排下生成鄰位烯丙基取代之衍生物混合物。如見，Shine, H., **J. Aromatic Rearrangements; Reaction Mechanisms in Organic Chemistry,**

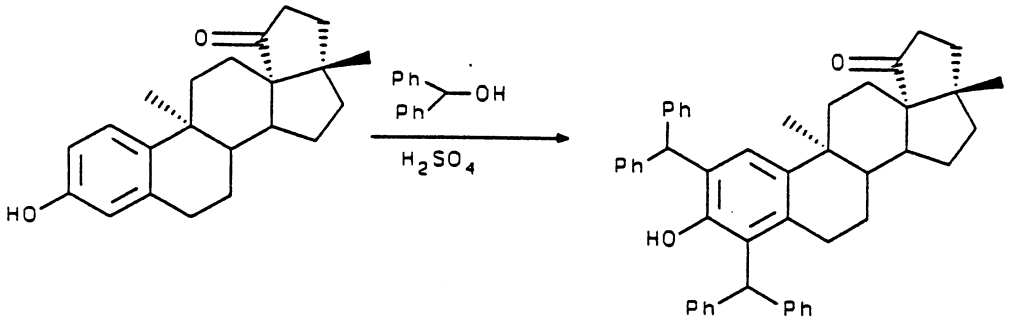
Monograph 6, American Elsevier: New Yor, pp. 89-120 (1967)，其已列為本案參考。

流程S-13



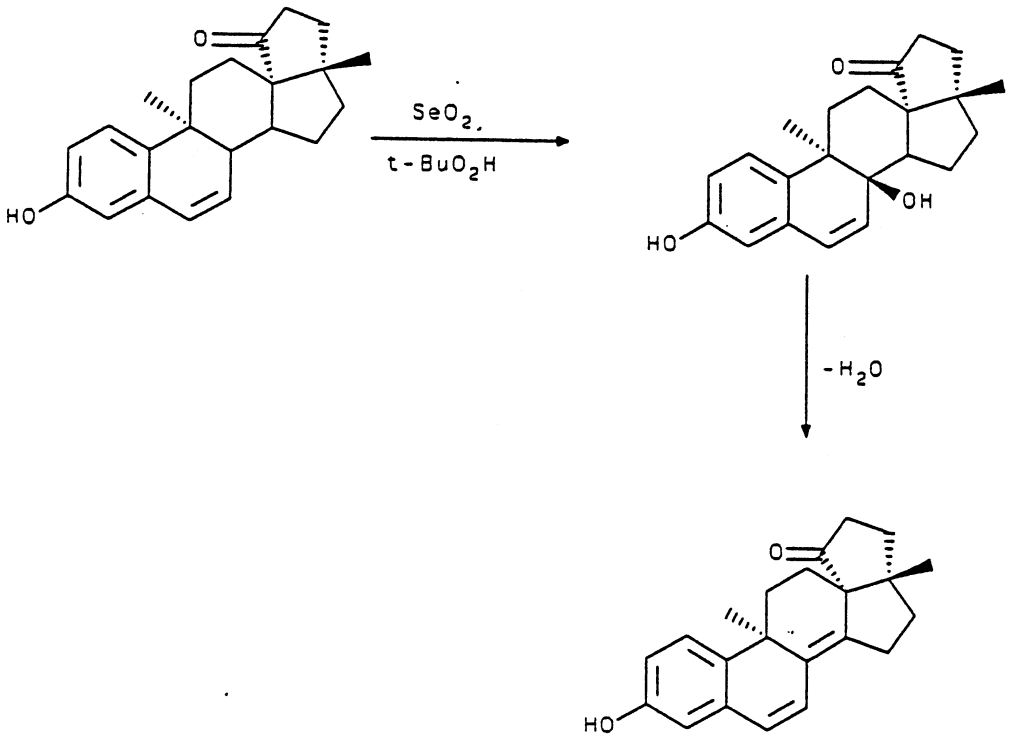
流程S-14說明由具有芳族A環及3-羥基取代基之稠合環類固醇，合成鄰位二烷化經取代之苯基衍生物。特言之，以醇及酸處理這些化合物預期可提供相當的鄰位二烷化之苯基衍生物。如見，Calcott, W.S., **J. Am. Chem. Soc.**, 61, 1010 (1939)，其已列為此中參考。

流程S-14



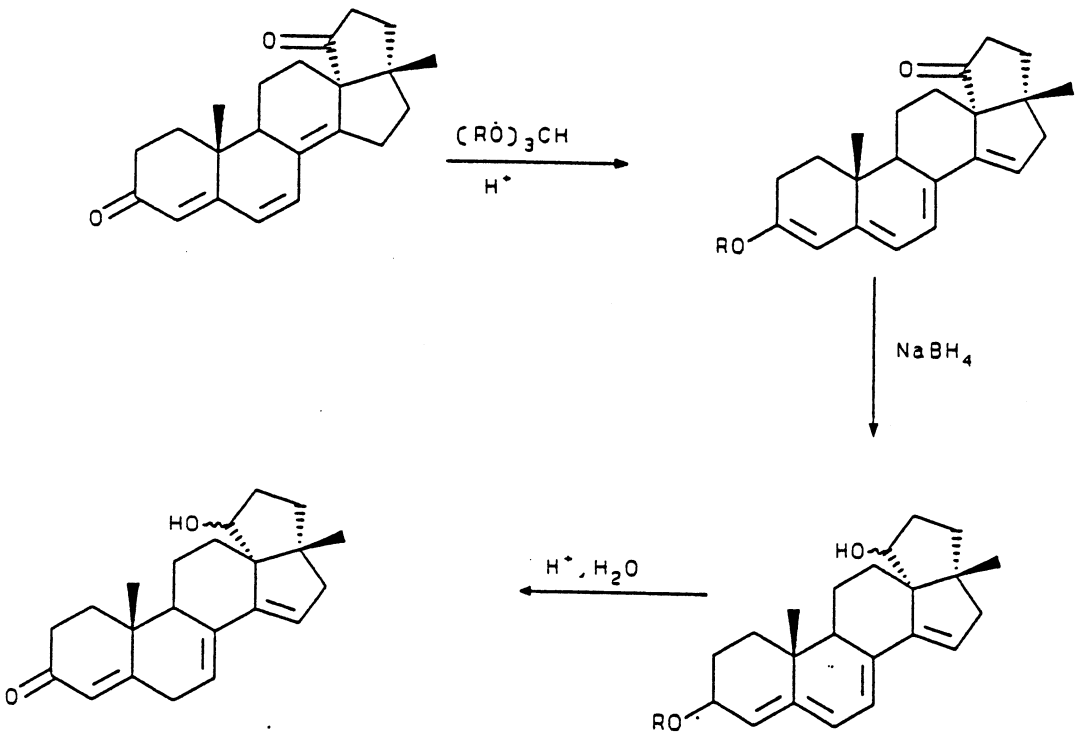
流程S-15說明具有芳族A環及3-羥基取代基之稠合環類固醇之烯丙基氧化作用。特言之，這些化合物可在烯丙基位置上氧化，係與二氧化硒及氫過氧化第三-丁基反應，形成相當的醇。此醇之去氫化作用可生成相當的鏈烯。如見，Schmuff, N.R., **J. Org. Chem.**, 48, 1404 (1983)，其已列為本案參考。

流程S-15



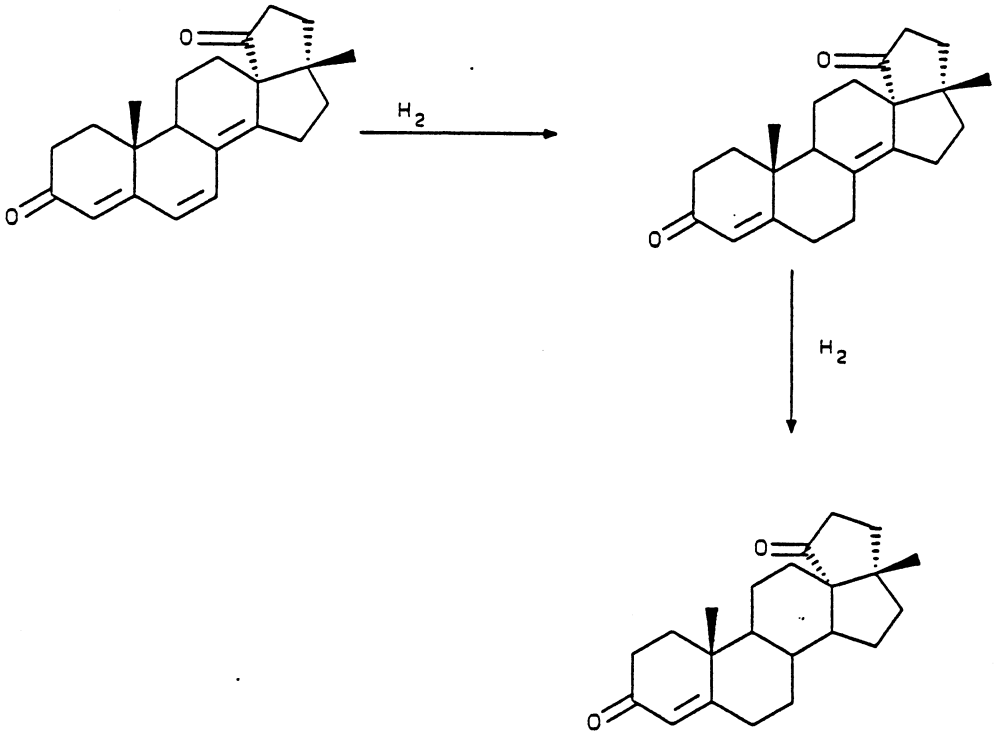
流程S-16說明本發明新穎的稠合環類固醇3-羰基之保護作用及20-羰基之還原作用。特言之，這些化合物與三烷基原甲酸酯及酸反應以形成3-烯醇醚。3-烯醇醚可與氫硼化鈉反應，將C-20羰基還原成相當的C-20醇。C-20醇以酸及水處理，可使3-烯醇醚去保護形成3-酮基衍生物。

流程S-16



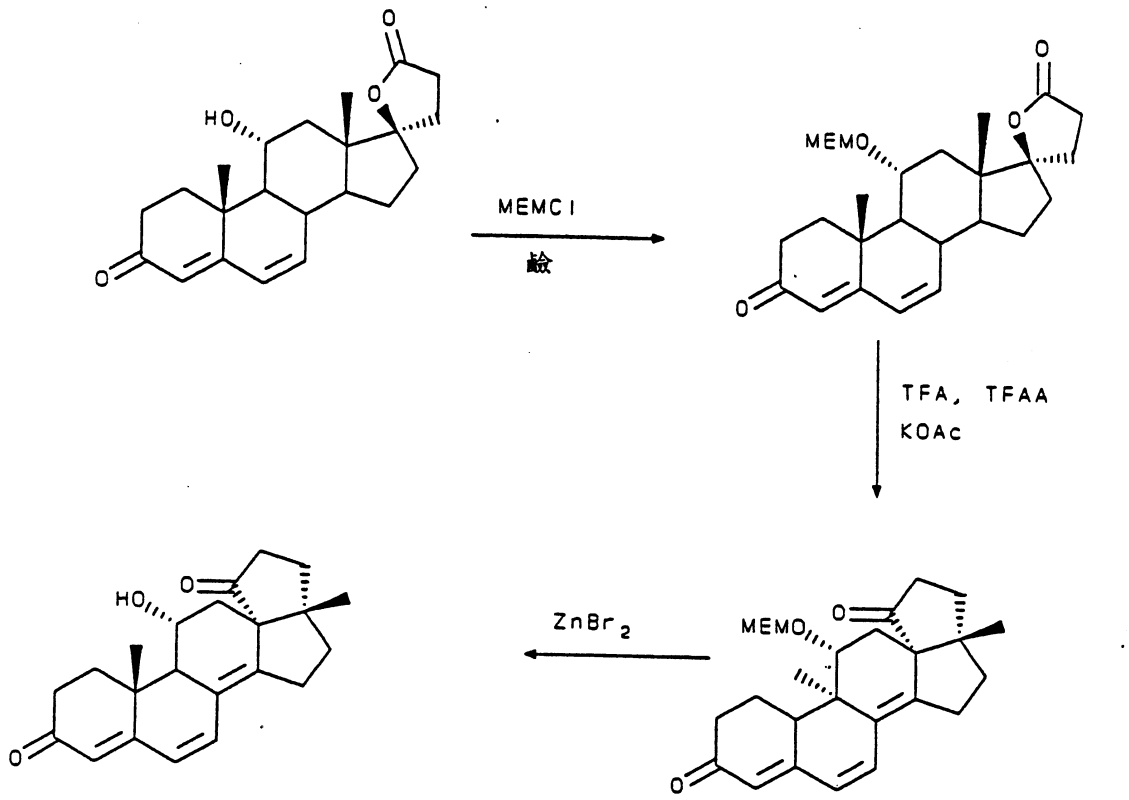
流程S-17說明本發明新穎稠合環類固醇中鏈烯鍵之氫化作用。特言之，氫化作用預期可逐步進行。C-6，C-7雙鍵先飽和，再飽和C8，C-14雙鍵。

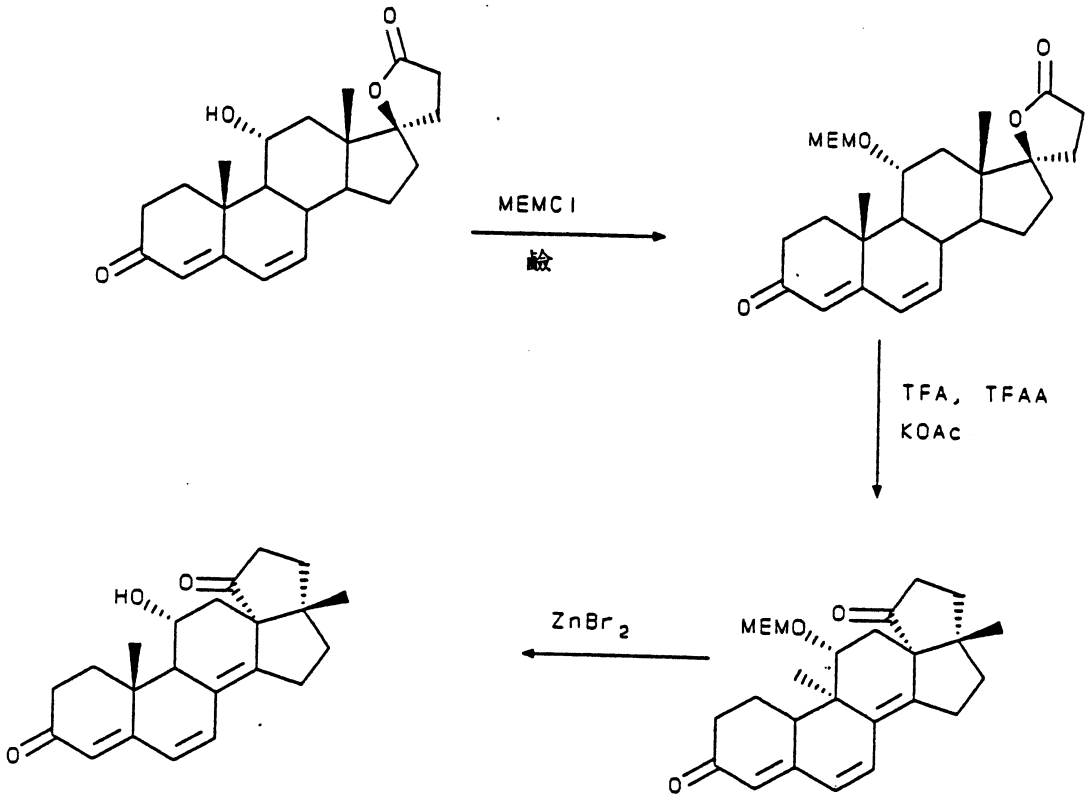
流程S-17



流程S-18說明本發明經保護的11α-羥基稠合環類固醇之重排。特言之，化合物之11α-羥基先以適合的保護基保護，如2-甲氧乙氧甲基醚(MEM醚)。於酸酐存在下，以鹼金屬鹽及三鹵烷酸處理經保護的11α-羥基類固醇，預期可造成這些分子中內酯部份之重排，如下所述。以溴化鋅移去MEM醚可提出下示重排的醇。

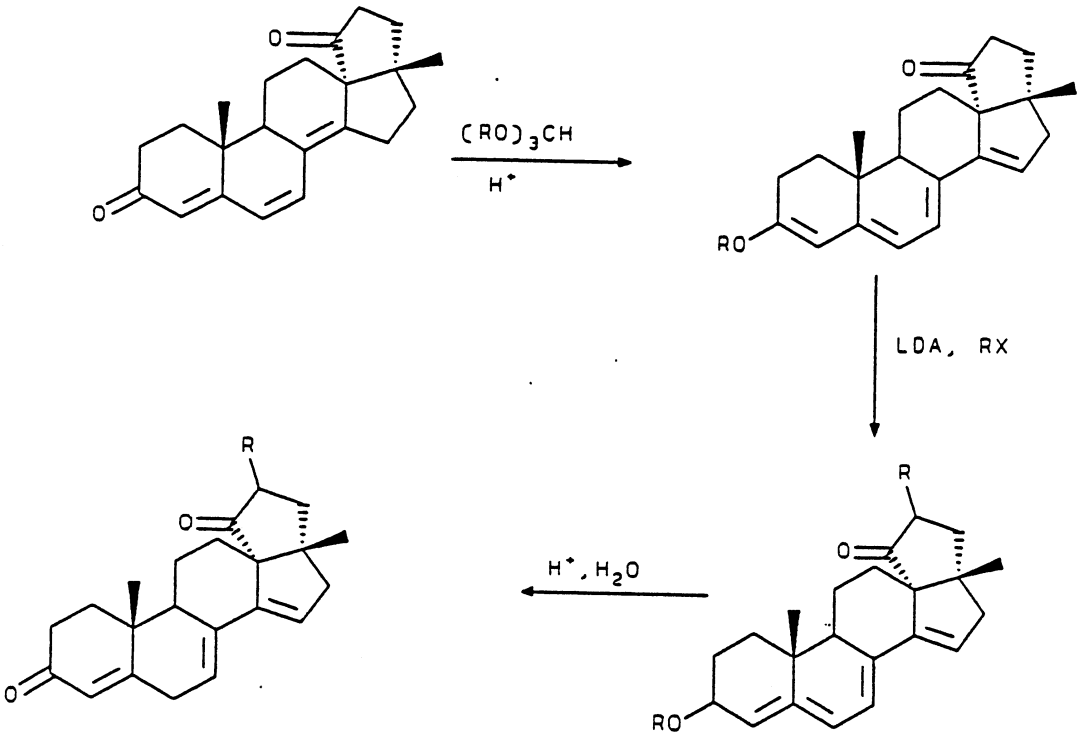
流程 S-18





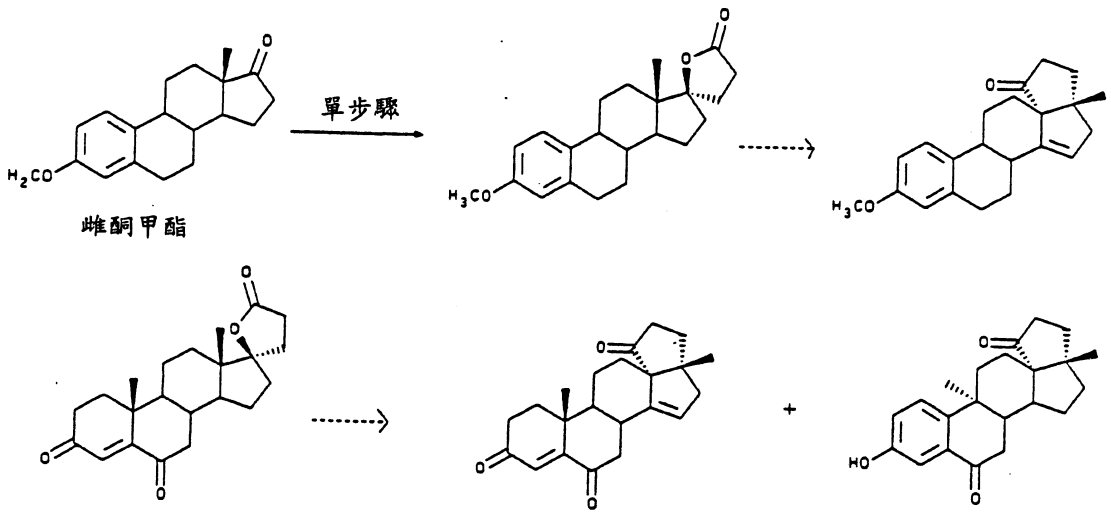
流程S-19說明本發明新穎的稠合環類固醇之3-羰基保護作用及19-位置之烷化作用。特言之，化合物先轉化成3-烷基烯醇醚，如流程S-16所述。以二異丙基醯胺鋰(LDA)處理3-烷基烯醇醚，再以烷基鹵處理，可形成19-烷基衍生物。3-烷基烯醇醚保護基之水解可生成3-酮基衍生物。

流程S-19



流程S-20說明雌酮甲基醚至相當的螺內酯之轉化作用。內酯重排成相當的稠合環類固醇，應於內酯以三鹵化烷酸處理時發生，較好在所利用的烷酸之鹼金屬鹽存在下，於先前討論之反應條件下。如見Otsubo, K., **Tetrahedron Letters,** 27 (47), 5763 (1986)。

流程S-20



新穎化合物此中所述另外可接受先前所述之生物轉化過程，以生成又一另外新穎的稠合環類固醇，如具有9α,9β，11α或11β-羥基取代基之類固醇，以及其他羥化稠合環類固醇。若欲求時，此羥化之類固醇可經羥基取代基之消去作用被氧化，而引入鏈烯雙鍵，如$\triangle^{9,11}$鍵烯雙鍵。

基於上，可看出本發明許多目的可達成且也可得到其他有益之結果。

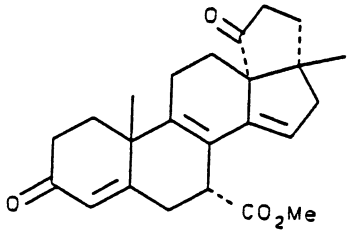
只要不偏離本發明範圍，在上述組成及方法中可有許多的變化。意欲含於上述說明的所有事物應僅供說明且不欲予以限制。

以下非限制性實例用以說明本發明各方面：

實例X-1A

製備2,3,3a,4,6,7,9,10,11,11a,12,13-十二氫-3aβ,11aβ-二

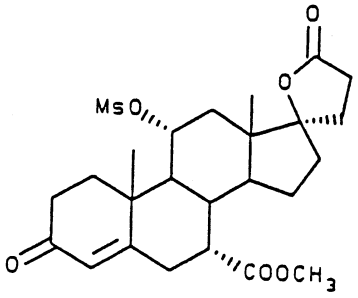
甲基-1,9-二酮基-1H-茂?並[1,6a-a]菲-6α-羧酸甲酯(化合物C-1)：



(C-1)

醋酸鉀(6.7克，7.1毫莫耳；Sigma-Aldrich 5128LG)加至清潔且乾燥之反應器內，其配備有機械攪拌器，冷凝管，熱偶極及加熱罩。在反應器內相繼加入三氟醋酸(25.0毫升，8.1毫莫耳；Sigma-Aldrich 7125MG)及三氟醋酐(4.5毫升，31.0毫莫耳；Sigma-Aldrich 11828PN)。溶液再維持於25℃-30℃下30分鐘。

將預形成之TFA/TFA酐試劑加至5.0克(9.6毫莫耳)17-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧-3-酮-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯：



其依實例36所述方式製備。生成之混合物在60℃下加熱60分鐘，轉化程度以TLC及/或HPLC定期檢查。當反應完全時(約60分鐘)混合物轉移至單頸燒瓶內，再於50℃減壓下濃縮直到成稠厚淤漿狀為止。

生成之淤漿以150毫升乙酸乙酯及80毫升水/鹽水混合物稀釋。再令分相，水層以80毫升乙酸乙酯再萃取。鹽濃度為12%按重計。混合的乙酸乙酯溶液以12%按重計之鹽水(80毫升)，1N NaOH溶液(80毫升)及最後12%按重計之鹽水(80毫升)各洗一次。混合物靜置使分相，分出之乙酸乙酯層在45℃之減壓下濃縮至乾，利用吸水器提供約3.8克粗製的固體產物。粗製產物之HPLC分析顯示，產物含有約40面積%之化合物C-1。

再將固體產物接受層析純化。層析純化可產生210毫克的2,3,3a,4,6,7,9,10,11,11a,12,13-十二氫-3aβ,11aβ-二甲基-1,9-二酮基-1H-茂?並[1,6a-a]菲-6α-羧酸甲酯(化合物C-1)。

質譜數據顯示有380之分子量及由高解析數據知有化式$C_{24}H_{28}O_4$。EI質譜有m/z 380下之M+峰。APCI質譜在m/z 381 $(MH)^+$及m/z 398 $(MNH_4)^+$處有峰。碳及氫分析與所推測之分子式一致。

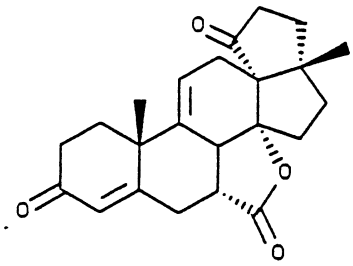
IR光譜在羰基吸收區：1722公分$^{-1}$及1677公分$^{-1}$處有二個峰。1722公分$^{-1}$峰屬於二個羰基，因為^{13}C NMR光譜在δ217.7處有訊號，此因不飽和酮之故，及在δ172.7，此因甲酯羰基之故。在IR光譜中無1773公分$^{-1}$峰顯示無內酯部份。

^{13}C APT及HETCOR NMR數據顯示存在有以下型式之碳：3個羰基(δ 217.7, 198.4, 172.2)；4個完全取代之鏈烯碳(δ 166.3, 141.8, 139.3, 121.8)；2個次甲鏈烯碳(δ 124.9,

122.0)；3個四級脂族碳(δ 61.1, 50.7, 39.7)；1個次甲脂族碳(δ 43.3)；8個亞甲基碳(δ 46.0, 37.5, 34.1, 33.3, 32.9, 31.9, 23.7, 22.2)；及3個甲基碳(δ 51.9, 23.6, 23.1)。

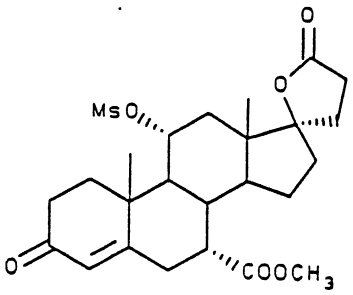
實例X-1B

製備(7α,13R,17β)-3',4',5',17-四氫-14-羥基-17-甲基-3,5'-二酮基-γ-內酯，環戊[13,17]-18-原雄-4,9(11)-二烯-7-羧酸(化合物C-201)：



醋酸鉀(8.9克，90毫莫耳)，三氟醋酸(150毫升，1.480克/毫升)及三氟醋酐(33毫升，1.487克/毫升)加至250毫升圓底反應器中，其內配備有機械攪拌器，冷凝管，及加熱罩。生成之溶液在25℃-30℃間攪拌約10分鐘。

預形成的TFA/TFA酐試劑加至15克(30.0毫莫耳)17-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧-3-酮基-17α-孕-4-烯-7α,21-二羧酸7-甲酯，γ-內酯：



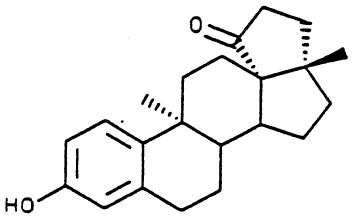
其依實例36之方式製備。生成之混合物在約60-70℃下加熱約1-1.5小時。此混合物在減壓之50℃下濃縮，生成稠

厚淤漿。淤漿溶於100毫升乙酸乙酯中，再以約20%水/鹽水(各80毫升)洗2次，1N氫氧化鈉(80毫升)洗1次，再以約20%水/鹽水(80毫升)洗1次。粗製產物於硫酸鎂上乾燥，過濾及濃縮可生成約18克的粗製的濕物質。

此物質以管柱層析純化2次，以生成約3克純的(7α,13R,17β)-3',4',5',17-四氫-14-羥基-17-甲基-3,5'-二酮基-γ-內酯，環戊[13,17]-18-原雄-4,9(11)-二烯-7-羧酸(化合物C-201)。

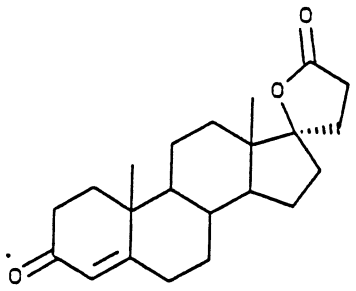
實例X-1C

製備[13S,17β]-3',4'-二氫-3-羥基-9,17-二甲基環戊[13,17]性腺-1,3,5(10)-三烯-5'[2'H]-酮(化合物C-202)：



醋酸鉀(6克，61.1毫莫耳)，三氟乙酸(150毫升，1.480克/毫升)及三氟醋酐(26毫升，1.487克/毫升)加至250毫升圓底反應器中，其內配備有機械攪拌器，冷凝管，及加熱罩。生成之溶液在約25℃-30℃卡攪拌約10分鐘。

預形成之TFA/TFA酐試劑加至15克(43.7毫莫耳)17-羥-3-酮基-17α-孕-4-烯-21-羧酸，γ-內酯(也知為aldona; G.D. Searle & Co.)：

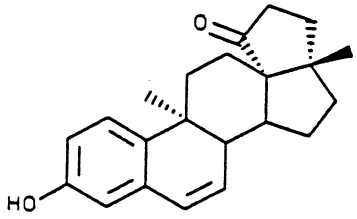


生成的混合物在60℃-70℃間加熱約1-1.5小時。反應混合物在50℃減壓下濃縮，可生成稠厚之淤漿。淤漿溶於100毫升乙酸乙酯中，並以約20%水/鹽水(各80毫升)洗2次，1N氫氧化鈉溶液(80毫升)洗1次，再以約20%水/鹽水(80毫升)洗1次。粗製產物於硫酸鎂上乾燥，過濾及濃縮，於減壓及50℃下至乾，可生成約20克粗製的濕物質。

此物質以管柱層析純化二次，可生成約125克純的[13S,17β]-3',4'-二氫-3-羥基-9,17-二甲基環戊[13,17]性腺-1,3,5(10)-三烯-5'[2'H]-酮(化合物C-202)。

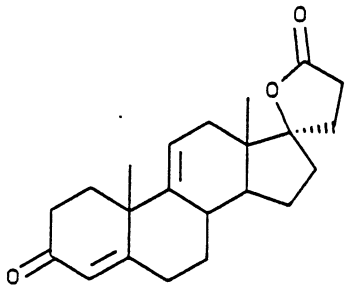
實例X-1D

製備[13S,17β]-3',4'-二氫-3-羥基-9,17-二甲基環戊[13,17]性腺-1,3,5(10),6-四烯-5'[2'H]-酮(化合物C-203)：



醋酸鉀(6克，61.1毫莫耳)，三氟醋酸(150毫升，1.480克/毫升)及三氟醋酐(26毫升，1.487克/毫升)加至250毫升圓底反應器中，其配備有機械攪拌器，冷凝管及加熱罩。生成之溶液在約25℃-30℃下攪拌約10分鐘。

預形成之TFA/TFA酐試劑加至15克(45.9毫莫耳)17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,9(11)-二烯-21-羧酸，γ-內酯(也知為△9,11-aldona)：

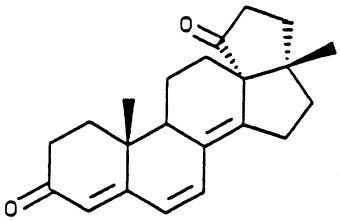


其製備自3-甲氧基-3,5,9(11)-雄三烯-17-酮(Upjohn)。生成之混合物在約60℃-70℃下加熱約1-1.5小時。反應混合物在50℃減壓下濃縮，以生成稠厚之淤漿。淤漿溶於100毫升乙酸乙酯中，並以20%水/鹽水溶液(各80毫升)洗2次，1N氫氧化鈉溶液洗1次(80毫升)，及約20%水/鹽水溶液洗1次(80毫升)。粗製產物於硫酸鎂上乾燥，過濾並於50℃減壓下濃縮至乾，可生成約18克的粗製的濕物質。

此物質以管柱層析純化二次，生成約340克純的[13S,17β]-3',4'-二氫-3-羥基-9,17-二甲基環戊[13,17]性腺-1,3,5(10),6-四烯-5'[2'H]-酮(化合物C-203)。

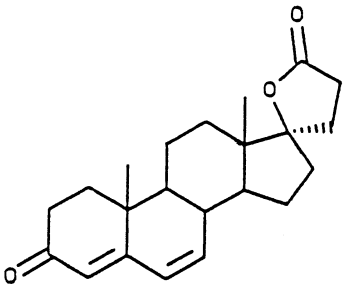
實例X-1E

製備[13S,17β]-3',4'-二氫-17-甲基-環戊-[13,17]-18-原雄-4,6,8(14)-三烯-3,5'[2'H]-二酮(化合物C-204)：



醋酸鉀(8克，81.5毫莫耳)，三氟醋酸(150毫升，1.480克/毫升)及三氟醋酐(33毫升，1.487克/毫升)加至250毫升圓底反應器中，其中配備有機械攪拌器，冷凝管及加熱罩。生成的溶液在約25℃-30℃間攪拌約10分鐘。

預形成之TFA/TFA酐試劑，加至15克(44.0毫莫耳)17-羥基-3-酮基-17α-孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯(也知為肯瑞酮；G.D. Searle & Co.)：



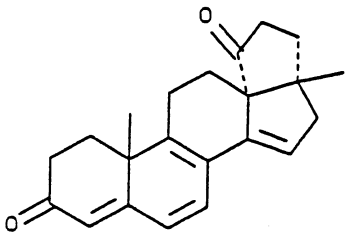
生成的混合物在約60-70℃間加熱約1-1.5小時。反應混合物在50℃減壓下濃縮，可生成稠厚的淤漿。淤漿溶於100毫升乙酸乙酯中，再以約20%水/鹽水溶液(各80毫升)洗2次，1N氫氧化鈉洗1次(80毫升)，20%水/鹽水溶液洗1次(80毫升)。粗製產物於硫酸鎂上乾燥，在50℃減壓下過濾及濃縮至乾，可生成的18克粗製的濕物質。

此物質以管柱層析純化2次，可生成約2.2純的[13S,17β]-3',4'-二氫-17-甲基-環戊-[13,17]-18-原雄-

4,6,8(14)-三烯-3,5'[2'H]-二酮(化合物C-204)。

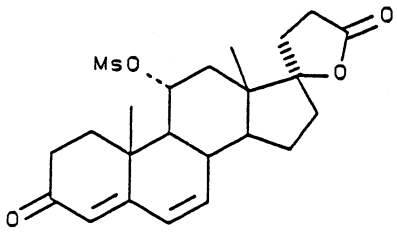
實例X-2

製備：



(化合物C-105)

對11α-羥基肯瑞酮(3.6克，10毫莫耳)及三乙胺(1.2克，12毫莫耳)於二氯甲烷(20毫升)之攪拌，冷卻10℃)溶液中加入甲烷磺醯氯(1.1克，10毫莫耳)。混合物在冷處攪拌3小時，再加溫至室溫。繼續攪拌直到薄層層析顯示反應已完全。混合物再以乙酸乙酯稀釋，並以水，5%碳酸氫鈉水溶液及水萃取，並於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，濾液於真空下濃縮可生成以下粗製之甲磺酸酯C-136，其適用於下一步驟：



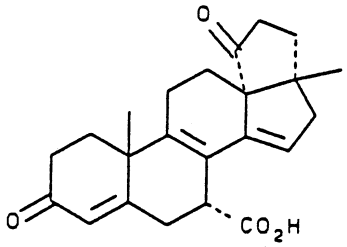
(化合物C-136)

甲磺酸酯C-136 (4.3克，10毫莫耳)與三氟醋酸(25毫升)，三氟醋酐(4.5毫升)及醋酸鉀(6.7克，7.1毫莫耳)依實例X-1中化合物C-1合成之步驟反應。依實例X-1中對化合

例X-1中化合物C-1之相同步驟分離，且在矽膠上層析純化，以乙酸乙酯及甲苯或乙酸乙酯及己烷之混合物為溶離劑。產物因此獲得後進一步自醇，醇及水，或乙酸乙酯及己烷中再結晶純化。

實例X-4

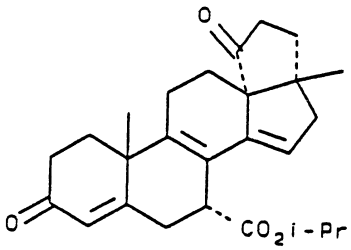
製備3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮基環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸(化合物-101)：



化合物C-1 (3.8克，10毫莫耳)及1N氫氧化鈉水溶液(35毫升)於乙醇(60毫升)之溶液迴流8小時。反應冷卻至室溫，在真空之旋轉蒸發器上濃縮，且殘留的水層以乙酸乙酯萃取三次。水層再以1N氫氯酸溶液酸化，並以乙酸乙酯萃取三次。混合的有機層以水洗滌，並於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，且濾液在旋轉蒸餾器上濃縮。殘留的粗製羧酸C-101以乙酸乙酯處理而結晶，並自乙酸乙酯及己烷或甲醇或乙醇及水中再結晶。

實例X-5

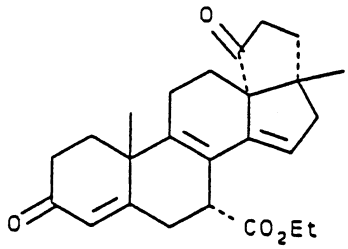
製備3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸1-甲基乙基酯(化合物C-102)：



碳酸氫鈉(3.5克)及羧酸C-101 (3.7克，10毫莫耳)及異丙基碘(3毫升)於二甲替甲醯胺(35毫升)之混合物在室溫下攪拌一夜。反應倒入水中，水溶液以乙酸乙酯萃取三次。混合的有機層以水洗滌，再於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，且濾液於真空下濃縮。殘留之粗製異丙基酯C-102以乙酸乙酯或醇處理而結晶，並在矽膠上層析純化，及自乙酸乙酯及己烷或醇或醇及水中再結晶。

實例X-6

製備3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮基環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸乙酯：

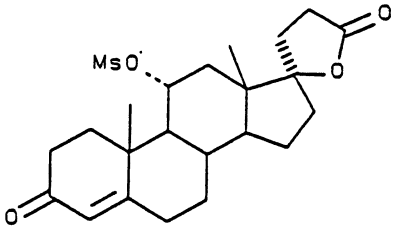


碳酸氫鈉(3.5克)及羧酸C-101溶液(3.7克，10毫莫耳)及乙基碘(3毫升)於二甲替甲醯胺(35毫升)之混合物在室溫下攪拌一夜。反應倒入水中，並以乙酸乙酯萃取水溶液三次。混合的有機層以水洗，於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，且濾液真空濃縮。殘留之粗製乙酸乙酯C-103以乙酸乙酯或醇處理而結晶，並在矽膠上層析純化，及自乙酸乙

物C-1之相同步驟分離粗製的產物，且在矽膠上層析純化，以乙酸乙酯及甲苯或乙酸乙酯及己烷的混合物為溶離劑。產物如此獲得後可進一步自醇，醇及水，或乙酸乙酯及己烷中再結晶而純化，生成四烯C-105。

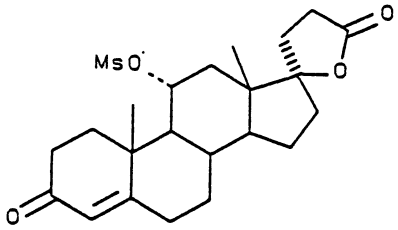
實例X-3

製備：



(化合物C-110)

甲磺酸酯



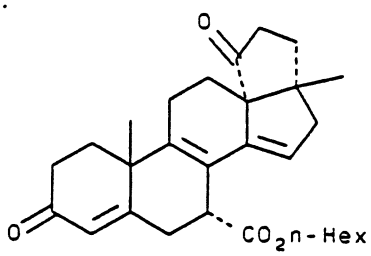
予以合成並分離(依實例X-2之步驟，可合成C-136甲磺酸酯)，利用11α,17-二羥基-3-酮基-17-酮基-孕-4-烯-21-羧酸，γ-內酯(3.6克，10毫莫耳)，三乙胺(1.2克，12莫耳)及甲烷磺醯氯(1.1克，10毫莫耳)於二氯甲烷(20毫升)。如此分離的甲磺酸酯C-138適用於以下步驟。

甲磺酸酯C-138 (4.4克，10毫莫耳)與三氟醋酸(25毫升)，三氟醋酐(4.5毫升)及醋酸鉀(6.7克，7.1毫莫耳)依實例X-1中化合物C-1合成之步驟反應。粗製產物C-110依實

酯及己烷或醇或醇及水中再結晶。

實例X-7

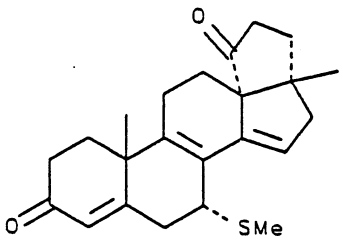
製備3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸己酯(化合物C-104)：



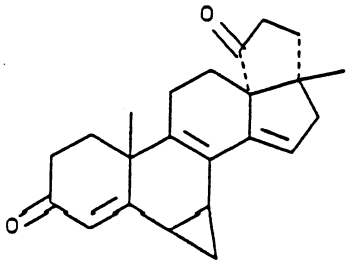
碳酸氫鈉(3.5克)及羧酸C-101 (3.7克，10毫莫耳)及正己基碘(3毫升)於二甲替甲醯胺(35毫升)之混合物，在室溫下攪拌一夜。反應倒入水中，且水溶液以乙酸乙酯萃取三次。混合的有機層以水洗，再於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，且濾液真空濃縮。殘留之粗製正-己基酯C-104以乙酸乙酯或醇處理而結晶，並在矽膠上層析純化及自乙酸乙酯及己烷或醇或醇及水中再結晶。

實例X-8

製備3',4'-二氫-17-甲基-7α (甲硫基)-環戊[13,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-3,5'(2'H)-二酮(化合物C-106)：

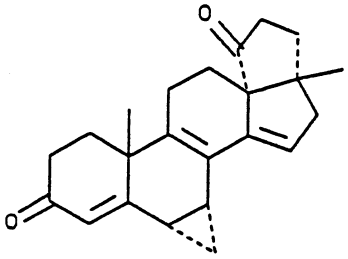


四烯C-105 (3.2克，10毫莫耳)於甲醇(40毫升)及六氫吡啶(4毫升)之溶液冷卻至5℃。再通入甲基硫醇，直到獲重7



及

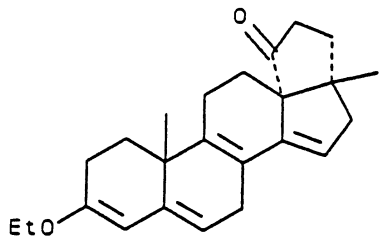
1,2,4bS(4bR*),5,5aS*,8,9,11,12bR*-十二氫-7a,12b-二甲基-10aS*-環丙醛[1]茂?並[1,6a-a]菲-3,10-二酮(化合物C-109)：



在三甲基亞鋶化碘(1克，4.6毫莫耳)於無水二甲亞碸(20毫升)之溶液中，加入氫化鈉(220毫克的50%分散相，於礦油中，4.6毫莫耳)。混合物在室溫下於氮下攪拌，直到氫之逸出停止為止。四烯C-105 (1.12克，3.5毫莫耳)於二甲亞碸(4毫升)之溶液再加入，並在氮大氣下繼續攪拌4小時。反應混合物以水稀釋，且生成之沉澱物過濾及風乾。產物為6β,7β(化合物C-108)及6α,7α(化合物C-109)異構物之混合物。在矽膠上層析可達成這些異構物之分離，且個別的異構物自溶劑中再結晶可進一步純化，如乙酸乙酯及己烷，醇，或醇及水。

實例X-11

製備

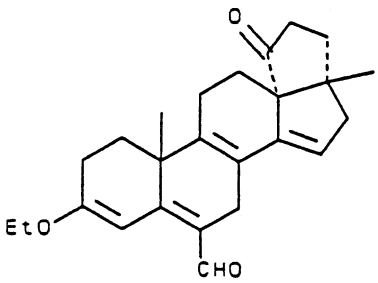


(化合物C-111)

對烯酮C-110 (3.2克，10毫莫耳)於原甲酸乙酯(10毫升)及無水乙醇(10毫升)之懸液中，加入對位-甲苯磺酸單水合物(0.05克)。反應在室溫下攪拌30分鐘，並加數滴吡以驟冷。經在0℃下再攪拌5分鐘後，生成之沉澱物過濾，以少量甲醇洗滌，再自醇或乙酸乙酯及含有痕量吡啶之己烷中再結晶，以生成純的烯醇醚C-111。另外，反應可在加入吡啶移去所有溶劑(真空下)後進行，並由加入溶劑，如醚，乙酸乙酯或己烷而結晶殘留物。粗製的C-111如上述般再結晶。如見示於R.M. Weier及L.M. Hofmann, J. Med. Chem., 20, 1304-1308 (1977)之步驟，其已列為本案參考。

實例X-12

製備：



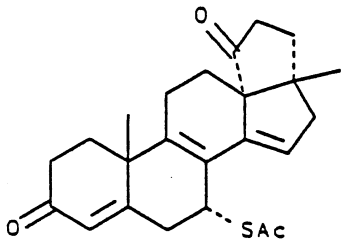
(化合物C-112)

依循R.M. Weier and L.M. Hofmann, J. Med. Chem, 20 1304-1308 (1977)之步驟，其已列為本案參考。

克為止。封好壓力容器，並保持在室溫下20小時。溶液倒入冰水中，且沉澱物過濾，以水洗再風乾。甲硫基產物C-106經甲醇或乙酸乙酯及己烷中再結晶而純化。如見示於A. Karim及E.A. Brown, Steroids, 20, 41 (1972)之步驟，其已列為本案參考。

實例X-9

製備7α-(乙醯硫基)-3,4'-二氫-17-甲基-環戊[13,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-3,5'(2'H)-二酮(化合物C-107)：



四烯C-105 (3.2克，10毫莫耳)於硫醋酸(10毫升)之溶液加熱至85-95℃，歷1小時。過量的硫乙酸自真空中移去，且生成之粗製7α-硫乙酸酯C-107自適合的溶劑中再結晶純化，如甲醇或乙酸乙酯或乙酸乙酯及己烷。如見示於美國專利案3,013,012, J.A. Cella及R.C. Tweit, Dec. 12, 1961中，其已列為本案參考。

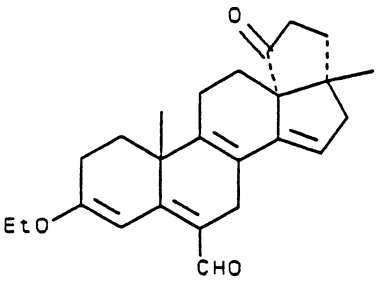
實例X-10

製備1,2,4bR(4bR*),5,5aS*,7,7aR*,8,9,11,12bS*-十二氫-7a, 12b-二甲基-10aR*-環丙醛[1]茂?並[1,6a-a]菲-3,10-二酮

Vilsmeyer試劑由磷醯氯(4.59克，30毫莫耳)加至二甲替甲醯胺(30毫升)中而製成。5分鐘後，加入烯醇醚C-111(3.5克，10毫莫耳)於二甲替甲醯胺(5毫升)之溶液，且反應在0℃下攪拌2小時，及在室溫下一夜。反應倒入醋酸鈉水溶液中，並攪拌2小時。過濾沉澱物，並乾燥生成粗製的醛C-112。自溶劑中，如醇，醇及水或乙酸乙酯及己烷再結晶以達成純化作用。另外，粗製的醛C-112自乙酸鈉水溶液中分離，係以溶劑如乙酸乙酯萃取而成。在硫酸鈉上乾燥並移去溶劑後，殘留物以再結晶純化，或於矽膠上層析再行再結晶。

實例X-13

製備：



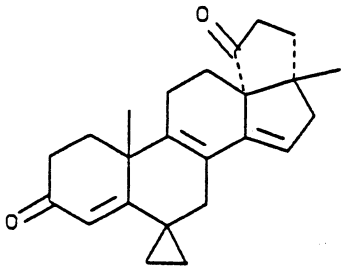
(化合物C-113)

對第三-丁氧鋁化氫鋰(3.05克，12毫莫耳)於四氫呋喃之攪拌的冷溶液中，加入醛C-112 (3.78克，10毫莫耳)。反應在室溫下攪拌5小時，並加水及醋酸驟冷，保持小心使混合物略呈鹼性。混合物於真空下濃縮，且生成的固體於乙酸乙酯中淤漿。固體過濾且濾液於真空下濃縮。殘留物溶於少量丙酮及水(3:1)溶液中，再加至酸化之丙酮水溶液中(pH 1.5-2.0)。酸性反應混合物在室溫下攪拌1小時，再

於真空下濃縮。生成之粗製二烯酮C-113自溶劑中再結晶而純化，如醇，醇及水或乙酸乙酯及己烷。另外，粗製的二烯酮C-113在矽膠上層析純化再行再結晶。如見，示於R.M. Weier and L.M. Hofmann, J. Med. Chem, 20 1304-1308 (1977)之步驟，其已列為本案參考。

實例X-14

製備 2',3',3'aα,4',6',10',11',11'aα,12',13', 十二氫-3'aR,3'a,11'a-二甲基-13'aR*-螺[環丙烷-1,7'(9'H)-[1H]茂？並[1,6a-a]菲]-1'9'-二酮：



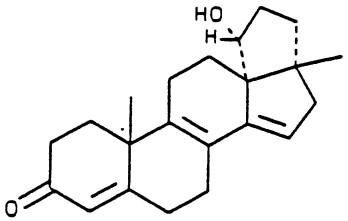
(化合物C-115)

對二烯酮(1.17克，0.05毫莫耳)於四氫呋喃(30毫升)之溶液，加至重氮甲烷(0.2克，0.07毫莫耳)於乙醚(7毫升)之溶液。生成之反應溶液在室溫下貯存數天。再加醋酸以破壞過多的重氮甲烷，且反應於真空下濃縮。殘留物，其為中間物吡唑啉，在溶劑下如丙酮，己烷，乙酸乙酯或乙醇中結晶，之後再予以再結晶。此物質轉化成螺環丙烷C-114。因此，固體C-114在190℃真空下加熱，且生成的固體自醇，醇及水，丙酮及水或乙酸乙酯及己烷中再結晶。另外，吡唑啉於丙酮之溶液以三氟化硼乙醚再風乾。以再結晶達成純化。如見F.B. Colton and R.T. Nicholson，美國

專利案3,499,891，3月10日(1970)之步驟，其已列為本案參考。

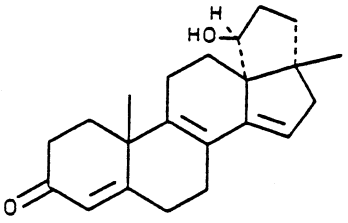
實例X-15

製備：



(化合物C-115)

及

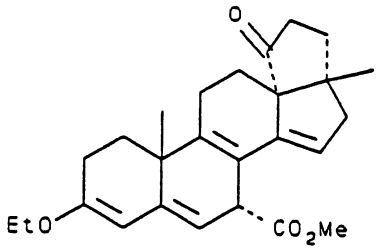


(化合物C-116)

對烯醇醚C-111 (3.2克，10毫莫耳)於甲醇(20毫升)之溶液中加入氫硼化鈉(38毫克)。反應在室溫下攪拌3小時，並以1N氫氯酸處理30分鐘。反應以水進一步稀釋，再過濾沉澱物，以水洗及乾燥。產物，包括二個表位異構醇之混合物(化合物C-115及化合物C-116)，在矽膠上層析以達成分離。經純化之醇C-115及C-116各自自溶劑中再結晶，如醇，醇及水，乙酸乙酯及己烷及丙酮及己烷。另外，經稀釋的反應混合物以乙酸乙酯萃取，混合的有機層於硫酸鈉上乾燥，且粗製的產物經分離後如上述般層析，以生成分別的醇C-115及C-116。

實例X-16

製備：

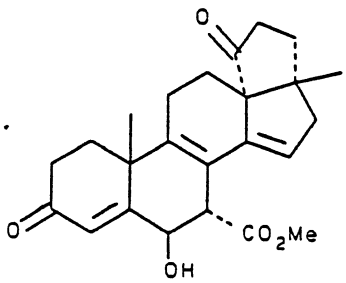


(化合物C-117)

化合物C-1 (3.8克，10毫莫耳)轉化成烯醇醚C-117，利用原甲酸乙酯，(3.2克，10毫莫耳)，乙醇(10毫升)及對位甲苯磺酸單水合物(0.05克)，依實例X-1中化合物C-111之合成步驟。

實例X-17

製備3',4',5',17-四氫-6α-羥基-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-4,8,14-三烯-7α-羧酸甲酯(化合物C-118)：

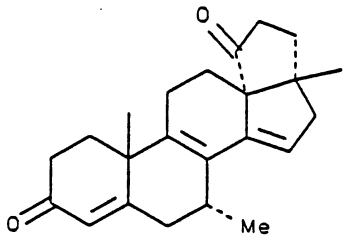


57%間位-氯過氧苯甲酸(3.64克)於10%二噁烷水溶液(20毫升)之溶液以1N氫氧化鈉溶液半中和。此溶液冷卻至0℃，並分批加至烯醇醚C-117 (4.1克，10毫莫耳)於10%二

哼烷水溶液(20毫升)之攪拌且冷卻的(0℃)溶液中。反應在室溫下攪拌一夜，倒入冰水中，再以二氯甲烷或乙酸乙酯萃取。混合的有機層於硫酸鈉上乾燥。溶劑蒸發可生成粗製的羥基酯C-118，其在矽膠上層析純化，如見示於R.M. Weier and L.M. Hofmann, J. Med. Chem, 20 1304-1308 (1977)之步驟，其已列為本案參考。

實例X-18

製備：



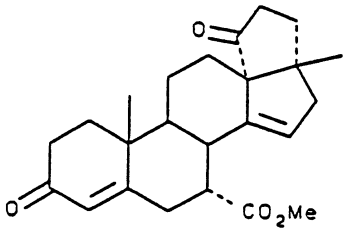
(化合物C-117)

銅酸二甲鋰之製備，由甲基鋰(19毫升的1.6 M於乙醚之溶液，30毫莫耳)至碘化亞銅(2.86克，15毫莫耳)於乙醚(30毫升)之攪拌懸液中，於0℃及氬惰性大氣下進行。在冷處攪拌15分鐘後，以25分鐘逐滴加入四烯C-105 (1.6克，15毫莫耳)於四氫呋喃(25毫升)之溶液。反應再繼續30分鐘，並經由劇烈攪拌倒入飽和的氯化銨溶液中。水性混合物以乙酸乙酯或二氯甲烷萃取。混合的有機層以氯化銨水溶液及水洗滌，再於硫酸鈉上乾燥。溶劑在真空下移去，且殘留物溶於乙酸乙酯或二氯甲烷中，再以對位-甲苯磺酸(100毫克)在蒸氣浴中處理30分鐘至1小時。有機溶液以水洗，再於硫酸鈉上乾燥。溶劑於真空下移去，可生成粗

製的烯酮C-119。純化以自醇，醇及水，或乙酸乙酯及己烷中再結晶而達成。另外，粗製的烯酮C-119在矽膠上層析，再將產物再結晶。如見示於J.K. Grunwell et al., Steroides, 27, 759-771 (1976)之步驟，其已列為本案參考。

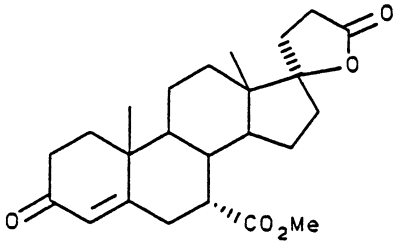
實例X-19

製備：



(化合物C-121)

酯C-120 (4.00克，10毫莫耳)：



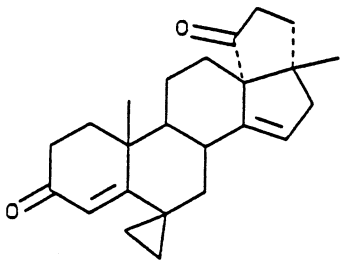
(化合物C-120)

(依示於F.B. Colton及R.T. Nicholson，美國專利案3,499,891，1970年3月10日所示之步驟製備，其已列為本案參考)與醋酸鉀(6.7克，7.1毫莫耳)，三氟醋酸(25毫升)及三氟醋酸(4.5毫升)依實例X-1中合成化合物C-1之步驟反應。粗製產物C-121依實例X-1對化合物C-1之相同步驟分離，且在矽膠上層析純化，利用乙酸乙酯及甲苯或乙酸乙

酯及己烷混合物溶離劑，且如此獲得之產物進一步自醇，醇及水，或乙酸乙酯及己烷中再結晶而純化。

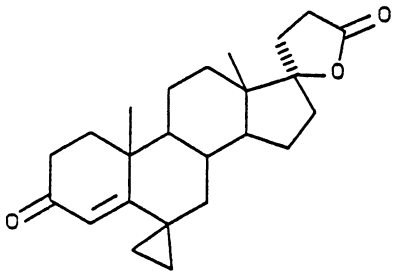
實例X-20

製備：



(化合物C-123)

烯酮C-122 (3.68克，10毫莫耳)：

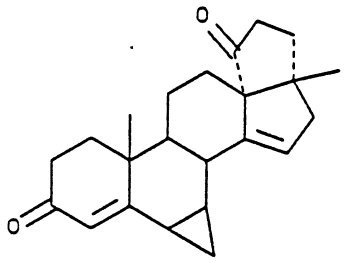


(化合物C-122)

(依示於F.B. Colton and R.T. Nichalson，美國專利案3,499,891，1970年3月10所示之步驟製，其已列為本案參考)與醋酸鉀(6.7克，7.1毫莫耳)，三氟醋酸(25毫升)及三氟醋酐(4.5毫升)依實例X-1中對化合物C-1之合成步驟反應。粗製產物如上文所述地分離，且在矽膠上層析純化，利用乙酸乙酯及己烷或乙酸乙酯及甲苯之混合物為溶離劑。經純化的C-123進一步自醇，醇及水，或乙酸乙酯及己烷中再結晶而進一步純化。

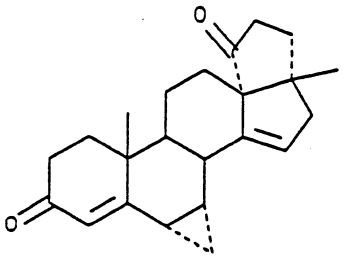
實例X-21

製備：



(化合物C-125)

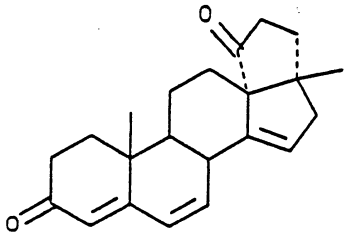
及



(化合物C-126)

化合物C-125及C-126依上述步驟合成，即化合物C-108及C-1之合成法。因此，對三甲基亞鋶化碘(1克，4.6毫莫耳)於無水二甲亞碸(20毫升)之溶液中，加入氫化鈉(220毫克的50%於礦油中之分散相；4.6毫莫耳)。混合物在室溫及氮下攪拌，直到氫氣之逸出停止為止。

三烯酮C-124 (1.14克，3.5毫莫耳)：

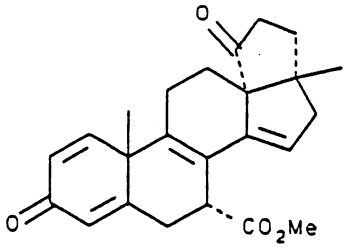


(化合物C-124)

於二甲亞碸(4毫升)之溶液再加入，並攪拌於氮壓力下再4小時。三烯酮C-124依實例X-2中對四烯C-105製備所示之步驟而製備，即利用肯瑞酮為起始物而替代以11α-羥基肯瑞酮。反應混合物以水稀釋，且生成的沉降物再過濾及風乾。產物為6β,7β (化合物C-125)及6α,7α(化合物C-126)異構物之混合物。這些異構物之分離可在矽膠上層析而達成，而各別異構物則自溶劑中，如乙酸乙酯及己烷，醇或醇及水中再結晶而進一步純化。

實例X-22

製備3',4',5',17-四氫-17β-甲基-3,5'-二酮環戊[13R,17]-18-原雄-1,4,8,14-四烯-7α-羧酸甲酯(化合物C-127)：

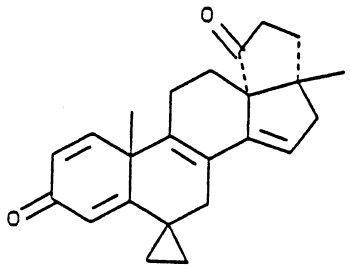


二烯酮C-127依R.M. Weier及L.M. Hofmann, J. Med. Chem. 18, 817 (1965)所述步驟合成，其列為本案參考。因此，化合物C-1 (3.8克，10毫莫耳)及二氯二氰基苯醌(2.72克，12毫莫耳)於二噁烷(80毫升)之溶液攪拌迴流24小時。

反應混合物於真空下濃縮，殘留物以二氯甲烷水解，過濾，且濾液以2%硫酸氫鈉，5%氫氧化鈉及飽和的氯化鈉溶液洗滌，再於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，濾液於真空下濃縮。粗製產物二烯酮C-127以層析純化，在矽膠上以乙酸乙酯及甲苯之混合物為溶離劑，且因此分離之產物27再自醇中再結晶而進一步純化。

實例X-25

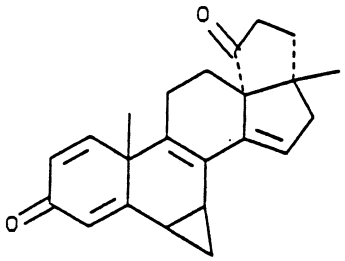
製備2',3',3'aα,4',6',11'aα,12',13'-八氫-3'aR,3'a,11'a-二甲基-13'aR*-螺[環丙烷-1,7'(9'H)-[1H]茂?並[1,6a-a]菲]1',9'-二酮(化合物C-128)：



利用如實例X-22中對二烯酮C-127合成所述之步驟，烯酮C-14 (3.48克，10毫莫耳)轉化成二烯酮C-128，利用二氯二氰基苯醌(2.72克，12毫莫耳)於二噁烷(80毫升)來進行。

實例X-24

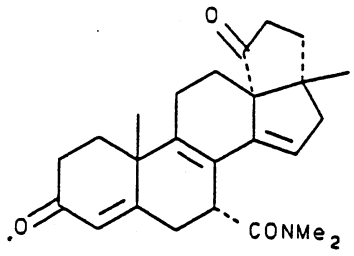
製備4bR(4bR*),5,5aS*,7,7aR*,8,9,11,12,12bS*-十氫-7A,12b-二甲基-10R*-環丙(1)茂?並[1,6a-a]菲-3,10-二酮(化合物-129)：



利用實例X-22中對二烯酮C-127合成所述之步驟，烯酮-108 (3.34克，10毫莫耳)利用二氯二氰基苯醌(2.72克，12毫莫耳)於二噁烷(80毫升)轉化成二烯酮C-129。

實例X-125

製備：



(化合物C-130)

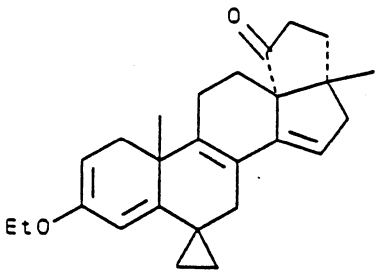
對羧酸C-101 (3.66克，10毫莫耳)及N-甲基嗎福啉(1.01克，10毫莫耳)於四氫呋喃(35毫升)之冷卻(0℃)且攪拌之溶液中，加入氯甲烷異丁酯(1.36克，10毫莫耳)。反應在0℃下攪拌20分鐘，過濾且濾液於真空下濃縮。殘留物為混合酐，且適於下一步驟。

氣態二甲胺經由混合酐(4.6克，10毫莫耳)於四氫呋喃(40毫升)之冷(0℃)溶液在壓力容器中泡騰。15分鐘後，壓力容器融封，且令反應在室溫下靜脈24小時。反應加溫至40℃，30分鐘，再回冷至0℃。經加溫至室溫，容器與大氣通氣，過量的二甲胺可令其蒸發。反應於真空中濃縮，

殘留物溶於乙酸乙酯中，再以1N氫氧化鈉溶液及水萃取。經於硫酸鈉上乾燥後，有機層汽滌，且殘留物在矽膠上層析純化，以乙酸乙酯及甲苯之混合物為溶離劑。如上獲得之醯胺C-130進一步自醇，醇及水或乙酸乙酯及己烷中再結晶而純化。

實例X-26

製備：

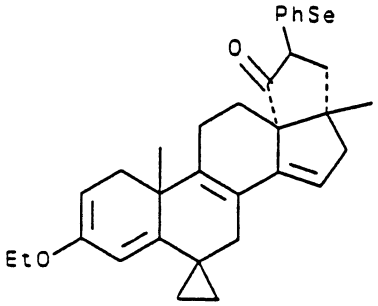


(化合物C-131)

對烯酮C-114 (3.5克，10毫莫耳)於原甲酸乙酯(10毫升)及無水乙醇(10毫升)之懸液中，加入對位-甲苯磺酸單水合物(0.05克)。反應在室溫下攪拌30分鐘，並加數滴吡啶驟冷。經在0℃下再攪拌又5分鐘後，生成之沉澱物過濾，以少量甲醇洗滌，並自醇或乙酸乙酯及含有痕量吡啶之己烷中再結晶，以生成純的烯醇醚C-131。另外，反應在加入吡啶後處理，即於真空下移去所有溶劑，再加入溶劑如己烷，乙醚，乙酸乙酯或己烷使殘留物結晶。粗製的烯醇醚C-131如上結晶。

實例X-27

製備：

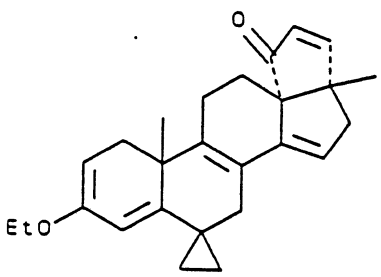


(化合物C-132)

對雙(三甲基矽烷基)醯胺鋰(10毫升之1.0 M於四氫呋喃之溶液)之冷(-78℃)溶液中，以20分鐘逐滴加入烯醇醚C-131 (3.8克，10毫莫耳)於四氫呋喃(20毫升)之溶液。反應在-78℃下攪拌10分鐘，再加入苯基硒基氯(1.9克，10毫莫耳)於四氫呋喃(5毫升)之溶液。反應攪拌5分鐘，再加1%硫酸氫鈉溶液。反應進一步以水稀釋，再以乙酸乙酯5萃取。混合的有機層以5%碳酸氫鈉水溶液及水洗滌，再於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，濾液在真空下濃縮。殘留物在矽膠上層析純化，以乙酸乙酯及甲苯或乙酸乙酯及己烷混合物為溶離劑，可生成純的硒化物C-132。

實例X-28

製備：

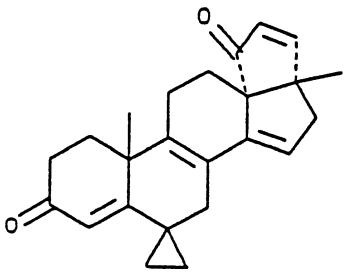


(化合物C-133)

對硒化物C-132(克，10毫莫耳)及吡啶(1.61毫升，20毫莫耳)於二氯甲烷(40毫升)之冷卻(0℃)溶液中，逐漸加入過氧化氫(3.1克的30%溶液，27毫莫耳)於水(3毫升)之溶液。溫度維持在少於30-35℃。經任何放熱現象稍停後，移去冰浴且反應在室溫下劇烈攪拌15分鐘。反應以二氯甲烷稀釋，再以5%碳酸氫鈉溶液及水洗滌，並於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，且濾液於真空下濃縮。殘留物在矽膠上層析純化，利用乙酸乙酯及甲苯或乙酸乙酯及己烷之混合物為溶離劑，可生成純的不飽和的酮C-133，其可自乙酸乙酯及己烷或醇中再結晶而進一步純化。

實例X-29

製備：



(化合物C-134)

酮C-133 (2克)於丙酮(15毫升)之溶液以1N氫氯酸(4毫升)在室溫下處理1小時。反應於真空下濃縮。殘留物以水稀釋，再以乙酸乙酯萃取。混合的有機層以5%碳酸氫鈉溶液及水洗滌，再於硫酸鈉上乾燥。乾燥劑過濾，濾液於真空下濃縮可生成粗製的酮C-134。粗製產物以矽膠層析純化，利用乙酸乙酯及甲苯之混合物為溶離劑，可生成純的酮C-134，其可進一步自乙酸乙酯及己烷或醇中再結晶純化。

【圖式簡單說明】

圖1為肯瑞酮或肯瑞酮衍生物(canrenone)生物轉化成相當的11α-羥基化合物之示意流程圖；

圖2為肯瑞酮及肯瑞酮衍生物生物轉化/11α-羥基化作用較佳方法之示意流程圖。

圖3為肯酮及肯瑞酮衍生物生物轉化/11α-羥基化作用特佳方法之示意流程圖。

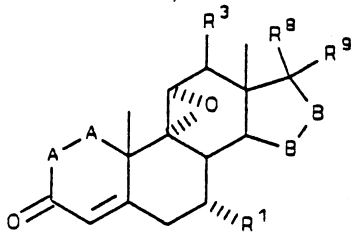
圖4示出依圖2方法所製備之肯瑞酮之粒子大小分佈；且

圖5示出肯瑞酮於轉形醱酵槽中依圖3方法滅菌之粒子大小分佈狀況。

相當的參考特性顯示整個附圖之相當部份。

五、中文發明摘要：

本發明是有關合成式I環氧美克瑞酮(epoxymexrenone)及其他化合物之多樣新穎的反應流程，新穎的製程步驟及新穎的中間物



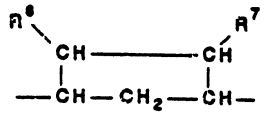
I

其中：

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團，R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基，芳氧基；

R^1代表α-方位之低碳烷氧羰基或羥烷基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方位基團：



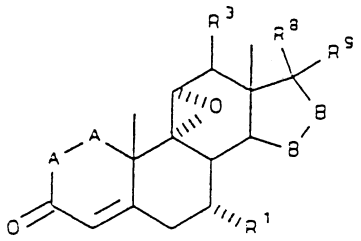
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包含一個碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7含有一個碳環或雜環結構，並稠合至五環之D環上。

六、英文發明摘要：

Multiple novel reaction schemes, novel process steps and novel intermediates are provided for the synthesis of epoxymexrenone and other compounds of Formula I



I

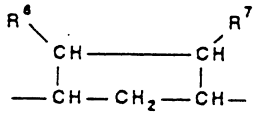
wherein:

-A-A- represents the group $-CHR^4-CHR^5-$ or $-CR^4=CR^5-$

R^3, R^4 and R^5 are independently selected from the group consisting of hydrogen, halo, hydroxy, lower alkyl, lower alkoxy, hydroxyalkyl, alkoxyalkyl, hydroxycarbonyl, cyano, aryloxy;

R^1 represents an alpha-oriented lower alkoxycarbonyl or hydroxyalkyl radical;

-B-B- represents the group $-CHR^6-CHR^7-$ or an alpha- or beta- oriented group:



III

where R^6 and R^7 are independently selected from the group consisting of hydrogen, halo, lower alkoxy, acyl, hydroxyalkyl, alkoxyalkyl, hydroxycarbonyl, alkyl, alkoxycarbonyl, acyloxyalkyl, cyano and aryloxy; and

R^8 and R^9 are independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, halo, lower alkoxy, acyl, hydroxyalkyl, alkoxyalkyl, hydroxycarbonyl, alkyl, alkoxycarbonyl, acyloxyalkyl, cyano and aryloxy, or R^8 and R^9 together comprise a carbocyclic or heterocyclic ring structure, or R^8 or R^9 together with R^6 or R^7 comprise a carbocyclic or heterocyclic ring structure fused to the pentacyclic D ring.

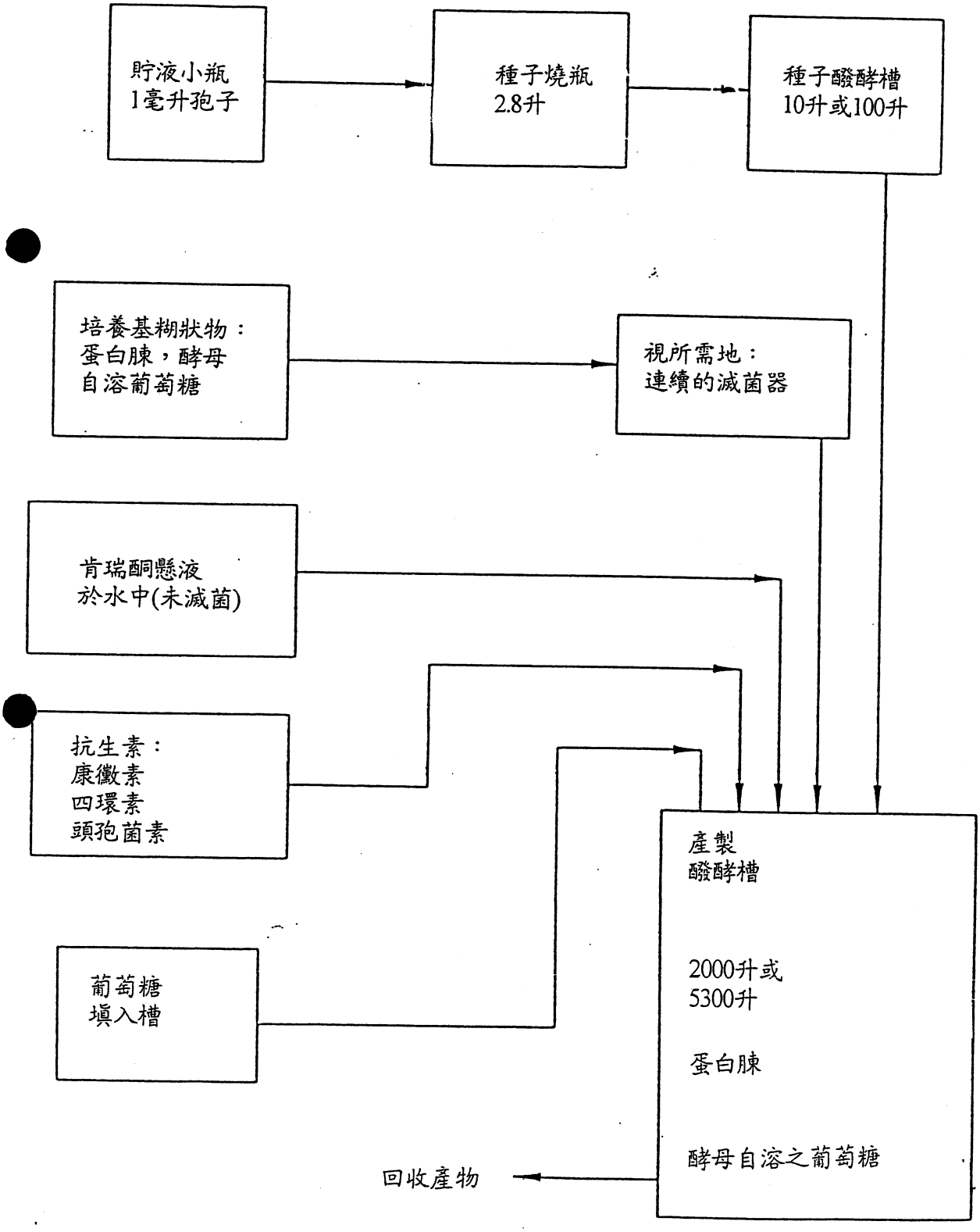

貯液小瓶
1毫升孢子
種子燒瓶
2.8升
種子醱酵槽
10升或100升
培養基糊狀物：
蛋白胨，酵母
自溶葡萄糖
視所需地：
連續的滅菌器
肯瑞酮懸液
於水中(未滅菌)
抗生素：
康黴素
四環素
頭孢菌素
葡萄糖
填入槽
產製
醱酵槽
2000升或
5300升
蛋白胨
酵母自溶之葡萄糖
回收產物

圖 1

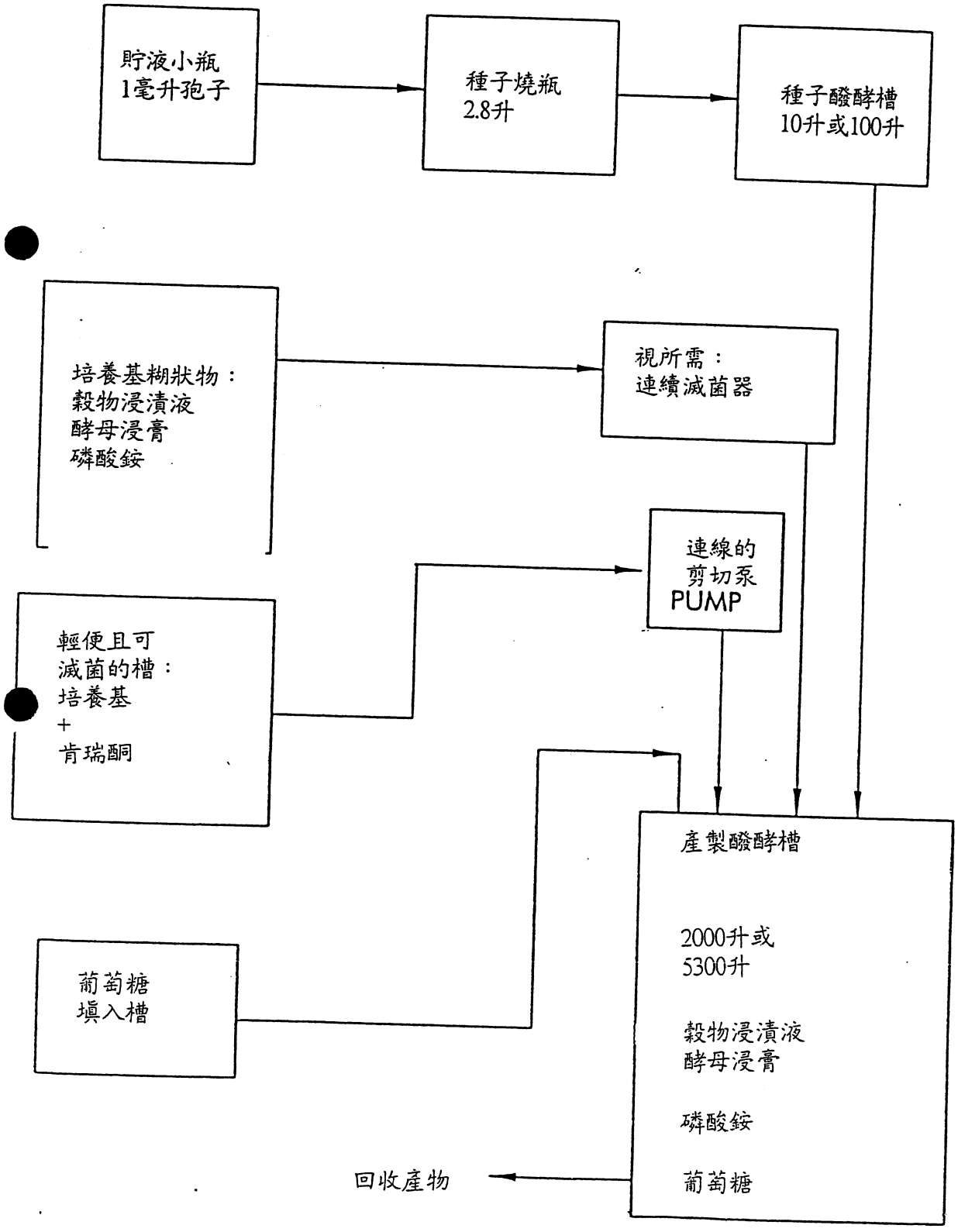

貯液小瓶
1毫升孢子
種子燒瓶
2.8升
種子醱酵槽
10升或100升
培養基糊狀物：
穀物浸漬液
酵母浸膏
磷酸銨
視所需：
連續滅菌器
連線的
剪切泵
PUMP
輕便且可
滅菌的槽：
培養基
+
肯瑞酮
產製醱酵槽
2000升或
5300升
穀物浸漬液
酵母浸膏
磷酸銨
葡萄糖
葡萄糖
填入槽
回收產物

圖 2

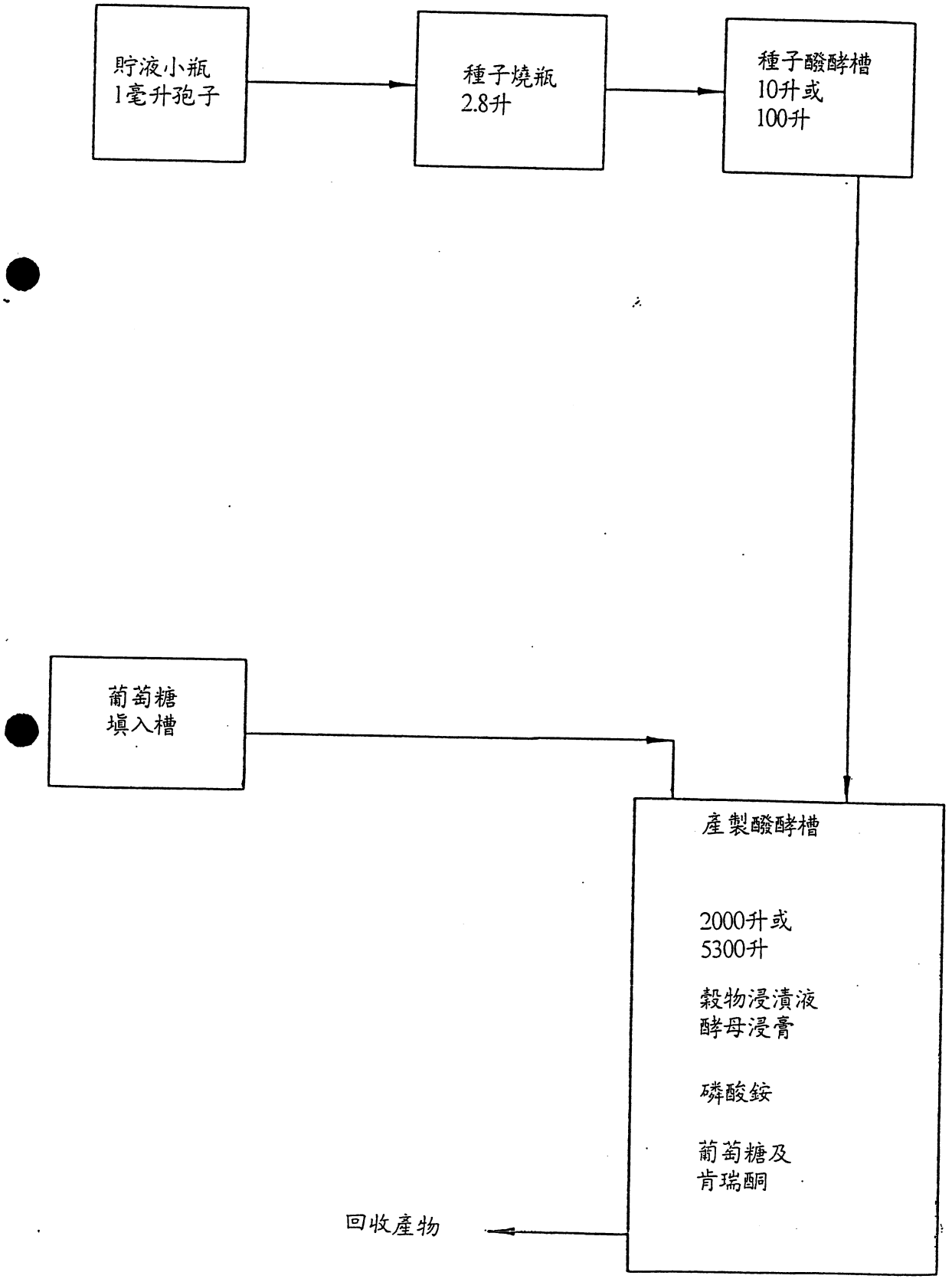
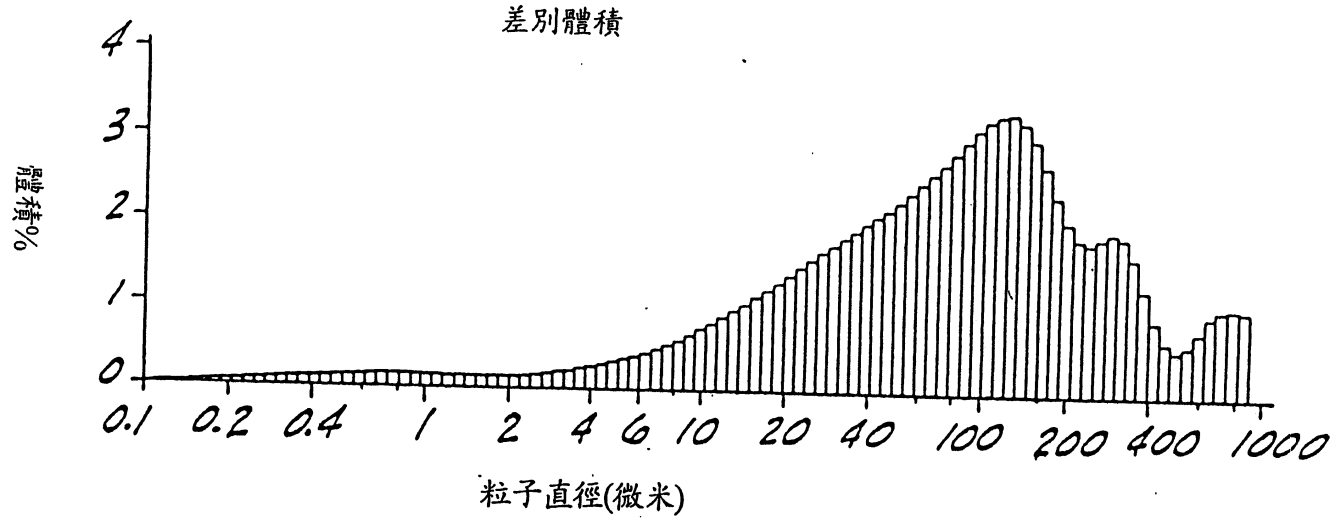

貯液小瓶
1毫升孢子
種子燒瓶
2.8升
種子醱酵槽
10升或
100升
葡萄糖
填入槽
產製醱酵槽
2000升或
5300升
穀物浸漬液
酵母浸膏
磷酸銨
葡萄糖及
肯瑞酮
回收產物

圖 3



體積統計學 (Arithmetic)

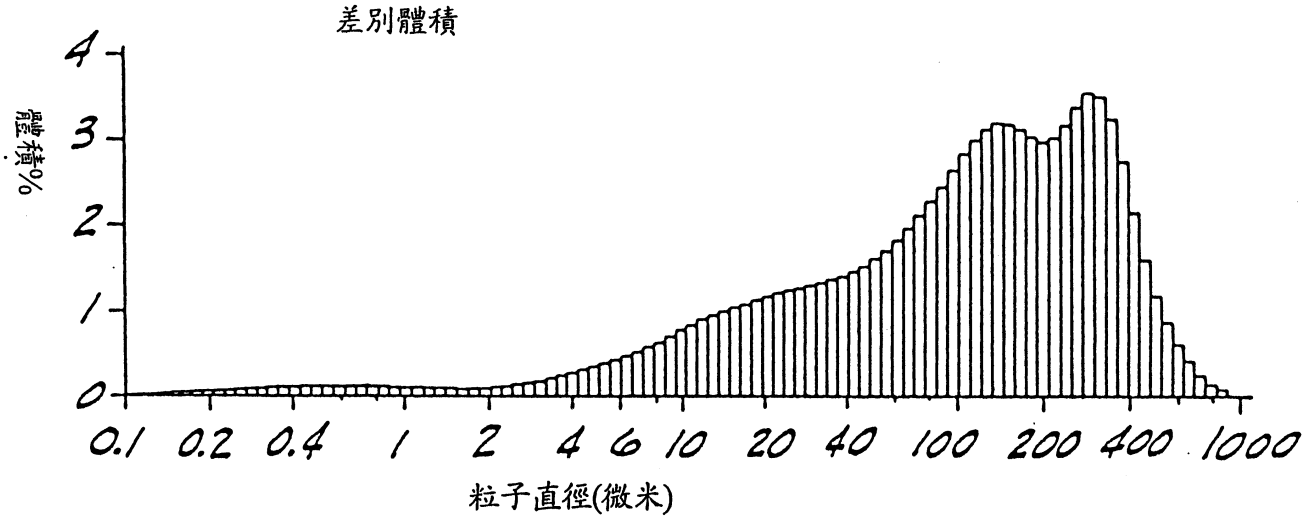
6010358.$01

由0.100微米計算至900.0微米

體積	100.0%		
平均值：	140.0 um	95%信心限度：	0-477 um
中值：	82.10 um	S.D.：	172 um
平均值/中值比例：	1.705	Variance:	2.96e+004 um²
模式：	127.1 um	C.V.:	123%
		Skewness:	2.27 右曲
		Kurtosis:	5.3 Leptokurtic

% >	10	25	50	75	90
大小 um	339.3	170.3	82.10	29.95	9.659

圖 4



體積統計學 (Arithmetic) 6010358.$07

由0.100微米計算至900.0微米

體積	100.0%		
平均值：	157.4 um	95%信心限度：	0-443 um
中值：	116.1 um	S.D.:	146 um
平均值/中值比例：	1.356	Variance:	2.13e+004 um^2
模式：	288.4 um	C.V.:	92.7%
		Skewness:	1.23 右曲
		Kurtosis:	1.45 Leptokurtic

% >	10	25	50	75	90
大小 um	363.2	242.8	116.1	37.60	11.32

圖 5

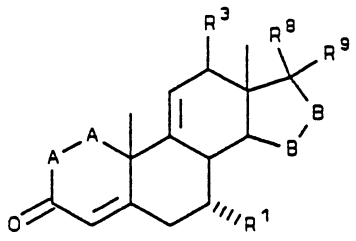
I277620

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 1 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



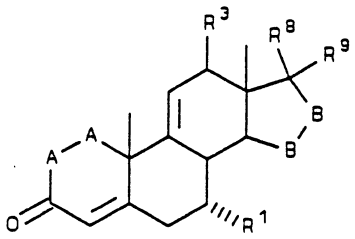
II

公告本

修正補充 95年5月11日

十、申請專利範圍

1. 一種製備式II化合物之方法：



II

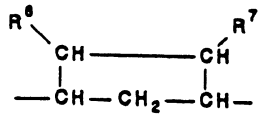
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方位之低碳烷氧羰基或羥基羰基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



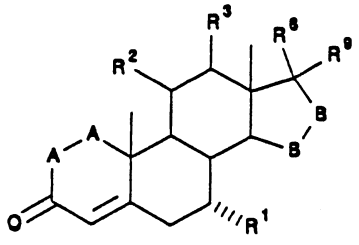
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括稠合至五環D環之碳環或雜環結構；

此方法包括：

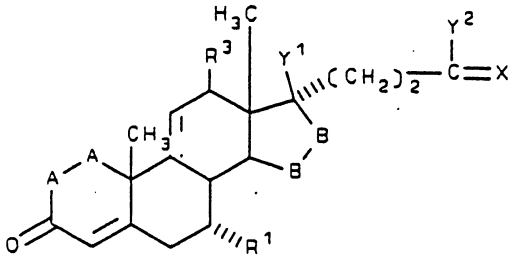
自下式IV化合物中移去11α-離去基：



IV

其中-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，R^8及R^9如上文所定義，且R^2是離去基，其消去可有效地產生9-及11-碳原子間之雙鍵。

2. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該式II化合物相當於式IIA：

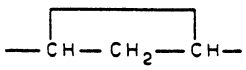


IIA

其中：

-A-A-代表$-CH_2-CH_2-$或-CH=CH-基團；

-B-B-代表$-CH_2-CH_2-$或α-或β-方向之式IIIA基團：



IIIA

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基；

R^3代表氫；

X代表二個氫原子或酮基；

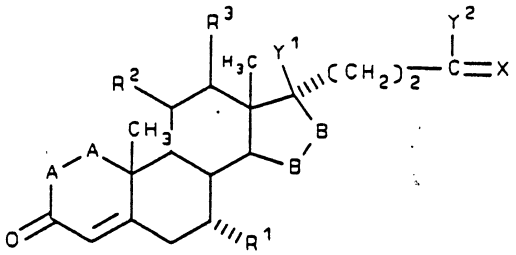
Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也代表低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基，且Y^2代表羥基，此方法包括：

將含有低碳烷酸及其鹽之溶液，與式IVA化合物接觸：

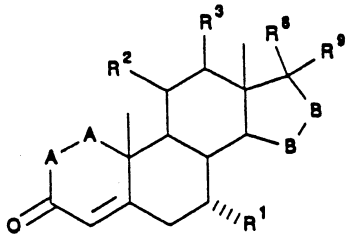


IVA

其中-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，X，Y^1及Y^2如式IIA中所定義，且R^2是低碳烷基磺醯氧基或醯氧基。

3. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該式IV化合物是17α-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧基-3-酮基孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯，且式II化合物是17α-羥基-3-酮孕-4,9(11)-二烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

4. 一種製備式IV化合物之方法：



IV

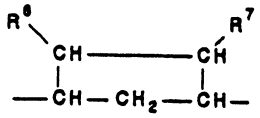
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基或羥基羰基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

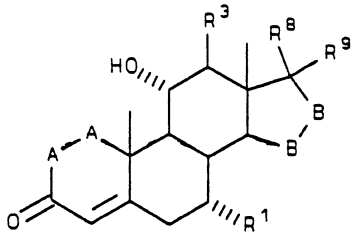
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起形成包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構並稠合至五環D環上；且

R^2是低碳烷基磺醯氧基或醯氧基或鹵化物；

此方法包括：

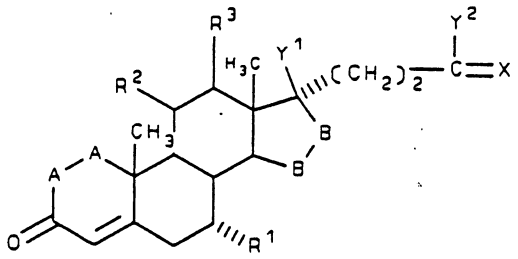
將低碳烷基磺醯化劑或醯化劑或鹵化物產生劑，如亞硫醯鹵，硫醯鹵，或草醯鹵，與下式V化合物反應



V

其中-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，R^8及R^9如上文般定義。

5. 根據申請專利範圍第4項之方法，其中該式IV化合物相當於式IVA：



IVA

其中：

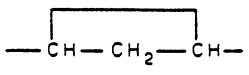
-A-A-代表$-CH_2-CH_2-$或-CH=CH-基團；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基；

R^3代表氫；

R^2代表低碳烷基磺醯氧基或醯氧基；

-B-B-代表$-CH_2-CH_2-$或α-或β-方向之基團：



IIIA

X代表二個氫原子或酮基；

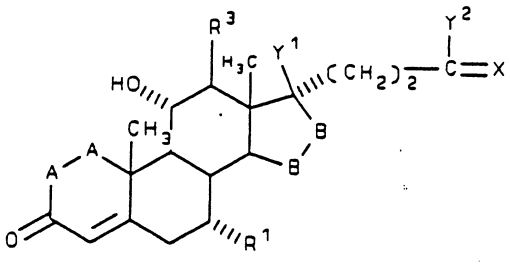
Y^1或Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基或，若X代表H_2，也可為低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽，其中X代表酮基且Y^2代表羥基，此方法包括：

將低碳烷基磺醯基或醯基鹵在鹵化氫清除劑存在下，與相當於下式之化合物反應：

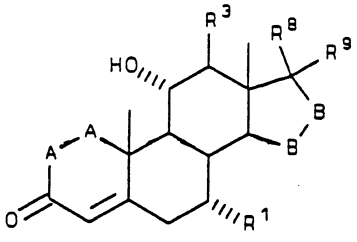


VA

其中-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，X^1，Y^1及Y^2如式IVA中所定義。

6. 根據申請專利範圍第4項之方法，其中該式IV化合物是17α-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯，且該式V化合物是11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

7. 一種製備下式V化合物之方法：



V

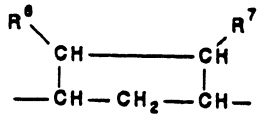
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基或羥基羰基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



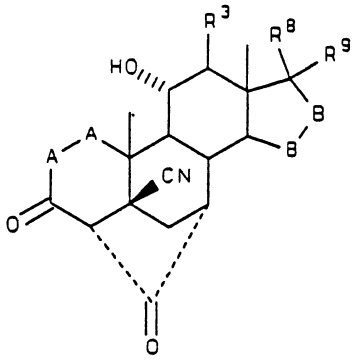
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構並稠合至五環D環；

此方法包括：

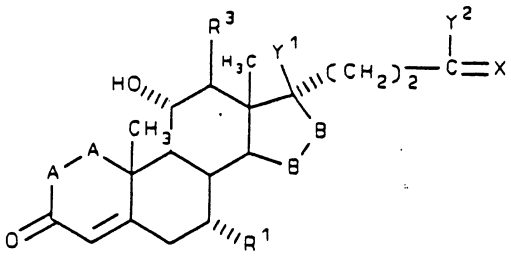
將式VI化合物與相當於式$R^{10}OM$之鹼金屬烷氧化物反應，其中M是鹼金屬，且$R^{10}O$-相當於R^1之烷氧基取代基，該式VI化合物具以下結構：



VI

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文般定義。

8. 根據申請專利範圍第7項之方法，其中式V化合物相當於下式：



VA

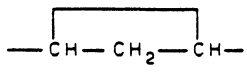
其中

-A-A-代表-CH_2-CH_2-或-CH=CH-基團；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基；

R^3代表氫；

-B-B-代表-CH_2-CH_2-或α-或β-方向之基團：



IIIA

X代表二個氫原子或酮基；

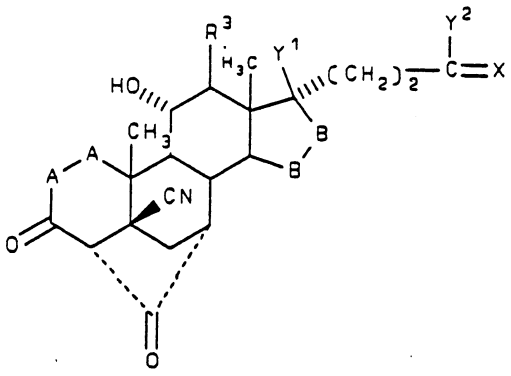
Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基或，若X代表H_2，也可為低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基且Y^2代表羥基，此方法包括：

將式VIA化合物與相當於式$R^{10}OM$之鹼金屬烷氧化物反應，並在具化式為$R^{10}OH$之醇存在下，其中M是鹼金屬，且$R^{10}O$-相當於R^1之烷氧基取代基，該式VIA化合物具有以下結構：



VIA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1，Y^2及X如式VA所定義。

9. 根據申請專利範圍第7項之方法，其中式V化合物是11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，內酯，且式VI化合物是4'S(4'α),7'α-十六氫-11'α-羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]-5'β(2'H)-腈。

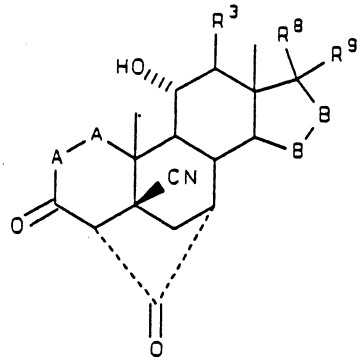
10. 根據申請專利範圍第7項之方法，其中的氰化物離子是以反應之副產物形成，其方法進一步包括自反應中之反應帶移去氰化物離子，以減少氰化物離子與式V產物有任何反應程度。

11. 根據申請專利範圍第10項之方法，其中氰化物離子經由與沉澱劑沉澱而自反應中移去。

12. 根據申請專利範圍第11項之方法，其中反應係在溶劑介質中進行，且該沉澱劑包括一種鹽，其所含之陽離子可形成氰化物化合物，且在該介質中之溶解度較其中沉澱劑之溶解度小。

13. 根據申請專利範圍第12項之方法，其中該陽離子選自下列包括鹼土金屬離子及過渡金屬離子。

14. 一種製備式VI化合物之方法：



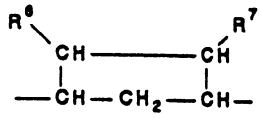
VI

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



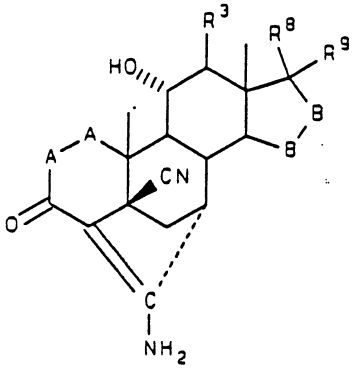
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環上；

此方法包括：

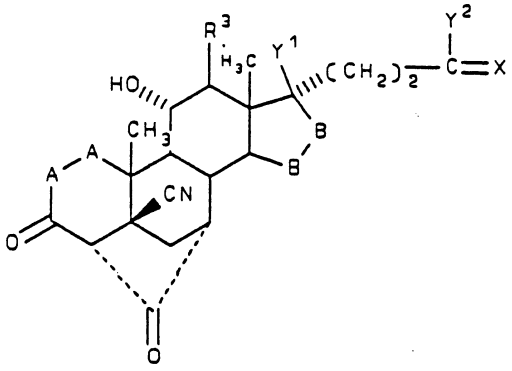
水解相當於式VII之化合物：



VII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義。

15. 根據申請專利範圍第14項之方法，其中該式VI化合物相當於下式：

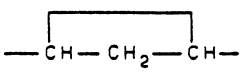


VIA

其中：

-A-A-代表$-CH_2-CH_2-$或-CH=CH-基團；

-B-B-代表$-CH_2-CH_2-$或α-或β-方向之基團：



IIIA

R^3代表氫；

X代表二個氫原子或酮基；

Y^1及Y^2一起代表氧橋，-O-，或

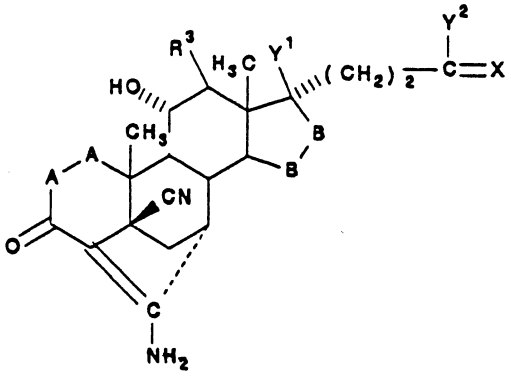
Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也可為低

碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基且Y^2代表羥基，此方法包括：

在酸及有機溶劑及/或水存在下水解式VIIA化合物，該式VIIA化合物具有以下結構：

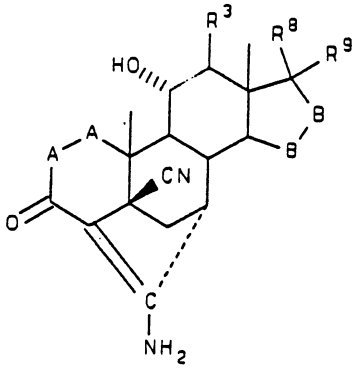


VIIA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1，Y^2及X如式VIA中所定義。

16. 根據申請專利範圍第14項之方法，其中式VI化合物是4'S(4'α),7'α-十六氫-11'α-羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]-5'β(2'H)-腈，且式VII化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六氫-11'β-羥基-10'α,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲]-5'-腈。

17. 一種製備式VII化合物之方法：



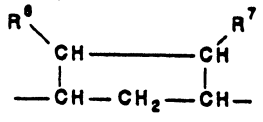
VII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

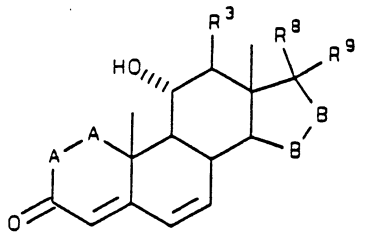
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構並稠合至五環D環上；

此方法包括：

將式VIII化合物與氰化物離子源在鹼金屬鹽存在下反

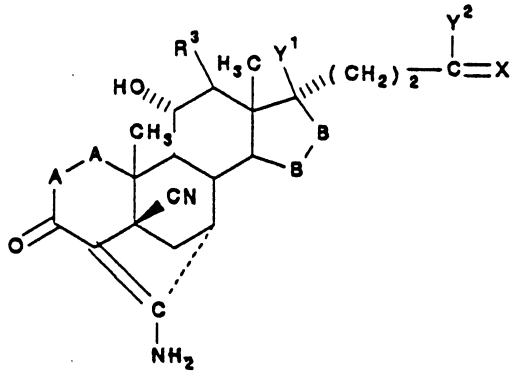
應，該式VIII化合物具有以下結構：



VIII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義。

18. 根據申請專利範圍第17項之方法，其中該式VII化合物相當於式VIIA：

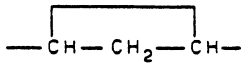


VIIA

其中：

-A-A-代表-CH_2-CH_2-或-CH=CH-基團；

-B-B-代表-CH_2-CH_2-或α-或β-方向之基團：



IIIA

R^3代表氫；

X代表二個氫原子或酮；

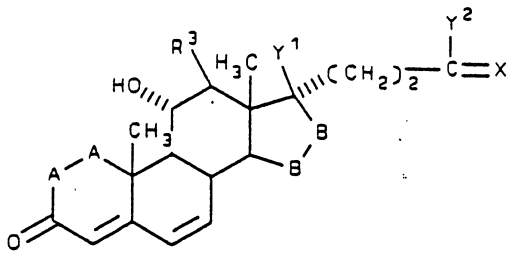
Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也可為低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽，其中X代表酮基且Y^2代表羥基，此方法包括：

將氰化物源，如丙酮合氰化氫，於鹼金屬鹽存在下如LiCl及鹼存在下，與相當於下式之11α-羥基化合物反應：



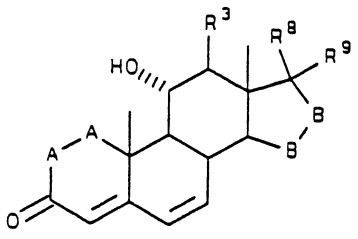
VIIIA

其中-A-A-，-B-B-，R^3，Y^1，Y^2及X如式VIIA中所定義。

19. 根據申請專利範圍第17項之方法，其中該式VII化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六氫-11'β-羥基-10'α,13'α-二甲基-3',5'-二酮基螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲]-5'-腈，且式VIII化合物是11α,17α-二羥基-3-酮孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯。

20. 根據申請專利範圍第17項之方法，其中該氰化物離子來源包括鹼金屬氰化物，該式VIII化合物及氰化物離子間之反應係在酸及水存在下進行的。

21. 一種製備式VIII化合物之方法：



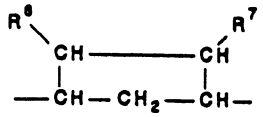
VIII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



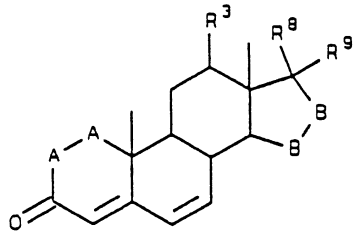
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環；

此方法包括：

在可將11-羥基有效引入相當於式XIII受質化合物之α-方向之微生物存在下，醱酵氧化該受質，該受質相當於下化式：

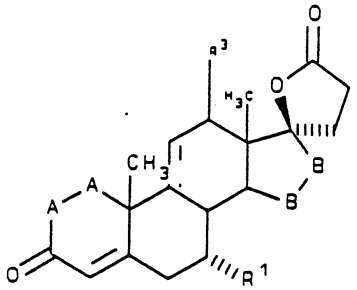


XIII

其中-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，R^8及R^9如上文般定義。

22. 根據申請專利範圍第21項之方法，其中該式VIII化合物是11α,17α-二羥基-3-酮孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯。

23. 一種製備相當於下式之美克瑞酮(mexrenone)衍生物之方法：



XXXI

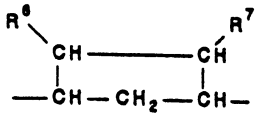
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基或羥羰基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



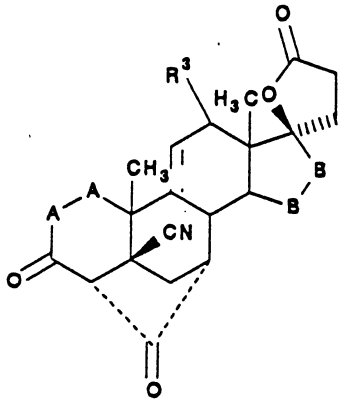
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

將式XIVB化合物與相當於式R^{10}OM之鹼金屬烷氧化物反

應，其中M是鹼金屬，且$R^{10}O$-相當於R^1之烷氧基取代基，該式XIVB化合物具有以下結構：

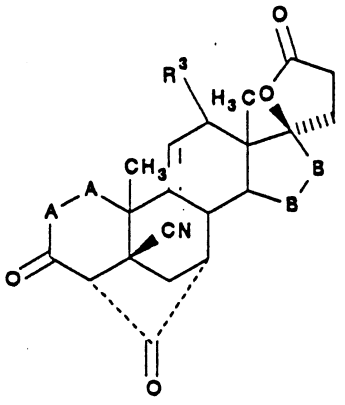


XIVB

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

24. 根據申請專利範圍第23項之方法，其中該式XIV化合物是 4'S(4'α),7'α-1',2',3',4,4',5,5',6',7',8',10',12',13',14',15',16'-十六氫-10β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]5'-腈。

25. 一種製備下式XIVB化合物之方法：



XIVB

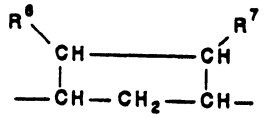
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基

及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

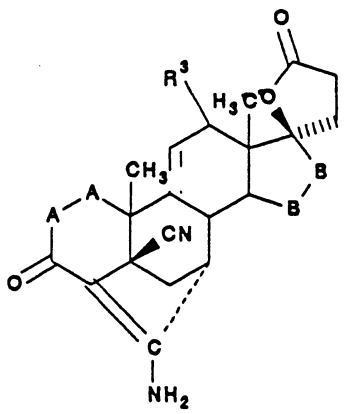


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

水解相當於式XVB之化合物：

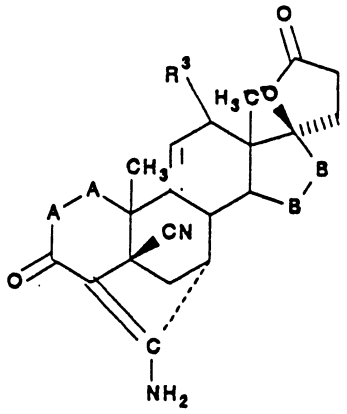


XVB

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

26. 根據申請專利範圍第25項之方法，其中該式XIV化合物是 4'S(4'α),7'α-1',2',3',4,4',5,5',6',7',8',10',12',13',14',15',16'-十六氫-10β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]5'-腈，且式XV化合物是 5'R(5'α),7'β-20'-胺基-1',2',3',4,5,5',6',7',8',10',12',13',14',15',16'-十四氫-10'α,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲]-5'-腈。

27. 一種製備相當於式XVB化合物之方法：



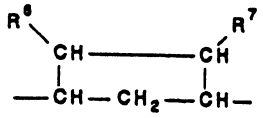
XVB

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；及

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

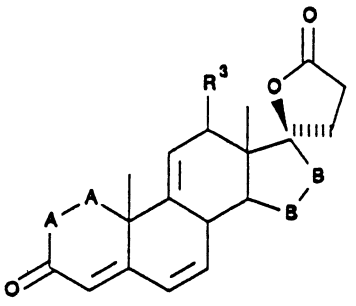


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括：氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥基烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

將式XVI化合物在鹼金屬鹽存在下，與氰化物離子來源反應，該式XVI化合物具以下結構：

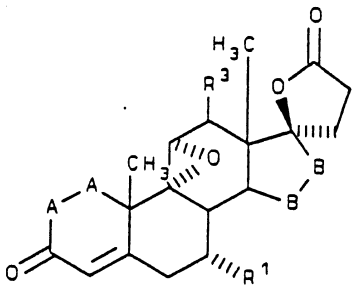


XVI

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

28. 根據申請專利範圍第27項之方法，其中該式XVB化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基-1',2',3',4,5,6',7',8',10',12',13',14',15',16'-十四氫-10'α,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]-環戊[a]菲]-5'-腈。

29. 一種製備相當於下式化合物之方法：



XXXII

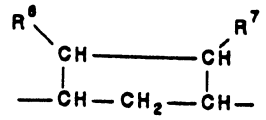
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括：氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基或羥羰基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

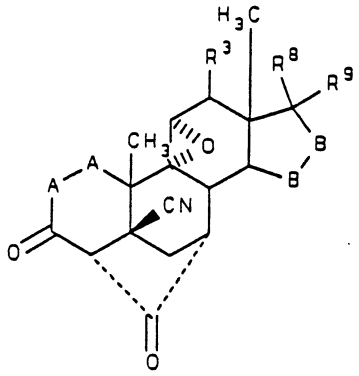


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括：氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

將式XXI化合物與相當於式$R^{10}OM$之鹼金屬烷氧化物反應，其中M是鹼金屬且$R^{10}O$-相當於R^1之烷氧基取代基，該式XXI化合物具以下結構：



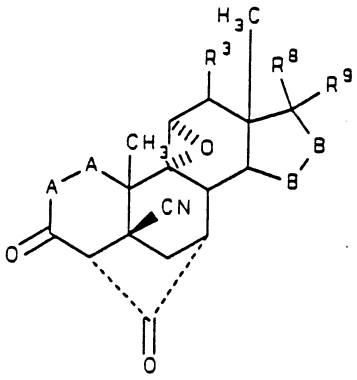
XXI

其中-A-A-，-B-B-，R^1及R^3如上文所定義，且R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥基烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

30. 根據申請專利範圍第29項之方法，其中該式XXI化合物是4'S(4'α),7'α-9',11α-環氧十六氫-10β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]

菲-5'-腈。

31. 一種製備相當於式XXI化合物之方法：



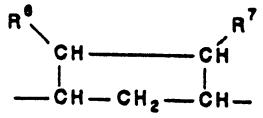
XXI

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



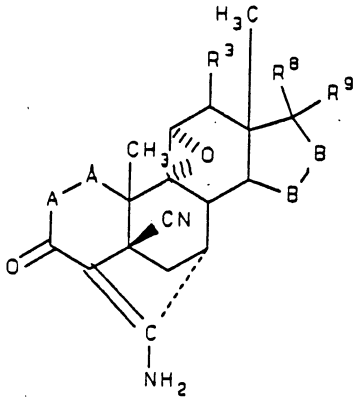
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起含有碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環；

此方法包括：

水解相當於式XXII之化合物：

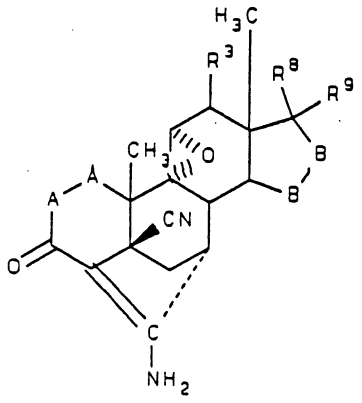


XXII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義。

32. 根據申請專利範圍第31項之方法，其中該式XXI化合物是4'S(4'α),7'α-9',11α-環氧基十六氫-10β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲-5'-腈，且式XXII化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基-9,11β-環氧十六氫-10',13'-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'a(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲-5'-腈。

33. 一種製備相當於式XXII化合物之方法：



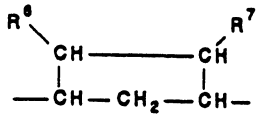
XXII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



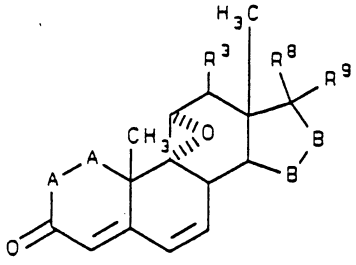
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環上；

此方法包括：

將式XXIII化合物與氰化物離子源在鹼金屬鹽存在下反應，該式XXIII化合物具有以下結構：



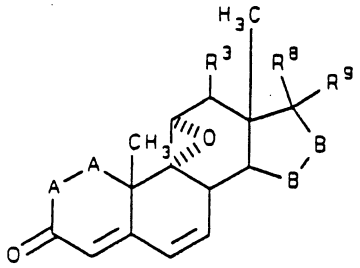
XXIII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義。

34. 根據申請專利範圍第33項之方法，其中式XXII化合物是

5'R(4'α),7'β-20'-胺基-9,11β-環氧十六氫-10',13'-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'a(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲-5'-腈且該式XXIII化合物是9,11α-環氧基-17α-羥基-3-酮基孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯。

35. 一種製備相當於式XXIII化合物之方法：



XXIII

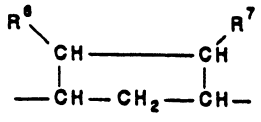
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

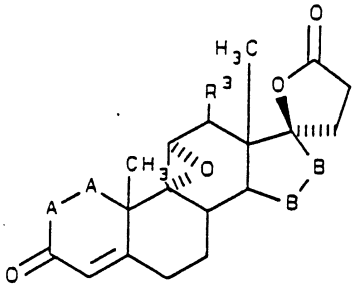
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧

羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環；

此方法包括：

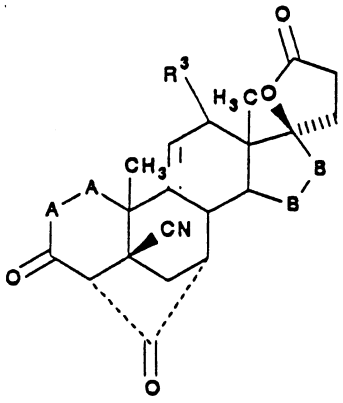
自相當於下式化合物之6及7位置上除去氫：



XXIV

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義。

36. 一種製備下式XIVB化合物之方法：



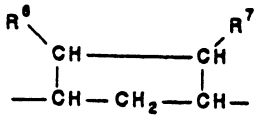
XIVB

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

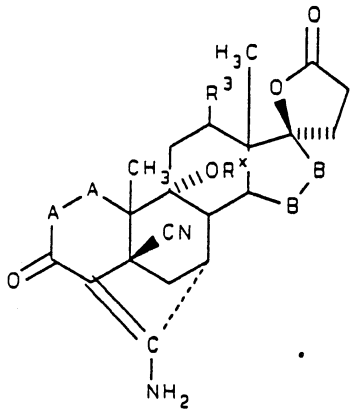


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

水解相當於式XXV之化合物：



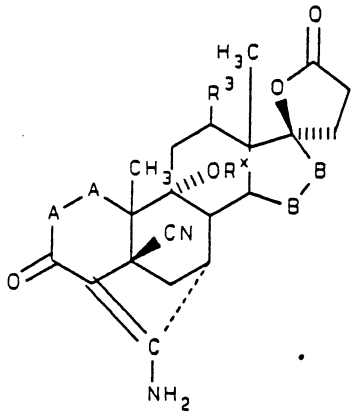
XXV

其中R^x是羥基保護基；且

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

37. 根據申請專利範圍第36項之方法，其中該式XIV化合物是 4'S(4'α),7'α-1',2',3',4,4',5,5',6',7',8',10',12',13',14',15',16'-十六氫-10β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]5'-腈，且式XXV化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六氫-9'β-羥基-10'a,13'α二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲]-5'-腈。

38. 一種製備相當於式XXV化合物之方法：



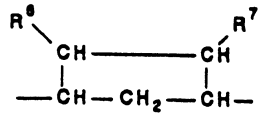
XXV

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



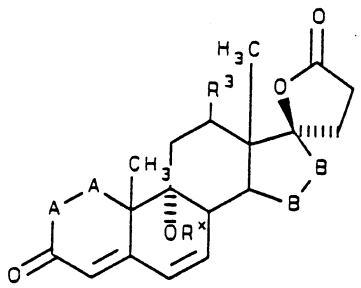
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

其中R^x是羥基保護基，

此方法包括：

將式XXVI化合物與氰化物離子源在鹼金屬存在下反應，該式XXVI化合物具有以下結構：

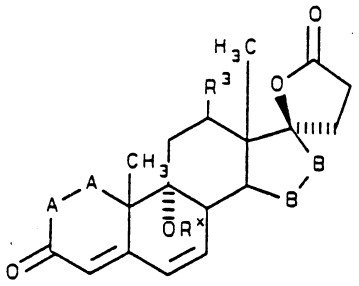


XXVI

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

39. 根據申請專利範圍第38項之方法，其中該式XXV化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六氫-9'β-羥基-10'a,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲]-5'-腈，且式XXVI化合物是9α,17α-二羥基-3-酮孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯。

40. 一種製備相當於式XXVI化合物之方法：



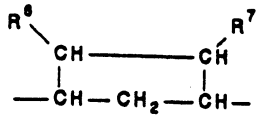
XXVI

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧，羥基烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



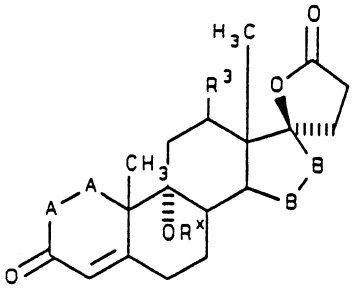
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥基烷基，烷氧烷基，羥基羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

其中R^x是羥基保護基；

此方法包括：

消去相當於下式化合物6及7位置上之氫(去氫化作用)：

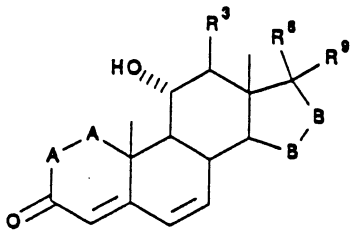


XXVII

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

41. 根據申請專利範圍第40項之方法，其中該式XXVI化合物是9α,17α-二羥基-3-酮孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯，且該式XXVII化合物是9α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-21-羧酸，γ-內酯。

42. 一種製備相當於式VIII化合物之方法：



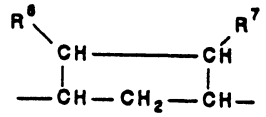
VIII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-；

R^3選自下列包括：氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥基烷基，烷氧烷基，羥基羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



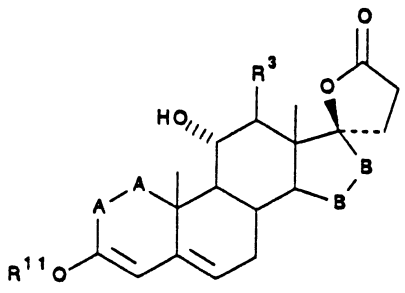
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括：氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥基羰基，烷基，烷氧羰基，醯基氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環；

此方法包括：

氧化相當於式104之化合物：



[104]

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文定義，且R^{11}是C_1-C_4烷基。

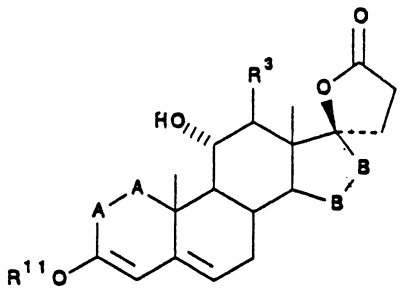
43. 根據申請專利範圍第42項之方法，其中式VIII化合物係與氧化劑接觸。

44. 根據申請專利範圍第43項之方法，其中該氧化劑是苯醌衍生物。

45. 根據申請專利範圍第44項之方法，其中該氧化劑選自下列包括2,3-二氯-5,6-二氰-1,4-苯醌，及四氯苯醌。

46. 根據申請專利範圍第42項之方法，其中該式104化合物與鹵化劑接觸以產生鹵化之中間物；且該鹵化之中間物與去氫鹵化劑接觸，以去氫鹵化該鹵化中間物，並形成該式104化合物。

47. 一種製備相當於式104化合物之方法：



104

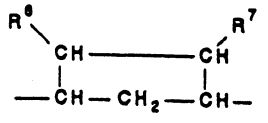
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{11}是C_1-C_4低碳烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

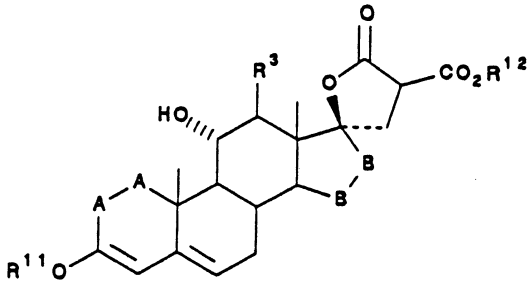


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

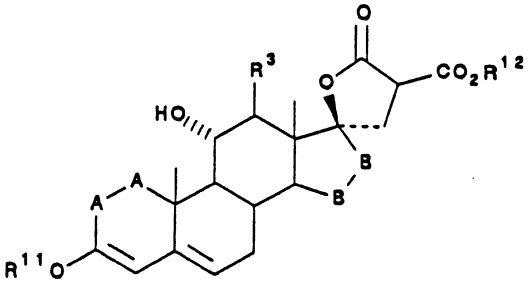
在鹼金屬鹵化物存在下熱分解相當於式103化合物，該式103化合物具有以下結構：



103

其中-A-A-，-B-B-，R^3及R^{11}如上文定義，且R^{12}是C_1-C_4烷基。

48. 一種製備相當於式103化合物之方法：



103

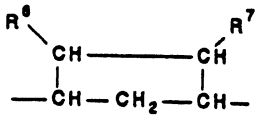
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{11}是C_1-C_4低碳烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向基團：

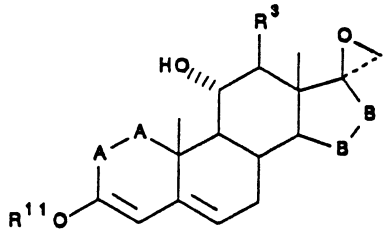


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

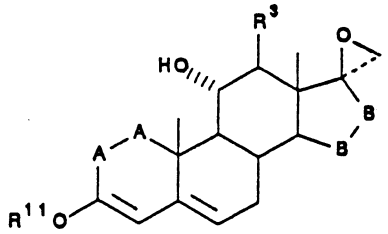
將式102化合物與丙二酸二烷基酯，於鹼存在下縮合，該式102化合物具以下結構：



102

其中-A-A-，-B-B-，R^3及R^{11}如上文般定義。

49. 一種製備相當於式102化合物之方法：



102

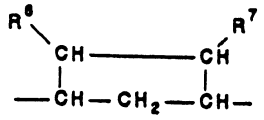
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{11}是C_1-C_4烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

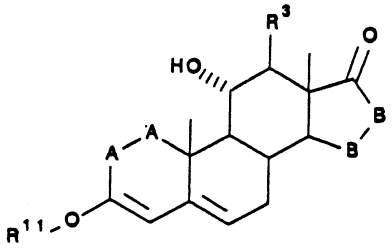


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

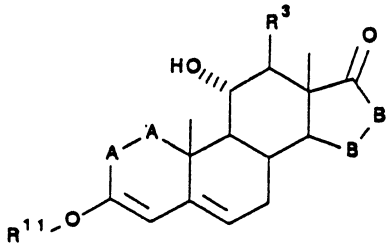
將式101化合物在鹼存在下與銃炔化物反應，該式101化合物具有以下結構：



101

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

50. 一種製備相當於式101化合物之方法：



101

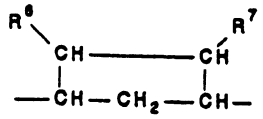
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{11}是C_1-C_4烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

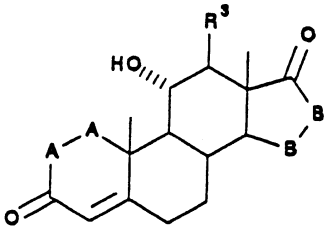


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

此方法包括：

在酸催化劑存在下，將式XXXVI化合物與醚化試劑反應，該式XXXVI化合物具有以下結構：

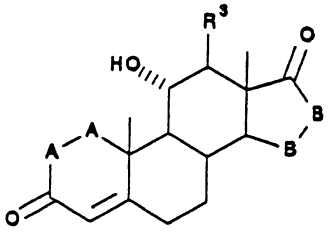


XXXVI

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義。

51. 根據申請專利範圍第50項之方法，其中該式101化合物由式XXXVI化合物與原甲酸三烷酯在酸化之烷醇溶劑中反應而製備。

52. 一種製備式XXXVI化合物之方法：



XXXVI

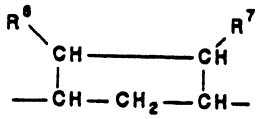
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧

基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

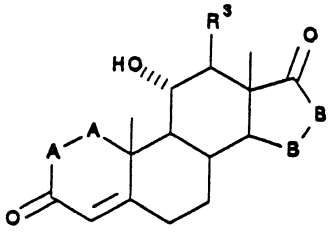


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

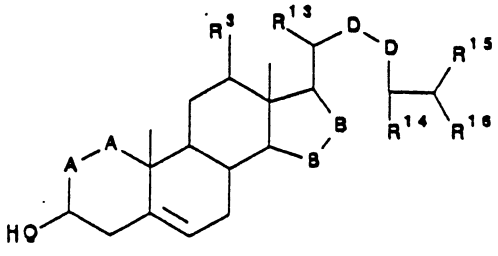
此方法包括：

經由在可有效轉化式XXXVII受質化合物成為式XXXVI化合物之微生物存在下，以醱酵作用氧化該受質化合物



XXXVI

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義，該式XXXVII受質化合物相當於下式

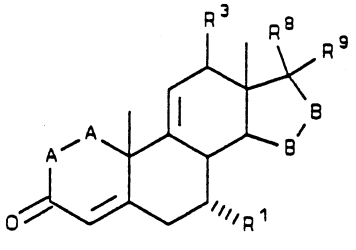


XXXVII

其中-A-A-，-B-B-及R^3如上文所定義；D-D是-CH_2-CH_2-或-CH=CH-；且R^{13}，R^{14}，R^{15}，及R^{16}獨立選自下列包括C_1-C_4烷基；且之後將11-羥基引入該式XXXVI化合物之α-方向，係在可有效達成11α-羥化作用之微

生物存在下醱酵而成。

53.一種製備相當於式II化合物之方法：



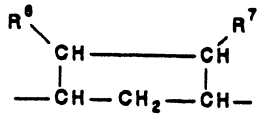
II

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



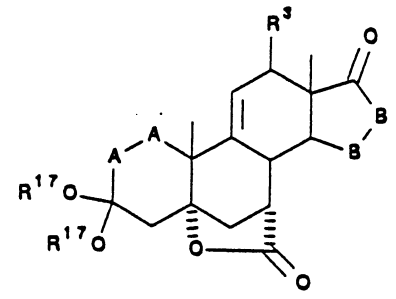
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環；

此方法包括：

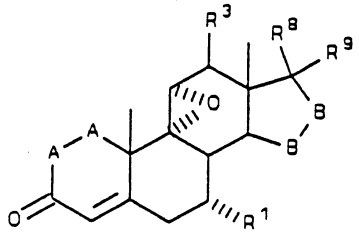
烷化式D化合物，係行水解作用再於鹼存在下與烷化試劑反應，式D化合物具有以下結構：



D

其中-A-A-，R^3及-B-B-如上文所定義，且R^{17}是C_1-C_4烷基。

54.一種製備相當於式I化合物之方法：



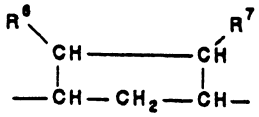
I

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^1為低碳烷氧羰基；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

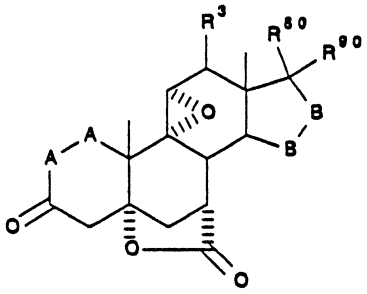
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，

醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起形成碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環；

此方法包括：

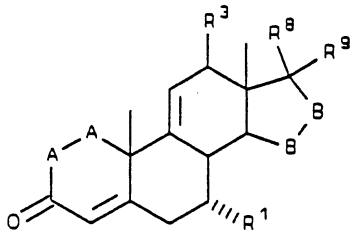
烷化式A211化合物，係在鹼存在下與烷化劑反應，式A211化合物具以下結構：



[A211]

其中-A-A-，-B-B-，R^3，且R^{80}及R^{90}如R^8及R^9所定義或R^{80}及R^{90}一起形成酮基。

55. 一種製備相當於式II化合物之方法：



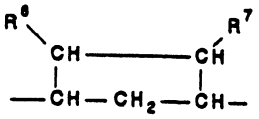
II

其中-A-A-代表$-CHR^4-CHR^5-$或$-CR^4=CR^5-$基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基或羥羰基；且

-B-B-代表$-CHR^6-CHR^7-$或α-或β-方向之基團：



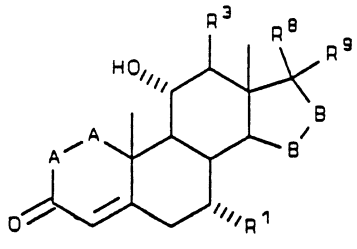
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構；

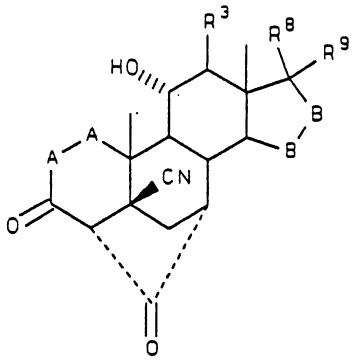
此方法包括：

製備式V化合物



V

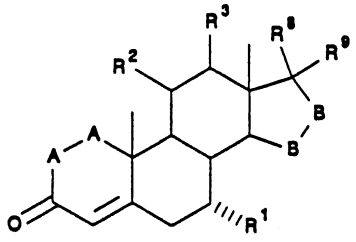
其中-A-A-，R^1，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義，係將式VI化合物與相當於式$R^{10}OM$之鹼金屬烷氧化物反應，其中M是鹼金屬且$R^{10}O$-相當於R^1之烷氧基取代基，該式VI化合物具有以下結構：



VI

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義；

並未將式V化合物以純型式分離，將該式V化合物與低碳烷基磺醯化劑或醯化劑反應，產生式IV化合物

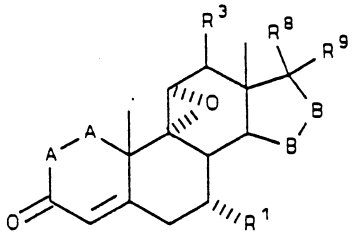


IV

其中-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，R^8及R^9如上文般定義，且R^2是烷基磺醯氧基，醯氧基離去基或鹵化物；

並未以純型式分離式IV化合物，與可消去11α-離去基之試劑反應以移去此基，產生該式II化合物。

56. 根據申請專利範圍第55項之方法，其中並未以純型分離式II化合物，該式II化合物與環氧化試劑反應以形成式I化合物



I

其中-A-A-，-B-B-，R^1，R^3，R^8及R^9如申請專利範圍第

83項中所定義。

57. 根據申請專利範圍第56項之方法，其中：

該式II化合物之形成係將式IV化合物與離去基移除試劑反應，其中含有烷酸並在鹼金屬烷氧化物存在下；

揮發性組份自反應溶液中汽滌除去；

反應溶液中之水溶性組份由水性洗液洗滌移去，由是產生殘留的式II溶液，適於將式II化合物轉化成式I化合物；及

將過氧化物氧化劑與殘留的式II溶液混合，以達成式II化合物至式I化合物之轉化。

58. 根據申請專利範圍第56項之方法，其中：

該式V化合物之形成係將式VI化合物與鹼金屬烷氧化物在有機溶劑中反應，由是產生式V反應溶液；

式V化合物自含有式V反應溶液之溶液中以有機溶劑萃取，由是產生式V萃取溶液；及

將低碳烷基磺醯鹵或醯基鹵引入含有該式V萃取溶液之溶液中，以製成式VI化合物。

59. 根據申請專利範圍第56項之方法，其中：

該式IV化合物之形成係將式V化合物與離去基消除試劑在有機溶劑中反應，由是產生式IV反應溶液；

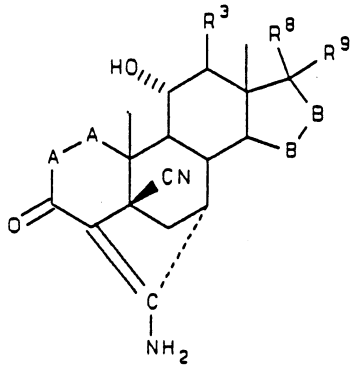
含有式IV反應溶液之溶液，先通過酸式再通過鹼式交換樹脂管柱，以移去其中的鹼性及酸性雜質，由是產生式IV溶離溶液；且

將可消除烷基磺醯氧基或醯氧基離去基之試劑與含有該

式IV溶離溶液之溶液混合，以製成式II化合物。

60. 根據申請專利範圍第55項之方法，其中：

該式VI化合物之形成係水解相當於式VII之化合物：



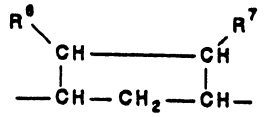
VII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



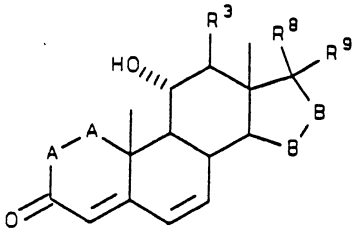
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥基烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜

環結構，並稠合至五環D環上。

61. 根據申請專利範圍第60項之方法，其中：該式VII化合物之形成係將式VIII化合物與氧化物離子來源在鹼金屬鹽存在下反應，該式VIII化合物具以下結構：



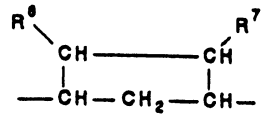
VIII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

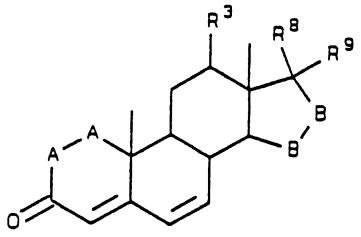
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包含碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

62. 根據申請專利範圍第61項之方法，其中：

式VIII化合物之形成係由在可有效地將11-羥基引入受質α-方向之微生物存在下，醱酵氧化相當於式X之受質化合物，

該受質相當於下式：



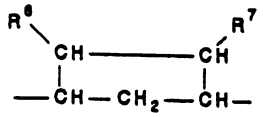
XIII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



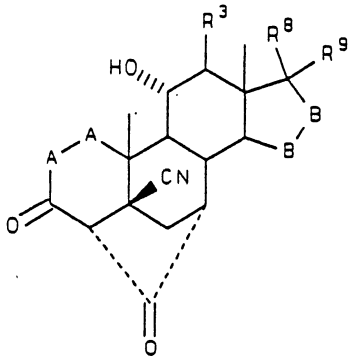
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜

環結構，並稠合至五環D環。

63. 一種製備相當於式VI化合物之方法：



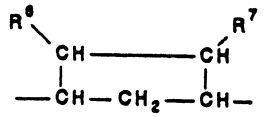
VI

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



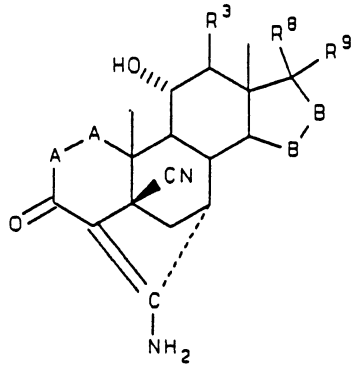
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構；

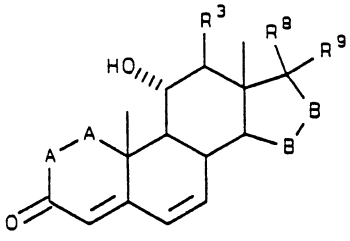
此方法包括：

製備式VII化合物



VII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義，係將式VIII化合物與氰化物離子來源在鹼金屬鹽存在下反應，該式VIII化合物具有以下結構：

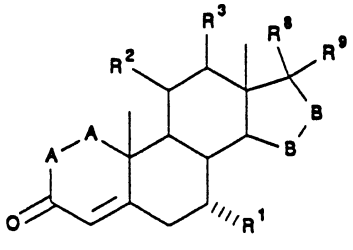


VIII

其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義；

未將式VII化合物以純型式分離，水解式VII化合物，並在酸及有機溶劑及/或水存在下，其中-A-A-，-B-B-，R^3，R^8及R^9如上文所定義，以產生該式VI化合物。

64. 一種式IV化合物：



IV

其中

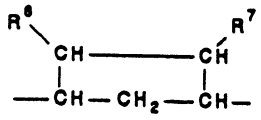
-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷

基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基或羥羰基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



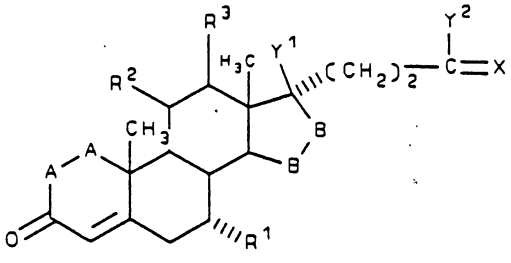
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，其並稠合至五環D環上；且

R^2是低碳烷基磺醯氧基或醯氧基，或鹵化物。

65. 根據申請專利範圍第64項之化合物，其中該化合物相當於式IVA：



IVA

其中

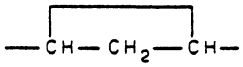
-A-A-代表-CH_2-CH_2-或-CH=CH-基團；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基；

R^2代表低碳烷基磺醯氧基或醯氧基；

R^3代表氫；

-B-B-代表-CH_2-CH_2-或α-或β-方向之基團：



IIIA

X代表二個氫原子或酮基；

Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

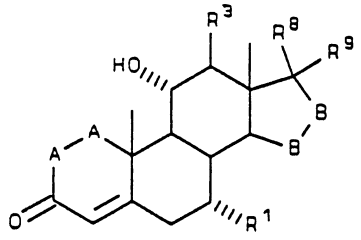
Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也可以是低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基且Y^2代表羥基。

66. 根據申請專利範圍第64項之式IV化合物，其中該化合物是17α-羥基-11α-(甲基磺醯基)氧基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯，γ-內酯。

67. 一種式V化合物：



V

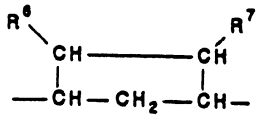
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基或羥羰基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

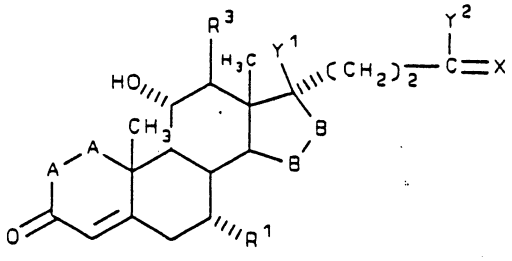


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環上。

68. 根據申請專利範圍第67項之式V化合物，其中該化合物相當於下式：



VA

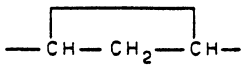
其中

-A-A-代表-CH_2-CH_2-或-CH=CH-基團；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基；

R^3代表氫；

-B-B-代表-CH_2-CH_2-或α-或β-方向之基團：



IIIA

X代表二個氫原子或酮；

Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

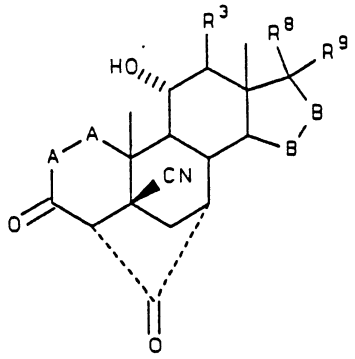
Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也可以是低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基，且Y^2代表羥基。

69. 根據申請專利範圍第67項之式V化合物，其中化合物是11α,17α-二羥基-3-酮孕-4-烯-7α,21-二羧酸甲酯,γ-內酯。

70. 一種式VI化合物：



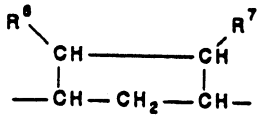
VI

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

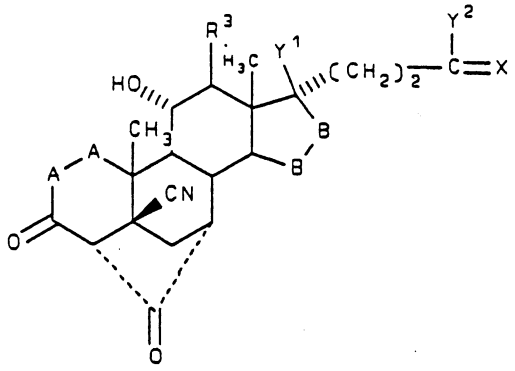


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

71. 根據申請專利範圍第70項之式VI化合物，其中該化合物相當於下式：

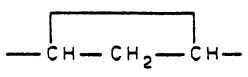


VIA

其中：

-A-A-代表$-CH_2-CH_2-$或-CH=CH-基團；

-B-B-代表$-CH_2-CH_2-$或α-或β-方向之基團：



IIIA

R^3代表氫；

X代表二個氫原子或酮基；

Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

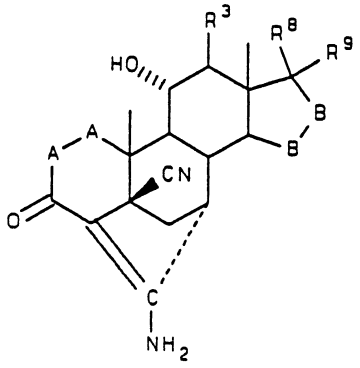
Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也可以是低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基且Y^2代表羥基。

72. 根據申請專利範圍第70項之式VI化合物，其中該化合物是4'S(4'α),7'α-十六氫-11'α-羥基-10'β,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]-5'β (2'H)-腈。

73. 一種式VII化合物：



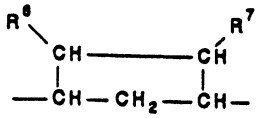
VII

其中

-A-A-代表$-CHR^4-CHR^5-$或$-CR^4=CR^5-$基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表$-CHR^6-CHR^7-$或α-或β-方向之基團：

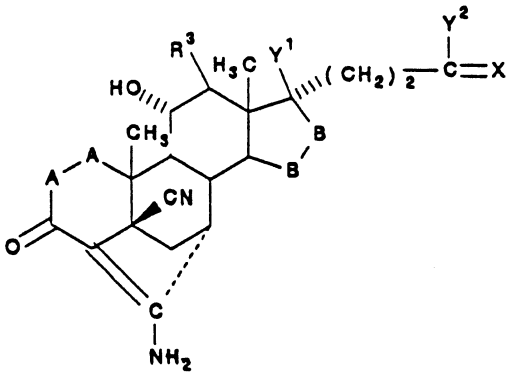


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

74. 根據申請專利範圍第73項之式VII化合物，其中該化合物相當於式VIIA：

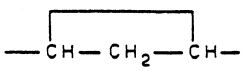


VIIA

其中：

-A-A-代表$-CH_2-CH_2-$或-CH=CH-；

-B-B-代表$-CH_2-CH_2-$或α-或β-方向之基團：



IIIA

R^3代表氫；

X代表二個氫原子或酮基；

Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

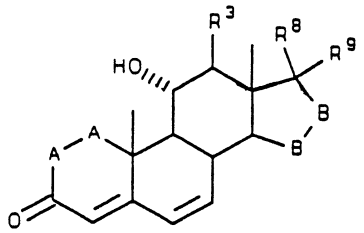
Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也可以是低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基且Y^2代表羥基。

75. 根據申請專利範圍第73項之式VII化合物，其中該化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基-十六氫-11'β-羥基-10'α,13'α-二甲基-3',5'-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α (5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲]-5'-腈。

76. 一種式VIII化合物



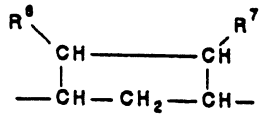
VIII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



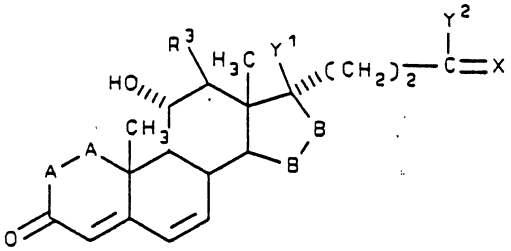
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，

醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8及R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環上。

77. 根據申請專利範圍第76項之式VIII化合物，其中該化合物相當於式VIIIA：

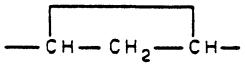


VIIIA

其中：

-A-A-代表$-CH_2-CH_2-$或-CH=CH-；

-B-B-代表$-CH_2-CH_2-$或α-或β-方向之基團：



IIIA

R^3代表氫；

X代表二個氫原子或酮基；

Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

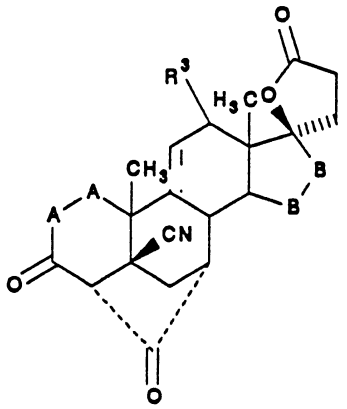
Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也可以是低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基且Y^2代表羥基。

78. 根據申請專利範圍第76項之式VIII化合物，其中該化合

物是11α,17α-二羥基-3-酮孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯。

79. 一種式XIVB化合物：



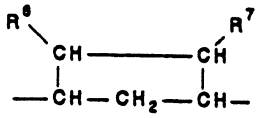
XIVB

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

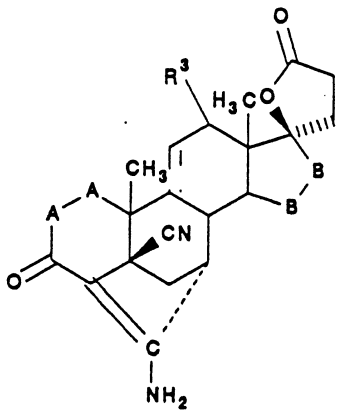


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

80. 根據申請專利範圍第79項之式XIVB化合物，其中該化合物是4'S(4'α),7'α-1',2',3',4,4',5,5',6',7',8',10',12',13',14',15',16'-十六氫-10β-,13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]環戊[a]菲]-5'-腈。

81. 一種相當於式XVB之化合物：



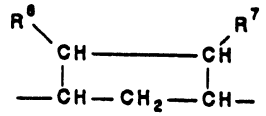
XVB

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

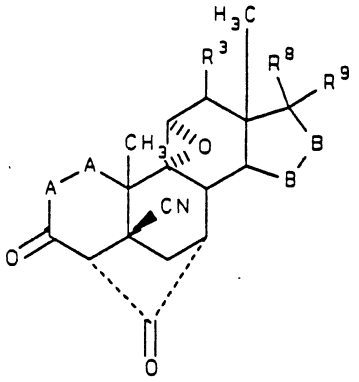


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

82. 根據申請專利範圍第81項之式XVB化合物，其中該化合物是 5'R(5'α),7'β-20'- 胺基 -1',2',3',4,5,6',7',8',10',12',13',14',15',16'- 十四氫基 -10'α,13'α- 二甲基 -3',5- 二酮螺[呋喃 -2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]-環戊[a]菲]-5'-腈。

83. 一種相當於式XXI之化合物：



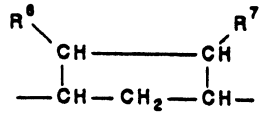
XXI

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

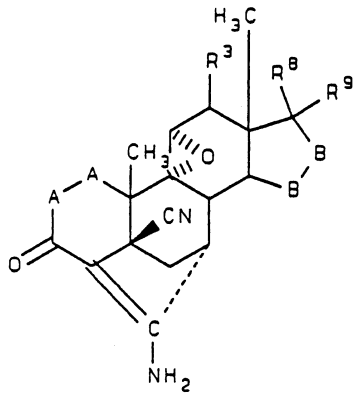


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

84. 根據申請專利範圍第83項之式XXI化合物，其中該化合物是4'S(4'α),7'α-9',11α-環氧十六氫-10β-13'β-二甲基-3',5,20'-三酮螺[呋喃-2(3H),17'β-[4,7]亞甲[17H]-環戊[a]菲-5'-腈。

85. 一種相當於式XXII之化合物：



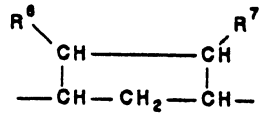
XXII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

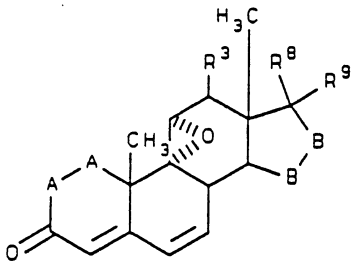


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

86. 根據申請專利範圍第85項之式XXII化合物，其中該化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基-9,11β-環氧基十六氫-10',13'-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'a(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲-5'-腈。

87. 一種相當於式XXIII之化合物：



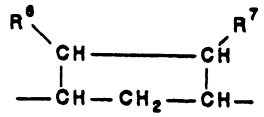
XXIII

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

88. 根據申請專利範圍第87項之式XXIII化合物，其中R^8及R^9加上與之粘附之環碳形成以下結構：



XXXIV

其中

X代表二個氫原子或酮基；

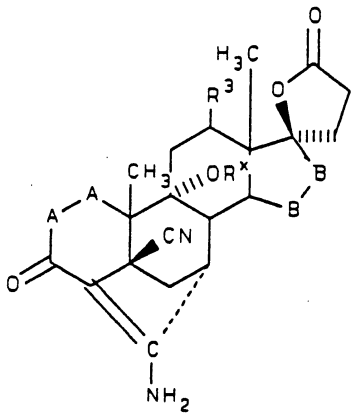
Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基或，若X代表H_2，也可以是低碳烷醯氧基；

及此化合物之鹽，其中X代表酮基，且Y^2代表羥基。

89. 一種相當於式XXV之化合物：



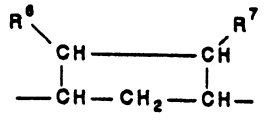
XXV

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

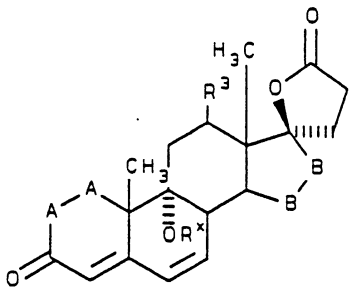
R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧

羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，且

R^x選自氫或羥基保護基。

90. 根據申請專利範圍第89項之式XXV化合物，其中該化合物是5'R(5'α),7'β-20'-胺基十六氫-9'β-羥基-10'a,13'α-二甲基-3',5-二酮螺[呋喃-2(3H),17'α(5'H)-[7,4]亞甲[4H]環戊[a]菲]-5'-腈。

91. 一種相當於式XXVI之化合物：



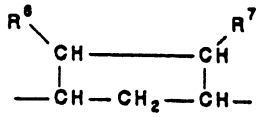
XXVI

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



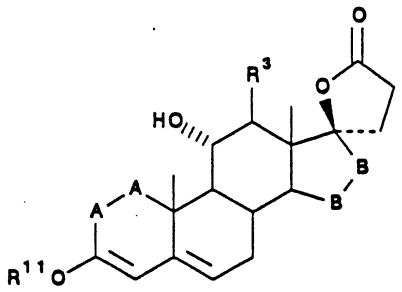
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

R^x選自氫或羥基保護基。

92. 根據申請專利範圍第91項之式XXVI化合物，其中該化合物是9α,17α-二羥基-3-酮孕-4,6-二烯-21-羧酸，γ-內酯。

93. 一種相當於式104之化合物：



104

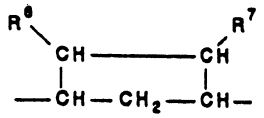
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{11}是C_1-C_4低碳烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



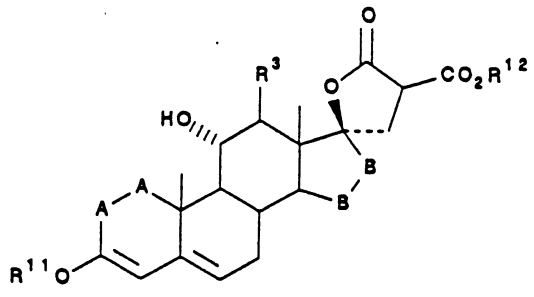
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

94. 根據申請專利範圍第93項之式104化合物，其中該化合物是3-乙氧基-11α-17α-二羥基-孕-3,5-二烯-2-羧酸，γ-

內酯。

95. 一種相當於式103之化合物：



103

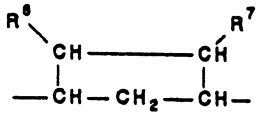
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{11}是C_1-C_4低碳烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

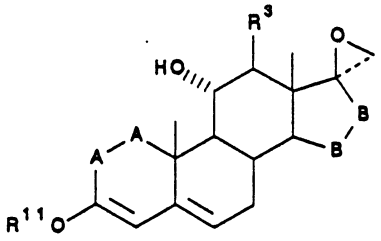


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

96. 根據申請專利範圍第95項之式103化合物，其中該化合物是3-乙氧基-11α-17α-二羥基-孕-3,5-二烯-21,21-二羧酸乙酯，γ-內酯。

97. 一種相當於式102之化合物：



102

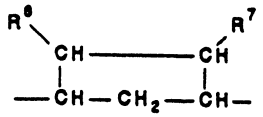
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{11}是C_1-C_4烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

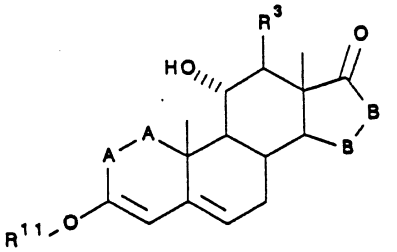


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

98. 根據申請專利範圍第97項之式102化合物，其中該化合物是3-乙氧基螺[雄-3,5-二烯-17β,2'-環氧乙烷]-11α-醇。

99. 一種相當於式101之化合物：



101

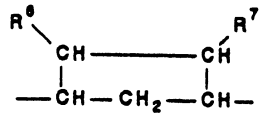
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{11}是C_1-C_4烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

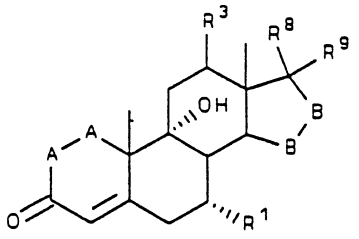


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

100. 根據申請專利範圍第99項之式102化合物，其中該化合物是3-乙氧基-11α-羥基雄-3,5-二烯-17-酮。

101. 一種相當於式IX化合物：



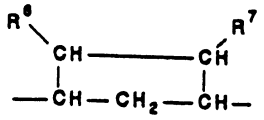
IX

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3，R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

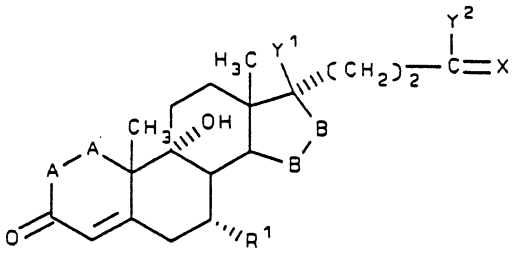


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

102. 根據申請專利範圍第101項之式IX化合物，其中該化合物相當於式IXAA：



IXAA

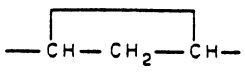
其中：

-A-A-代表$-CH_2-CH_2-$或-CH=CH-基團；

R^4及R^5獨立選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^1代表α-方向之低碳烷氧羰基；且

-B-B-代表$-CH_2-CH_2-$或α-或β-方向之基團：



IIIA

X代表二個氫原子或酮基；

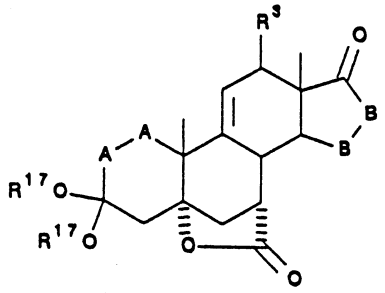
Y^1及Y^2一起代表氧橋-O-，或

Y^1代表羥基，且

Y^2代表羥基，低碳烷氧基，或若X代表H_2，也可以是低碳烷醯氧基；

及化合物之鹽類，其中X代表酮基，且Y^2代表羥基。

103. 一種相當於式D之化合物：



D

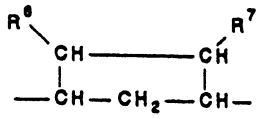
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{17}是C_1-C_4烷基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

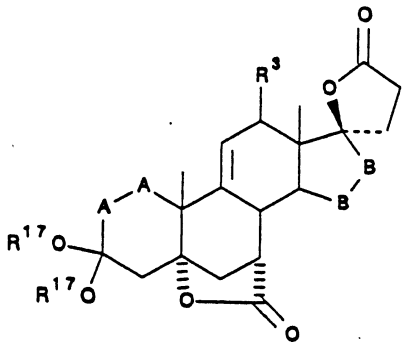


III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰

基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

104. 一種相當於式E之化合物：



E

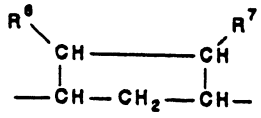
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

R^{17}是C_1-C_4烷基；且

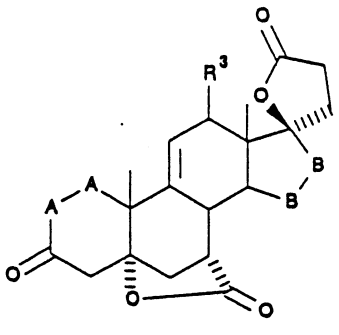
-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

105. 一種相當於式F之化合物：



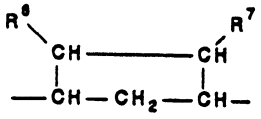
F

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

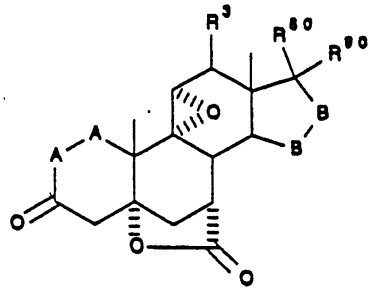
-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基。

106. 一種相當於式A211之化合物：



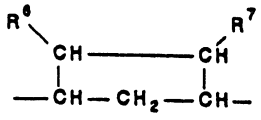
[A211]

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



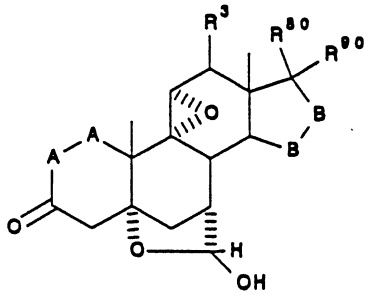
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

R^{80}及R^{90}獨立選自R^8及R^9，分別地，或R^{80}及R^{90}一起形成酮基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起包括碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

107. 一種相當於式A210之化合物：



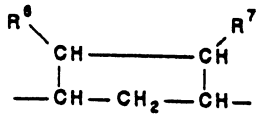
[A210]

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

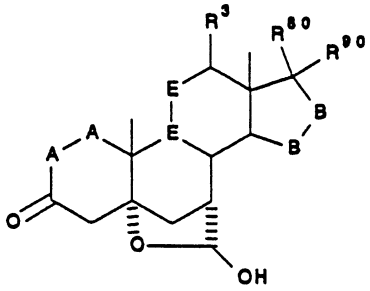
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，

醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

R^{80}及R^{90}獨立選自R^8及R^9，分別地，或R^{80}及R^{90}一起形成酮基；且

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起形成碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環。

108. 一種相當於式A209之化合物：



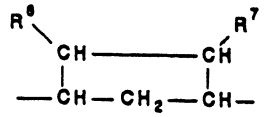
[A209]

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；且

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



III

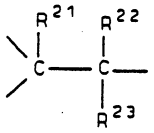
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰

基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

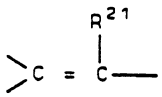
R^{80}及R^{90}獨立選自R^8及R^9，分別地，或R^{80}及R^{90}一起形成酮基；

R^8及R^9獨立選自下列包括氫，羥基，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基，或R^8及R^9一起形成碳環或雜環結構，或R^8或R^9加上R^6或R^7包括碳環或雜環結構，並稠合至五環D環上；且

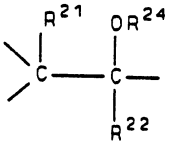
-E-E-選自下列包括：



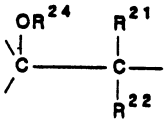
XLIII



XLIV

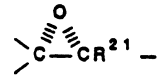


XLV



XLVI

及

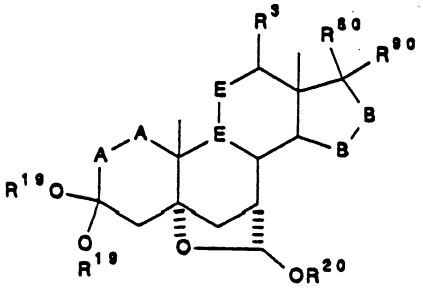


XLVII

其中R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，烷基，鹵，硝基及氰基；且

R^{24}選自下列包括氫及低碳烷基。

109. 一種相當於式A208之化合物：



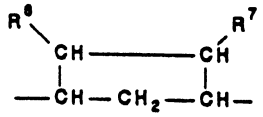
[A208]

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

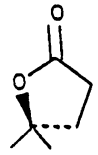
R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



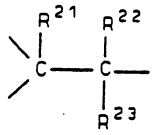
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；

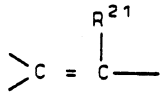
R^{80}及R^{90}加上與之黏附之環碳一起形成  ；

R^{20}是C_1-C_4烷基；且

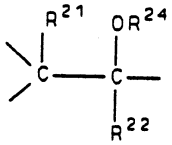
-E-E-選自下列包括：



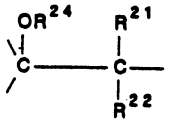
XLIII



XLIV

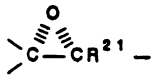


XLV



XLVI

及



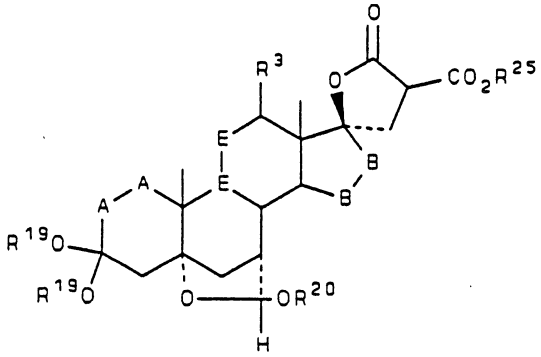
XLVII

其中R^{19}是C_1-C_4烷基或$R^{19}O$-基一起形成O,O-氧伸烷基橋；

R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自氫，烷基，鹵，硝基及氰基；且

R^{24}選自氫及低碳烷基。

110. 一種相當於式A207之化合物：



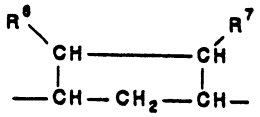
[A207]

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

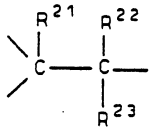


III

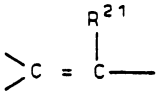
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^{20}是C_1-C_4烷基；且

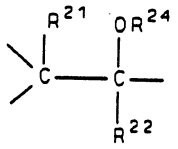
-E-E-選自下列包括：



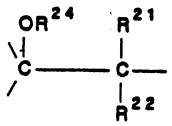
XLIII



XLIV

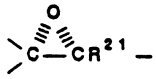


XLV



XLVI

及



XLVII

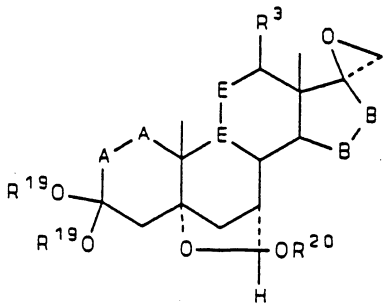
其中R^{19}是C_1-C_4烷基或$R^{19}O$-基一起形成O,O-氧伸烷基橋；

R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，烷基，鹵，硝基及氰基；

R^{24}選自氫及低碳烷基；且

R^{25}是C_1-C_4烷基。

111. 一種相當於式A206之化合物：



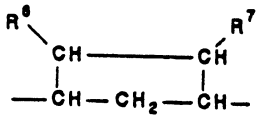
[A206]

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

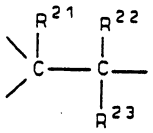


III

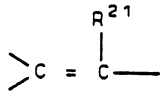
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^{20}是C_1-C_4烷基；且

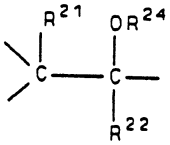
-E-E-選自下列包括：



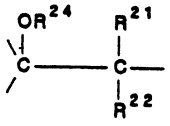
XLIII



XLIV

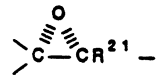


XLV



XLVI

及



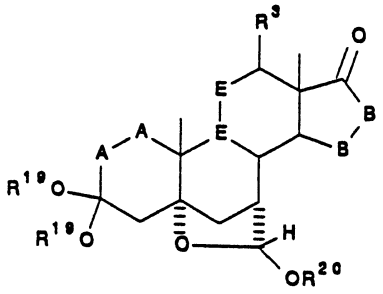
XLVII

其中R^{19}是C_1-C_4烷基或$R^{19}O$-基一起形成O,O-氧伸烷基橋；

R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，烷基，鹵，硝基及氰基；

R^{24}選自下列包括氫及低碳烷基。

112. 一種相當於式A205之化合物：



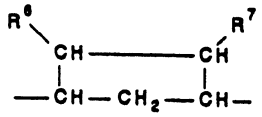
[A205]

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：

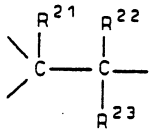


III

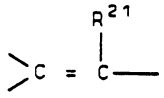
其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

R^{19}及R^{20}獨立選自C_1-C_4烷基；且

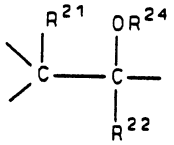
-E-E-選自下列包括：



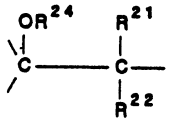
XLIII



XLIV

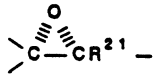


XLV



XLVI

及



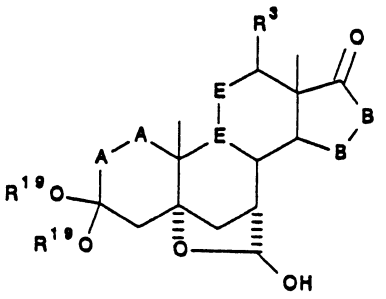
XLVII

其中R^{19}是C_1-C_4烷基或$R^{19}O$-基一起形成O,O-氧伸烷基橋；

R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，烷基，鹵，硝基及氰基；

R^{24}選自下列包括氫及低碳烷基。

113. 一種相當於式A204之化合物：



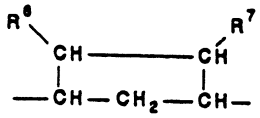
[A204]

其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

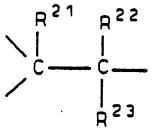
-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



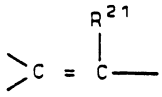
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

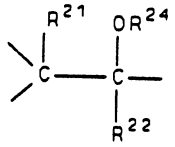
-E-E-選自下列包括：



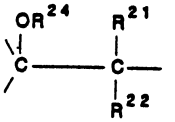
XLIII



XLIV

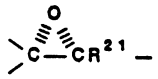


XLV



XLVI

及



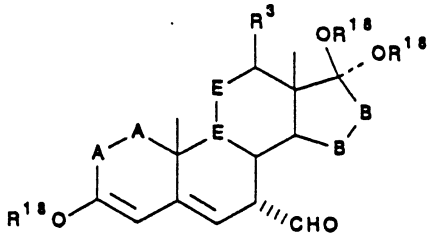
XLVII

其中R^{19}是C_1-C_4烷基，或$R^{19}O$-基一起形成O,O-氧伸烷基橋；

R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，烷基，鹵，硝基及氰基；

R^{24}選自下列包括氫及低碳烷基。

114. 一種相當於式A203之化合物：



[A203]

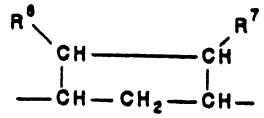
其中

-A-A-代表-CHR^4-CHR^5-或-CR^4=CR^5-基團；

R^3選自下列包括氫，鹵，羥基，低碳烷基，低碳烷氧

基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，氰基及芳氧基；

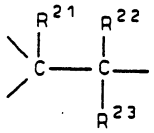
-B-B-代表-CHR^6-CHR^7-或α-或β-方向之基團：



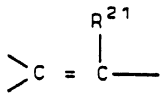
III

其中R^6及R^7獨立選自下列包括氫，鹵，低碳烷氧基，醯基，羥烷基，烷氧烷基，羥羰基，烷基，烷氧羰基，醯氧烷基，氰基及芳氧基；且

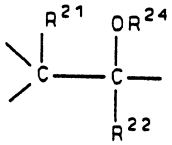
-E-E-選自下列包括：



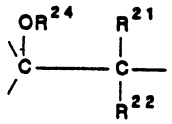
XLIII



XLIV

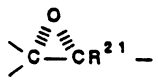


XLV



XLVI

及



XLVII

其中R^{18}是C_1-C_4烷基或$R^{18}O$-基在C-17上一起形成O,O-氧伸烷基橋；

R^{21}，R^{22}及R^{23}獨立選自下列包括氫，烷基，鹵，硝基及氰基；

R^{24}選自下列包括氫及低碳烷基。