

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C07J 9/00

[12] 发明专利申请公开说明书

A61K 31/575 C07J 51/00

C07J 31/00 C07J 41/00

[21] 申请号 98806290.9

[43]公开日 2000 年 7 月 19 日

[11]公开号 CN 1260802A

[22]申请日 1998.5.11 [21]申请号 98806290.9

[30]优先权

[32]1997.5.16 [33]EP [31]97201474.0

[86]国际申请 PCT/EP98/02989 1998.5.11

[87]国际公布 WO98/52965 英 1998.11.26

[85]进入国家阶段日期 1999.12.16

[71]申请人 阿克佐诺贝尔公司

地址 荷兰阿纳姆

[72]发明人 J·A·J·利姆慧斯 J·范德尔劳

M·B·格罗恩

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所

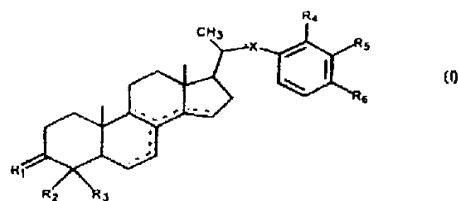
代理人 唐伟杰

权利要求书 2 页 说明书 39 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物

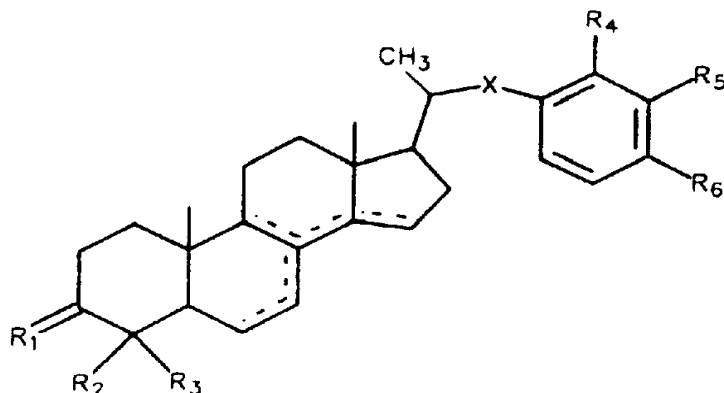
[57]摘要

本发明涉及具有通式(I)的20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物或其制药学上可接受的盐类,其中R₁为(H, OR), (H, OSO₃H)或NOR; R为H, (C₁₋₆)烷基或(C₁₋₆)酰基; R₂和R₃为各自独立地代表氢或(C₁₋₆)烷基; X为直键二价C₁₋₈烃类基团,其任意地包含双键或三键;或X为-(CH₂)_m-CR₇R₈-; m=0-4; R₇和R₈中至少一个为(C₁₋₄)烷基,羟基, (C₁₋₄)烷氧基或卤素; 另一个如果存在为氢; 或R₇和R₈一起代表O或NOR'; R'为H, (C₁₋₆)烷基或(C₁₋₆)酰基; R₄, R₅和R₆为各自独立地代表氢,羟基, (C₁₋₄)烷氧基; 卤素, NR₉, R₁₀, 或(C₁₋₄)烷基, 其可被羟基, 烷氧基, 卤素或氧取代; R₉和R₁₀为各自独立地代表氢或(C₁₋₄)烷基; 虚线代表 Δ^7 或 Δ^8 双键, 或一对选自 $\Delta^{7,14}$ 、 $\Delta^{8,14}$ 、和 $\Delta^{6,8(14)}$ 的共轭双键。本发明化合物具有减数分裂活化活性, 可用于控制生育力。



权 利 要 求 书

1、具有通式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物或其制药学上可接受的盐类，



其中

R₁ 为 (H, OR), (H, OSO₃H) 或 NOR;

R 为 H, (C₁₋₆) 烷基或 (C₁₋₆) 酰基;

R₂ 和 R₃ 为各自独立地代表氢或 (C₁₋₆) 烷基;

X 为直链二价 C₁₋₈ 烃类基团, 其选择性地包括双键或三键; 或 X 为 -(CH₂)_m-CR₇R₈-; m=0-4;

R₇ 和 R₈ 中至少一个为 (C₁₋₄) 烷基, 羟基, (C₁₋₄) 烷氧基或卤素; 另一个如果存在为氢; 或者

R₇ 和 R₈ 一起代表 O 或 NOR' ;

R' 为 H, (C₁₋₆) 烷基或 (C₁₋₆) 酰基; R₄, R₅ 和 R₆ 为各自独立地代表氢, 羟基, (C₁₋₄) 烷氧基; 卤素, N R₉, R₁₀, 或 (C₁₋₄) 烷基, 其可被羟基, 烷氧基, 卤素或氧选择性取代;

R₉ 和 R₁₀ 为各自独立地代表氢或 (C₁₋₄) 烷基; 且

虚线代表 Δ^7 或 Δ^8 双键, 或一对选自 $\Delta^{7, 14}$, $\Delta^{8, 14}$ 和 $\Delta^{6, 8(14)}$ 的共轭双键;

条件是不包括 (3 β , 5 α , 24E) -25-(4-羟基苯基)-4-甲基-26, 27-二降胆甾-7, 24, -二烯-3-醇。

2、权利要求 1 中的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物, 其中的 R₁ 为 (H, OR),

且虚线代表一对选自 $\Delta^{7, 14}$ 、 $\Delta^{8, 14}$ 、和 $\Delta^{6, 8(14)}$ 的共轭双键。

3、权利要求 2 中的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物，其中双键为 $\Delta^{8, 14}$ 。

4、权利要求 2 或 3 中的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物，其中 3-OR 取代基的构型为 β 构型。

5、权利要求 1-4 任意一个之中的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物，其中 R_1 为 (H, OR)，R 为 H 或 (C_{1-6}) 酰基； R_2 和 R_3 为各自独立地代表氢或 (C_{1-6}) 烷基；X 为 $-\text{CH}_2-$ ； R_4 、 R_5 和 R_6 的含义同前；虚线代表一对 $\Delta^{8, 14}$ 的共轭双键；其中 3-OR 取代基的构型为 β 构型。

6、用于治疗具有通式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物。

7、包含具有通式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物或其制药学上可接受的盐类的药物组合物，其中混合有制药学上可接受的辅助剂。

8、具有通式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物或其制药学上可接受的盐类在制备控制生育的药物中的用途。

说明书

20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物

本发明涉及 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物或含有上述化合物的药物组合物，本发明还涉及这些 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物在制备用于控制生育药物的用途。

性繁殖包括二倍体和单倍体状态的周期性交替：二倍体细胞通过减数分裂过程形成单倍体细胞，单倍体细胞在生育过程中又结合组成新的二倍体细胞。减数分裂过程以两次减数分裂（I 和 II）为特征，对于雄性和雌性胚细胞来说是唯一的。在两次减数分裂过程中，发生一次 DNA 分裂，并从一个二倍体细胞产生四个单倍体细胞。在第一次减数分裂的前期，发生了父系和母系遗传物质交换的染色体交换事件。在第一次减数分裂的后期，构成两个姊妹染色单体的每个染色体对中的一个元素分别分配到每个子代细胞中。第二次减数分裂使每个姊妹染色单体分离到不同的单倍体细胞中。雄性和雌性胚细胞在减数分裂过程的行为是相似的，只是这些过程的调控有所不同。

在雄性动物中，减数分裂过程是一个衍生自众多未成熟胚细胞的胚细胞——干精原细胞的持续过程。在雄性动物性成熟后，来自干细胞群体的精原细胞开始减数分裂。第一次和第二次减数分裂过程不间断的进行，最终导致了四个成熟精子的产生。

在雌性动物中，初级卵母细胞在胚胎期就已经开始第一次减数分裂，但在前期（dictyate 阶段）便停止了，直至雌性性成熟。减数分裂在排卵（卵成熟）时恢复，之后，第一次减数分裂便告完成，第二次减数分裂开始启动。在大多数脊椎动物中，第二次减数分裂在中期停止，仅在生育时才告完成。在第一次减数分裂和第二次减数分裂后，

胞浆对称分配，产生两个次级卵母细胞，每个均带有单一染色体的一个单倍体，但体积有很大不同：一个是较小的极性体，其最终变性，另一个是含有全部生长潜力的较大细胞，最终发展成为一个成熟的卵子。

生长中的卵细胞从卵巢中释放并准备生育的阶段在不同的物种之间有所不同。无论是无脊椎动物还是脊椎动物，卵巢辅助细胞可以对在身体内到处产生的聚肽（促性腺激素）有所反应，从而控制卵母细胞的成熟并最终（在大多数动物中）控制排卵。

在人类体内，新生雌性的初级卵母细胞停止在减数分裂的 I 期，其大多数被一层卵泡细胞包围，这些带有包围细胞的卵母细胞构成了初级的卵泡。一小部分的初级卵泡随后开始发育成为卵泡：卵泡不断扩大和分化形成了一个包围在初级卵母细胞周围的多层外套；卵母细胞本身扩大并发育成透明区、含有大量糖蛋白的细胞外基质以及皮质颗粒，尤其是外层区域中浆膜下的分泌载体和卵胞浆皮质[当卵被精子活化后，这些皮质颗粒通过细胞排粒作用释放其内容物；这些颗粒内容物可以改变卵的胞衣，从而防止其它精子与这个卵的结合]。

发育的卵泡不断生长，它们之中的一部分发育成为流质填充的腔或窦，成为窦性卵泡。这类卵泡的发育依赖于垂体腺体分泌的促性腺激素（主要是卵泡刺激激素-FSH）以及卵泡细胞本身分泌的雌激素。从青春期开始，由垂体分泌的另一种促性腺激素糖类物质——黄体化激素（LH）活化单一的窦性卵泡，由于被刺激的卵泡迅速地扩大并在卵巢表面破裂，释放出其中的次级卵母细胞，从而了完成减数分裂的 I 期。对大多数哺乳动物来说，仅仅在与精子结合后，次级卵母细胞才被触发开始进入减数分裂的 II 期。

有关雄性和雌性胚细胞减数分裂过程起始和控制的机制研究提出

了环核苷酸在介导的减数分裂停止中所起的作用。那些可以保持较高 cAMP 水平的化合物可以防止卵母细胞的成熟[Eppig, J. 和 Downs, S. (1984) Biol. Reprod. 30: 1-11]。象腺苷或次黄嘌呤等嘌呤类物质被认为与 cAMP 介导的减数分裂停止状态的维持有关[Eppig, J., Ward-Bailey, P. 和 Coleman, D. (1984) Biol. Reprod. 30: 1041-1049]。

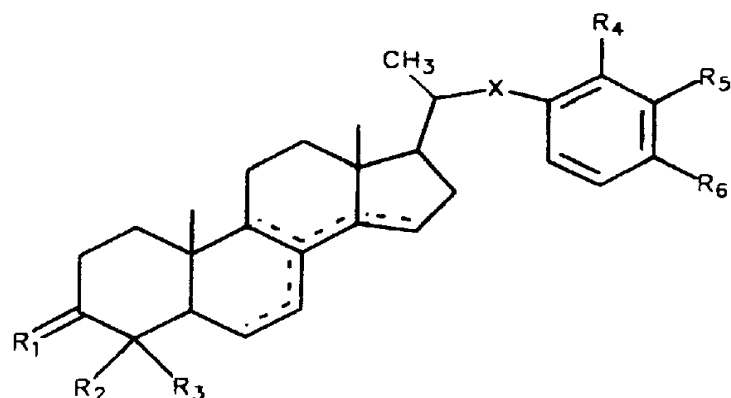
Byskov, A. 等人[(1976) Dev. Biol. 52: 193-200]首先描述了在胎儿小鼠性腺的培养系统中有调控减数分裂的物质存在。这一发现提示减数分裂活化物质(MAS)和减数分裂阻止物质(MPS)的浓度一起调控减数分裂过程[Byskov, A. 等人(1994), “生殖生理学”, Eds. Knobil, E. 和 Neill, J., Raven Press, New York]。

最近, Byskov, A. 等人对从人类卵泡流质中分离出来的(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基胆甾-8, 14, 24-三烯-3-醇(FF-MAS)以及从公牛实验中分离出来的(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基胆甾-8, 24-二烯-3-醇进行了鉴定[(1995) Nature 374: 559-562], 它们分别是人类和牛体内内源性的减数分裂活化物质。已经证明这些甾醇可以刺激处于培养中的包围和裸露卵丘减数分裂的恢复。这些具有饱和或不饱和胆甾烷侧链的内源性的甾醇衍生物作为减数分裂调控物质, 已在国际专利申请 W096/00235, W0/9700883 以及 W0/9700884 (NOVO NORDISK A/S) 中被公开。

这些胆甾烷的缺陷是在体内很快容易失活[Hall, P. F. (1985) 维生素和激素 42: 315]。因此限制了它们作为生育控制剂的潜力。

因此存在开发一些具有改善的体内活性的减数分裂调控剂的需求。

最终，本发明提出了具有通式 (I) 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物或其制药学上可接受的盐类，



其中

R₁ 为 (H, OR), (H, OSO₃H) 或 NOR;

R 为 H, (C₁₋₆) 烷基或 (C₁₋₆) 酰基;

R₂ 和 R₃ 为各自独立地代表氢或 (C₁₋₆) 烷基;

X 为直链二价 C₁₋₈ 烃类基团, 其任意地包含双键或三键; 或 X 为 -(CH₂)_m-CR₇R₈-; m=0-4;

R₇ 和 R₈ 中至少一个为 (C₁₋₄) 烷基, 羟基, (C₁₋₄) 烷氧基或卤素; 另一个如果存在为氢; 或者

R₇ 和 R₈ 一起代表 O 或 NOR';

R' 为 H, (C₁₋₆) 烷基或 (C₁₋₆) 酰基;

R₄, R₅ 和 R₆ 为各自独立地代表氢, 羟基, (C₁₋₄) 烷氧基; 卤素, NR₉, R₁₀, 或 (C₁₋₄) 烷基, 它们可选择性被羟基, 烷氧基, 卤素或氧取代;

R₉ 和 R₁₀ 为各自独立地代表氢或 (C₁₋₄) 烷基; 且

虚线代表 Δ^7 或 Δ^8 双键, 或一对选自 $\Delta^{7, 14}$, $\Delta^{8, 14}$ 和 $\Delta^{6, 8(14)}$ 的共轭双键;

条件是不包括 (3 β , 4 α , 24E)-25-(4-羟苯基)-4-甲基-26, 27-二降胆甾-7, 24, -二烯-3-醇 (gramisterol)。

放弃的权利要求涉及 Hiroitho 等人披露的通式 I 20-芳烷基-5 α -

孕甾烷衍生物[J. Am. Oil. Chem. Soc. 50, 300-302 (1973)], 其中 R_1 为 (H, OR); R_2 为 H 且 R_3 为 CH_3 ; 或 R_2 为 CH_3 且 R_3 为 H; X 为 $-(CH_2)_2-CH=CH-$; R_4 和 R_5 为 H; R_6 为 OH,

其中的虚线代表 Δ^7 双键, 即作为小麦胚芽植物油和其它植物组织中的 4-甲基甾醇成分的 (3 β , 4 α , 24E) -25-(4-羟苯基)-4-甲基-26, 27-二降胆甾-7, 24, -二烯-3-醇 (gramisterol)。

现已发现, 通式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物显示出改进的减数分裂活化活性。

本发明还涉及包括通式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物的药物组合物。含 (3 β , 4 α , 24E) -25-(4-羟苯基)-4-甲基-26, 27-二降胆甾-7, 24, -二烯-3-醇 (gramisterol) 的药物组合物亦在本发明的范围之内。本发明的另一个方面在于这些通式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物在制备用于控制生育药物中的用途。

式 I 中所用的术语 (C_{1-6}) 烷基是指具有 1-6 个碳原子的直链或支链烷基基团, 如己基, 戊基, 丁基, 异丁基, 叔丁基, 丙基, 异丙基, 乙基和甲基。同样, 术语 (C_{1-4}) 烷基是指具有 1-4 个碳原子的烷基基团。

术语 (C_{1-6}) 酰基是指衍生自具有 1-6 个碳原子羧酸的酰基基团, 如己酰基, 戊酰基, 新戊酰基, 丁酰基, 丙酰基, 乙酰基和甲酰基。(C_{1-6}) 酰基还包括衍生自二羧酸的酰基基团, 象半葡酰基, 半琥珀酰基以及半苹果酰基。优选的 (C_{1-6}) 酰基基团为半琥珀酰基。

术语 (C_{1-4}) 烷氧基是指具有 1-4 个碳原子的烷氧基团, 如丁氧基, 丙氧基, 异丙氧基, 乙氧基和优选的甲氧基。

术语卤素是指 F, Cl, Br, I。当卤素在烷基上取代时, 如 R_7 和 R_8 定义中所述的, Cl 和 F 是优选的, F 是最优选的。

人们会理解本发明 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物具有天然的构型, 9 α , 10 β , 13 β , 14 α , 17 β 。根据本发明, 优选的化合物是式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物, 其中 R_1 为 (H, OR), 虚线代表一对选自 $\Delta^{7, 14}$ 、 $\Delta^{8, 14}$ 、和 $\Delta^{6, 8(14)}$ 的共轭双键。在这些优选化合物中, 那些带有 $\Delta^{8, 14}$ 双键的化合物是尤其优选的。本发明中最优选的化合物是其中 3-OR 取代基构型为 β 构型。

本发明中高度优选的最优选的化合物是式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物, R_1 为 (H, OR), R 为 H 或 (C_{1-6}) 酰基; R_2 和 R_3 为各自独立地代表氢或 (C_{1-6}) 烷基; X 为 $-(CH_2)-$; R_4 , R_5 和 R_6 定义同前; 虚线代表一对 $\Delta^{8, 14}$ 共轭双键; 并且其中 3-OR 取代基构型为 β 构型。

20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物 20 位的构型既可以是 R 也可以是 S, 优选的是 R。本发明化合物 (其中 X 为包含双键的二价烃基基团) 的双键既可以是 E 也可以是 Z 构型。两种异构体均在本发明的范围内。

特别优选的本发明化合物包括:

- (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇,
- (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-[4-(三氟甲基)苯基]孕甾-8, 14-二烯-3-醇,
- (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-(6, 8) 14-二烯-3-醇,
- (3 β , 5 α , 20S) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔-3-醇,
- (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-24-(4-甲基苯基)胆甾-8, 14-二烯-23-炔-3-醇,

(3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-[4-(三氟甲基)苯基]孕甾-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐。

本发明 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物的减数分裂活化活性可以其克服次黄嘌呤（其作用是维持减数分裂处于停止状态）的能力，在体外卵母细胞的分析中进行测定。

该化合物既可以刺激雄性也可以刺激雌性动物，因此可用作生育调节剂。生育调节或生育控制包含避孕和生育能力治疗。

对于雌性动物的节育来说，本发明 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物可以用于在促性腺激素糖自然产生之前，诱导尚处于卵巢中的卵母细胞的早熟[通过诱导卵母细胞的早熟可以降低生育能力这一点已由 Mattheij, J. 等人[(1993), Gynecol .Obstet. Invest. 36: 129-135]在大鼠身上得到证实]。当进行体内给药时，本发明化合物特定地影响胚细胞，因此具有维持内源性激素水平以及随后的维持正常周期长度的优点。这种节育方法不引起有时由于使用甾体激素节育所引起的不需要的副作用（例如血栓，情绪变化，不定期出血，恶性乳腺疾病）。在这一点上，很重要的是应该注意到，由于在孕酮受体，雄激素受体，雌激素受体以及糖蛋白受体上均未发现结合，因此本发明化合物不与甾体受体结合。进一步地发现本发明化合物在体外可以诱导卵母细胞成熟的剂量下，不影响人类肾上腺细胞的甾体合成和代谢。

本发明 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物进一步的优点是其不能诱导机能不全的卵母细胞的成熟（从早熟的窦性卵泡中分离出来的），这一结果表明该化合物不对保存在卵巢中的全部卵母细胞产生影响。本发明化合物仅对从窦性卵泡中分离出来的卵母细胞（机能完全的卵母细胞）具有诱导成熟作用。

对于治疗女性由于缺乏成熟卵母细胞导致的不育，体内给予本发明化合物可及时地刺激机能完全的卵母细胞成熟。

对于治疗由于精子数量短缺导致的男性不育，体内给予本发明化合物可刺激精原细胞的成熟。

本发明化合物还可以用来作为体外繁殖过程中培养介质的补充物，以便改善卵母细胞的质量。

本发明中的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物具有天然的构型，9 α ，10 β ，13 β ，14 α ，17 β ，并且具有一或多个手性碳原子。因此可以得到化合物的纯非对映异构体，或非对映异构体混合物。获得这些纯非对映异构体的方法是本领域内已知的，例如重结晶或色谱。

当用于治疗时，式 I 化合物的盐是那些其中相反离子是制药学上可接受的盐。然而，也可以应用式 I 酸的盐[即其中的 R₁ 为 (H, OSO₃H)] 以及式 I 碱的酸加成盐[即其中的 R₄，R₅ 和/或 R₆ 为 NR₉R₁₀]，例如在药用化合物的制备或纯化过程中。无论是制药学上可接受还是不可接受的所有盐类均包括在本发明的范围之内。

本发明式 I 酸的盐类的实施例为无机盐，例如钠盐，钾盐以及衍生自有机碱的盐，如氨，咪唑，乙二胺，三乙胺的盐等。

酸加成盐的实施例包括那些衍生自无机酸的盐类，例如盐酸，磷酸，硫酸，优选盐酸，及有机酸如苹果酸，酒石酸，乙酸，乳酸，马来酸，丙二酸，富马酸，乙醇酸，琥珀酸等。

因此，式 I 化合物或其制药学上可接受的盐类（在这里又称为活性成分）可以经肠道或非肠道途径给药。活性成分或药物组合物的准

确剂量或给药方案取决于所要达到的治疗效果（治疗生育或节育），并可以根据具体使用的化合物，给药途径，接受者的年龄和身体状况而变化。

通常，非肠道给药需要的剂量要比其它给药方法需要的剂量低，因为肠道给药更依赖于吸收。然而，用于人类的剂量优选地为 0.0001-25mg/kg 体重。所需的剂量可以一次性给药，也可在一天内，以适当的间隔进行小的剂量分多次给药，或者，对于女性接受者来说，在整个月经周期中，以适当的天数间隔进行给药。剂量和给药方案在男性和女性之间可以有所不同。

在体外或体内（例如在 IVF）应用中，本发明化合物以大约 0.01-5 μ g/ml 的浓度用于培养介质中。

因此，本发明还涉及含式 I 的 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物的药物组合物，即包括含有（3 β , 4 α , 24E）-25-（4-羟苯基）-4-甲基-26, 27-二降胆甾-7, 24, -二烯-3-醇（gramisterol）与药学上可接受的辅助剂以及其它任意的治疗剂相混合的药物组合物。“可接受的”辅助剂含义是指可与其它成分相容并对接受者无害。

药物组合物包括那些适合口服、直肠、鼻腔、局部（包括皮透，颊和舌下）、阴道或非肠道（包括皮下，肌内，静脉和皮内）给药的药物组合物。这些组合物可用制药领域内已知的任意方法进行制备，例如采用 Gennaro 等人在 Remington's Pharmaceutical Sciences (18 th ed., Mack Publishing company, 1990) 所描述的方法，特别参见第 8 部分：Pharmaceutical Preparation and Their Manufacture（药物制备和它们的生产）。

这类方法包括将活性成分与任意的辅助剂进行混合的步骤。辅助

剂（又称为附加成分）包括那些用于本领域内的常规物质（Gennaro, supra），例如填充剂，粘合剂，稀释剂，崩解剂，润滑剂，着色剂，调味剂以及润湿剂。

适合口服的药物组合物可以制成分散的剂量单位，例如药丸，片剂或胶囊，或者为粉剂或颗粒，或者为溶液或悬浮液。活性成分也可以团状或膏状形式给药。组合物进一步可以加工成用于直肠给药的栓剂或灌肠剂。

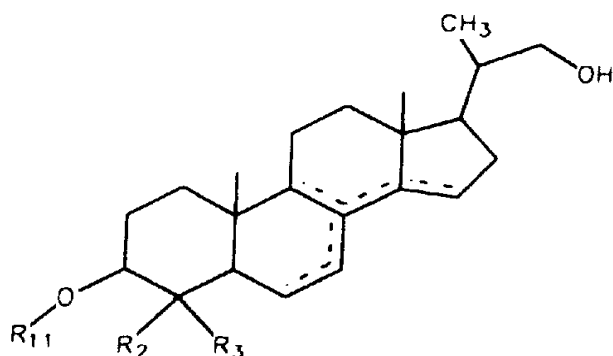
对于非肠道给药来说，合适的组合物包括水或非水性无菌注射液。组合物可以单位剂量或多剂量包装来提供，例如封于小瓶或安瓿中，并可储存于冷冻干燥条件，在使用前，仅需要加入无菌液体载体（例如水）。

适合于鼻腔吸入给药的组合物或配方包括可用计量剂量的压缩气溶胶、喷雾器或吹入器发生的细粉或雾状物质。

本发明 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物还可借助理植药物装置的形式进行给药，其包括一个活性物质的核，该核被一层释放速率控制膜所包围。这类埋植器可在皮下或局部应用，并可在相当长的一段时间内以基本恒定的速率释放出活性成分，例如数周到几年。可用本领域内已知的方法来制备埋植药物装置，例如采用欧洲专利 0,303,306(AKZO N.V.)。

可用普通有机化学领域中，尤其是甾体化学中已知的方法来制备本发明化合物[参见实例：Fried, J. 和 Edwards, J. A.: “甾体化学中的有机反应”，I 和 II 册，Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1972]。

可从式 II 的不饱和 20-甲基孕甾-3, 21, -二醇衍生物制备式 I 的本发明 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物,



II

其中 R_2 和 R_3 为各自独立地代表氢或 (C_{1-6}) 烷基; R_{11} 为酰基保护基团, 例如苯甲酰基, 乙酰基, 新戊酰基等; 其中的虚线代表 Δ^7 或 Δ^8 双键, 或一对选自 $\Delta^{6, 8(14)}$ 、 $\Delta^{7, 14}$ 和 $\Delta^{8, 14}$ 的共轭双键。

用于制备中间体式 II 的起始原料的实例有 (20S)-3-氧代孕甾-4-烯-20-羧醛, 该醛可以通过使 δ -4, 22, -二烯-3-酮进行臭氧分解获得 [参见 Veysoglu 等人, Synthesis 807 (1980)], 它也可以通过采购得到 (Sigma, USA)。该醛选择性的还原为 (20S)-21-羟基-20-甲基孕甾-4-烯-3-酮 [B.M. Trost 等人, J. Amer. Chem. Soc. 105, 5075 (1983)]。于是, 生成的羟基功能基以醚的形式被保护起来, 例如乙氧乙基醚, 四氢吡喃基 (THP) 醚或甲硅烷基醚, 如三异丙基甲硅烷基醚, 叔丁基二甲基甲硅烷基醚或叔丁基二苯基甲硅烷基醚等。

合适的保护基团是本领域内已知的, 例如选自 Greene, T.W. 和 Wuts P. G.M. : 有机合成中的保护基团, 第二版, Wiley, New York, 1991。

生成的羟基保护的 (20S)-21-羟基-20-甲基孕甾-4-烯-3-酮选择性地在其 C-4 位上单或二烷基化, 例如二甲基化。烷基化可以采用标

准方法进行,例如叔丁醇钾-碘甲烷方法[R. E. Dolle 等人 J. Org. Chem. 51, 4047 (1986)],二异丙基氯化锂(LDA)-碘甲烷(MeI)方法以及其它本领域内相似的方法。

通过与碱反应,再用水终止反应,可将 Δ^4 化合物选择性地转变为 Δ^5 化合物[J. B. Jones 等人, Can. J. Chem. 46, 1459 (1968)]。

随后,使用还原剂,例如氢化铝锂,硼氢化钠或其它本领域内已知的氢化物还原剂,可将C-3羰基基团还原为羟基。生成的3-羟基化合物可以酯的形式保护起来,例如乙酸酯,苯甲酸酯或新戊酸酯等。按照以下顺序,将 Δ^5 系统转化为 $\Delta^{5,7}$ 系统:C-7溴化,接着进行脱溴化氢反应。溴化反应可用热反应方法进行[Schroepfer, G. J. Jr., 等人, Chem. Phys. Lipids 47, 187 (1988)]或光化学反应方法进行[Prelle, A. 等人, Heterocycles 28, 333 (1989)]。在上述两种情况下,可以使用的溴化剂为N-溴代琥珀酰亚胺,1,3-二溴-5,5-二甲基乙内酰脲等。脱溴化氢剂包括N,N-二异丙基乙胺,2,4,6-三甲基吡啶,三甲基亚磷酸盐,四丁基氟化铵等。

$\Delta^{5,7}$ 二烯系统可以转化为 $\Delta^{6,8(14)}$ 二烯系统: $\Delta^{7,14}$ 二烯系统或 $\Delta^{8,14}$ 二烯系统,所用的方法是本领域内已知的。对于转化为 $\Delta^{6,8(14)}$ 衍生物的,参见 Kaneko, C. 等人, Chem. Pharm. Bull. 26, 3582 (1978)。对于转化为 $\Delta^{7,14}$ 衍生物的,参见 Wilson, W. K. 等人, J. Org. Chem. 53, 1713 (1988)。对于转化为 $\Delta^{8,14}$ 衍生物的,参见 Schroepfer, G. J. Jr., 等人, Chem. Phys. Lipids 47, 187 (1988) 或 Dolle, R. E. 等人 J. Org. Chem. 53, 1563 (1988)。将 $\Delta^{5,7}$ 二烯系统转化为 $\Delta^{6,8(14)}$ 二烯系统, $\Delta^{7,14}$ 二烯系统或 $\Delta^{8,14}$ 二烯系统,可以生成这些异构体的混合物。获得纯化合物的方法是本领域内已知的,例如重结晶或使用填充有银盐的硅胶柱层析。用溶于液氨中的锂对 $\Delta^{5,7}$ 二烯系统进行还原[Lederer, F. 等人, Bull. Soc. Chim. Fr. 1295 (1965)]或通过

氢化反应可以得到 Δ^7 化合物。可以使用的氢化催化剂包括 Raney 镍 [Gautschi F. 等人, J. Biol. Chem. 233, 1343 (1958)], Wilkinson's 催化剂 [Canonica, L. 等人, Steroids 11, 287 (1968)] 及其它试剂。按照以下顺序, 可以从 $\Delta^{8, 14}$ 二烯系统制备 Δ^8 衍生物: Δ^{14} 双键的选择性氢化, 生成的 15-羟基化合物脱氧化反应 [Dolle, R.E. 等人 J. Amer. Chem. Soc. 111, 278 (1989)]。通过使 21-羟基功能基去保护, 可以制备式 II 的不饱和 3 位保护的 20-甲基孕甾-3, 21, -二醇衍生物。

$\Delta^{5, 7}$ 二烯系统的操作可以伴随着 C-21 位羟基基团的去保护, 如果不是这样的话, 羟基基团需要随后再去保护。

可按照下法制备本发明 21-芳基-20-甲基孕甾-3-醇衍生物 (X=CH₂-), 将具式 II 的化合物氧化成相应的孕甾-20-羧醛, 接着使这些羧醛与未取代或带有合适取代的苯基金属化合物进行缩合反应, 使生成的 3-位保护的 21-芳基-20-甲基孕甾-3, 21-二醇衍生物的 C-21 位进行脱氧反应, 最后, 使 C-3 位上的羟基基团进行去保护反应。

21-羟基基团的氧化可以使用 Oppenauer 氧化, Swern 氧化, Moffatt 氧化, Dess-Martin 氧化, 或者使用铬 (VI) 试剂, 例如 Jones 试剂, 吡啶鎓二铬酸盐, 吡啶鎓氯代铬酸盐, 以及本领域内已知的相似试剂。

与孕甾-20-羧醛的缩合反应中可以使用的未取代或带有取代的苯基金属化合物包括芳基锂, 芳基镁, 芳基锌或芳基铈化合物。通过氢化 (脱氧作用) 生成的 3 位保护的 21-芳基-20-甲基孕甾-3, 21-二醇衍生物上的 21-羟基基团的取代可以通过用甲基草酰氯进行酯化反应, 然后与三丁基锡氢化物/2, 2'-氮杂双 (异丁腈) 反应来实现。脱氧作用可以通过 Barton 脱氧反应或本领域内已知的相似反应来完成 [M. 或 Ramaiah, Tetrahedron 43, 3541 (1987)], 或通过 21-羟基基团

转化为如卤素（例如氯，溴或碘），特别是甲苯磺酰氧基或甲磺酰基一的离去基团，然后用氢化物还原剂进行还原，或使用 Raney 镍，或使用三乙基硅烷与 Lewis 酸的结合物进行还原来进行。最后，使用标准方法完成 3-羟基功能基的脱保护。

本发明中不饱和的 23-芳基-24-降胆-3-醇化合物（ $X=-CH_2-CH_2-$ ）可以按照下法，从式 II 的不饱和的 3-位保护的 20-甲基孕甾-3, 21-二醇衍生物开始进行制备。C-21-羟基基团可以转化为离去基团，例如卤素（如氯，溴或碘），或特别是甲苯磺酰氧基或甲磺酰基，由此得到的产品可以通过与氰化钾或氰化钠进行反应，转化为 20-甲基孕甾-21-腈衍生物。后者用还原剂（例如二异丁基铝氢化物）或其它能将腈基基团转化为羧醛基团的还原剂转化为相应的 21-羧醛。由于还原也导致了 C-3 羟基功能基的去保护，所以 3 位羟基需要再以醚的形式进行保护，例如乙氧乙醚或 THP 醚，甲硅烷基醚，例如三乙基甲硅烷基醚，或如上所述的酰基保护基团。最后转化到本发明 23-芳基-24-降胆-3-醇化合物可以按照以下顺序进行（vide Supra）：与未取代或带有合适取代的苯基金属化合物进行反应，通过氢化脱氧反应进行 23-羟基基团的取代，最终进行 3-羟基基团的脱保护。

可以按照上述用于 23-芳基-24-降胆-3-醇化合物相似的方法来制备本发明化合物（其中 X 为直链二价 C_{3-8} 烃基基团）。首先将式 II 化合物转化为侧链上带有需要数目亚甲基基团的醛。然后加入未取代或带有合适取代的苯基金属化合物，使形成的羟基化合物进行脱氧反应，最后，按照上述方法使 3-羟基基团脱保护。同系化作用所采用的技术是本领域内已知的，可以参见 Mathieu, J. 等人：C-C 键的形成，Vol. I-III, Georg Thieme Publishers, Stuttgart, 1973。

可以按照与上述相似的方法来制备本发明化合物（其中 X 为 $-(CH_2)_m-CR_7R_8-$ ，其中的 $m=0-4$ ，并且其中的 R_7 和 R_8 为氢）。在这种情况下，

通过与芳基金属化合物反应生成的羟基基团被保留，即可以省去脱氧作用。采用普通化学领域中已知的方法，可将生成的芳基甲醇任意地转化为其它式 I 化合物，称为本发明化合物，其中 X 为 $-(CH_2)_m-CR_7R_8-$ ，其中的 $m=0-4$ ，并且其中的 R_7 和 R_8 各自独立的为 (C_{1-4}) 烷基， (C_{1-4}) 烷氧基或卤素，或其中的 R_7 和 R_8 一起代表 O 或 NOR' ，其中的 R' 为 H， (C_{1-6}) 烷基或 (C_{1-6}) 酰基。

通过将 21-羟基基团按照所述方法转化为离去基团，然后与合适的取代苯基金属化合物或合适的取代 α -苯基烷基基金属化合物进行过渡金属（例如铜（I）-催化的）介导的反应，也可以从式 II 中间体制备得到本发明化合物（其中 X 为直链二价 C_{1-8} 烃基基团）[Li, Mg, Zn; 参见 Moroisaki M. 等人 Chem. Pharm. Bull. 28, 606(1980); 和 Lipshutz, B. H. 等人, Org. Reactions, 41, p.135, Wiley, New York, 1992]。

通过使孕甾-20-羧醛或 20-甲基孕甾-21-羧醛（其合成如上所述），或降胆-24-醇衍生物等与未取代或带有合适取代的苄基三苯基磷鎓卤化物或未取代或带有合适取代的 α -苯基烷基三苯基磷鎓卤化物进行 Wittig 反应，可以制备得到本发明化合物（其中 X 为含有双键的直链二价 C_{1-8} 烃基基团）。Wittig 烯化反应所采用的方法，可以参见 Maercker, A. Org. Reactions, 14, p.270, Wiley, New York, 1965。或者也可以采用 Peterson 反应，参见 Ager, D. J. Org. Reactions, 38, p.1, Wiley, New York, 1990。

通过金属介导的 24-降胆-22-烯，胆-23-烯或 26, 27-二降胆-24-烯等（它们相应地在 C-23, C-24, C-25 位上被取代）与卤素（Cl, Br, I）或三氟甲磺酸盐基团，并与未取代或带有合适取代的苯基金属化合物或 α -苯基烷基基金属化合物（例如 Al, Li, Mg, Zn, B, Sn, Cu, Zr）进行偶连，可以制备得到本发明化合物（其中 X 为含有双键的直链二价 C_{1-8} 烃基基团）。也可以通过 24-降胆-22-烯，胆-23-烯或 26, 27-

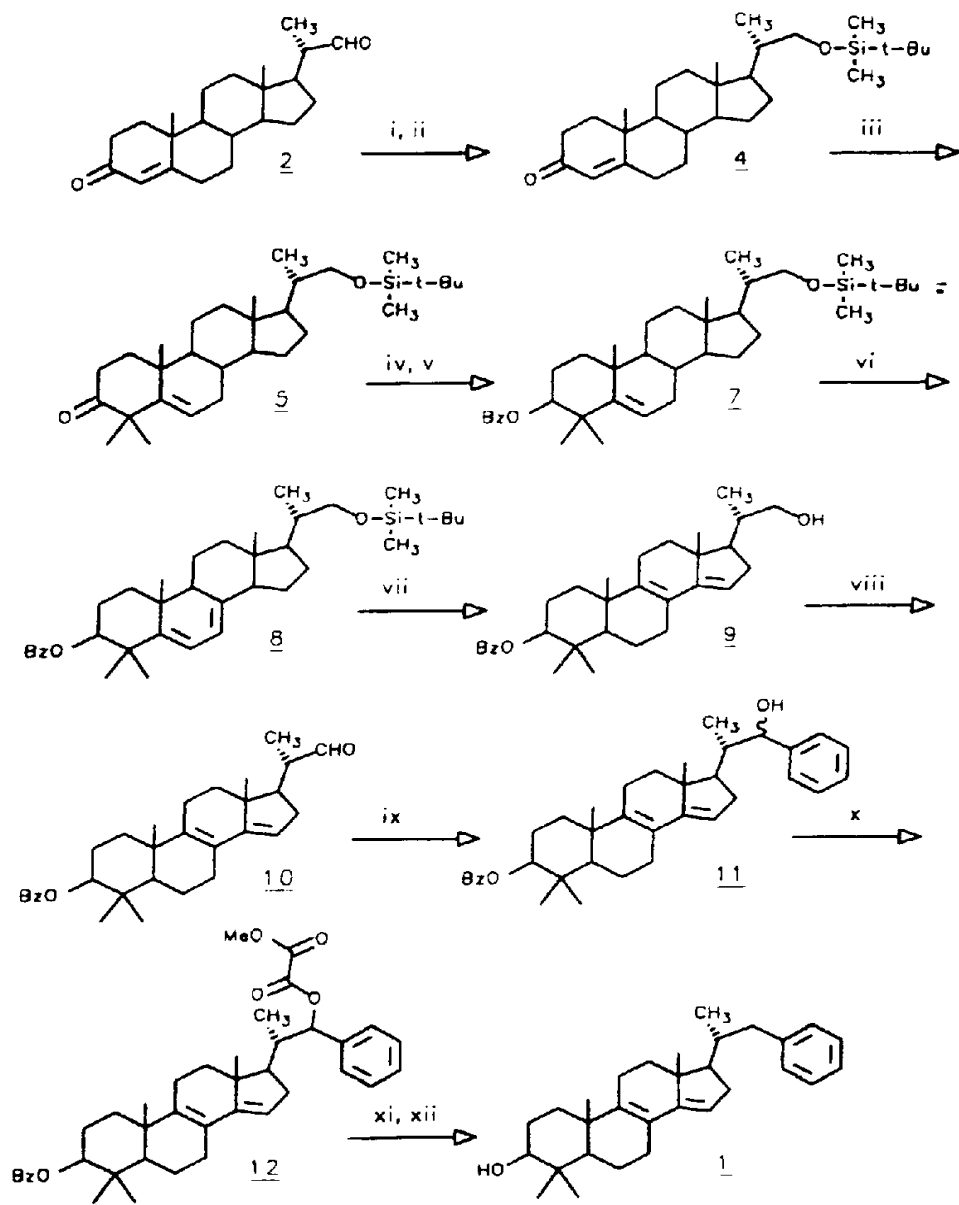
二降胆-24-烯等（它们相应地在 C-23, C-24, C-25 位上被取代）与金属（例如 Al, Li, Mg, Zn, B, Sn, Cu, Zr），并与带有合适取代的苯基卤化物或 ω -苯基烷基卤化物（Cl, Br, I）或磺酸酯进行相似的反应来制备它们。所用的方法是本领域内已知的，可以参见 Knight, D.W. 的 *Comprehensive Organic Synthesis*, 3, p. 241 和 481, Pergamon Press, Oxford, 1991; 或 K Tamao, *ibid* 3, p. 435.

通过金属介导的 24-降胆-22-炔，胆-23-炔或 26, 27-二降胆-24-炔等与带有合适取代的苯基卤化物[Cl, Br, I; 参见 Takahashi, S 等人 *Synthesis* 627 (1980)] 进行偶连，可以制备得到本发明化合物（其中 X 为含有三键的直链二价 C_{1-8} 烃基基团）。这类化合物中的其它化合物可以通过使所述的乙炔衍生物进行金属化反应（例如 Li, Mg, Na, K, Al），然后与带有合适取代的 ω -苯基烷基卤化物或磺酸酯进行反应[Garratt, P. J. 的 *Comprehensive Organic Synthesis*, 3, p. 271, Pergamon Press, Oxford, 1991]来制备。此外也可以通过 20-甲基孕甾-21-醇衍生物，24-降胆-23-醇衍生物或胆-24-醇衍生物等（其中的羟基基团被转化为离去基团（*vide supra*））与未取代或带有合适取代的 ω -苯基烷基-1-炔金属化合物进行反应来制备它们。

采用本领域内已知的方法，可用式 I 化合物（其中 R_1 为（H, OR））作为合成的起始物质，来制备式 I 化合物（其中 R_1 为（H, OR），（H, OSO_3H ）或 NOR，且 R 为 H, (C_{1-6}) 烷基或 (C_{1-6}) 酰基。

下列实施例将进一步说明本发明。

路线 1



实施例 1

(3 β , 5 α , 20R)-4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇(1) (路线 1)

i) -将 (20S)-3-氧代孕甾-4-烯-20-羧醛 (2) (125g) 的无水乙醇溶液 (1250ml) 冷却至 -10℃, 在 30 分钟内将硼氢化钠 (4.4g) 的无水乙醇溶液 (80ml) 加入其中。混合物在 -10℃ 下搅拌 2 小时后, 加入 50% 的乙酸终止反应。减压浓缩反应混合物至原体积的 25%, 然后将其倾入冰水 (5L) 中。生成的悬浮液搅拌过夜并过滤。残余物用水洗涤, 干燥, 得到 (20S)-21-羟基-20-甲基孕甾-4-烯-3-酮 (3) (124g), 其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

ii) -将前述步骤中得到的醇 3 (124g) 和咪唑 (176g) 的无水 N, N-二甲基甲酰胺 (1730ml) 溶液冷却至 10℃。一次性地向其中加入叔丁基二甲基甲硅烷基氯化物 (112g), 混合物于室温下搅拌 2 小时。将其倾入冰水 (10L) 和饱和碳酸氢钠 (75ml) 组成的混合物中。过滤生成的悬浮液, 残余物用水洗涤。干燥残余物, 得到 (20S)-21-[[(1, 1-二甲基乙基) 二甲基甲硅烷基]氧]-20-甲基孕甾-4-烯-3-酮 (4) (169.3g), 其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

iii) -将叔丁醇钾 (169.5g) 和无水叔丁醇 (3750ml) 一起加热到 45℃。10 分钟内将酮 4 (169.3g) 的无水四氢呋喃 (375ml) 溶液加入其中, 反应混合物继续搅拌 3 小时。减压浓缩混合物至体积 1.5L, 然后将其倾入冰水 (10L) 中。混合物搅拌 2 小时后过滤悬浮液。残余物用水洗涤, 干燥并用丙酮重结晶纯化, 得到 (20S)-21-[[(1, 1-二甲基乙基) 二甲基甲硅烷基]氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-5-烯-3-酮 (5) (136.9g)。

iv) -在 30 分钟内将前述步骤中得到的酮 5 (140g) 的无水四氢呋喃

(375ml) 溶液加到冰冷的氢化铝锂 (35g) 的四氢呋喃 (1750ml) 悬浮液中。混合物于室温下搅拌 1 小时后, 加入饱和硫酸钠水溶液 (152ml) 及随后加水 (39ml) 终止反应。加入乙酸乙酯 (1750ml), 混合物经硅藻土过滤, 减压浓缩滤液, 得到 (3 β , 20S)-21-[[(1, 1-二甲基乙基) 二甲基甲硅烷基] 氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-5-烯-3-醇 (6) (136.3g), 其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

v) -将前述步骤中得到的醇 6 (132.5g) 的无水吡啶 (1310ml) 溶液冷却到 0℃。在 5 分钟内加入苯甲酰氯 (65.7ml), 混合物于室温下搅拌 1 小时。将其倾入冰水 (6650ml) 中, 生成的悬浮液搅拌过夜。滤集沉淀, 用水 (40-50℃) 洗涤。残余物干燥并用丙酮重结晶纯化, 得到 (3 β , 20S)-21-[[(1, 1-二甲基乙基) 二甲基甲硅烷基] 氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-5-烯-3-醇苯甲酸酯 (7) (113.6g)。

vi) -将前述步骤中得到的苯甲酸酯 7 (94.0g), 无水甲苯 (810ml), 无水环己烷 (810ml) 以及 N-溴代琥珀酰亚胺 (36.1g) 组成的混合物加热回流 10 分钟。冷却反应混合物, 加入另一部分 N-溴代琥珀酰亚胺 (36.1g), 继续回流 10min。冷却混合物, 加入饱和硫代硫酸钠溶液 (1620ml), 生成的混合物搅拌 30 分钟。分出有机相和水相, 后者用甲苯提取两次。合并的有机相用硫酸钠干燥, 减压浓缩。将得到的粗品的无水甲苯溶液 (2835ml) 与 N, N, -二异丙基乙基胺 (284ml) 一起加热回流 1 小时。冷却, 用饱和碳酸氢钠水溶液, 饱和氯化铵水溶液以及盐水进行洗涤, 水相每次用乙酸乙酯提取。将甲苯和乙酸乙酯溶液合并, 硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到 (3 β , 20S)-21-[[(1, 1-二甲基乙基) 二甲基甲硅烷基] 氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-5, 7-二烯-3-醇苯甲酸酯 (8) (134g), 其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

vii) 将化合物 8 (32.3g), 甲苯 (84ml), 乙醇 (96%; 588ml) 以及浓盐酸 (84ml) 组成的混合物一起加热回流 3 小时。冷却混合物,

将其倾入饱和碳酸氢钠水溶液（1L）中。产品用乙酸乙酯提取；合并的有机相用盐水洗涤，硫酸钠干燥，减压浓缩。柱层析纯化得到 3: 1 的（3 β , 5 α , 20S）-4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇-3-苯甲酸酯（9）以及（3 β , 5 α , 20S）-4, 4, 20-三甲基孕甾-6, 8（14）-二烯-3, 21-二醇-3-苯甲酸酯混合物（17.4g），混合物可以直接用于下一步反应。

viii) -将二甲基亚砜（1.97ml）的无水二氯甲烷（76ml）溶液冷却到 -78℃，在 30 分钟内，将草酰氯（1.53ml）的无水二氯甲烷（38ml）溶液加入其中。继续搅拌 5 分钟。20 分钟内将 vii 中得到的混合物（5.0g）的无水四氢呋喃（36ml）溶液加入其中。于 -78℃ 下继续搅拌 5 小时，之后加入三乙胺（7.3ml），使混合物升温至室温。加水，用二氯甲烷提取产品。合并的有机相用水洗涤，硫酸钠干燥，减压浓缩，得到（3 β , 5 α , 20S）-3-（苯甲酰氧基）-4, 4-二甲基孕甾-8, 14-二烯-20-羧醛（10）（6.14g），其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

ix) -将前述步骤中得到的醛 10（2.0g）的无水四氢呋喃（17ml）溶液滴加到 1M 苯基溴化镁（13ml）的四氢呋喃溶液中。混合物于室温下搅拌 3 小时，加入饱和氯化铵溶液，用乙酸乙酯提取产品。合并的有机相用水洗涤，硫酸钠干燥，减压浓缩，得到（3 β , 5 α , 20S）-4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯（11）（3.0g），其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

x) -将醇 11（3.0g）的无水四氢呋喃（26.7ml）溶液和无水吡啶（5.2ml）溶液滴加到冰冷的草酰氯（1.95ml）的无水二氯甲烷（9.7ml）溶液中。混合物于室温下搅拌 1 小时，加入水，用乙酸乙酯提取产品。合并的有机相用 4M 盐酸水溶液和水洗涤，硫酸钠干燥，减压浓缩，得到（3 β , 5 α , 20S）-4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯 21-（乙二酸甲酯）（12）（3.58g），其无需纯化即可以

直接用于下一步反应。

xi) -将前述步骤中得到的乙二酸甲酯 12 的无水甲苯 (150ml) 加热回流。加入三丁基锡氢化物 (2.5ml) 后再加 2,2'-氮杂双(异丁腈) (35mg)。每隔 15 分钟重复加入一份 (35mg) 后一种化合物, 直至反应完成 (5 小时)。冷却反应混合物。合并的有机相用水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩, 经柱层析得到 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇苯甲酸酯 (13) (0.84g)。

xii) -将氢氧化钾 (0.45g) 加入到化合物 13 (0.84g) 的四氢呋喃 (8.4ml), 甲醇 (8.4ml) 和水 (0.45ml) 的混合溶液中。混合物在回流下搅拌过夜。冷却后加水, 滤集生成的沉淀。残余物用水洗涤并干燥。经柱层析和二氯甲烷/丙酮重结晶, 得到 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇 (1) (0.29g)。M. p. 179-186 °C。本产品含有 30% (w/w) (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-6, 8(14)-二烯-3-醇。

实施例 2

类似于实施例 1 中 ix-xii 所描述的步骤, 按实施例 1 中 viii 步骤所述由 (3 β , 5 α , 20R) - (苯甲酰氧基) -4, 4-二甲基孕甾-8, 14-二烯-20-羧醛 10 开始, 可以制得下列化合物:

A) - (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21- (3-甲基苯基) 孕甾-8, 14-二烯-3-醇。

M. p. 140.5-143.5 °C。

B) - (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-[4- (三氟甲基) 苯基] 孕甾-8, 14-二烯-3-醇。

M. p. 169-171 °C。

实施例 3

(3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-6, 8 (14) -二烯-3-醇。

i) 将氯化氢气通入 (3 β , 20S) -21-[[(1, 1-二甲基乙基) 二甲基甲硅烷基]氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-5, 7-二烯-3-醇苯甲酸酯 (化合物 8; 实施例 1, 步骤 vi; 25.0g) 和乙酸酐 (40ml) 的氯仿 (250ml) 溶液中, 时间为 30 分钟。混合物加热回流 50 分钟; 再继续通入氯化氢气 20 分钟。冷却至 0℃ 后, 加入氢氧化铵 (5%) 水溶液, 混合物搅拌 1.5 小时。用二氯甲烷提取产品, 合并的有机相用饱和碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到 (3 β , 5 α , 20S) -21-[[(1, 1-二甲基乙基) 二甲基甲硅烷基]氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-6, 8(14)-二烯-3-醇苯甲酸酯 (24.6g), 产品可以直接用于下一步反应。

ii) -将 i 中描述的化合物 (17.6g) 的丙酮 (352ml) 溶液用 6M 盐酸水溶液 (3.52ml) 进行处理。50℃ 下搅拌 3 小时后, 减压浓缩。将残余物倾入水中, 产品用乙酸乙酯提取。合并的有机相用水洗涤, 硫酸钠干燥并减压浓缩。经柱层析后得到 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基孕甾-6, 8 (14) -二烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯 (7.69g)。

iii) 类似于实施例 1 中 viii-xii 所描述的步骤, 将前述步骤中的产品转化为 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基孕甾-6, 8 (14) -二烯-3-醇。

M. p. 218-220℃。

实施例 4

(3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基-21- (3-甲基苯基) 孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇

i) -按照实施例 1 中 ix 步骤所描述的方法, 将 (3 β , 5 α , 20S) -3- (苯甲酰氧基) -4, 4-二甲基孕甾-8, 14-二烯-20-羧醛 (化合物 10; 实施例 1, 步骤 viii; 0.5g) 转化为 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基-21-

(3-甲基苯基) 孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯 (0.31g)。

ii) -按照实施例 1 中 xii 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到的产品 (0.31g) 转化为 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基-21-(3-甲基苯基) 孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 (51mg)。M. p. 169-173°C。

实施例 5

(3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇

i) -将对甲苯磺酸酐 (20g) 加到冰冷的 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯 (化合物 9; 按照实施例 1 中 vii 步骤制备; 10g) 的无水吡啶 (40ml) 溶液中。反应混合物室温搅拌过夜, 然后倾入水 (400ml) 中。搅拌 1 小时后, 滤集生成的沉淀, 用水洗涤。50°C 下减压干燥, 得到 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基-21-[[(4-甲基苯基) 磺酰基] 氧]-孕甾-8, 14-二烯-3-醇苯甲酸酯 (14.1g), 其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

ii) -将 i 中描述的甲苯磺酸酯 (9.12g) 的无水二甲亚砜 (31ml) 悬浮液在 50°C 下加热。向其中加入氰化钾 (3.86g) 并搅拌 6 小时。加入无水二甲亚砜 (31ml), 继续搅拌 10 小时。冷却后, 将混合物倾入冰水 (600ml) 中。滤集生成的沉淀, 用水洗涤。50°C 下减压干燥, 得到 (3 β , 5 α , 20R) -3-(苯甲酰氧基)-4, 4, 20-三甲基苯基孕甾-8, 14-二烯-21-腈 (6.45g), 其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

iii) -将二异丁基氢化铝 (64ml, 20% 的甲苯溶液) 加到 ii 中描述的腈 (6.40g) 的无水甲苯 (64ml) 溶液中。混合物室温搅拌过夜, 然后用 4M 盐酸水溶液 (71ml) 终止反应。过滤后, 产品用乙酸乙酯提取。合并的有机相用水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到 (3 β , 5 α , 20R)

-3-羟基-4, 4, 20-三甲基苯基孕甾-8, 14-二烯-21-羧醛 (4.59g), 其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

iv) -将对甲苯磺酸吡啶鎓 (0.29g) 加到 iii 中描述的醛 (4.59g) 的无水二氯甲烷 (28ml) 和乙基乙烯基醚 (9.1ml) 溶液中。混合物搅拌 1 小时后, 加入吡啶 (1ml)。混合物用水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到 (3 β , 5 α , 20R)-3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-21-羧醛 (5.64g), 其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

v) - 按照实施例 1 中 ix 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到的羧醛 (1.0g) 转化为 (3 β , 5 α , 20R)-3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4-二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-23-醇 (1.63g)。

vi) - 按照实施例 1 中 x 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到的醇 (1.60g) 转化为 (3 β , 5 α , 20R)-3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4-二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-23-醇乙二酸甲酯 (2.11g)。

vii) - 按照实施例 1 中 xi 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到的乙二酸甲酯 (2.11g) 转化为 (3 β , 5 α , 20R)-3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4-二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯 (3.64g)。

viii) - 将 vii 中描述的化合物 (3.64g) 的丙酮 (20ml) 溶液用 4M 盐酸水溶液 (2ml) 进行处理。混合物搅拌 1 小时后, 将其倾入水中, 用乙酸乙酯提取。合并的有机相用水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩。用二氯甲烷/丙酮重结晶后得到 (3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 (0.40g), M. p. 184-186 $^{\circ}$ C。

实施例 6

按照实施例 5 中 v-viii 步骤所描述的类似反应步骤，从实施 5 中 iv 步骤所描述的 (3 β , 5 α , 20R) -3-[(1-乙氧基乙基) 氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-21-羧醛起始，可以制得下列化合物：

A) - (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-(3-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇。

M. p. 159-161°C.

B) - (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-[2-(三氟甲基) 苯基]-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇。

M. p. 130-147°C. 该产品含 45%的 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-[2-(三氟甲基) 苯基]-24-降胆-6, 8(14)-二烯-3-醇。

实施例 7

(3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇和 (3 β , 5 α , 20R) -3-羟基-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-23-酮

i)-将(3 β , 20S)-21-[[(1, 1-二甲基乙基) 二甲基甲硅烷基] 氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-5, 7-二烯-3-醇苯甲酸酯 (化合物 8; 实施例 1, 步骤 vi; 46.5g), 氯仿 (400ml) 以及 HCl 的乙酸溶液 (1M, 400ml) 组成的混合物于室温下搅拌 45 分钟，再加热回流 45 分钟。用同样的方法对另一份二烯 (46.5g) 进行处理。将两个实验的反应混合物冷却，合并在一起，减压浓缩除去氯仿。将残余物倾入氢氧化钠 (150g) 水 (2.5l) 溶液中。滤集生成的沉淀，水洗涤并干燥。粗品用丙酮重结晶得到 6:1 (51.4g) 的 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 21 乙酸酯 3-苯甲酸酯和 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基孕甾-6, 8(14)-二烯-3, 21-二醇 21 乙酸酯 3-苯甲酸酯，其可以直接用于下一步反应。

ii) 向前述步骤中得到产品 (62g) 的四氢呋喃 (400ml), 甲醇 (250ml) 和水 (100ml) 溶液中加入氢氧化钾 (13.5g)。混合物于室温下搅拌 1 小时, 倾入水 (10L) 中。滤集生成的沉淀, 水洗涤并干燥, 得到 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯 (58g)。其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

iii) -按照实施例 5 中 i-iii 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到的醇转化得到 (3 β , 5 α , 20R) -3-羟基-4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-21-羧醛。

iv) -将上述醛 (12.3g) 的无水吡啶 (150ml) 溶液冷却至 4℃。在 5 分钟内加入苯甲酰氯。混合物于室温下搅拌 1.5 小时。将其倾入水 (2L) 中。生成的混合物搅拌过夜。混合物用二氯甲烷提取, 合并的有机相在减压下浓缩, 得到 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-21-羧醛 (16.1g)。其无需纯化即可以直接用于下一步反应。

v) - 按照实施例 1 中 ix 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到醛 (15.0g) 转化为 23R 和 23S 苯基甲醇的混合物, 其可用柱层析分离, 得到 (3 β , 5 α , 20R, 23R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 3-苯甲酸酯 (2.15g) 和 (3 β , 5 α , 20R, 23S) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 3-苯甲酸酯 (2.95g)。

vi) 将 Raney 镍 (100g) 的水悬液加到 (3 β , 5 α , 20R, 23R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 3-苯甲酸酯 (1.95g) 的乙醇 (150ml) 溶液中, 混合物于室温下搅拌 96 小时。滤除 Raney 镍。在另一实验中, 用同样的方法处理 (3 β , 5 α , 20R, 23S) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 3-苯甲酸酯 (1.30g)。将两个实验得到的滤液合并, 减压浓缩。粗品用层析纯化, 得到 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 3-苯甲酸酯 (1.00g)

以及 (3 β , 5 α , 20R) -3- (苯甲酰氧基) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-23-酮 (0. 40g) 。

ViiA) 按类似于实施例 1 的 IV 所述步骤, 将 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇苯甲酸酯 (1. 20g) 转化为 3-羟基化合物, 乙醇重结晶后, 得到 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 (0. 65g)。M. P. 164. 3-165. 7℃。

viiB) 将氢氧化钠 (0. 4g) 加到 (3 β , 5 α , 20R) -3- (苯甲酰氧基) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-23-酮 (0. 70g) 的四氢呋喃 (10ml) 溶液、甲醇 (10ml) 、二氯甲烷 (1ml) 和水 (1ml) 的混合溶液中, 混合物于回流下搅拌 6 小时。冷却, 用乙酸 (1ml) 中和。产品用二氯甲烷提取, 合并的有机相在减压下浓缩。粗品用乙醇重结晶, 得到 (3 β , 5 α , 20R) -3-羟基-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-23-酮 (0. 30g) 。M. p. 196. 4-197. 2℃。

实施例 8

(3 β , 5 α , 20R, 23R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇

按照实施例 1 中 iv 步骤所描述的方法, 将 (3 β , 5 α , 20R, 23R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 3-苯甲酸酯 (实施例 7, 步骤 v; 0. 75g) 转化为 3-羟基化合物, 乙醇重结晶后得到 (3 β , 5 α , 20R, 23R) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 (0. 28g) 。M. p. 199. 2-200. 7℃。

实施例 9

(3 β , 5 α , 20R, 23S) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇

按照实施例 1 中 iv 步骤所描述的方法, 将(3 β , 5 α , 20R, 23S)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 3-苯甲酸酯(实施例 7, 步骤 v; 0.75g) 转化为 3-羟基化合物, 乙醇重结晶后得到 (3 β , 5 α , 20R, 23S)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇(0.13g)。M. p. 208.0-209.3℃。

实施例 10

(3 β , 5 α , 20R, 22E)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14, 22-三烯-3-醇

i)-将叔丁醇钾(1.12g)加到苄基三苯基磷鎓氯(4.22g)的无水甲苯(30ml)溶液中。混合物在 70℃下加热 45 分钟。加入(3 β , 5 α , 20S)-3-(苯甲酰氧基)-4, 4-二甲基孕甾-8, 14-二烯-20-羧醛(化合物 10; 实施例 1, 步骤 viii; 1.0g), 继续加热 1 小时。冷却后, 将混合物倾入水中, 用乙酸乙酯提取产品。合并的有机相用水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩。柱层析后得到 (3 β , 5 α , 20R, 22E)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14, 22-三烯-3-醇(0.23g), M. p. 131-144℃。所得产品含有 30%(3 β , 5 α , 20R, 22E)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-6, 8(14), 22-三烯-3-醇。

实施例 11

(3 β , 5 α , 20R, 23E)-4, 4-二甲基-24-苯基胆甾-8, 14, 23-三烯-3-醇

i)-按照实施例 10 中 i 步骤所描述的方法, 将(3 β , 5 α , 20R)-3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-21-羧醛(实施例 5, 步骤 iv; 0.500g)转化为(3 β , 5 α , 20R, 23E)-3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4-二甲基-24-苯基胆甾-8, 14, 23-三烯(0.86g)。

ii)-按照实施例 5 中 viii 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到产品(0.24g)转化为 3-羟基化合物。柱层析后得到(3 β , 5 α , 20R, 23E)-

4, 4-二甲基-24-苯基胆甾-8, 14, 23-三烯 (0.139g)。M.p. 126.8–127.4 °C。所得产品含有 30% (3 β , 5 α , 20R, 23Z) -4, 4-二甲基-24-苯基胆甾-8, 14, 23-三烯-3-醇。

实施例 12

(3 β , 5 α , 20S) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔-3-醇

i) -将氯代铬酸吡啶鎓盐 (8.79g) 加到 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4, 20-三甲基孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯 (实施例 7, 步骤 ii; 12.6g) 的无水二氯甲烷溶液 (130ml) 中。混合物在室温下搅拌 1.5 小时。加入另一份氯代铬酸吡啶鎓盐 (1.50g), 继续搅拌 1.5 小时。过滤, 将滤液倾入饱和碳酸氢钠水溶液中。产品用二氯甲烷提取, 合并的有机相用水洗涤, 硫酸镁干燥, 减压浓缩。柱层析后得到 (3 β , 5 α , 20S) -4, 4-二甲基孕甾-8, 14-二烯-20-羧醛 (10.3g), 产品无需纯化即可以直接用于下一步反应。

ii) -将 (氯代甲基) 三苯基磷鎓氯 (17.5g) 的无水四氢呋喃 (140ml) 溶液冷却到 0°C。加入叔丁醇钠 (4.64g), 混合物搅拌 20 分钟。将前述步骤中得到的醛 (10.3g) 的无水四氢呋喃 (80ml) 溶液加入其中, 混合物在 0°C 下搅拌 30 分钟, 再于室温下搅拌 2 小时。加入乙酸乙酯, 浓缩混合物除去四氢呋喃。依次用水、饱和碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。有机相用硫酸镁干燥, 减压浓缩。柱层析后得到 (3 β , 5 α , 20S) -23-氯-4, 4-二甲基-24-降胆-8, 14, 22-三烯-3-醇苯甲酸酯 (7.01g)。

iii) -按照实施例 1 中 iv 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到的产品 (7.01g) 转化为 (3 β , 5 α , 20S) -23-氯-4, 4-二甲基-24-降胆-8, 14, 22-三烯-3-醇 (6.28g)。

iv) - 按照实施例 5 中 iv 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到的产品 (6.28g) 转化为 (3 β , 5 α , 20S) - 23-氯-3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4-二甲基-24-降胆-8, 14, 22-三烯 (6.98g)。

v) 将前述步骤中得到的产品 (6.98g) 的无水四氢呋喃 (75ml) 溶液冷却到 -20℃。在 20 分钟内加入正丁基锂的己烷溶液 (1.6M, 28.5ml), 混合物在 -20℃ 下搅拌 15 分钟, 再于 0℃ 下搅拌 3.5 小时。加水, 产品用乙酸乙酯提取。合并的有机相用盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 减压浓缩。柱层析后得到 (3 β , 5 α , 20S) - 3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4-二甲基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔 (4.34g)。

vi) 将前述步骤中得到的产品 (0.50g), 碘苯 (0.16ml), 乙酸钼(II) (16mg), 三苯基膦 (62mg) 以及碘化铜(I) (18mg) 的吡咯烷 (7ml) 溶液组成的混合物进行脱气, 然后加热回流 3 小时。将反应混合物倾入饱和的氯化铵中, 用乙酸乙酯提取产品。合并的有机相用饱和的氯化铵溶液和盐水洗涤, 硫酸镁干燥。柱层析后得到 (3 β , 5 α , 20S) - 3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔 (0.62g)。

v) - 按照实施例 5 中 viii 步骤所描述的方法, 将前述步骤中得到的产品 (0.61g) 转化为 3-羟基化合物。柱层析得到 (3 β , 5 α , 20S) - 4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔-3-醇 (0.25g)。M.p. 136℃。化合物含有 20% (3 β , 5 α , 20S) - 4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-6, 8(14) - 二烯-22-炔-3-醇。

实施例 13

按照实施例 12 中 vi 和 vii 步骤所描述的方法, 从实施例 12 中 v 步骤所描述的 (3 β , 5 α , 20S) - 3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4, 4-二甲基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔开始, 可以制得下列化合物:

A) - (3 β , 5 α , 20S) -23-(4-甲氧基苯基)-4,4-二甲基-24-降胆-8,14-二烯-22-炔-3-醇。M. p. 165.5℃。该产品含有 30% (3 β , 5 α , 20S) -23-(4-甲氧基苯基)-4,4-二甲基-24-降胆-6,8(14)-二烯-22-炔-3-醇。

B) - (3 β , 5 α , 20S) -23-(4-氯苯基)-4,4-二甲基-24-降胆-8,14-二烯-22-炔-3-醇。该产品含有 25% (3 β , 5 α , 20S) -23-(4-氯苯基)-4,4-二甲基-24-降胆-6,8(14)-二烯-22-炔-3-醇。

实施例 14

(3 β , 5 α , 20R) -4,4-二甲基-24-苯基胆甾-8,14-二烯-23-炔-3-醇

i) - 按照实施例 12 中 ii-v 步骤所描述的方法, 将(3 β , 5 α , 20R)-3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4,4,20-三甲基孕甾-8,14-二烯-21-羧醛(实施例 5, 步骤 iv) 转化为 (3 β , 5 α , 20R) -3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4,4-二甲基胆甾-8,14-二烯-23-炔。

ii) - 按照实施例 12 中 vi 和 vii 步骤所描述的方法, 将上述炔转化为 (3 β , 5 α , 20R) -4,4-二甲基-24-苯基胆甾-8,14-二烯-23-炔-3-醇。

M. p. 84.5-85.7℃。该产品含有 15% (3 β , 5 α , 20R) -4,4-二甲基-24-苯基胆甾-6,8(14)-二烯-23-炔-3-醇。

实施例 15

按照实施例 12 中 vi 和 vii 步骤所描述的方法, 从实施例 14 步骤 i 中所述的 (3 β , 5 α , 20R) -3-[(1-乙氧基乙基)氧]-4,4-二甲基胆甾-8,14-二烯-23-炔开始, 可以制备下列化合物:

A) - (3 β , 5 α , 20R) -24-(4-甲氧基苯基)-4,4-二甲基胆甾-8,14-二烯-23-炔-3-醇。

M. p. 91.3-92.6℃。该产品含有 15% (3 β , 5 α , 20R) -24-(4-甲氧基苯基)-4,4-二甲基胆甾-6,8(14)-二烯-23-炔-3-醇。

B) - (3 β , 5 α , 20R) -24-(4-氯苯基)-4,4 二甲基胆甾-8,14-二烯-23-炔-3-醇。

M. p. 128.2-129.4°C。该产物含有 15% (3 β , 5 α , 20R) -24-(4-氯苯基)-4,4 二甲基胆甾-6,8(14)-二烯-23-炔-3-醇。

C) - (3 β , 5 α , 20R) -4,4 二甲基-24-(2-甲基苯基)胆甾-8,14-二烯-23-炔-3-醇。

M. p. 136.5-137.8°C。

D) - (3 β , 5 α , 20R) -4,4 二甲基-24-(4-甲基苯基)胆甾-8,14-二烯-23-炔-3-醇。

M. p. 111.2-112.1°C。

实施例 16

(3 β , 5 α , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-8,14-二烯-3-醇 以及 (3 β , 5 α , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-6,8(14)-二烯-3-醇

i) - 按照实施例 1 中步骤 v 所描述的方法, 将 (3 β , 17Z) -孕甾-5,17-二烯-3-醇 (82.7g; 参见 Drefahl, G. et al, Chem. Ber. 604(1965)] 转化为 (3 β , 17Z) -孕甾-5,17-二烯-3-醇苯甲酸酯 (104.7g)。

ii) - 将前述步骤中得到产品 (25.3g) 的无水二氯甲烷溶液 (500ml) 冷却至 15°C。加入多聚甲醛 (11.3g), 再加入三氯化硼乙醚醚溶液 (0.78ml)。混合物搅拌 45 分钟, 过滤去除过量的多聚甲醛。加入硫酸 (6M, 31.3ml) 和甲醇 (250ml), 混合物于室温下搅拌 5 小时。用氢氧化钠 (2M) 水溶液中和, 然后倾入水中。产品用二氯甲烷提取; 合并的有机相用硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到 (3 β , 20S) -20-甲基孕甾-5,16-二烯-3,21-二醇 3-苯甲酸酯 (26.5g)。产品无需纯化即可

以直接用于下一步反应。

iii)- 将含有 Pd/C (10%, 4.18g)的前述步骤中所得醇 (13.3g) 的二氯甲烷 (135ml) 和乙醇 (135ml) 溶液在室温和常压下进行氢化。过滤并减压浓缩。用二氯甲烷/丙酮重结晶后得到 (3 β , 20S) -20-甲基孕甾-5-烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯 (10.6g)。

iv)- 将前述步骤中得到醇 (22.2g) 的无水二氯甲烷 (444ml) 溶液加到相同溶剂 (443ml) 的氯代铬酸吡啶鎓 (44.3g) 中。混合物室温搅拌 2.5 小时后, 冷却至 5℃。加入亚硫酸氢钠 (90g) 的水 (511ml) 溶液, 继续搅拌 1 小时。将混合物倾入水 (3L) 中, 经硅胶和硅藻土过滤。产品用二氯甲烷提取, 合并的有机相减压浓缩。将残余物溶于乙酸乙酯和四氢呋喃的混合物中, 水洗。有机相用硫酸钠干燥并用活性碳处理, 过滤, 浓缩, 得到 (3 β , 20S) -3-(苯甲酰氧基)-孕甾-5-烯-20-羧醛 (19.0g)。产品无需纯化即可以直接用于下一步反应。

v)-按照实施例 1 中步骤 ix 所描述的方法, 将前述步骤中得到的醛 (19.0g) 转化为 (3 β , 20S, 21R) -20-甲基-21-苯基孕甾-5-烯-3, 21-二醇 3-苯甲酸酯和 (3 β , 20S, 21S) -20-甲基-21-苯基孕甾-5-烯-3, 21-二醇 3 苯甲酸酯的混合物 (共 17.7g)。

vi)- 将前述步骤中得到的醇 (15.3g) 和三乙基硅烷 (5.26ml) 的无水二氯甲烷溶液 (306ml) 冷却至 0℃。加入三氯化硼乙醚醚溶液 (4.2ml), 混合物搅拌 1.5 小时。将其倾入饱和碳酸氢钠水溶液中, 产品用二氯甲烷提取。合并的有机相用盐水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩。粗品用乙醚重结晶后得到 (3 β , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-5-烯-3-醇苯甲酸酯 (10.7g)。

vii)- 将含有 1,3-二溴-5, 5-二甲基乙内酰脲 (3.78g) 的前述步骤

中得到的苯甲酸酯 (8.88g) 的无水环己烷溶液 (450ml) 加热回流 1 小时。混合物冷却后, 将其倾入水中。粗品用乙酸乙酯提取, 合并的有机相用盐水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩。将残余物 (11.3g) 溶于无水四氢呋喃 (180ml) 中, 用四丁基氟化铵的四氢呋喃 (1M, 528ml) 溶液处理。混合物搅拌过夜。其倾入水中。粗品用乙酸乙酯提取, 合并的有机相用盐水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩。粗品进行重结晶和柱层析后得到 (3 β , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-5, 7-二烯-3-醇苯甲酸酯 (4.48g)。

viii) -按照实施例 1 中步骤 vii 所描述的方法, 将前述步骤中得到的二烯 (3.2g) 进行异构化。用丙酮/乙醚反复地对粗品 (3.3g) 进行重结晶, 柱层析后得到 (3 β , 5 α , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇苯甲酸酯 (1.51g) 以及 (3 β , 5 α , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-6, 8 (14) -二烯-3-醇苯甲酸酯 (0.75g)。

ixA) -按照实施例 1 中步骤 iv 所描述的方法, 将 (3 β , 5 α , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇苯甲酸酯 (0.90g) 转化为 3-羟基化合物。用乙醚/庚烷反复地重结晶得到 (3 β , 5 α , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇 (0.39g)。M. p. 156-157°C。

ixB) -按照实施例 1 中步骤 iv 所描述的方法, 将 (3 β , 5 α , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-6, 8 (14) -二烯-3-醇苯甲酸酯 (0.75g) 转化为 3-羟基化合物。层析和冷冻干燥后得到 (3 β , 5 α , 20R) -20-甲基-21-苯基孕甾-6, 8 (14) -二烯-3-醇 (0.21g)。

实施例 17

(3 β , 5 α , 20R) --4, 4 二甲基-23- (2-甲基苯基) -24-降胆-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐

将实施例 5 中所描述的 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4 二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 (0.15g), 无水吡啶 (2.2ml), 琥珀酸酐 (0.82g) 以及 4-二甲基氨基吡啶 (5mg) 的混合物在 60℃ 下加热过夜。冷却混合物, 之后将其倾入水中。产品用乙酸乙酯提取, 合并的有机相用 2M 盐酸和水洗涤, 硫酸钠干燥, 减压浓缩。粗品用丙酮进行重结晶得到 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4 二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐 (0.106g)。M. p. 144-147℃。

实施例 17

按照实施例 17 中所描述的方法, 可以制备下列化合物:

A) - 从 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇 (化合物 1, 实施例 1 中所述), 制备 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐。该产品含有 30% (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-6, 8 (14)-二烯-3-醇丁二酸氢盐。

B) - 从 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-[4-(三氟甲基)苯基]孕甾-8, 14-二烯-3-醇 (实施例 2B 中所述), 制备 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-[4-(三氟甲基)苯基]孕甾-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐。M. p. 147-151℃。

C) - 从 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-[2-(三氟甲基)苯基]-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 (实施例 6B 中所述), 制备 (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-[2-(三氟甲基)苯基]-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐。该产品含有 30% (3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-[2-(三氟甲基)苯基]-24-降胆-6, 8 (14)-二烯-3-醇丁二酸氢盐。

D) - 从 (3 β , 5 α , 20R, 22E) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14, 22-

三烯-3-醇（实施例 10 中所述），制备 (3 β , 5 α , 20R, 22E) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14, 22-三烯-3-醇丁二酸氢盐。该产品含有 40% (3 β , 5 α , 20R, 22E) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-6, 8(14), 22-三烯-3-醇丁二酸氢盐。

实例 19

卵母细胞分析

通法：

停止在减数分裂期的卵母细胞含有分散的染色体，其被完整的称为胚气囊（GV）核包裹物所包围。当通过中间循环促性腺激素波动进行减数分裂的再启动时，染色体进行再缩合并且 GV 破裂（GVBD）。在体内，卵母细胞暴露于次黄嘌呤（HX），其使卵母细胞停留在减数分裂前期。此减数分裂停止的情况在体外可以通过向培养基中加入次黄嘌呤来模拟。以在裸露的卵母细胞（DO）中克服次黄嘌呤保持减数分裂处于停止状态（即体外引导减数分裂恢复）的能力作为指标，来测定本发明化合物的活性。

丘包裹的卵母细胞的分离：

卵巢是从未成熟的雌性小鼠（B6D2-F1, C57BL $\times$ DBA 系）上获得的。在小鼠 19, 20, 21 天时，经皮下注射单一剂量 20IU 的促卵泡激素（Organon, The Netherlands）盐水溶液。

小鼠注射促卵泡激素 48 小时后，由颈部杀死小鼠。移出卵巢，除去外部组织，并将其置于 37℃ 的含有 1ml 制备介质的多碟中。将补有小牛血清白蛋白（3mg. ml⁻¹），L-谷氨酰胺（0.23mM），丙酮酸钠（2mM）和次黄嘌呤（4mM）的 L-15 Leibovitz 培养基（Gibco, pH7.3 $\pm$ 0.1）作为制备培养基。在解剖显微镜下，用两个附有两个 1ml 注射器的 27-计量针，对卵巢的窦性气囊进行穿刺。用嘴控制的移液管选出大小一致的丘包围的卵母细胞（CEO），用 0.5ml 新鲜制备介质进

行冲洗。从每个卵巢中大约得到 20 个 CEO。

裸露的卵母细胞的分离:

通过细孔嘴控制的移液管对 CEO 进行温和冲洗, 得到从丘细胞中分出游离卵母细胞, 即裸露的卵母细胞 (DO)。DO 用新鲜的培养介质冲洗两次, 然后储存于 37℃ 的培养介质中, 其中的湿度为 100%, 并含有 5%CO₂ 的空气。

实验设计:

卵母细胞的分析分三批进行, 每批代表一只小鼠的卵巢 (随机的批设计)。在 $t=0$ 时, 将第一只小鼠的第一个卵巢中的 DO 分布到含有 0.5ml 制备培养基的 4 池多碟的 1 和 3 池上, 第二个卵巢中的 DO 分布到 2 和 4 池上, 上述培养基中加有本发明 20-芳烷基-5 α -孕甾烷衍生物 (第一批)。将培养基作为对照。对第二和第三只小鼠重复同样的操作过程 (第二批和第三批)。所用的培养基为用 CO₂ 饱和的, 并补有小牛血清白蛋白 (3mg. ml⁻¹), L-谷氨酰胺 (0.23mM), 丙酮酸钠盐 (2mM) 和次黄嘌呤 (4mM) 的 MEM α 培养基 (Gibco, pH7.3 $\pm$ 0.1)。总的来说, 每个对照或受试化合物用 30 个卵母细胞 (10 个卵母细胞为一批) 进行实验。在 $t=0$ 时, 在带有分辨干扰对比设备的转换显微镜下, 对带有完整胚气囊 (GV) 或破裂胚气囊 (GVBD) 的 DO 的数目进行计数。在实验中仅采用带有完整 GV 的卵母细胞。将卵母细胞在 37℃ 的培养基 (其中的湿度为 100%, 并含有 5%CO₂) 中培养 22 小时。在培养期结束时, 对每组 GV 或 GVBD 的卵母细胞进行计数。为了进行统计分析, 计算一批中每组破裂胚气囊的百分比。这些百分比经过反正弦转换, 通过 ANOVA 实验对随机的批设计进行分析, 观察对照和受试化合物之间的差异。结果列于表 I。

表 1、在受试化合物存在下经过培养后卵母细胞中胚气囊破裂 (GVBD) 的百分比 (DO 分析) *

化合物 (实施例)	GVBD (%) 实验 (对照)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇 (1)	100 (0)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4, 20-三甲基-21-(3-甲基苯基) 孕甾-8, 14-二烯-3-醇 (2A)	97 (8)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4, 20-三甲基-21-[4-(三氟甲基) 苯基] 孕甾-8, 14-二烯-3-醇 (2B)	97 (8)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-(6, 8) 14-二烯-3-醇 (3)	100 (0)
(3 β , 5 α , 20S)-4, 4, 20-三甲基-21-(3-甲基苯基) 孕甾-8, 14-二烯-3, 21-二醇 (4)	19 (4)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 (5)	28 (0)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基-23-(3-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 (6A)	60 (8)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基-23-[2-(三氟乙基) 苯基]-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 (6B)	0 (0)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇 (7A)	
(3 β , 5 α , 20R)-3-羟基-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-23-酮 (7B)	
(3 β , 5 α , 23R)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 (8)	
(3 β , 5 α , 23S)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-3, 23-二醇 (9)	
(3 β , 5 α , 20R, 22E)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14, 22-三烯-3-醇 (10)	0 (0)
(3 β , 5 α , 20R, 23E)-4, 4-二甲基-24-苯基降胆-8, 14, 23-三烯-3-醇 (11)	67 (0)
(3 β , 5 α , 20S)-4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔-3-醇 (12)	100 (3)
(3 β , 5 α , 20S)-23-(4-甲氧基苯基)-4, 4-二甲基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔-3-醇 (13A)	5 (0)
(3 β , 5 α , 20S)-23-(4-氯苯基)-4, 4-二甲基-24-降胆-8, 14-二烯-22-炔-3-醇 (13B)	60 (0)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基-24-苯基降胆-8, 14-二烯-23-炔-3-醇 (14)	28 (3)
(3 β , 5 α , 20R)-24-(4-甲氧基苯基)-4, 4-二甲基降胆-8, 14-二烯-23-炔-3-醇 (15A)	51 (6)
(3 β , 5 α , 20R)-24-(4-氯苯基)-4, 4-二甲基降胆-8, 14-二烯-23-炔-3-醇 (15B)	39 (6)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基-24-(2-甲基苯基) 降胆-8, 14-二烯-22-炔-3-醇 (15C)	4 (0)
(3 β , 5 α , 20R)-4, 4-二甲基-24-(4-甲基苯基) 降胆-8, 14-二烯-23-炔-3-醇 (15D)	100 (0)
(3 β , 5 α , 20R)-20-甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇 (16A)	
(3 β , 5 α , 20R)-20-甲基-21-苯基孕甾-6, 8 (14)-二烯-3-醇 (16B)	

(3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-(2-甲基苯基)-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐(17)	81(0)
(3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-苯基孕甾-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐 (18A)	38(6)
(3 β , 5 α , 20R) -4, 4, 20-三甲基-21-[4-(三氟甲基)苯基]孕甾-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐 (18B)	100(0)
(3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基-23-[2-(三氟甲基)苯基]-24-降胆-8, 14-二烯-3-醇丁二酸氢盐 (18C)	98(6)
(3 β , 5 α , 20R, 22E) -4, 4-二甲基-23-苯基-24-降胆-8, 14, 22-三烯-3-醇丁二酸氢盐 (18D)	100(6)
(3 β , 5 α , 20R) -4, 4-二甲基胆甾-8, 14, 22-三烯-3-醇 (FF-Mas)	84(4)

*每个化合物在 10 μ m 的浓度下进行测定。