

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
C07J 1/00



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 98115260.0

[45] 授权公告日 2004 年 3 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 1142175C

[22] 申请日 1998.4.30 [21] 申请号 98115260.0

[30] 优先权

[32] 1997. 5. 2 [33] EP [31] 97201333.8

[71] 专利权人 阿克佐诺贝尔公司

地址 荷兰阿纳姆

[72] 发明人 P·H·拉马克斯

R·G·霍夫斯特拉特

H·P·A·J·M·万邓伯姆

审查员 曾武宗

[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 李 瑛

权利要求书 2 页 说明书 8 页

[54] 发明名称 雌激素混合物的硫酸化

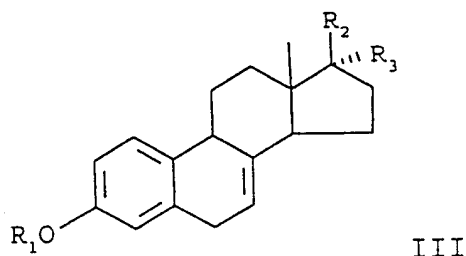
[57] 摘要

本发明涉及制备含 $\Delta(8,9)$ -脱氢雌酮 [$\Delta(8,9)$ DHE] 或其衍生物的硫酸化的雌激素混合物的方法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种制备硫酸化雌激素混合物的方法，该方法包括如下步骤：

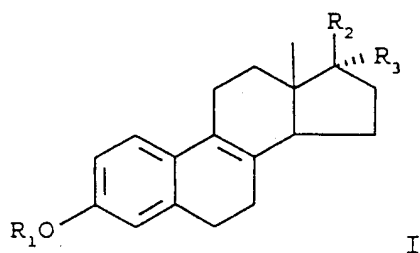
a. 用乙二胺的锂盐，与或不与四氢呋喃混合，或用氨基化锂在二甲基亚砜中将通式III化合物至少部分异构化



式中 R_1 是甲硅烷基（烷基）₃ 或四氢吡喃基，当量混合的缩醛、混合的半缩醛或醚；

R_2 和 R_3 一起表示 O；或

R_2 和 R_3 一起表示缩醛或环缩醛，得到通式 I 化合物



式中 R_1 、 R_2 和 R_3 定义同上；

b. 转化由步骤 a 获得的化合物成为其中 R_1 取代基为 H， R_2 和 R_3 一起为 O 的化合物；

c. 将步骤 b 获得的化合物硫酸化，其与或不与一种或多种选自 17α 二氢马烯雌酮、 17β 二氢马烯雌酮、 17α 雌二醇和 17β 雌二醇的单酯衍生物混合。

2. 根据权利要求 1 的方法，其中在步骤 c 中包括：将步骤 b 获得的化

合物硫酸化，其与一种或多种 17α 二氢马烯雌酮、 17β 二氢马烯雌酮、 17α 雌二醇和 17β 雌二醇的单酰基衍生物混合。

3. 根据权利要求 1 或 2 的方法，其中 R_2 和 R_3 一起表示 0。

雌激素混合物的硫酸化

本发明涉及硫酸化雌激素混合物的制备方法，更具体来说，涉及含3-羟基-雌-1，3，5（10），8（9）-四烯-17-酮[Δ （8,9）-脱氢雌酮； Δ （8,9）DHE； Δ 8雌酮；8，9脱氢雌酮；CAS no.61612-83-7]的混合物的硫酸化。

Δ （8，9）雌酮衍生物的硫酸钠[Δ （8，9）DHES]约以3-4%少量存在于天然结合的雌激素组合物中，例如在用于激素替代疗法的商购产品 Premarin®中。

除雌酮硫酸钠外，在天然结合的雌激素组合物中已鉴别出几种成分，其以原子百分数表示的成份有马烯雌酮硫酸钠（量为22.5-30.5%）、17 α 二氢马烯雌酮（13.3-19.5%）、17 β 二氢马烯雌酮（0.5-4.0%）、17 α 雌二醇（2.5-9.5%）、17 β 雌二醇（< 4.5%）和 Δ （8,9）-脱氢雌酮（< 12.5%）（美国药典，1995，第627页）。

在SCRIP no.2049（1995）第15页中已指出少量 Δ （8,9）DHES对结合的雌激素的效果具有重要贡献。还进一步指出对雌激素受体存在亲合性较低的 Δ （8,9）DHES具有高功能活性，它可在所报道的结合雌激素特别是 Premarin® 的减少 LDL 胆固醇性质和心血管效应中起作用。数据表明 Δ （8,9）DHES 占约18%的 Premarin 的循环雌激素。因此，获得一种易制备 Δ （8,9）DHE 硫酸化混合物的方法是重要的。

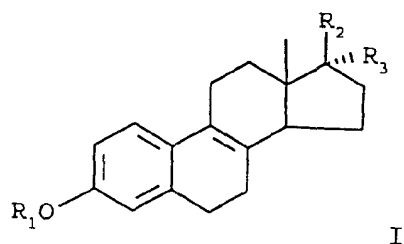
除了繁琐的总的合成方法，J.C.Jacquesy 等人在化学文摘 76（1972），154000f 中公开了在过酸介质中马烯雌酮的异构化。通过在-30℃使用氟化氢或氟化氢/氟化铈完成向 Δ （8,9）DHE 的转化。显然对于 Δ （8,9）DHE 的大规模生产，这种危险的反应条件完全不适合，并且难以接受。此外，美国专利 5,395,831 中公开了当使用 Jacquesy 的方法时，所述氟化氢法不能提供纯的 Δ （8,9）DHE，而是除此之外还提供了10%的不需要的 Δ （9,11）-异构体。商业上可接受的生产方法无论是否通过马烯

雌酮异构化, 仍未有公开技术。

文献中已描述了胆甾醇硫酸化酯的合成。正如 Jenkins 和 Sandberg (Methods in Enzymology, 15, 351-358, 1969) 所总结的, 一种方法是使用吡啶硫酸配合物将单羟基和二羟基 C-18 和 C-19 胆甾醇化合物硫酸化。但这种方法适用于不含其它物质的单一胆甾醇化合物。本发明方法具有的优点为在单一反应混合物中能以特定比率获得硫酸化的雌激素。令人惊讶地发现, 尽管天然结合的雌激素制剂中存在的雌激素具有不同的物理性质, 如结晶行为和溶解度, 但硫酸化反应混合物中硫酸化产品的比率反映了输入成分的量。因此, 进行一釜反应足以制备出硫酸化的雌激素混合物。此外, 合适的话, 此反应可直接与异构化反应结合起来, 由此制备 $\Delta(8,9)$ DHE, 即异构化马烯雌酮或其衍生物成为所述的衍生物。在该反应中用乙二胺的锂盐或用二甲亚砜中的氨基化锂来处理马烯雌酮或其衍生物。

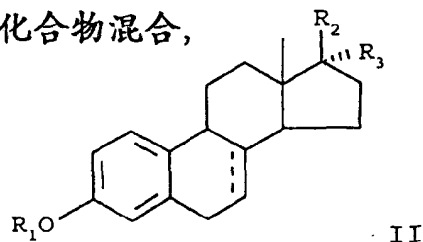
因此, 本发明通过将含 $\Delta(8,9)$ DHE 或其衍生物的雌激素混合物硫酸化, 提供了硫酸化含 $\Delta(8,9)$ DHE 甾族化合物混合物的最容易且低成本的生产方法, 其中所述的 $\Delta(8,9)$ DHE 或其衍生物可通过异构化马烯雌酮或其衍生物得到。

因此, 可将含通式 I 化合物的雌激素混合物进行硫酸化,



式中 R_1 是 H, R_2 是 H, R_3 是 O-酰基; 或

R_3 是 H, R_2 是 O-酰基; 或 R_2 和 R_3 一起表示 O, 在硫酸化时, 该雌激素混合物与选自通式 II 的一种或多种化合物混合,



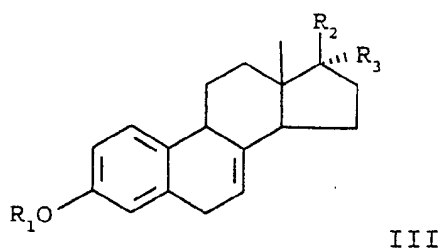
式中 R_1 、 R_2 和 R_3 定义同上，在位置 7-8 的虚线表示可存在或可不存在的双键。

在本发明优选实施方案中，式 I 和/或 II 的 R_2 和 R_3 代表 O。更优选与马烯雌酮混合的 $\Delta 8,9$ 雌酮被硫酸化。

根据本发明另一实施方案，通式 II 化合物是以天然结合的雌激素混合物如 17α 二氢马烯雌酮、 17β 二氢马烯雌酮、 17α 雌二醇和 17β 雌二醇的硫酸酯形式存在的一种或多种少量成分的前体。

反应混合物中化合物的比例并不重要，但出于经济原因，优选比例是天然混合物中存在的比例。

通式 I 化合物可由马烯雌酮和通式 III 所示的马烯雌酮衍生物的异构化来制备，



式中 R_1 是甲硅烷基(烷基)₃或者四氢吡喃基， R_2 和 R_3 一起表示 O；或 R_2 和 R_3 一起代表缩醛或环缩醛。

定义通式时所用的术语烷基表示优选 1-7 个碳原子的支链或无支链烷基，如己基、异丁基、叔丁基、丙基、异丙基、乙基和甲基。优选甲硅烷基(烷基)₃ 为 $\text{Si}(\text{Me})_2$ 叔丁基。术语酰基表示来自烷基羧酸或甲酸的酰基，其中烷基部分含义如前所述。缩醛优选来自 1-6 个碳原子的醇。

此外，对于术语四氢吡喃基而言，当量混合的缩醛或混合的半硫缩醛是指如乙氧乙基、甲氧乙基 (MOM)、甲基甲氧乙基、甲氧乙氧甲基 (MEM)、四氢呋喃基、甲硫基甲基、四氢硫代吡喃基、四氢硫代呋喃基或醚，如 Greene, Th 和 Wuts, P (1991) 年所著的 Protective Groups

in Organic Synthesis (有机合成中的保护基) 第2章第14-87页中描述的甲基和叔丁基的醚。

可使用乙二胺的锂盐进行异构化。该方法能生产出非常纯的 $\Delta(8,9)$ DHE。通过用锂或烷基锂优选甲基锂处理乙二胺可制备这种锂盐。可以加入(共)溶剂如四氢呋喃、二甲基亚砷等等。通常当加入(共)溶剂时得到 $\Delta(8,9)$ DHE和马烯雌酮衍生物的混合物。二甲基亚砷(DMSO)中的氨基化锂还提供了 $\Delta(8,9)$ DHE和马烯雌酮或其衍生物的混合物,根据本发明它们可被转化成其硫酸钠,以用于含结合雌激素的药物组合物的生产中。

优选C3位置被四氢吡喃醚占有,因为这种醚可在芳基上容易制备,该芳基在异构化条件下稳定,并且异构化后可容易除去以制备用于硫酸化的羟基。

如果式III中 R_1 是甲硅烷基(烷基)₃,优选在0℃和90℃温度之间进行异构化,且如果用乙二胺的锂盐处理马烯雌酮或其衍生物,则较优选在约30℃进行异构化,或如果用二甲基亚砷中的氨基化锂处理马烯雌酮或其衍生物,优选约65℃。如果另一方面 R_1 是四氢吡喃基,则在约-78℃和50℃之间的温度用乙二胺的锂盐处理底物和前述溶剂的混合物,优选以THF作为共溶剂,温度在约0℃和-20℃之间。

如果仅部分进行异构化反应,会形成通式III化合物和 $\Delta(8,9)$ 衍生物的混合物,其能被进一步加工得到硫酸化的结合雌激素混合物。也可选择性地加入通式II的衍生物,且在单一反应中,所有化合物均可同时被硫酸化。根据本发明要异构化和硫酸化的优选化合物为通式中 R_2 和 R_3 代表O的那些化合物。

如果在式III化合物中, R_1 是甲硅烷基(烷基)₃或四氢吡喃基,根据Greene, Th和Wuts, P. (1991)在《有机合成中的保护基》(Protective Groups in Organic Synthesis)第2章第14-87页中所述,通过用弱酸如稀盐酸($\leq 0.2N$)、50%乙酸与共溶剂如THF、丙酮、二氯甲烷、乙醇处理或通过在中性条件下如碘化三甲基硅烷/溴化三甲基硅烷的二氯甲烷溶液;甲基碘的丙酮溶液、水、 $NaHCO_3$ 溶液;对甲苯磺酸吡啶鎓的叔丁醇溶液;氟化四丁基铵的二氯甲烷溶液, $AgNO_3$ 的丙酮溶液来处理衍生物,

可以使衍生物异构化并随后水解,产生 R_1 为 H 的式 I 化合物或式 I 和 III 化合物的混合物。

由此得到的雌激素衍生物混合物可按本发明与 17 α 二氢马烯雌酮、17 β 二氢马烯雌酮、17 α 雌二醇和 17 β 雌二醇的一种或多种酰基衍生物混合被硫酸化。

下面实施例用于举例说明本发明,不应以任何方式被解释为限制本发明的范围。

实施例 1

在氮气气氛中于 95 $^{\circ}\text{C}$ 向 920ml 的乙二胺中分批加入锂 (13g),并将该混合物于 100 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 30 分钟。反应混合物冷却至 23 $^{\circ}\text{C}$,随后,在 $\leq 30^{\circ}\text{C}$ 时加入 100g 马烯雌酮。于 30 $^{\circ}\text{C}$ 下再搅拌混合物 2 小时。将该悬浮液倒入 2.5L 冰水中,在 $\leq 25^{\circ}\text{C}$ 下加入乙酸直至 pH7。用 2.5L 乙酸乙酯将水层萃取三次。用水洗涤有机层,加入 5g 活性炭 (Norit[®]),在 21 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌悬浮液 30 分钟。通过硅藻土 (dicalite) 过滤此悬浮液,真空下蒸发滤液直至体积约 500ml。在 0 $^{\circ}\text{C}$ 下将该悬浮液搅拌 1 小时,之后,滤出晶体物质,用乙酸乙酯洗涤并在 40 $^{\circ}\text{C}$ 的真空下干燥,得到 81g $\Delta(8,9)$ -脱氢雌酮,纯度约 95%。

使用 $^1\text{H-NMR}$ 波谱分析确定 $\Delta(8,9)$ DHE 和马烯雌酮的含量,其特征峰为对于 $\Delta(8,9)$ DHE 是 0.90ppm (C18),对于马烯雌酮为 5.53ppm (C7) 和 0.79ppm (C18)。

实施例 2

向 150ml DMSO 中的 5g 马烯雌酮混合物中加入氨基化锂 (5g)。将混合物加热至 65 $^{\circ}\text{C}$ 并搅拌 70 分钟。将反应混合物倒入 500ml 水中,并用 4N 盐酸酸化至 pH6.5。滤出晶体,用水洗涤,在 40 $^{\circ}\text{C}$ 的真空下干燥,得 5g 4: 5 的马烯雌酮和 $\Delta(8,9)$ -脱氢雌酮混合物。

实施例 3

在约 15 分钟的过程中,在氮气气氛中于约 25 $^{\circ}\text{C}$ 向 46ml 的乙二胺中加入 6% 的甲基锂-溴化锂配合物的乙醚 (23.5ml) 溶液。将混合物的温度升至 55 $^{\circ}\text{C}$,蒸馏出乙醚。随后在 55 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌反应混合物 1 小时。将混合物冷却至 20 $^{\circ}\text{C}$,并加入 2.5g 马烯雌酮。在 30 $^{\circ}\text{C}$ 下再将混合物搅拌 90 分钟。

该悬浮液倒入冰水中，混合物用乙酸乙酯萃取。蒸发乙酸乙酯萃取液之后直至体积达到 20ml，将其冷却至 0℃，分离出 2g Δ^8 -雌酮晶体。

实施例 4

在氮气气氛中于 100℃ 向 80ml 乙二胺中分批加入锂（1.1g），将混合物于 100℃ 搅拌 30 分钟。反应混合物冷至 23℃，之后，在 $\leq 30^\circ\text{C}$ 下加入 4g 17 β -二氢马烯雌酮。在 30℃ 下再将混合物搅拌 4 小时。将悬浮液倒入 250ml 冰水中，在 $\leq 25^\circ\text{C}$ 下加入乙酸直至 pH7。悬浮液冷却至 5℃，并滤出晶体。将该晶体悬浮于 150ml 水中，并加入 100ml 乙酸乙酯。分层并在真空下蒸发乙酸乙酯溶液直至体积为 20ml。在 -15℃ 搅拌悬浮液 1 小时，之后滤出晶体，用乙酸乙酯洗涤并在 40℃ 的真空下干燥，得到 2.5g 8, 9-脱氢-17 β -雌二醇，纯度 > 95%。

实施例 5

在氮气气氛中于 36℃ 在 10 分钟内向 40ml 乙二胺中加入甲基锂-溴化锂（20ml，2.1M）的乙醚溶液。混合物的温度升至 55℃，并蒸馏出乙醚。在 55℃ 下将该混合物搅拌 1 小时。反应混合物冷却至 3℃，之后，在 $\leq 10^\circ\text{C}$ 下加入 2g 马烯雌酮-3-甲醚。于 12℃ 再将混合物搅拌 2 小时，之后，加入 200ml 冰水。向混合物中加入乙酸直至 pH8。于 15℃ 将悬浮液搅拌 1 小时，之后滤出晶体，用水洗涤并在 45℃ 的真空下干燥，得到 2.0g 8,9-脱氢-雌酮-3-甲醚，纯度约 80%。

实施例 6

按实施例 5 中所述方法，在 30℃ 下用甲基锂/乙二胺处理 5, 17 β -二氢马烯雌酮 3, 17-二乙酸酯，定量得到 8, 9-脱氢-17 β -雌二醇，纯度约 90%。

实施例 7

按实施例 4 中所述方法，在 20℃ 下用锂/乙二胺处理马烯雌酮-17-新戊基缩醛，得到收率为 90% 的 8, 9-脱氢-雌酮-17-新戊基缩醛，纯度约 90%。

实施例 8

按实施例 4 中所述方法，用锂/乙二胺处理 17 β -二氢马烯雌酮-3, 17-二（三甲基硅醚），定量得到 8, 9-脱氢-17 β -雌二醇，纯度约 90%。

实施例 9

在 0℃ 下向马烯雌酮 (5g) 的 80ml 二氯甲烷悬浮液中加入 13.3ml 3, 4-二氢-2H-吡喃和 36mg 对甲苯磺酸。在 0℃ 下搅拌混合物 90 分钟, 之后加入 1.3ml 三乙胺。反应混合物用水洗涤, 用硫酸钠干燥, 并蒸发至干。粗马烯雌酮-3-四氢吡喃醚 (6.5g) 用于异构化。

实施例 10

在氮气气氛中于 36℃ 10 分钟内向 16.2ml 乙二胺中加入甲基锂-溴化锂 (8.1ml, 2.1M) 的乙醚溶液。混合物温度升至 55℃, 蒸馏出乙醚。在 55℃ 下再搅拌混合物 1 小时, 然后冷却至 3℃。加入 34.4ml 四氢呋喃后, 将混合物冷却至 -10℃, 在 < -5℃ 下加入马烯雌酮-3-四氢吡喃醚 (1.15g)。于 -10℃ 再将混合物搅拌 3 小时, 之后加入 45ml 冰水。然后, 用真空蒸馏出四氢呋喃, 于 15℃ 搅拌残余悬浮液 1 小时。滤出晶体, 用水洗涤, 并在 45℃ 的真空下干燥, 得到 Δ (8,9)-脱氢-雌酮-3-四氢吡喃醚 (1.0g)。

实施例 11

将 0.73g Δ (8,9)-脱氢雌酮-3-四氢吡喃醚的乙酸/丙酮/水 (4: 2: 1, 35.7ml) 悬浮液加热至回流, 在回流温度下搅拌 90 分钟。冷却至 20℃ 后, 加入 36.5ml 水, 滤出结晶产物, 用水洗涤, 并在真空下干燥, 得到 0.46g Δ (8,9)-脱氢-雌酮。

实施例 12

在氮气气氛中于 < 30℃ 条件下向吡啶 (80ml) 中加入硫酸 (8.2ml) 和乙酐 (14.5ml)。于 50℃ 将混合物搅拌 1 小时, 当加入 trometamol (0.6g) 时搅拌混合物直至澄清。加入 Δ (8,9)-脱氢雌酮 (4g) 和 17 α -二氢马烯雌酮单乙酸酯 (20.2g), 随后加入吡啶 (21ml), 于 50℃ 将混合物搅拌 3 小时。反应完成后, 混合物冷却至 5℃, 并用乙醚 (300ml) 研制, 其导致油状物和上层的形成。离心去上层, 残余物溶于甲醇 (375ml) 中。加入氢氧化钠 (12.8g) 的甲醇 (0.3l) 溶液, 在回流温度下搅拌混合物 2.5 小时。完成反应后, 混合物冷却至 20℃, 加入正丁醇 (0.65L) 和水 (0.15L) 的混合物。真空蒸发出甲醇, 有机层用 5% 氯化钠水溶液和水洗涤。蒸发有机层至干后, 将残余物溶于 60℃ 100% 乙醇 (0.29L) 中, 于 60℃ 在活性炭 (0.6g) 存在下搅拌混合物 30 分钟。过滤悬浮液, 将滤液在真空中部分浓缩。溶液冷却至 10℃, 并用乙醚

(0.27L) 研制。滤出沉淀物, 用乙醚洗涤, 真空下干燥, 得到 15.5g 1:5 的 Δ (8,9)-脱氢雌酮硫酸钠和 17 α -二氢马烯雌酮硫酸钠的混合物。GLC 分析表明所有加入的甾族化合物全部回收。

实施例 13

按实施例 12 中所述方法, 用硫酸/乙酐/吡啶将 Δ (8,9)-脱氢雌酮 (12.5g) 和马烯雌酮 (12.5g) 的混合物进行硫酸化。按实施例 12 中所述方法, 用氢氧化钠的甲醇溶液将粗硫酸吡啶混合物皂化, 并转化为相应的硫酸钠混合物, 得到 27.5g 1:1 的 Δ (8,9)-脱氢雌酮硫酸钠和马烯雌酮硫酸钠的混合物。GLC 分析表明所有加入的甾族化合物全部回收。

实施例 14

按实施例 12 中所述方法, 用硫酸/乙酐/吡啶将 Δ (8,9)-脱氢雌酮 (6.1g)、17 α -二氢马烯雌酮单乙酸酯 (35.8g)、17 β -二氢马烯雌酮单乙酸酯 (3.5g)、17 α -雌二醇单乙酸酯 (9.5g) 和 17 β -雌二醇单乙酸酯 (1.2g) 的混合物进行硫酸化。用氢氧化钠的甲醇溶液处理粗硫酸吡啶的混合物, 并按实施例 12 中所述方法进行操作, 得到 44.4g 的 6:8:1:31:3 的 Δ (8,9) 脱氢雌酮硫酸钠、17 α -二氢马烯雌酮硫酸钠、17 β -二氢马烯雌酮硫酸钠、17 α -雌二醇硫酸钠和 17 β -雌二醇硫酸钠的混合物。GLC 分析表明所有加入的甾族化合物全部回收。