

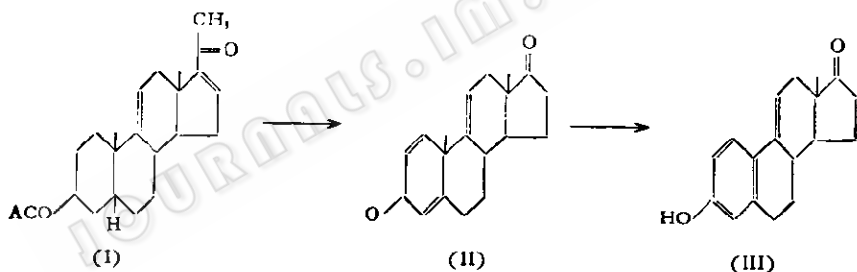
# 3 $\beta$ -羟基-5 $\alpha$ - $\Delta^{9(11),16}$ -孕甾二烯-20-酮-3 $\beta$ -醋酸酯 制备 3-羟基- $\Delta^{1,3,5(10),9(11)}$ -雌甾四烯-17-酮

徐诗伟 法幼华

(中国科学院微生物研究所,北京)

$\Delta^{1,4,9(11)}$ -雄甾三烯-3, 17-二酮 (简称  $\Delta^{9(11)}$  ADD) (II) 既可作为一类具有高选择性的新型强效皮质激素的重要中间体<sup>[1]</sup>, 又极易芳构化得到较好收率的 3-羟基- $\Delta^{1,3,5(10),9(11)}$ -雌甾四烯-17-酮 (简称  $\Delta^{9(11)}$ E<sub>1</sub>) (III)<sup>[2]</sup>, (III) 常用于制备高比活性同位素标记雌二醇以及各种 11-位含氧取代的雌三醇<sup>[3]</sup>。Smith 等<sup>[4]</sup> 为合成马奈雌酮, 曾用 3 $\beta$ -羟基-5 $\alpha$ - $\Delta^{9(11),16}$ -孕甾二烯-20-酮-3 $\beta$ -醋酸酯

(I) 经肟化、重排水解、酯的水解、氧化、溴化和消除六步化学反应制得 (II), 不仅反应步骤多, 且收率低。本工作用原料 (I) 来自海可吉宁 (Hecogenin)<sup>[5]</sup>, 由节杆菌 (*Arthrobacter*) 一步发酵转化为 (II), 收率 62% (W/W)。然后将 (II) 与锌在含少量水的吡啶中回流芳构化得 (III), 收率 71% (W/W)。



## 材料和方法

### (一) 3 $\beta$ -羟基-5 $\alpha$ - $\Delta^{9(11),16}$ -孕甾二烯-20-酮-3 $\beta$ -醋酸酯 (I) 的转化作用

1. 菌种: 试验用节杆菌见文献[6]。
2. 甾体化合物: 3 $\beta$ -羟基-5 $\alpha$ - $\Delta^{9(11),16}$ -孕甾二烯-20-酮-3 $\beta$ -醋酸酯 (I) 由上海第十二制药厂提供,  $\Delta^{9(11)}$ -ADD (II) 为美国 Sigma 化学公司产品。
3. 培养基(%): 葡萄糖 1, 玉米浆 (生化试剂) 1.5, 磷酸氢二钾 0.1, 泡敌 0.01, 用自来水配制, 用 NaOH 溶液调至 pH7.5。250ml 三角瓶装 40ml 培养基, 3000ml 三角瓶装 500ml 培养基, 1.05kg/cm<sup>2</sup> 灭菌 30min 备用。

4. 培养和转化: 取一环肉汁斜面上已生长好的节杆菌接入 40ml 培养基置于 30 $^{\circ}$ C 旋转振荡

培养 24h; 然后移入 500ml 培养基中进行二级培养约 18h 后加含 5% 氯化钴 (CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O) 溶液 4ml, 随后再加含 5% 甾体底物 (I) 乙醇溶液 10ml 于 30 $^{\circ}$ C 旋转振荡进行转化。

5. 分析方法: 采用常规 TLC 方法<sup>[7]</sup>。

6. 产物 (II) 提取与鉴定: 将转化完全的发酵液以等量醋酸乙酯提取三次, 合并提取液用旋转式蒸发器浓缩, 收集残余物加少量醋酸丁酯冷却固化, 溶剂洗涤即得结晶产物  $\Delta^{9(11)}$ -ADD(II)。以丙酮-正己烷重结晶得分析样品, 进行熔点、比旋值、元素分析及波谱测定。

### (二) $\Delta^{9(11)}$ -ADD(II) 的芳构化反应

本文于 1988 年 4 月 14 日收到。

<sup>1</sup>H NMR (100MHz) 和 <sup>13</sup>C NMR (25MHz) 由中国医学科学院医药生物技术研究所、MS 由中国科学院化学研究所协助测定, 特此致谢。

参照 Tsuda 等<sup>[1]</sup> 方法将 0.55g  $\Delta^{(11)}$ -ADD (II) 溶于 20ml 含水 (0.3ml) 吡啶, 加入 10g 新活化的锌粉, 加热搅拌回流直至芳构化完全, 反应液待冷却后, 滤除锌并以醋酸乙酯洗涤, 将洗液与滤液合并减压浓缩, 残余物以甲醇析出晶体, 即得  $\Delta^{(11)}$ E<sub>1</sub>(III)。以甲醇重结晶得分析样品, 进行熔点、比旋值、元素分析和波谱测定。

## 结 果

### (一) $\Delta^{(11)}$ -ADD(II) 的制备

试验用三个 3000ml 三角瓶投加菌体底物 (I) 总量 1.5g, 转化 60h 后发酵液经提取得淡黄色结晶物 (II) 0.935g, mp. 157—161°C, 收率 62% (W/W)。以丙酮-正己烷重结晶 mp. 163.3—164.5°C;  $[\alpha]_D^{25} + 104.6^\circ$  (C, 0.436, CHCl<sub>3</sub>) [文献<sup>[1]</sup>: mp. 164—166°C (EtOAc);  $[\alpha]_D + 102^\circ$  (chf)]; UV  $\lambda_{max}^{EtOH}$  (nm) 238 ( $\epsilon$ 15, 200); IR  $\nu_{max}^{KBr}$  (cm<sup>-1</sup>) 1738 (C=O), 1658 ( $\alpha, \beta$ -不饱和酮), 1622, 1603, 894 (CH=CH); MS m/e M<sup>+</sup> 282, 267 (M-CH<sub>3</sub>), 254 (M-CO), 239 (M-CH<sub>3</sub>·CO), 224 (M-2CH<sub>3</sub>·CO); <sup>1</sup>HNMR  $\delta_{Me_4Si}^{CDCl_3}$  (ppm) 0.95 (3H, s, C<sub>18</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.44 (3H, s, C<sub>10</sub>-CH<sub>3</sub>), 5.58 (1H, m, C<sub>11</sub>-H), 6.04 (1H, bs, C<sub>4</sub>-H), 6.31 (1H, dd, J10, 2Hz, C<sub>7</sub>-H), 7.21 (1H, d, J10Hz, C<sub>1</sub>-H); <sup>13</sup>CNMR  $\delta_{Me_4Si}^{CDCl_3}$  (ppm) 219.8 (C<sub>17</sub>, s), 185.4 (C<sub>3</sub>, s), 165.7 (C<sub>5</sub>, s), 153.9 (C<sub>15</sub>, d), 143.0 (C<sub>9</sub>, s), 126.8 (C<sub>11</sub>, d) 123.4 (C<sub>2</sub>, d), 119.4 (C<sub>4</sub>, d) 26.4 (C<sub>10</sub>, q), 13.7 (C<sub>11</sub>, q), 22.6—48.0 为甾核上其余各碳; Anal. C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O, 计算值(%): C, 80.81; H, 7.85。测定值(%): C, 80.37; H, 7.78。根据上述测定结果证明转化产物 (II) 是  $\Delta^{(11)}$ -ADD。

### (二) $\Delta^{(11)}$ E<sub>1</sub>(III) 的制备

将 0.55g  $\Delta^{(11)}$  ADD (II) 与锌在含少量水的吡啶中回流 40min, 反应液经处理得类白色结晶产物 (III) 0.39g, mp. 251—254°C, 收率 71%。以甲醇重结晶得分析样品, mp. 255.0—256.7°C;  $[\alpha]_D^{25} + 289^\circ$  (C, 0.524, 二氧六环); UV  $\lambda_{max}^{EtOH}$  (nm) 263 ( $\epsilon$ 17, 600), 298 (2, 970) [文献<sup>[1]</sup>: mp. 256—

258°C;  $\lambda_{max}$  262.5 nm ( $\epsilon$ 18, 000), 298nm ( $\epsilon$  3, 000)]; IR  $\nu_{max}^{KBr}$  (cm<sup>-1</sup>) 815, 1500, 1605, 1610, 3030 (ph), 1720 (C=O), 3240 (OH); MS m/e M<sup>+</sup> 268, 253 (M-CH<sub>3</sub>), 250 (M-H<sub>2</sub>O), 235 (M-CH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>HNMR  $\delta_{Me_4Si}^{CDCl_3}$  (ppm) 0.95 (3H, s, C<sub>18</sub>-CH<sub>3</sub>), 6.10 (1H, m, C<sub>11</sub>-H), 6.53—6.67 (2H, m, C<sub>7,8</sub>-H), 7.43 (1H, d, J8Hz, C<sub>1</sub>-H); <sup>13</sup>CNMR  $\delta_{Me_4Si}^{CDCl_3}$  (ppm) 220.2 (C<sub>17</sub>), 156.1 (C<sub>3</sub>), 135.1 (C<sub>5</sub>), 124.9 (C<sub>11</sub>), 113.7—137.1 (ph-C), 14.3 (C<sub>10</sub>), 22.2—47.1 为甾核上其余各碳; Anal. C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O, 计算值(%): C, 80.56; H, 7.51。测定值(%): C, 80.63; H, 7.51。

根据上述测定结果证明产物 (III) 是  $\Delta^{(11)}$ E<sub>1</sub>。

## 讨 论

上述微生物转化作用不仅使 3 $\beta$ -羟基-5 $\alpha$ - $\Delta^{(11)}$ -孕甾二烯-20-酮-3 $\beta$ -醋酸酯 (I) A 环 C<sub>1,2</sub> 和 C<sub>4,5</sub> 脱氢, C<sub>3</sub> 醋酸酯水解成羟基并氧化羟基为酮, 而且还将甲基酮侧链降解为 17-酮形成  $\Delta^{(11)}$ -ADD(II)。这一转化方法简便, 可替代多步化学反应, 收率也颇高。此外 (II) 进一步芳构化易得  $\Delta^{(11)}$ E<sub>1</sub>(III)。如此使海可吉宁只需经五步反应即可合成 (III), 这将是利用海可吉宁制备新型雌激素药物的一种简便有效的新途径。

## 参 考 文 献

- [1] Teutsch, G. et al.: *Steroids*, **38** (6): 651—665, 1981.
- [2] Tsuda, K. et al.: *J. Org. Chem.*, **28**: 786—789, 1963.
- [3] a. 李振肃等: *医药工业*, **13**(1): 1—2, 1982.  
b. 李继松等: *药学报*, **20**(3): 181—187, 1985.
- [4] Smith, G. A. et al.: *US* 3,476, 780, 1969.
- [5] 广州第八制药厂: *医药工业*, **11** (8): 3—8, 1980.
- [6] 法幼华等: *微生物学报*, **20** (2): 185—190, 1980.
- [7] 徐诗伟等: *微生物学报*, **22** (4): 361—366, 1982.
- [8] Magerlein, J. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **80** (9): 2220—2225, 1958.

## PRODUCTION OF 3-HYDROXY-ESTRA-1,3,5(10),9(11)-TETRAEN-17-ONE FROM 3 $\beta$ -ACETOXY-5 $\alpha$ -PREGNA-9(11),16-DIEN-20-ONE BY MICROBIAL TRANSFORMATION AND AROMATIZATION

Xu Shiwei Fa Youhua

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

Incubation of 3 $\beta$ -acetoxy-5 $\alpha$ -pregna-9(11), 16-dien-20-one (I) with a strain of *Arthrobacter* afforded androsta-1, 4,9(11)-trien-3, 17-dione (II) in 62% (w/w) yield. Refluxing II with zinc dust in pyridine containing a small amount of water afforded 3-hydroxy-estra-1, 3, 5(10), 9(11)-tetraen-17-one (III) in 71% yield. The chemical structure of both of products II and III were confirmed by a va-

riety of conventional physicochemical and spectroscopic methods.

### Key words

Microbial transformation of steroids; *Arthrobacter*; Androsta-1, 4, 9(11)-trien-3, 17-dione; An aromatization reaction; 3-Hydroxy-estra-1, 3, 5(10), 9(11)-tetraen-17-one