



(10) 授权公告号 CN 115521964 B

(45) 授权公告日 2024. 04. 12

(21) 申请号 202211135123.7

(22) 申请日 2022.09.19

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 115521964 A

(43) 申请公布日 2022.12.27

(73) 专利权人 湖北共同生物科技有限公司

地址 442700 湖北省十堰市丹江口市丹江口经济开发区水都工业园白果树路特1号

(72) 发明人 马雷 系祖斌 艾文 陶琳 杨兵

(74) 专利代理机构 北京睿智保诚专利代理事务所(普通合伙) 11732

专利代理师 张宁

(51) Int. Cl.

C12P 33/06 (2006.01)

C07J 9/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 106701882 A, 2017.05.24

CN 107354138 A, 2017.11.17

CN 109154016 A, 2019.01.04

CN 111072744 A, 2020.04.28

CN 113135973 A, 2021.07.20

KR 20210050479 A, 2021.05.07

US 2018273916 A1, 2018.09.27

WO 2018126469 A1, 2018.07.12

WO 2018227940 A1, 2018.12.20

WO 2019209105 A2, 2019.10.31

Jie Wang等.Synthesis of ursodeoxycholic acid from plant-source (20S)-21-hydroxy-20-methylpregn-4-en-3-one.Steroids.2020,第157卷第108600页.

Marlin Megalestin Raunsai等.Ursodeoxycholic acid: a systematic review on the chemical and biochemical properties, biosynthesis, sources and pharmacological activities.CRBB.2021,第3卷(第1期),第178-185页.

罗玲玲等.熊去氧胆酸的合成研究进展.合成化学.2021,第29卷(第11期),第986-996页.

审查员 蒋超

权利要求书1页 说明书6页

(54) 发明名称

一种甾体激素药物中间体的制备方法

(57) 摘要

本发明提供了一种甾体激素药物中间体的制备方法,属于药物中间体合成技术领域。本发明通过将21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮在氧化剂的作用下进行氧化反应,得到化合物1;化合物1经过延长侧链反应,得到化合物2;化合物2在催化剂的作用下,进行还原反应,得到化合物3;化合物3在羟化酶和辅酶的作用下进行羟基化反应和水解反应,得到熊去氧胆酸。本发明采用化学-酶法工艺,由三步化学法和一步生物酶法的方法,成功制备了甾体激素药物中间体-熊去氧胆酸,本发明的制备方法步骤少,反应条件温和,产物收率高,可广泛适用于工业化规模生产。

1. 一种甾体激素药物中间体的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

- 1) 将21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮在氧化剂的作用下进行氧化反应,得到化合物1;
 - 2) 化合物1经过延长侧链反应,得到化合物2;
 - 3) 化合物2在催化剂的作用下,进行还原反应,得到化合物3;
 - 4) 化合物3在羟化酶和辅酶的作用下进行羟基化反应和水解反应,得到熊去氧胆酸;
- 所述熊去氧胆酸的制备过程如下:



所述步骤2)中,所述延长侧链反应在催化剂的作用下进行,所述催化剂为乙氧甲酰基亚甲基三苯基磷,所述化合物1和催化剂的摩尔比为1:1~8;所述延长侧链反应的温度为80~130℃,延长侧链反应的时间为1~5h;

所述步骤3)中,催化剂包含雷尼镍和/或雷尼钴,所述化合物2和催化剂的摩尔比为1:0.1~5;

所述步骤4)中,羟化酶为7 α -羟基类固醇脱氢酶,所述辅酶包含氧化性辅酶,所述氧化性辅酶包含NAD⁺和NADP⁺,所述羟基化反应的体系中还含有醇脱氢酶、葡萄糖脱氢酶、葡萄糖和异丙醇;

所述化合物3和醇脱氢酶的摩尔比为1:0.05~0.15,所述羟基化反应的温度为35~45℃,羟基化反应的时间为3~5h;所述水解反应在催化剂的作用下进行,所述催化剂包含三氟乙酸、磷酸和硼酸中的一种或几种;

所述水解反应的温度为50~90℃,反应的时间为5~10h。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤1)中,所述氧化剂包含次氯酸钠、双氧水、N-氯代琥珀酰亚胺、N-溴代琥珀酰亚胺和2-碘酰基苯甲酸中的一种或几种,所述21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮和氧化剂的摩尔比为1:1~8。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述步骤1)中,氧化反应的温度为0~30℃,氧化反应的时间为1~5h,氧化反应在溶剂中进行,所述溶剂包含二氯甲烷、四氢呋喃、甲苯、二甲基亚砷和水中的一种或几种。

4. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,所述步骤2)中,延长侧链反应在溶剂中进行,所述溶剂包含苯、甲苯、乙酸乙酯、四氢呋喃、和己烷中的一种或几种。

5. 根据权利要求1~4任意一项所述的制备方法,其特征在于,所述步骤3)中,还原反应在氢气加压的作用下进行,所述氢气加压的压力为0.1~2MPa;所述还原反应的温度为50~120℃,反应的时间为10~15h。

6. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,所述化合物3、羟化酶和辅酶的摩尔比为1:0.01~0.1:0.05~0.2,所述醇脱氢酶、葡萄糖脱氢酶、葡萄糖和异丙醇的摩尔比为0.05~0.15:0.01~0.03:0.5~2:0.2~0.3。

一种甾体激素药物中间体的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及药物中间体合成技术领域,尤其涉及一种甾体激素药物中间体的制备方法。

背景技术

[0002] 熊去氧胆酸(Ursodeoxycholic acid,UDCA),分子式为 $C_{24}H_{40}O_4$,是中药熊胆的主要成份,其化学名称为(3 α ,7 β)-二羟基-5 β -胆烷酸,是鹅去氧胆酸(Chenodeoxycholic acid,CDCA)的7 β -羟基差向异构体。UDCA曾主要用于治疗胆石病。近年来,国外报道了UDCA在治疗各种急性、慢性肝病中的应用。新的研究表明,UDCA不仅对于治疗原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、慢性活动性肝炎具有良好的疗效,还可用于治疗慢性肝炎和肝移植后排斥反应。因此,随着研究的深入,UDCA的利用价值越来越被认识和受到人们的重视,对UDCA的需求量也在逐年升高。

[0003] 目前,熊去氧胆酸的制备方法分为化学法和生物法,由于化学法合成路线较长、反应条件苛刻、收率低、产物立体选择性差导致后处理纯化步骤增多。而生物方法由于需要大量的生物酶,难以获取导致工业化难度高,难以推广。

[0004] 因此,如何得到一种工艺方法简单、条件温和、产物收率高、可以适用于工业化生产的去熊氧胆酸的合成方法,是目前需要解决的技术问题。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种甾体激素药物中间体的制备方法,以解决目前去熊氧胆酸合成路线过长、后处理困难、产物收率不高的技术问题。

[0006] 为了实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:

[0007] 本发明提供了一种甾体激素药物中间体的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

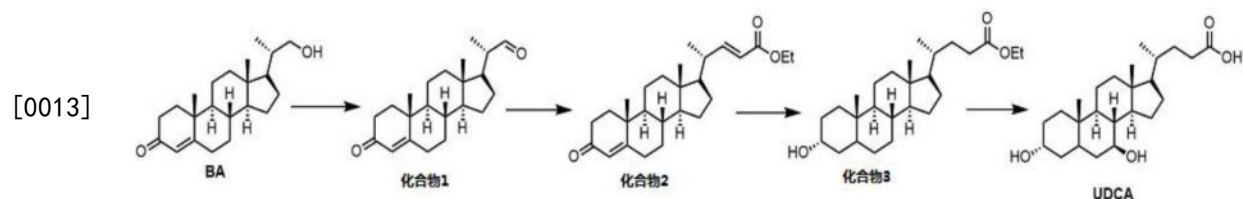
[0008] 1) 将21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮在氧化剂的作用下进行氧化反应,得到化合物1;

[0009] 2) 化合物1经过延长侧链反应,得到化合物2;

[0010] 3) 化合物2在催化剂的作用下,进行还原反应,得到化合物3;

[0011] 4) 化合物3在羟化酶和辅酶的作用下进行羟基化反应和水解反应,得到熊去氧胆酸;

[0012] 所述熊去氧胆酸的制备过程如下:



[0014] 进一步的,所述步骤1)中,所述氧化剂包含次氯酸钠、双氧水、N-氯代琥珀酰亚胺、N-溴代琥珀酰亚胺和2-碘酰基苯甲酸中的一种或几种,所述21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮

和氧化剂的摩尔比为1:1~8。

[0015] 进一步的,所述步骤1)中,氧化反应的温度为0~30℃,氧化反应的时间为1~5h,氧化反应在溶剂中进行,所述溶剂包含二氯甲烷、四氢呋喃、甲苯、二甲基亚砜和水中的一种或几种。

[0016] 进一步的,所述步骤2)中,所述延长侧链反应在催化剂的作用下进行,所述催化剂为乙氧甲酰基亚甲基三苯基膦,所述化合物1和催化剂的摩尔比为1:1~8;所述延长侧链反应的温度为80~130℃,延长侧链反应的时间为1~5h。

[0017] 进一步的,所述步骤2)中,延长侧链反应在溶剂中进行,所述溶剂包含苯、甲苯、乙酸乙酯、四氢呋喃、和己烷中的一种或几种。

[0018] 进一步的,所述步骤3)中,催化剂包含雷尼镍和/或雷尼钴,所述化合物2、叔丁醇钠和催化剂的摩尔比为1:1~5:0.1~5。

[0019] 进一步的,所述步骤3)中,还原反应在氢气加压的作用下进行,所述氢气加压的压力为0.1~2MPa;所述还原反应的温度为50~120℃,反应的时间为10~15h。

[0020] 进一步的,所述步骤4)中,羟化酶为7 α -羟基类固醇脱氢酶,所述辅酶包含氧化性辅酶,所述氧化性辅酶包含NAD⁺和NADP⁺,所述羟基化反应的体系中还含有醇脱氢酶、葡萄糖脱氢酶、葡萄糖和异丙醇。

[0021] 进一步的,所述化合物3、羟化酶和辅酶的摩尔比为1:0.01~0.1:0.05~0.2,所述醇脱氢酶、葡萄糖脱氢酶、葡萄糖和异丙醇的摩尔比为0.05~0.15:0.01~0.03:0.5~2:0.2~0.3。

[0022] 进一步的,所述化合物3和醇脱氢酶的摩尔比为1:0.05~0.15,所述羟基化反应的温度为35~45℃,羟基化反应的时间为3~5h;所述水解反应在催化剂的作用下进行,所述催化剂包含三氟乙酸、磷酸和硼酸中的一种或几种;

[0023] 所述水解反应的温度为50~90℃,反应的时间为5~10h。

[0024] 本发明的有益效果:

[0025] 本发明通过采用三步化学法和一步生物法的组合方法,以21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮为起始原料,工艺步骤少,反应条件温和,大大提高了产品的收率。

[0026] 本发明的制备方法不需要严苛的反应条件,不需要后续繁琐的纯化步骤,产物收率高达99.8%,所制备的产物活性高,可直接用于甾体激素药物的合成。

具体实施方式

[0027] 本发明提供了一种甾体激素药物中间体的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

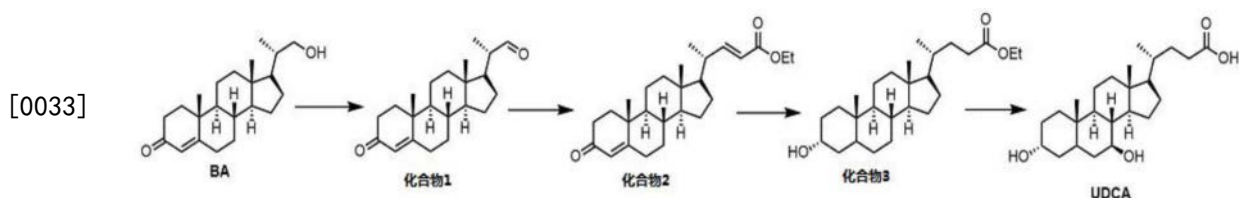
[0028] 1) 将21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮在氧化剂的作用下进行氧化反应,得到化合物1;

[0029] 2) 化合物1经过延长侧链反应,得到化合物2;

[0030] 3) 化合物2在催化剂的作用下,进行还原反应,得到化合物3;

[0031] 4) 化合物3在羟化酶和辅酶的作用下进行羟基化反应和水解反应,得到熊去氧胆酸;

[0032] 所述熊去氧胆酸的制备过程如下:



[0034] 在本发明中,所述步骤1)中,所述氧化剂包含次氯酸钠、双氧水、N-氯代琥珀酰亚胺、N-溴代琥珀酰亚胺和2-碘酰基苯甲酸中的一种或几种,优选为N-氯代琥珀酰亚胺和/或2-碘酰基苯甲酸。

[0035] 在本发明中,所述21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮和氧化剂的摩尔比为1:1~8,优选为1:2~6,进一步优选为1:3~5。

[0036] 在本发明中,所述步骤1)中,氧化反应的温度为0~30℃,优选为10~20℃,进一步优选为25℃;氧化反应的时间为1~5h,优选为2~4h,进一步优选为3h。

[0037] 在本发明中,氧化反应在溶剂中进行,所述溶剂包含二氯甲烷、四氢呋喃、甲苯、二甲基亚砷和水中的一种或几种,优选为二氯甲烷和/或四氢呋喃。

[0038] 在本发明中,所述步骤2)中,所述延长侧链反应在催化剂的作用下进行,所述催化剂为乙氧甲酰基亚甲基三苯基磷,所述化合物1和催化剂的摩尔比为1:1~8,优选为1:2~6,进一步优选为1:3~5;所述延长侧链反应的温度为80~130℃,优选为90~120℃,进一步优选为100~110℃;延长侧链反应的时间为1~5h,优选为2~4h,进一步优选为3h。

[0039] 在本发明中,所述步骤2)中,延长侧链反应在溶剂中进行,所述溶剂包含苯、甲苯、乙酸乙酯、四氢呋喃、和己烷中的一种或几种,优选为苯、甲苯和乙酸乙酯中的一种或几种。

[0040] 在本发明中,所述步骤3)中,催化剂包含雷尼镍和/或雷尼钴,优选为雷尼镍;所述化合物2、叔丁醇钠和催化剂的摩尔比为1:1~5:0.1~5,优选为1:2~4:0.5~4,进一步优选为1:3:1~3。

[0041] 在本发明中,所述步骤3)中,还原反应在氢气加压的作用下进行,所述氢气加压的压力为0.1~2MPa,优选为0.5~1.5MPa,进一步优选为1.0MPa;所述还原反应的温度为50~120℃,优选为60~110℃,进一步优选为80~100℃;反应的时间为10~15h,优选为11~14h,进一步优选为12~13h。

[0042] 在本发明中,还原反应在溶剂中进行,所述溶剂包含四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃、异丙醇、叔丁醇、甲醇和乙醇中的一种或几种,优选为四氢呋喃和/或异丙醇。

[0043] 在本发明中,所述步骤4)中,羟化酶为7 α -羟基类固醇脱氢酶,所述辅酶包含氧化性辅酶,所述氧化性辅酶包含NAD⁺和NADP⁺,所述羟基化反应的体系中还含有醇脱氢酶、葡萄糖脱氢酶、葡萄糖和异丙醇。

[0044] 在本发明中,所述化合物3、羟化酶和辅酶的摩尔比为1:0.01~0.1:0.05~0.2,优选为1:0.05~0.08:0.1~0.15,进一步优选为1:0.06~0.07:0.12~0.14。

[0045] 在本发明中,所述醇脱氢酶、葡萄糖脱氢酶、葡萄糖和异丙醇的摩尔比为0.05~0.15:0.01~0.03:0.5~2:0.2~0.3,优选为0.08~0.12:0.02:1~1.5:0.25,进一步优选为0.10:0.02:1.3:0.25。

[0046] 在本发明中,所述化合物3和醇脱氢酶的摩尔比为1:0.05~0.15,优选为1:0.08~0.12,进一步优选为1:0.10。

[0047] 在本发明中,所述羟基化反应的温度为35~45℃,优选为38~42℃,进一步优选为

40°C;羟基化反应的时间为3~5h,优选为4h。

[0048] 在本发明中,所述水解反应在催化剂的作用下进行,所述催化剂包含三氟乙酸、磷酸和硼酸中的一种或几种,优选为三氟乙酸。

[0049] 在本发明中,所述水解反应中,催化剂的用量为化合物3的1~10wt%,优选为2~8wt%,进一步优选为3~6wt%。

[0050] 在本发明中,所述水解反应的温度为50~90°C,优选为55~75°C,进一步优选为60~70°C;反应的时间为5~10h,优选为6~9h,进一步优选为7~8h。

[0051] 下面结合实施例对本发明提供的技术方案进行详细的说明,但是不能把它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0052] 实施例1

[0053] 熊去氧胆酸的制备:

[0054] 1) 将1mol的21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮、5mol的2-碘酰基苯甲酸溶于10mL二氯甲烷并置于反应釜中,在5°C下混合反应2h,反应完后采用二氯甲烷萃取,水洗,饱和碳酸氢钠溶液50mL洗,之后用无水硫酸钠干燥,减压浓缩纯化后得到化合物1。

[0055] 2) 将1mol化合物1、5mol乙氧甲酰基亚甲基三苯基膦和20mL乙酸乙酯混合后置于反应釜中,在高温100°C下延长侧链反应5h,反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析纯化后得到化合物2。

[0056] 3) 在氢气氛围下,将1mol的化合物2和3mol雷尼镍混合于50mL异丙醇中,设置氢气压力为0.5MPa,在反应温度100°C下反应10h,所得反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析纯化后得到化合物3。

[0057] 4) 在反应釜中加入0.05mol醇脱氢酶、0.03mol葡萄糖脱氢酶、1.0mol葡萄糖和0.2mol异丙醇,将1mol化合物3、0.05mol 7 α -羟基类固醇脱氢酶、0.025mol氧化性辅酶NAD⁺和0.025molNADP⁺混合后置于反应釜中,升高温度至35°C,在反应釜中进行羟基化反应4h,然后升温至50°C,加入化合物3用量5wt%的三氟乙酸进行水解反应5h,所得反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析后得到熊去氧胆酸,经检测产物收率99.5%。

[0058] 实施例2

[0059] 熊去氧胆酸的制备:

[0060] 1) 将1mol的21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮、3.5mol的N-氯代琥珀酰亚胺溶于10mL二氯甲烷并置于反应釜中,在0°C下混合反应2h,反应完后采用二氯甲烷萃取,水洗,饱和碳酸氢钠溶液50mL洗,之后用无水硫酸钠干燥,减压浓缩纯化后得到化合物1。

[0061] 2) 将1mol化合物1、4.5mol乙氧甲酰基亚甲基三苯基膦和20mL四氢呋喃混合后置于反应釜中,在高温80°C下延长侧链反应5h,反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析纯化后得到化合物2。

[0062] 3) 在氢气氛围下,将1mol的化合物2和5mol雷尼镍混合于40mL叔丁醇中,设置氢气压力为1.0MPa,在反应温度120°C下反应10h,所得反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析纯化后得到化合物3。

[0063] 4) 在反应釜中加入0.085mol醇脱氢酶、0.02mol葡萄糖脱氢酶、0.5mol葡萄糖和0.3mol异丙醇,将1mol化合物3、0.1mol 7 α -羟基类固醇脱氢酶、0.025mol氧化性辅酶NAD⁺和0.025molNADP⁺混合后置于反应釜中,升高温度至40°C,在反应釜中进行羟基化反应4h,

然后升温至60℃,加入化合物3用量8wt %的硼酸进行水解反应5h,所得反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析后得到熊去氧胆酸,经检测产物收率99.8%。

[0064] 实施例3

[0065] 熊去氧胆酸的制备:

[0066] 1) 将1mol的21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮、5.5mol的N-溴代琥珀酰亚胺溶于10mL二氯甲烷并置于反应釜中,在15℃下混合反应2h,反应完后采用二氯甲烷萃取,水洗,饱和碳酸氢钠溶液50mL洗,之后用无水硫酸钠干燥,减压浓缩纯化后得到化合物1。

[0067] 2) 将1mol化合物1、6mol乙氧甲酰基亚甲基三苯基膦和20mL四氢呋喃混合后置于反应釜中,在高温110℃下延长侧链反应5h,反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析纯化后得到化合物2。

[0068] 3) 在氢气氛围下,将1mol的化合物2和4.5mol雷尼钴混合于40mL叔丁醇中,设置氢气压力为0.8MPa,在反应温度90℃下反应10h,所得反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析纯化后得到化合物3。

[0069] 4) 在反应釜中加入0.15mol醇脱氢酶、0.01mol葡萄糖脱氢酶、0.8mol葡萄糖和0.3mol异丙醇,将1mol化合物3、0.1mol 7 α -羟基类固醇脱氢酶、0.025mol氧化性辅酶NAD⁺和0.025molNADP⁺混合后置于反应釜中,升高温度至38℃,在反应釜中进行羟基化反应4h,然后升温至70℃,加入化合物3用量10wt %的磷酸进行水解反应5h,所得反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析后得到熊去氧胆酸,经检测产物收率99.6%。

[0070] 实施例4

[0071] 熊去氧胆酸的制备:

[0072] 1) 将1mol的21-羟基-20甲基孕甾-4烯-酮、3.9mol的2-碘酰基苯甲酸溶于10mL四氢呋喃并置于反应釜中,在30℃下混合反应3h,反应完后采用二氯甲烷萃取,水洗,饱和碳酸氢钠溶液50mL洗,之后用无水硫酸钠干燥,减压浓缩纯化后得到化合物1。

[0073] 2) 将1mol化合物1、3mol乙氧甲酰基亚甲基三苯基膦和20mL四氢呋喃混合后置于反应釜中,在高温90℃下延长侧链反应4h,反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析纯化后得到化合物2。

[0074] 3) 在氢气氛围下,将1mol的化合物2和3.5mol雷尼钴混合于40mL叔丁醇中,设置氢气压力为0.1MPa,在反应温度60℃下反应10h,所得反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析纯化后得到化合物3。

[0075] 4) 在反应釜中加入0.09mol醇脱氢酶、0.01mol葡萄糖脱氢酶、0.8mol葡萄糖和0.3mol异丙醇,将1mol化合物3、0.1mol 7 α -羟基类固醇脱氢酶、0.025mol氧化性辅酶NAD⁺和0.025molNADP⁺混合后置于反应釜中,升高温度至45℃,在反应釜中进行羟基化反应4h,然后升温至65℃,加入化合物3用量3wt %的三氟乙酸进行水解反应5h,所得反应产物经过减压浓缩、硅胶柱层析后得到熊去氧胆酸,经检测产物收率99.4%。

[0076] 由以上实施例可知,本发明提供了一种甾体激素药物中间体的制备方法。本发明采用化学-酶法工艺,由三步化学法和一步生物酶法的方法,成功制备了甾体激素药物中间体-熊去氧胆酸,本发明的制备方法步骤少,反应条件温和,产物收率高,产物收率可高达99.8%,可广泛适用于工业化规模生产。

[0077] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人

员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。