



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114805158 B

(45) 授权公告日 2023.11.14

(21) 申请号 202210434638.0

(22) 申请日 2022.04.24

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114805158 A

(43) 申请公布日 2022.07.29

(73) 专利权人 浙江花园生物医药股份有限公司
地址 322121 浙江省金华市南马镇花园村

(72) 发明人 姚臣 单伟达 王丽虹 金晓烽

(74) 专利代理机构 浙江得恒知识产权代理有限公司 33504
专利代理师 赵芳

(51) Int. Cl.
C07C 401/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 101607931 A, 2009.12.23
CN 103073468 A, 2013.05.01

CN 107382805 A, 2017.11.24

JP H07126265 A, 1995.05.16

JP S58135857 A, 1983.08.12

US 2009318722 A1, 2009.12.24

US 4195027 A, 1980.03.25

US 4202829 A, 1980.05.13

US 5384313 A, 1995.01.24

US 5552392 A, 1996.09.03

US 6900191 B1, 2005.05.31

张军辉.“顺丙烯膦酸的合成 骨化三醇关键中间体的合成及应用”.中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技I辑.2013,(第05期),第6章.

陈阳生等.“阿法骨化醇合成的新方法”.中国新药杂志.2005,第14卷第1441-1443页.

魏鹏飞等.“维生素D衍生物的临床应用及合成方法”.当代化工.2018,第47卷第614-617页.

审查员 岳国亮

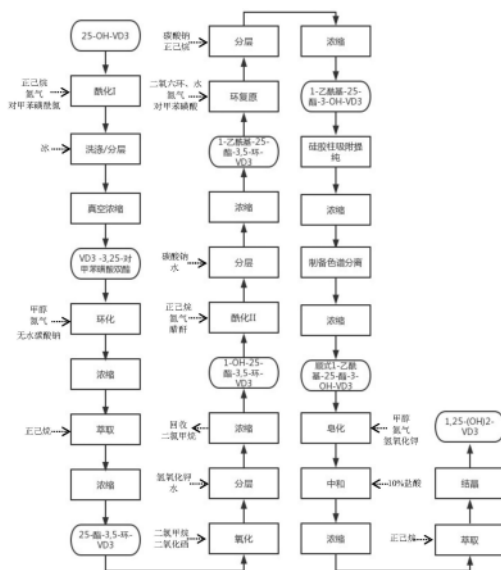
权利要求书2页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

一种制备骨化三醇的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种制备高纯度骨化三醇的方法,以25-OH-VD₃为原料,经酰化、环化、氧化制备出1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃,再经酰化、环复原、提纯、分离、皂化、结晶,制得骨化三醇。本发明通过调整反应物和合成路线,避免了有害气体造成的环境污染以及强氧化剂造成的设备腐蚀等缺点,该方法原料易得,操作方便,反应条件温和、绿色环保,既克服了中间体的不稳定性,又减少了中间体分离、提纯等繁琐步骤,具有产品单一、产率高、适合工业化生产的特点。



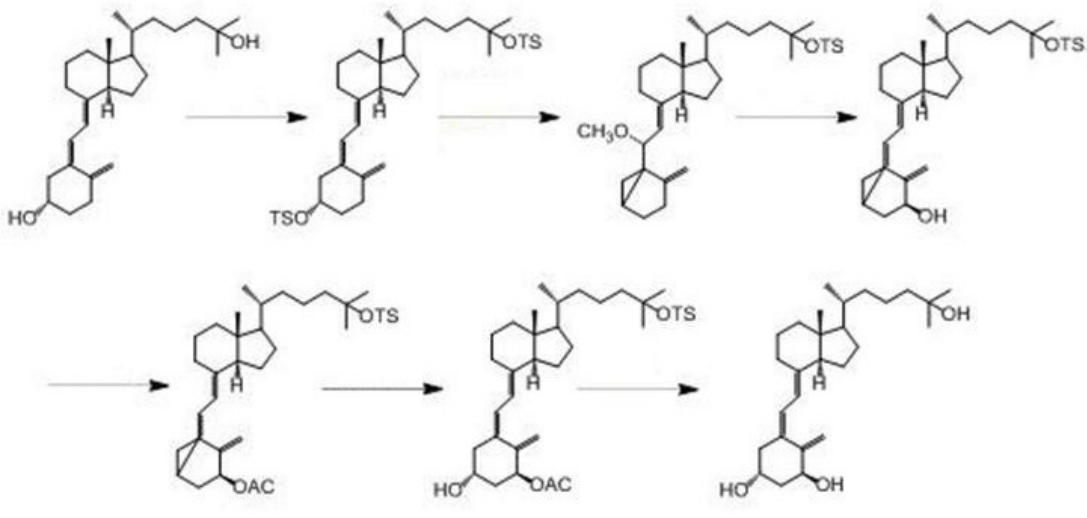
1. 一种制备骨化三醇的方法,其特征在于,包括以下步骤:

以25-OH-VD₃为起始原料,与甲苯磺酰氯酰化反应(I),合成VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯;将VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯与无水碳酸钠环化反应,合成25-酯-3,5-环-VD₃,再经氧化反应,合成1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃;

将1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃与醋酐酰化反应(II),合成1-乙酰基-25-酯-3,5-环-VD₃,再在对甲苯磺酸作用下发生环复原,合成1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃;

将1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃经分离提纯得到顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃;再经皂化、结晶,即得骨化三醇;

骨化三醇的合成路线示意如下:



2. 根据权利要求1所述制备骨化三醇的方法,其特征在于,所述酰化反应(I)具体为:以正己烷为反应介质,在氮气保护下,向正己烷中加入25-OH-VD₃及对甲苯磺酰氯,搅拌反应0.5~5小时;于-5~0℃水洗,待静置分层后,取正己烷相减压浓缩脱溶,得到VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯;

其中,所述25-OH-VD₃与对甲苯磺酰氯的摩尔比为1:2~10;正己烷中25-OH-VD₃加入量为0.1~0.5 mol/L。

3. 根据权利要求1所述制备骨化三醇的方法,其特征在于,所述环化反应具体为:在氮气保护下,向甲醇中加入VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯与无水碳酸钠,搅拌反应0.5~10小时后,用正己烷萃取,经减压浓缩脱溶,得到25-酯-3,5-环-VD₃;

其中,所述VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯与无水碳酸钠的摩尔比为1:0.5~5;甲醇中VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯的加入量为0.1~0.2 mol/L。

4. 根据权利要求1所述制备骨化三醇的方法,其特征在于,所述氧化反应具体为:以二氯甲烷为反应介质,加入25-酯-3,5-环-VD₃,再加入二氧化硒作为氧化剂,搅拌反应0.5~10小时后,加入氢氧化钾以除去过量的氧化剂,再水洗、固液分离,取固体干燥,得到1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃;

其中,所述25-酯-3,5-环-VD₃与二氧化硒的摩尔比为1:0.5~5;二氯甲烷中25-酯-3,5-环-VD₃的加入量为0.1~0.35 mol/L。

5. 根据权利要求1所述制备骨化三醇的方法,其特征在于,所述酰化反应(II)具体为:

以正己烷为反应介质,在氮气保护下,向正己烷中加入1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃及醋酐,搅拌反应0.5~24小时后,加入碳酸钠以中和过量的醋酐,再水洗、固液分离,取固体干燥,得到1-乙酰基-25-酯-3,5-环-VD₃;

其中,所述1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃及醋酐的摩尔比为1:1~10;正己烷中1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃的加入量为0.1~0.5 mol/L。

6.根据权利要求1所述制备骨化三醇的方法,其特征在于,所述环复原具体为:在氮气保护下,向二氧六环和水的混合液中加入1-乙酰基-25-酯-3,5-环-VD₃及对甲苯磺酸,搅拌反应0.5~10小时后,加入碳酸钠以中和过量的对甲苯磺酸,然后经正己烷萃取、减压浓缩脱溶,得到1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃;

其中,所述二氧六环和水的混合液是由二氧六环与水按照体积比1:1~10混合而成;所述1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃及对甲苯磺酸的摩尔比为1:0.1~10;二氧六环和水的混合液中1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃的加入量为0.1~0.5 mol/L。

7.根据权利要求1所述制备骨化三醇的方法,其特征在于,所述分离提纯具体为:将1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃溶于正己烷中,先采用硅胶柱分离纯化,再采用制备色谱分离,收集目标组分后,减压浓缩脱溶,即得顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃。

8.根据权利要求1所述制备骨化三醇的方法,其特征在于,所述皂化具体为:以甲醇为反应介质,在氮气保护下,向甲醇中加入顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃及氢氧化钾,搅拌反应0.5~24小时后,用盐酸中和过量的氢氧化钾后,真空浓缩;

其中,所述顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃及氢氧化钾的摩尔比为1:2~20;甲醇中顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃的加入量为0.1~0.5 mol/L。

9.根据权利要求8所述制备骨化三醇的方法,其特征在于,所述结晶具体为:将皂化所得产物用正己烷萃取后,直接用正己烷于-15~30℃结晶5~48小时,过滤、真空干燥,得到骨化三醇。

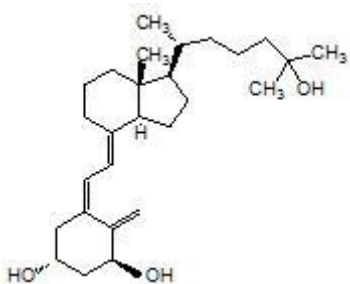
一种制备骨化三醇的方法

技术领域

[0001] 本发明属于化学药物合成技术领域,具体涉及一种制备骨化三醇的方法。

背景技术

[0002] 维生素D₃可以促进人体钙和磷的吸收,预防和治疗佝偻病,刺激成骨细胞和骨盐的沉积,使骨骼变得更加坚固。维生素D₃没有活性,必须经过肝脏在其25位加上羟基形成25-羟基维生素D₃,再经肾脏在其1 α 位上加一个羟基形成1,25-(OH)₂-VD₃,即骨化三醇,结构式为:



[0004] 骨化三醇可用于治疗绝经后和老年性骨质疏松、慢性肾功能衰竭病人的肾性骨营养不良症、术后甲状腺功能低下、特发性或假性甲状腺功能低下、维生素D依赖性佝偻病等。骨化三醇分子结构中手性中心较多,立体异构体数目庞大,且性质不稳定,对光、热、空气很敏感,尤其是反应过程多,异构体之间极性相近,因此合成的纯度难以把握。

[0005] 现有文献《骨化三醇的合成》以维生素D₂为原料,先用二氧化硫(SO₂)使其异构化,再以SO₂保护共扼双键,臭氧氧化,接入支链,光照使其异构化为顺式产物,然后脱去保护基,即得目标产物。此方法最终收率为17.1%,但是由于中间体及产物均对光照敏感,高压汞灯的照射可能会使产物发生不可控变化,且反应中用到SO₂,会对环境造成危害。公开号为CN101607931A的专利公开了一种骨化三醇的制备方法,以骨化二醇为原料,通过中压液相色谱除去大部分化学反应过程中生成的杂质,骨化二醇对甲苯磺酰化、关环,中压液相色谱除杂;产物进行氧化反应,中压色谱柱分离除杂后,进行开环,再上中压液相粗分立体异构体,最后高压液相色谱分离得产物经水解精制得骨化三醇。此方法虽然能够得到纯度较高的骨化三醇,但在乙酸乙酯的萃取过程中,由于乙酸乙酯易与骨化三醇结合形成了结晶溶剂化物,导致结晶、过滤后溶剂残留量不达标,且色谱分离步骤多,易造成产物产率低下。

[0006] 近年来,随着骨化三醇功能的多样化,市场对骨化三醇的需求量不断增加,生产企业亟需一种合成高纯度骨化三醇的方法。

发明内容

[0007] 基于现有技术的不足,本发明的目的在于提供一种制备骨化三醇的方法,以25-OH-VD₃为原料,经一系列条件温和的反应制得骨化三醇,操作方便、产物纯度高,适合工业化生产。

[0008] 为了实现上述目的,本发明采用的技术方案为:

[0009] 一种制备骨化三醇的方法,包括以下步骤:

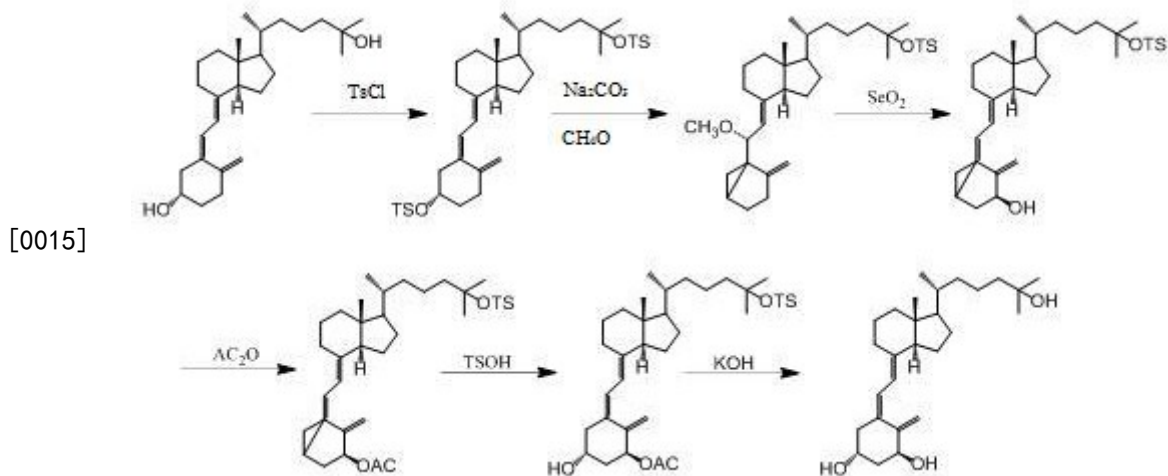
[0010] 以25-OH-VD₃为起始原料,与甲苯磺酰氯酰化反应(I),合成VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯;将VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯与无水碳酸钠环化反应,合成25-酯-3,5-环-VD₃,再经氧化反应,合成1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃;

[0011] 将1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃与醋酐酰化反应(II),合成1-乙酰基-25-酯-3,5-环-VD₃,再在对甲苯磺酸作用下发生环复原,合成1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃;

[0012] 将1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃经分离提纯得到顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃;再经皂化、结晶,即得骨化三醇。

[0013] 上述方法中所用原料均为普通市售产品。

[0014] 本发明所述制备骨化三醇的方法,合成路线如下:



[0016] 本发明首先以25-OH-VD₃为原料,经酰化、环化、氧化制备出1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃,再经酰化、环复原、提纯、分离、皂化、结晶,得到高纯度的骨化三醇,每步反应均可在常温下进行,对设备要求不高,便于操作,避免了中间体因热异构化;前几步反应均采用粗品继续反应,节省了生产周期,减少了分离纯化步骤,提高了收率;通过调整反应物和合成路线,避免了有害气体造成的环境污染以及强氧化剂造成的设备腐蚀等缺点。该方法原料易得,操作方便,反应条件温和、绿色环保,既克服了中间体的不稳定性,又减少了中间体分离、提纯等繁琐步骤,具有产品单一、产率高、适合工业化生产的特点。

附图说明

[0017] 图1为本发明的合成工艺路线图。

实施方式

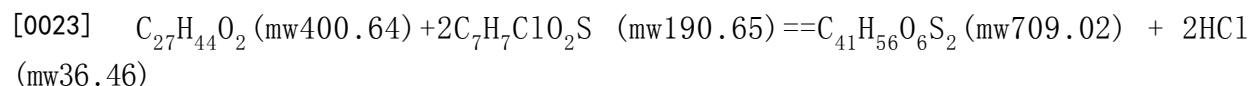
[0018] 为了使本发明的技术目的、技术方案和有益效果更加清楚,下面结合具体实施例对本发明的技术方案作出进一步的说明,但所述实施例旨在解释本发明,而不能理解为对本发明的限制,实施例中未注明具体技术或条件者,按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。

[0019] 一种制备骨化三醇的方法,如图1所示,包括以下步骤:

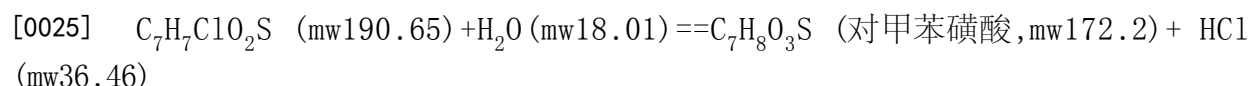
[0020] (1) 酰化反应(I)

[0021] 以正己烷为反应介质,在氮气保护下,向正己烷中加入25-OH-VD₃(C₂₇H₄₄O₂;分子量(mw) 400.64)及对甲苯磺酰氯(C₇H₇ClO₂S;mw 190.65),搅拌反应,3位和25位羟基被保护起来,生成VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯(C₄₁H₅₆O₆S₂;mw709.02),如式(I);在冰浴下,进行水洗以除去对甲苯磺酰氯、对甲苯磺酸和盐酸,如式(II),待静置分层后,取正己烷相减压浓缩脱溶,得到VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯。

[0022] 主反应(式(I)):



[0024] 副反应(式(II)):

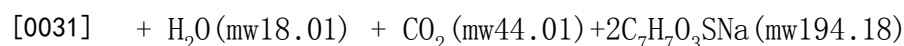
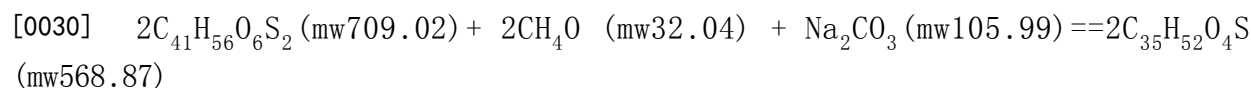


[0026] 其中,所述25-OH-VD₃与对甲苯磺酰氯的摩尔比为1:2~10;正己烷中25-OH-VD₃加入量为0.1~0.5 mol/L;减压浓缩脱溶的条件是温度40℃~60℃、真空压力≤-0.05MPa。

[0027] (2) 环化反应

[0028] 在氮气保护下,向甲醇(CH₄O;mw32.04)中加入VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯与无水碳酸钠(Na₂CO₃;mw105.99),搅拌反应,A环的3位和5位环化,反应如式(III);然后用正己烷萃取,经减压浓缩脱溶,得到25-酯-3,5-环-VD₃(C₃₅H₅₂O₄S;mw568.87)。

[0029] 反应(式(III)):

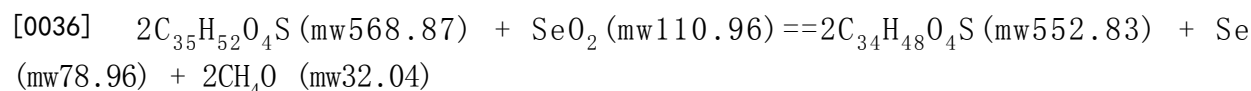


[0032] 其中,所述VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯与无水碳酸钠的摩尔比为1:0.5~5;甲醇中VD₃-3,25-对甲苯磺酸双酯的加入量为0.1~0.2 mol/L;减压浓缩脱溶的条件是温度40℃~60℃、真空压力≤-0.05MPa。

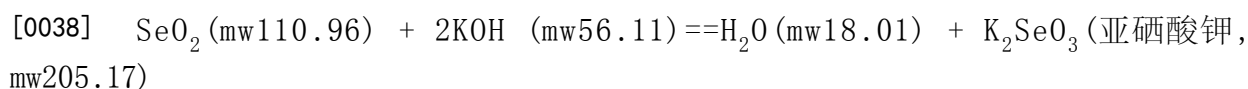
[0033] (3) 氧化反应

[0034] 以二氯甲烷为反应溶剂,加入25-酯-3,5-环-VD₃,再加入二氧化硒(SeO₂;mw 110.96)为氧化剂,搅拌反应,在二氧化硒氧化剂的作用下,25-酯-3,5-环-VD₃的1位上引入一个羟基,反应如式(IV);加入氢氧化钾以除去过量的氧化剂,如式(V),再水洗、固液分离,取固体干燥,得到1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃(C₃₄H₄₈O₄S;mw552.83)。

[0035] 主反应(式(IV)):



[0037] 副反应(式(V)):

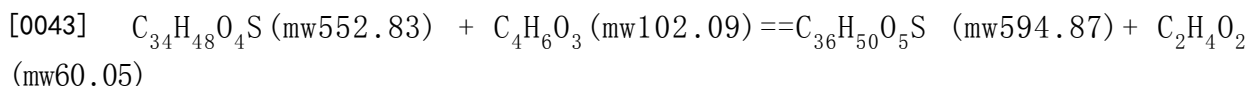


[0039] 其中,所述25-酯-3,5-环-VD₃与二氧化硒的摩尔比为1:0.5~5;二氯甲烷中25-酯-3,5-环-VD₃的加入量为0.1~0.35 mol/L;所述干燥的条件是温度40℃~55℃、采用真空或惰性气体保护。

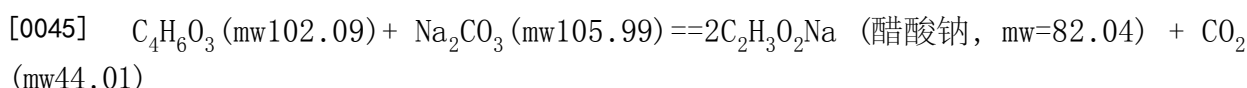
[0040] (4) 酰化反应(II)

[0041] 以正己烷为反应介质,在氮气保护下,向正己烷中加入1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃及醋酐(C₄H₆O₃;mw102.09),搅拌反应,1位的羟基被保护起来,反应如式(VI);加入碳酸钠以中和过量的醋酐,如式(VII);再水洗、固液分离,取固体干燥,得到1-乙酰基-25-酯-3,5-环-VD₃(C₃₆H₅₀O₅S;mw594.87)。

[0042] 主反应(式(VI)):



[0044] 副反应(式(VII)):

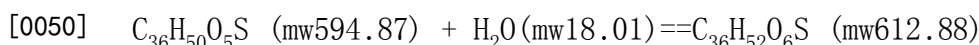


[0046] 其中,所述1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃及醋酐的摩尔比为1:1~10;正己烷中1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃的加入量为0.1~0.5 mol/L;所述干燥的条件是温度40℃~55℃、采用真空或惰性气体保护。

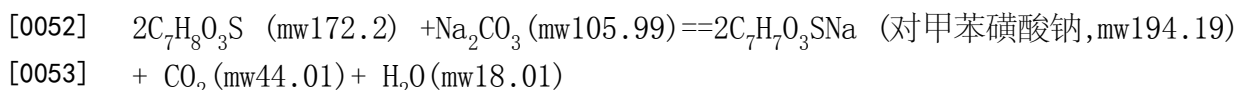
[0047] (5)环复原

[0048] 在氮气保护下,向二氧六环和水的混合液中加入1-乙酰基-25-酯-3,5-环-VD₃及对甲苯磺酸(C₇H₈O₃S;mw172.2),搅拌反应,3,5环打开复原,反应如式(VIII);加入碳酸钠以中和过量的对甲苯磺酸,如式(IX);然后经正己烷萃取、减压浓缩脱溶,得到1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃(C₃₆H₅₂O₆S;mw612.88)。

[0049] 主反应(式(VIII)):



[0051] 副反应(式(IX)):



[0054] 其中,所述二氧六环和水的混合液是由二氧六环与水按照体积比1:1~10混合而成;所述1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃及对甲苯磺酸的摩尔比为1:0.1~10;二氧六环和水的混合液中1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃的加入量为0.1~0.5 mol/L;减压浓缩脱溶的条件是温度40℃~60℃、真空压力≤-0.05MPa。

[0055] (6)分离提纯

[0056] 将1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃溶于正己烷中,先采用硅胶柱分离纯化(洗脱液为正己烷-乙醇(99:1),并添加甲酸使其占比0.01%),再采用制备色谱分离(反相十八烷基键合硅胶色谱柱,流动相为甲醇水溶液-乙腈、流速为1.5 mL/min、柱温25~35℃),收集目标组分后,减压浓缩脱溶(温度35℃~50℃、真空压力≤-0.05MPa),即得顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃(C₃₆H₅₂O₆S;mw612.88)。

[0057] 前面5步反应均未进行精制纯化,该步骤硅胶柱分离纯化时对于硅胶的要求相对较高,由于硅胶不耐碱性,且吸附性能有限的硅胶,对于极性较为接近的物质很难分离。因此,硅胶柱分离纯化采用150 g活化硅胶(200~300目)装柱,活化硅胶的处理步骤如下:

[0058] (a)将300 g硅胶置于1000 mL 5~7 mol/L的盐酸中,于40~60℃搅拌回流5~7 h,水洗至中性,控干水份,于110~140℃真空干燥3~5 h,得到酸化硅胶;

[0059] (b)在氮气保护下,将步骤(a)所得酸化硅胶分散于1000 mL正己烷中,再加入80~

120 mL γ -氨丙基三甲氧基硅烷,升温至50~70℃并搅拌10~14小时,然后固液分离,取固体用正己烷、乙醇、水分别洗涤,控干水份,于90~120℃真空干燥3~5 h,得到硅烷化硅胶;

[0060] (c)称取300 g硅烷化硅胶分散于1000 mL甲醇中,加入60~80 mL乙二醇,于60~80℃反应20~26 h,然后固液分离,取固体用甲醇洗涤,于90~120℃真空干燥3~5 h,得到胺基化硅胶;

[0061] (d)称取300 g硅烷化硅胶及15~45 g三氯化铝加入至1000 mL甲醇中,搅拌20~26 h后,固液分离,取固体于90~120℃真空干燥3~5 h,即得活化硅胶(Al^{3+} 改性硅胶)。

[0062] 硅胶表面初始状态的活性较低,功能化基团很难与之结合,上述处理步骤通过酸化使硅胶表面裸露出大量的硅羟基,再通过 γ -氨丙基三甲氧基硅烷的架桥作用,将乙二醇偶联接枝到硅胶表面,提高硅胶的耐碱性,再经 Al^{3+} 配位改性,提高了活化硅胶的离子交换和亲和能力,对碱性和可解离的物质的吸附性能大大增强,而且不易发生死吸附。

[0063] (7)皂化、结晶

[0064] 以甲醇为反应介质,在氮气保护下,向甲醇中加入顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH- VD_3 及氢氧化钾,搅拌反应,1位、25位的保护基团脱去生成1,25-(OH) $_2$ - VD_3 ($C_{27}H_{44}O_3$; mw416.64),反应如式(X);用盐酸中和过量的氢氧化钾,如式(XI);浓缩后(浓缩至脱出溶剂的量为甲醇用量的50~80%),用正己烷萃取、结晶、过滤、真空干燥,得到1,25-(OH) $_2$ - VD_3 。

[0065] 主反应(式(X)):

[0066] $C_{36}H_{52}O_6S$ (mw612.88) + 2KOH (mw56.11) == $C_{27}H_{44}O_3$ (mw416.64) + $C_2H_3O_2K$ (mw98.14)

[0067] + $C_7H_7O_3SK$ (对甲基苯磺酸钾, mw210.32)

[0068] 副反应(式(XI)):

[0069] KOH (mw56.11) + HCl (mw36.46) == KCl (mw74.56) + H_2O (mw18.01)

[0070] 其中,所述顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH- VD_3 及氢氧化钾的摩尔比为1:2~20;甲醇中顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH- VD_3 的加入量为0.1~0.5 mol/L;所述正己烷萃取时,正己烷的用量为皂化浓缩后所得产物的5~50倍;所述结晶是在正己烷萃取物中结晶,结晶温度为-15~30℃,时间5~48h;所述真空干燥的温度控制为30~45℃。

[0071] 上述方法中所用原料及仪器均采用普通市售产品。

实施例1

[0072] 一种制备骨化三醇的方法,包括以下步骤:

[0073] (1)酰化反应(I)

[0074] 在氮气保护下,向100mL正己烷中加入10.0 g 25-OH- VD_3 (25.0 mmol)及10.50 g 对甲苯磺酰氯 (55.1 mmol),搅拌反应4 h;在冰浴条件下,水洗3~4次,待静置分层后,取正己烷相,于50℃、真空压力 $\leq -0.05MPa$ 减压浓缩脱溶,得到17.72 g VD_3 -3,25-对甲苯磺酸双酯。

[0075] (2)环化反应

[0076] 在氮气保护下,向250mL甲醇中加入步骤(1)所得 VD_3 -3,25-对甲苯磺酸双酯 (25.0 mmol)与1.40 g无水碳酸钠 (13.2 mmol),搅拌反应6 h;然后用正己烷萃取2~3次,合并萃取液,于50℃、真空压力 $\leq -0.05MPa$ 减压浓缩脱溶,得到13.94 g 25-酯-3,5-环- VD_3 。

[0077] (3) 氧化反应

[0078] 向200mL二氯甲烷中加入步骤(2)所得25-酯-3,5-环-VD₃(24.5 mmol)及2.50 g二氧化硒(22.5 mmol),搅拌反应2 h;加入15 mL体积百分数为10%的氢氧化钾溶液,搅拌30 min,再水洗至最后一次水洗液的pH为7~8,固液分离,取固体于50℃真空干燥,得到13.20 g 1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃。

[0079] (4) 酰化反应(II)

[0080] 在氮气保护下,向75mL正己烷中加入步骤(3) 1-OH-25-酯-3,5-环-VD₃(23.88 mmol)及5mL醋酐,搅拌反应8 h;加入碳酸钠以中和过量的醋酐(加入碳酸钠溶液至没有气体产生);再水洗3~4次,固液分离,取固体于45℃真空干燥,得到14.20 g 1-乙酰基-25-酯-3,5-环-VD₃。

[0081] (5) 环复原

[0082] 在氮气保护下,向200mL二氧六环和水的混合液(二氧六环和水按照体积比3:7混匀而成)中加入步骤(4)所得1-乙酰基-25-酯-3,5-环-VD₃(23.87 mmol)及3.25 g对甲苯磺酸(18.87 mmol起催化剂作用),搅拌反应4 h;加入碳酸钠以中和过量的对甲苯磺酸(加入碳酸钠溶液至没有气体产生);然后用正己烷萃取2~3次,合并萃取液,于50℃、真空压力≤-0.05MPa减压浓缩脱溶,得到14.52 g 1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃。

[0083] (6) 分离提纯

[0084] 将步骤(5)得到的1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃溶于正己烷(正己烷的用量为使1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃恰好全部溶解为止),先采用硅胶柱分离纯化(洗脱液为正己烷-乙醇(99:1),并添加甲酸使甲酸在洗脱液中所占体积比为0.01%),再采用制备色谱分离(反相十八烷基键合硅胶色谱柱,流动相为甲醇水溶液-乙腈梯度洗脱、流速为1.5 mL/min、柱温30℃,检测波长265 nm),收集目标组分后,减压浓缩脱溶(温度35℃~50℃、真空压力≤-0.05MPa),即得9.80 g顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃。

[0085] 其中,硅胶柱分离纯化采用150 g活化硅胶(200~300目)装柱,活化硅胶的处理步骤如下:

[0086] (a) 将300 g硅胶置于1000 mL 6 mol/L的盐酸中,于50℃搅拌回流6 h,水洗至中性,控干水份,于130℃真空干燥4 h,得到酸化硅胶;

[0087] (b) 在氮气保护下,将步骤(a)所得酸化硅胶分散于1000 mL正己烷中,再加入100 mL γ -氨丙基三甲氧基硅烷,升温至60℃并搅拌12小时,然后固液分离,取固体用正己烷、乙醇、水分别洗涤,控干水份,于100℃真空干燥4 h,得到硅烷化硅胶;

[0088] (c) 称取300 g硅烷化硅胶分散于1000 mL甲醇中,加入66 mL乙二胺,于70℃反应24 h,然后固液分离,取固体用甲醇洗涤,于100℃真空干燥4 h,得到胺基化硅胶;

[0089] (d) 称取300 g硅烷化硅胶及30 g三氯化铝加入至1000 mL甲醇中,搅拌24 h后,固液分离,取固体于90℃真空干燥4 h,即得活化硅胶(Al³⁺改性硅胶)。

[0090] 制备色谱分离时流动相A为40%甲醇水溶液、流动相B为乙腈,所述流动相A与所述流动相B按以下梯度洗脱程序(流动相A与所述流动相B的体积比):在0-5分钟内,流动相A和流动相B的体积比保持80:20不变;(2)在5-15分钟内,流动相A和流动相B的体积比由80:20匀速渐变至60:40;(3)在15-25分钟内,流动相A和流动相B的体积比由60:40匀速渐变至40:60;(5)在25-30分钟内,流动相A和流动相B的体积比保持40:60不变。

[0091] 经活化硅胶柱分离纯化后,已无其他杂质,使用上述梯度洗脱,1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃出峰情况良好,顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃的保留时间为13.533 min,面积为352237 μV/s、高度为27992 μV;反式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃的保留时间为17.191 min,面积为62201 μV/s、高度为4007 μV。

[0092] (7)皂化、结晶

[0093] 在氮气保护下,向100 mL甲醇中加入步骤(6)所得顺式1-乙酰基-25-酯-3-OH-VD₃ (15.99 mmol)及2.0 g氢氧化钾(35.65 mmol),搅拌反应2 h;用10%盐酸中和过量的氢氧化钾,浓缩至脱出60~80 mL溶剂后,用300 mL正己烷分3次萃取,合并萃取液,直接用萃取液结晶(室温、24小时),得到纯度为99.6%的1,25-(OH)₂-VD₃,产率为60.3%。

实施例2

[0094] 一种制备骨化三醇的方法,包括以下步骤:酰化反应(I)、环化反应、氧化反应、酰化反应(II)、环复原、分离提纯、皂化、结晶;其中,除皂化外,其他步骤均按照实施例1的工艺参数进行控制。实施例2所述皂化主要改变在于:改变8.98 g氢氧化钾(160.0 mmol),其他不变,最终得到纯度为99.3%的1,25-(OH)₂-VD₃,产率为58.0%。

[0095] 与实施例1相比,实施例2增加了氢氧化钾的添加量,产物纯度稍有降低、产率随之减少。

实施例3

[0096] 一种制备骨化三醇的方法,包括以下步骤:酰化反应(I)、环化反应、氧化反应、酰化反应(II)、环复原、分离提纯、皂化、结晶;其中,除结晶外,其他步骤均按照实施例1的工艺参数进行控制。实施例3所述结晶主要改变在于:改变8.98 g氢氧化钾(160.0 mmol),其他不变,最终得到纯度为99.7%的1,25-(OH)₂-VD₃,产率为62.1%。

[0097] 与实施例1相比,实施例3主要改变在于:降低了结晶温度至0~5℃,结晶时间缩短为12 h,产物纯度稍有提高、产率随之增大。

实施例4

[0098] 一种制备骨化三醇的方法,包括以下步骤:酰化反应(I)、环化反应、氧化反应、酰化反应(II)、环复原、分离提纯、皂化、结晶;其中,除分离提纯外,其他步骤均按照实施例1的工艺参数进行控制。与实施例1相比,实施例4所述分离提纯主要改变在于:采用未活化处理的硅胶。最终得到纯度为98%的1,25-(OH)₂-VD₃,产率51.4%。

[0099] 总体来说,实施例1~4均有效合成骨化三醇,纯度高、产率高,经济可行,实施例1~3采用活化硅胶分离纯化,能更好地提高产率。

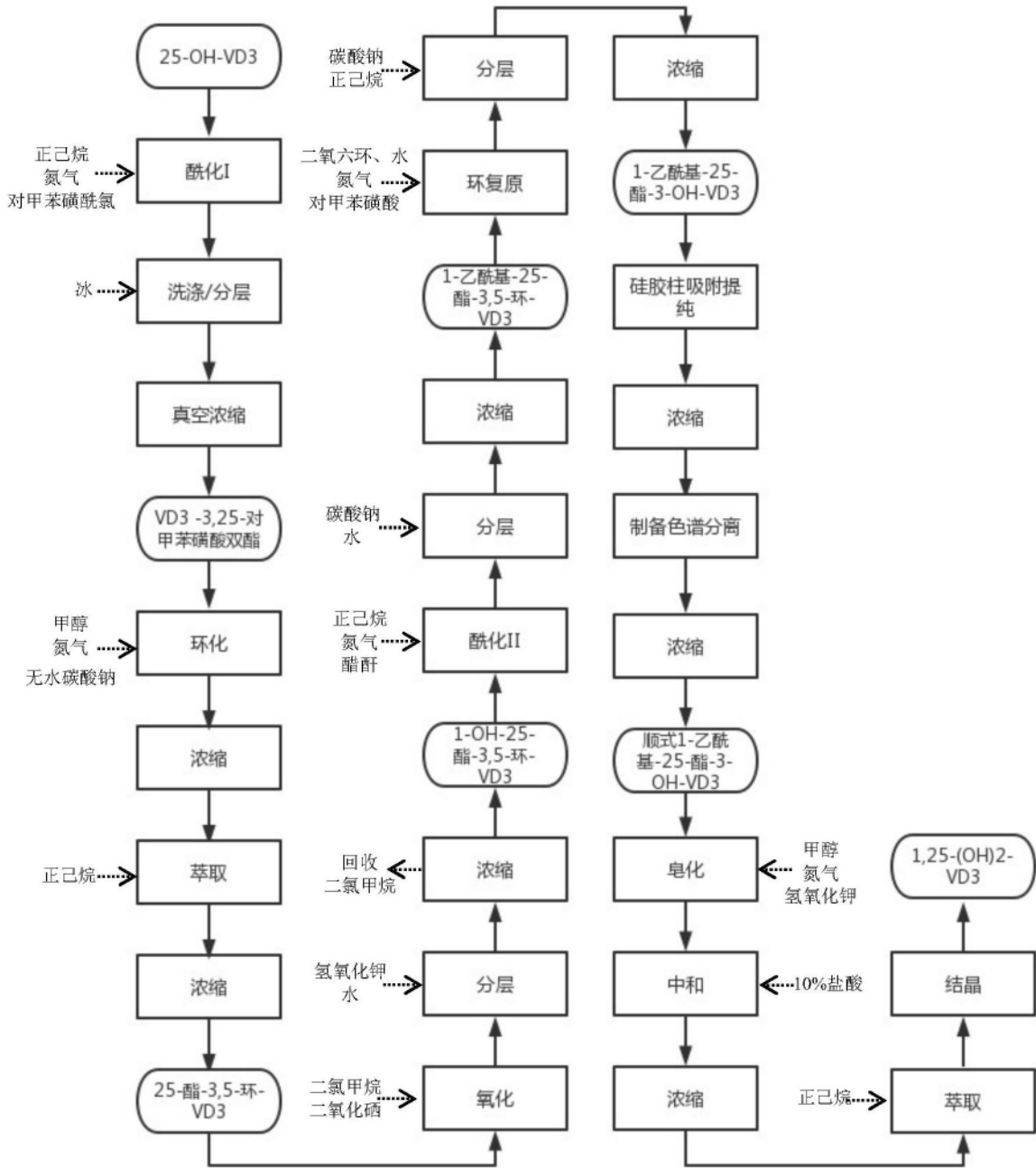


图1