1α-羟基胆固醇的合成工艺改进

张克盛[1]，葛欢恬[1]，孙　彬[1,2]，金　灿[1,2]*
（1. 浙江工业大学药学院，浙江杭州 310014；2. 国家化学原料药合成工程技术研究中心，浙江杭州 310014）

摘要：文章对 1α- 羟基维生素 D_3 关键中间体 1α- 羟基胆固醇（**1**）的合成工艺进行改进：以胆固醇（**2**）为原料，经过氧化脱氢、环氧化、选择性开环、异构化和还原等 5 步反应得到 **1**。较现有 **1** 的制备工艺，该路线一方面规避了液氨 / 锂于 - 78 ℃还原的苛刻条件，操作简单，条件温和；另一方面采用苯硒酚对 1α,2α- 环氧 -4,6- 胆甾二烯 -3- 酮（**4**）进行选择性开环，并由 I_2/ 乙酸异丙烯酯体系实现由烯酮异构化为烯醇酯。采用优化后的工艺，**1** 的总收率达 40%，纯度为 98%。

关键词：1α- 羟基胆固醇；1α- 羟基维生素 D_3；中间体；合成
中图分类号：R914.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)08-1198-04
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.08.008

Improvement of Synthetic Process of 1α-Hydroxycholesterol

ZHANG Kesheng[1], GE Huantian[1], SUN Bin[1,2], JIN Can[1,2]*
(*1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014;*
2. National Engineering Research Center for Process Development of Active Pharmaceutical Ingredients, Hangzhou 310014)

ABSTRACT: An improved synthetic process of 1α-hydroxycholesterol(**1**), a key intermediate of 1α-hydroxyvitamin D_3, was reported by using cholesterol as raw material(**2**) through five steps, including oxidative dehydrogenation, epoxidation, selective ring opening, isomerization and reduction. Compared with the existed preparation process of **1**, on the one hand, this route featured simple operation and mild conditions, avoiding the harsh conditions of liquid ammonia/lithium reduction at －78 ℃. On the other hand, the ring-opening of 1α,2α-epoxy-4,6-cholestadiene-3-one(**4**) was carried out by using phenylselenol, and the isomerization of ketene to enol ester was achieved by I_2/isopropylacetate system. After the optimization, the total yield for synthesis of **1** was 40% with purity of 98%.

Key Words: 1α-hydroxycholesterol; 1α-hydroxyvitamin D_3; intermediate; synthesis

1α- 羟基维生素 D_3(1α-hydroxyvitamin D_3) 可用于治疗甲状旁腺功能障碍、肾性骨病和更年期引起的骨质疏松，研究[1]表明其还具有一定的抗肿瘤活性。1α- 羟基胆固醇（1α-hydroxycholesterol，**1**）是合成 1α- 羟基维生素 D_3 的关键中间体[2—3]，研究简洁、高效的合成工艺对其规模化生产至关重要。

目前，现有的 **1** 制备方法主要是 BARTON 等[4]提出的，通过对 1α,2α- 环氧 -4,6- 胆甾二烯 -3- 酮（**4**）进行 Birch 还原，在 －78 ℃的液氨 / 锂还原体系下得到。此反应条件十分苛刻，不仅需要低温（－78 ℃），而且需严格的无水、无氧条件，反应重复性差，收率 56%[2]，不适合规模化生产。

本研究以胆固醇（**2**）为原料，经 2,3- 二氯 -5,6- 二氰基苯醌（DDQ）氧化脱氢得胆甾 -1,4,6- 三烯 -3- 酮（**3**），**3** 在碱性条件下经过氧化氢环氧化得 **4**，后经苯硒酚作用，选择性开环得 1α- 羟基 -4- 胆甾烯 -3- 酮（**5**），**5** 再经碘催化与乙酸异丙烯酯反应得 1α- 胆甾 -3,5- 二烯 -1,3- 二（乙酸酯）（**6**），**6** 经硼氢化钙还原、碱性条件下皂化得到 **1**，并进行了

收稿日期：2023-02-19
作者简介：张克盛(1997—)，男，硕士研究生，专业方向：药物化学。
通信作者：金　灿(1981—)，男，教授，博士生导师，从事绿色化学制药和药物合成工艺的研究。
E-mail：jincan@zjut.edu.cn

工艺优化（图1）。制备**3**时，文献[3]采用溴加成、氧化脱溴、溴代及消除4步反应，收率53%；本研究改用DDQ氧化脱氢法[5]，由**2**“一步法”制备，收率65.0%。制备**4**时，将**3**与30%过氧化氢溶液在氢氧化钠甲醇溶液中反应[6—7]，可立体选择性环氧化，收率91.3%。制备**5**时，若用氢化铝锂，则3-位羰基同时被还原，选择性差；参考文献[8]，改用苯硒酚对**4**进行选择性开环，收率82.6%。制备**6**时，考察了对甲苯磺酸/乙酸异丙烯酯、乙酸酐/乙酰氯/4-二甲基氨基吡啶（DMAP）体系，以及I_2/乙酸异丙烯酯（IPA）等催化体系[9]，结果显示I_2/IPA的反应效果最好，收率91.2%。改进后的工艺条件温和，总收率为40%，纯度98.0%。

同样以**2**为起始物，相比文献[3]报道的液氨/锂还原法（总收率23%），本路线的收率显著提高。

实验部分

仪器：N-13000-WB型旋转蒸发仪；WFH-204B型紫外分析仪；WRS-1C型熔点仪；Bruker Ascend 400型核磁共振仪；Agilent 6540型Q-TOF质谱仪；Agilent 1260 Infinity Ⅱ型液相色谱仪。

胆甾-1,4,6-三烯-3-酮（3）

将**2**（阿拉丁试剂有限公司，99.0%，10.0 g，26.0 mmol）、DDQ（国药集团化学试剂有限公司，97.0%，23.5 g，104.0 mmol）和二噁烷（200 mL）加至500 mL单口烧瓶中，在氮气保护下于110 ℃反应10 h，TLC[展开剂：正己烷和乙酸乙酯（体积比4∶1）]跟踪反应。反应液冷至室温，抽滤，滤饼用正己烷（20 mL×3）淋洗，滤液和洗液合并，加入乙酸乙酯（200 mL），用1 mol/L氢氧化钠溶液（100 mL×3）洗涤，经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压蒸除溶剂，剩余物用乙腈重结晶，得淡黄色固体**3**（6.43 g，65.0%），mp 88.7～90.3 ℃（文献[2]：89.5～91.5 ℃）。^{1}H NMR（400 MHz, $CDCl_3$）δ: 7.11（d, *J*=10.1 Hz, 1H）, 6.22～6.32（m, 2H）, 6.00～6.11（m, 2H）, 2.25～2.34（m, 1H）, 2.08～2.17（m, 1H）, 1.26～1.99（m, 13H）, 1.23（s, 3H）, 0.99～1.19（m, 5H）, 0.96（d, *J*=6.5 Hz, 3H）, 0.90（d, *J*=6.6 Hz, 6H）, 0.82（s, 3H）；^{13}C NMR（100 MHz, $CDCl_3$）δ: 186.44, 162.85, 153.08, 140.74, 138.83, 128.07, 127.50, 123.65, 55.92, 53.60, 48.32, 43.00, 41.26, 39.45, 38.19, 36.08, 35.77, 28.13, 28.01, 23.84, 23.68, 22.83, 22.56, 21.83, 20.73, 18.63, 11.99；MS-ESI（*m*/*z*）: 784.23[2M+Na]$^+$。

1α,2α-环氧-4,6-胆甾二烯-3-酮（4）

将**3**（10.0 g，26.0 mmol）和无水甲醇（350 mL）加至1 L单口烧瓶中，加入5%氢氧化钠甲醇溶液（55 mL），缓慢滴加30%过氧化氢溶液（52 mL），室温反应5 h，TLC（展开剂同上）跟踪反应。加入水（200 mL）和二氯甲烷（100 mL），静置分层，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压蒸除溶

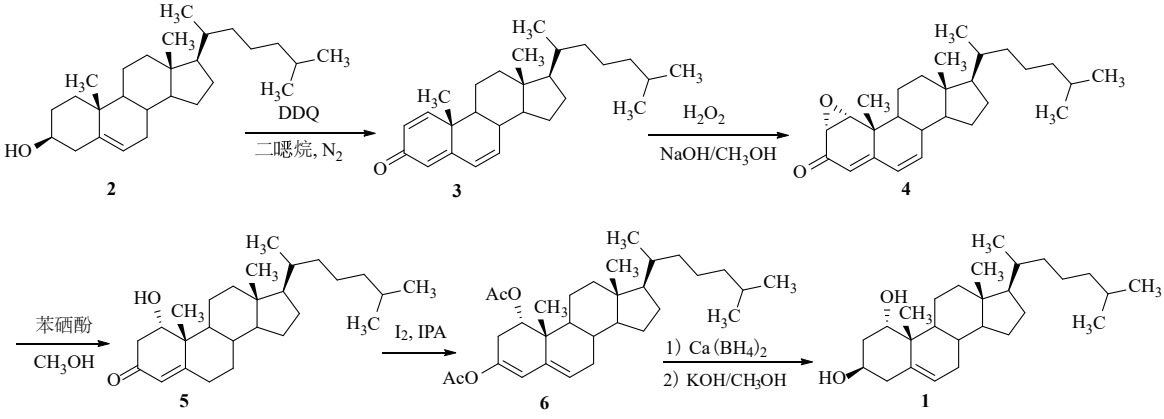


图1　1的合成路线

Fig.1　Synthetic Route of **1**

剂，剩余淡黄色粗品用无水甲醇重结晶，得白色固体 **4**(9.41 g，91.3%)，mp 107.8 ～ 109.5 ℃（文献[2]：109.3 ～ 110.9 ℃）。^{1}H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.12(s, 2H), 5.68(d, *J*=2.0 Hz, 1H), 3.63(d, *J*=4.1 Hz, 1H), 3.42 ～ 3.51(m, 1H), 2.22 ～ 2.31(m, 1H), 2.11 ～ 2.19(m, 1H), 1.27 ～ 2.01(m, 14H), 1.22(s, 3H), 1.01 ～ 1.19(m, 4H), 0.97(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.92(d, *J*=1.8 Hz, 3H), 0.90(d, *J*=1.9 Hz, 3H), 0.82(s, 3H)；^{13}C NMR(100 MHz, $CDCl_3$) δ: 194.78, 158.95, 140.67, 127.73, 119.37, 59.43, 55.94, 54.70, 53.30, 46.02, 42.99, 39.48, 39.27, 38.87, 37.54, 36.10, 35.77, 28.08, 28.00, 23.84, 23.73, 22.80, 22.54, 21.19, 18.65, 18.48, 11.85；MS-ESI(*m/z*): 816.07[2M+Na]$^+$。

1α- 羟基 -4- 胆甾烯 -3- 酮（5）

将 **4**(8.0 g，20.0 mmol)、无水甲醇（180 mL）和苯硒酚（上海麦克林生化科技有限公司，97.0%，6.28 g，40.0 mmol）加至 500 mL 单口烧瓶中，室温搅拌 2 h，TLC[展开剂：正己烷和乙酸乙酯（体积比 2 ∶ 1)]跟踪反应。反应液中滴加 1 mol/L 盐酸（10 mL），用乙酸乙酯（100 mL）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液（100 mL×3）洗涤，用无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压蒸除溶剂，剩余物用柱色谱分离[洗脱剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 4 ∶ 1)]，得白色晶体 **5**(6.6 g，82.6%)，mp 175.3 ～ 176.5 ℃。^{1}H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.81(s, 1H), 4.03 ～ 4.18(m, 1H), 2.72 ～ 2.82(m, 1H), 2.54 ～ 2.65(m, 1H), 2.33 ～ 2.48(m, 2H), 1.27 ～ 1.85(m, 14H), 1.21(s, 3H), 0.99 ～ 1.18(m, 8H), 0.93(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.89(d, *J*=1.8 Hz, 3H), 0.88(d, *J*=1.8 Hz, 3H), 0.74(s, 3H)；^{13}C NMR(100 MHz, $CDCl_3$) δ: 196.73, 167.5, 123.24, 72.06, 56.16, 55.86, 44.87, 43.23, 42.72, 42.40, 39.50, 36.13, 35.75, 35.43, 35.28, 33.05, 31.13, 28.13, 28.00, 24.24, 23.83, 22.79, 22.53, 20.42, 18.65, 18.57, 11.92；MS-ESI(*m/z*): 824.25[2M+Na]$^+$。

1α- 胆甾 -3,5- 二烯 -1,3- 二（乙酸酯）(6)

将 **5**(8.0 g，20.0 mmol)、IPA(100 mL) 和 I_2(0.5 g，2.0 mmol) 加至 250 mL 单口烧瓶中，加热至 120 ℃反应 2 h，TLC 法[展开剂：正己烷∶乙酸乙酯（体积比 8 ∶ 1)]跟踪反应。反应液冷却至室温，滴加饱和亚硫酸钠溶液（20 mL），用乙酸乙酯（100 mL）萃取，用饱和氯化钠溶液（100 mL×3）洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压蒸除溶剂，剩余黄色油状物用柱色谱分离[洗脱剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 20 ∶ 1)]，得淡黄色油状物 **6**(8.84 g，91.2%)。^{1}H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.82(s, 1H), 5.57 ～ 5.64(m, 1H), 5.06 ～ 5.12(m, 1H), 2.15 ～ 2.32(m, 2H), 2.14(s, 3H), 2.05(s, 3H), 1.08 ～ 1.92(m, 22H), 1.06(s, 3H), 0.92(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.89(d, *J*=1.7 Hz, 3H), 0.87(d, *J*=1.7 Hz, 3H), 0.71(s, 3H)；^{13}C NMR(100 MHz, $CDCl_3$) δ: 170.94, 169.28, 143.07, 136.11, 127.06, 116.72, 72.02, 56.75, 56.07, 42.41, 41.31, 39.56, 39.52, 38.80, 36.17, 35.73, 31.66, 31.58, 30.88, 28.20, 28.03, 24.18, 23.76, 22.82, 22.57, 21.20, 21.01, 20.54, 19.27, 18.70, 11.97；MS-ESI(*m/z*): 992.17[2M+Na]$^+$。

1α- 羟基胆固醇（1）

将氯化钙（22.2 g，200.0 mmol）和无水甲醇（200 mL）加至 1 L 单口烧瓶中，再加入硼氢化钠（16.8 g，440.0 mmol）的无水甲醇（300 mL）溶液，于 0 ℃反应 10 min 后得硼氢化钙溶液，备用。

将化合物 **6**(9.7 g，20.0 mmol) 溶于四氢呋喃（80 mL）中，于 0 ℃滴加至如上所得硼氢化钙溶液中，滴毕搅拌 3 h，TLC 法（展开剂同化合物 **5**）跟踪反应。反应液过滤，加入二氯甲烷（50 mL），剧烈搅拌下滴加稀盐酸至反应体系呈澄清。静置分层，有机相用饱和碳酸氢钠洗至中性，减压蒸除溶剂，剩余物中加入 5% 氢氧化钾甲醇溶液（100 mL），TLC（展开剂同化合物 **5**）跟踪反应。用乙酸乙酯（100 mL）萃取，用水（100 mL×3）洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压蒸除溶剂，剩余黄色油状物用柱色谱纯化[洗脱剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 2 ∶ 1)]，减压浓缩得白色晶体 **1**(7.3 g，90.3%)，$[\alpha]_D^{20}$ －37.3°(*c* 0.3, $CHCl_3$)[文献[4]：$[\alpha]_D^{20}$ －38.0°(*c* 0.3, $CHCl_3$)]，mp 159.5 ～ 162.3 ℃（文献[4]：162 ～ 163 ℃），纯度为 98.0%[HPLC 归一化法：色谱柱 ZORBAX Eclipse

XDB-C_{18}柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相90%甲醇；柱温35 ℃；检测波长280 nm；流速1 mL/min］。^{1}H NMR（400 MHz, $CDCl_3$）δ: 5.58～5.64（m, 1H）, 3.94～4.06（m, 1H）, 3.87（s, 1H）, 1.07～2.44（m, 26H）, 1.05（s, 3H）, 0.94（d, *J*=6.5 Hz, 3H）, 0.90（d, *J*=1.8 Hz, 3H）, 0.88（d, *J*=1.8 Hz, 3H）, 0.70（s, 3H）；^{13}C NMR（100 MHz, $CDCl_3$）δ: 137.29, 125.67, 72.95, 66.41, 56.61, 56.12, 42.31, 41.71, 41.65, 41.35, 39.51, 39.48, 38.18, 36.18, 35.79, 31.86, 31.79, 28.21, 28.02, 24.36, 23.85, 22.84, 22.58, 20.29, 19.47, 18.73, 11.85；MS-ESI（*m*/*z*）: 828.49［2M+Na］$^+$。

参考文献：

［1］ 韩永滨, 李 嬿. 1α-羟基维生素D_3合成关键反应研究［J］. 感光科学与光化学, 2005, (4): 318.

［2］ 孙 彬. 1α-羟基维生素D_3原及25-羟基维生素D_3的合成［D］. 杭州: 浙江工业大学博士学位论文, 2016.

［3］ SUN B, JIN C, SU W. A novel strategy for the synthesis of bromo-substituted cholestenone and its new application to a synthesis of 1α-hydroxycholesterol［J］. *J Chem Res*, 2016, **40**(7): 407-409.

［4］ BARTON D H, HESSE R H, PECHET M M, *et al*. A convenient synthesis of 1-hydroxy-vitamin D_3［J］. *J Am Chem Soc*, 1973, **95**(8): 2748-2749.

［5］ MA E, KIM H, KIM E. Epoxidation and reduction of cholesterol, 1,4,6-cholestatrien-3-one and 4,6-cholestadien-3β-ol［J］. *Steroids*, 2005, **70**(4): 245-250.

［6］ POZA J, REGA M, PAZ V, *et al*. Synthesis and evaluation of new 6-hydroximinosteroid analogs as cytotoxic agents［J］. *Bioorganic Med Chem*, 2007, **15**(14): 4722-4740.

［7］ 林静容, 王玉春, 许启海, 等. 利用薯蓣皂甙元完整骨架形式合成1α,25-二羟基维生素D_3［J］. 化学学报, 2007, (16): 1685-1692.

［8］ MIYASHITA M, SUZUKI T, HOSHINO M, *et al*. The organoselenium-mediated reduction of α,β-epoxy ketones, α,β-epoxy esters, and their congeners to *β*-hydroxy carbonyl compounds: novel methodologies for the synthesis of aldols and their analogues［J］. *Tetrahedron*, 1997, **53**(37): 12469-12486.

［9］ AHMED N, LIER JE. Molecular iodine in isopropenyl acetate (IPA): a highly efficient catalyst for the acetylation of alcohols, amines and phenols under solvent free conditions［J］. *Tetrahedron Lett*, 2006, **47**(30): 5345-5349.