艾地骨化醇强制降解试验降解产物的合成

陈阳生，马庆童，邱传龙，刘振玉，王清亭
（正大制药（青岛）有限公司，山东青岛 266426）

摘要：艾地骨化醇原料药在酸性、碱性、氧化、光照和高温条件下进行强制降解试验，生成（1*R*,2*R*,3*R*,5*Z*,7*E*)-2-(3-羟基丙氧基)-9,10-开环胆甾-5,7,10(19),24(25)-四烯-1,3-二醇（**AD-1**）、（1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,6*Z*,8*Z*)-2-(3-羟基丙氧基)-9,10-开环胆甾-5(10),6,8(9)-三烯-1,3,25-三醇（**AD-2**）、（1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,7*E*)-2-(3-羟基丙氧基)-9,10-开环胆甾-5,7,10(19)-三烯-1,3,25-三醇（**AD-3**）、（1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,6*E*,8*Z*)-2-(3-羟基丙氧基)-9,10-开环胆甾-5(10),6,8(9)-三烯-1,3,25-三醇（**AD-4**）和（1*R*,2*R*,3*R*,14*S*,5*E*,6*Z*,8*Z*)-2-(3-羟基丙氧基)-9,10-开环胆甾-5(10),6,8(9)-三烯-1,3,25-三醇（**AD-5**）这5种降解产物。其中，**AD-1**和**AD-5**未见文献报道。该文合成了**AD-1**和**AD-5**，并优化了**AD-4**的合成工艺，产物经^{1}H NMR、^{13}C NMR和MS结构确证。文章为艾地骨化醇的质量研究提供了一定的参考，同时为其生产、包装、贮存提供了依据。

关键词：艾地骨化醇；降解；合成；质量控制
中图分类号：R977.2^{+}4；TQ460.6　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)07-0932-08
引用：陈阳生，刘振玉，邱传龙，等．艾地骨化醇强制降解试验降解产物的合成[J]．中国医药工业杂志，2024, 55(7): 932-939. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.07.006

Synthesis of Degradation Products from the Forced Degradation Tests of Eldecalcitol

CHEN Yangsheng, MA Qingtong, QIU Chuanlong, LIU Zhenyu, WANG Qingting
(*CP Pharmaceutical Qingdao Co., Ltd., Qingdao 266426*)

ABSTRACT: Forced degradation tests of eldecalcitol API were conducted under acidic, alkaline, oxidative, light-exposed, and high-temperature conditions. Five degradation products were generated, namely (1*R*,2*R*,3*R*,5*Z*,7*E*)-2-(3-hydroxypropoxy)-9,10-secocholesta-5,7,10(19),24(25)-tetraene-1,3-diol (**AD-1**), (1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,6*Z*,8*Z*)-2-(3-hydroxypropoxy)-9,10-secocholesta-5(10),6,8(9)-triene-1,3,25-triol (**AD-2**), (1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,7*E*)-2-(3-hydroxypropoxy)-9,10-secocholesta-5,7,10(19)-triene-1,3,25-triol (**AD-3**), (1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,6*E*,8*Z*)-2-(3-hydroxypropoxy)-9,10-secocholesta-5(10),6,8(9)-triene-1,3,25-triol (**AD-4**) and (1*R*,2*R*,3*R*,14*S*,5*E*,6*Z*,8*Z*)-2-(3-hydroxypropoxy)-9,10-secocholesta-5(10),6,8(9)-triene-1,3,25-triol (**AD-5**). Among them, **AD-1** and **AD-5** were not found in literatures. This study developed synthetic routes for **AD-1** and **AD-5**, and optimized the synthesis process for **AD-4**. The structures of these products were confirmed by ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, and MS. This paper provides the references for the quality research of eldecalcitol, as well as its production, packaging, and storage.

Key Words: eldecalcitol; degradation; synthesis; quality control

艾地骨化醇（eldecalcitol，ED-71），化学名为（1*R*,2*R*,3*R*,5*Z*,7*E*)-2-(3-羟基丙氧基)-9,10-开环胆甾-5,7,10(19)-三烯-1,3,25-三醇，由日本中外制药研发，主要用于治疗绝经后女性骨质疏松症。2011年首次在日本上市，2020年在中国获准上市销售[1—2]。艾地骨化醇通过H键和CH-π相互作用，稳定了艾地骨化醇-维生素D受体（vitamin D receptor，VDR）复合物；同时，其抑制甲状旁腺激素的效力较弱，降低了不

收稿日期：2023-12-24
基金项目：泰山产业领军人才工程项目（tscx 202211121）
作者简介：陈阳生（1968—），男，研究员，从事维生素D衍生物、抗肿瘤等药物的研究。
E-mail：18766396996@139.com

良反应[3—5]。

艾地骨化醇分子结构中含多个手性中心以及共轭双键，导致其稳定性较差，易产生降解杂质。降解杂质的产生导致原料药质量降低，从而影响临床使用的安全性和有效性。经检索，艾地骨化醇原料药及其降解产物暂未被国内外药典收录。因此，本研究对原料药进行强制降解试验，设计其主要降解产物的合成方法，制备降解产物，为其质量研究提供一定的物质基础。

按照国家药品监督管理局制定《化学药物杂质研究技术指导原则》（指导原则编号【H】GPH3-1）的要求，对艾地骨化醇原料药进行了强制降解试验。①酸性条件：艾地骨化醇（5 mg）在甲醇（5 mL）中溶解，添加 1 mol/L 的盐酸（1 mL）于 25 ～ 30 ℃下反应 4 h；②碱性条件：艾地骨化醇（5 mg）在甲醇（5 mL）中溶解，添加 1 mol/L 的氢氧化钠水溶液（1 mL）于 25 ～ 30 ℃反应 4 h；③氧化条件：艾地骨化醇（5 mg）在甲醇（5 mL）中溶解，添加 3％的过氧化氢水溶液（1 mL）于 25 ～ 30 ℃反应 4 h；④光照条件：艾地骨化醇（5 mg）在光照箱内，调节光照强度（4 500±500）lx 反应 24 h；⑤高温条件：艾地骨化醇（5 mg）在恒温烘箱中，105 ℃下反应 4 h。强制降解试验结果显示，艾地骨化醇在氧化条件下稳定；在酸性、碱性、光照、高温条件下稳定性较差，易发生降解。

通过高效液相色谱［HPLC 归一化法：色谱柱 YMC-Pack ODS-AM 反相色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 A 为水，B 为乙腈，梯度洗脱（0—40 min，A 45％—30％；40—45 min，A 30％—0；45—60 min，A 0；60—60.1 min，A 0—45％；60.1—70 min，A 45 min）；检测波长 265 nm；柱温 10 ℃；流速 1.0 mL/min；进样量 20 μL］，对强制降解产物样品进行检测，所得典型色谱图如图 1 所示。**AD-1**，保留时间 54.9 min；**AD-2**，保留时间 35.9 min；**AD-3**，保留时间 38.0 min；**AD-4**，保留时间 33.5 min；**AD-5**，保留时间 36.8 min。

通过高效液相色谱中各杂质对照品与降解产物保留时间的对应关系，初步推测降解产物的结构，再经制备液纯化富集各降解产物，得到单一化合物，最后通过质谱、核磁共振氢谱和碳谱，得到各降解产物的结构参数；再与文献[6—9]报道的数据对照，完成对降解产物结构的确证，**AD-1** 为（1*R*,2*R*,3*R*,5*Z*,7*E*）-2-（3- 羟基丙氧基）-9,10- 开环胆甾 -5,7,10（19）,24（25）- 四烯 -1,3- 二醇，**AD-2** 为（1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,6*Z*,8*Z*）-2-（3- 羟基丙氧基）-9,10- 开环胆甾 -5（10）,6,8（9）- 三烯 -1,3,25- 三醇，**AD-3** 为（1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,7*E*）-2-（3- 羟基丙氧基）- 9,10- 开环胆甾 -5,7,10（19）- 三烯 -1,3,25- 三醇，**AD-4** 为（1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,6*E*,8*Z*）-2-（3- 羟基丙氧基）-9,10- 开环胆甾 -5（10）,6,8（9）- 三烯 -1,3,25- 三醇，**AD-5** 为（1*R*,2*R*,3*R*,14*S*,5*E*,6*Z*,8*Z*）-2-（3- 羟基丙氧基）-9,10- 开环胆甾 -5（10）,6,8（9）- 三烯 -1,3,25- 三醇，具体结构如图 2 所示。

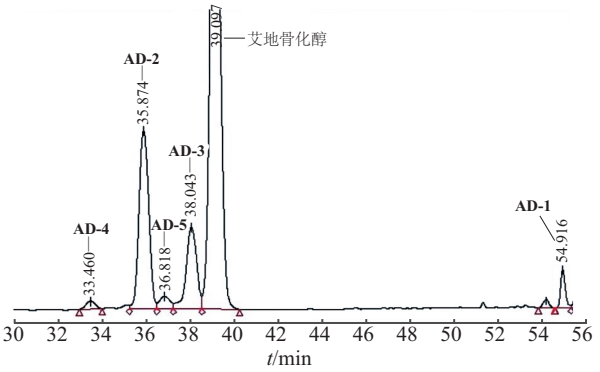


图 1 艾地骨化醇降解产物的典型高效液相色谱图

Fig.1 Typical HPLC Chromatogram of Eldecalcitol Degradation Products

通过高效液相色谱对不同强制降解条件下的试验样品进行含量测定，降解杂质含量的测定结果如表 1 所示。

表 1 艾地骨化醇强制降解产物含量测定结果 /％

Tab.1 Content Determination Results of Forced Degradation Products of Eldecalcitol/％

降解条件	降解产物及其含量					API 含量
	AD-1	AD-2	AD-3	AD-4	AD-5	
酸性	5.0	2.1	—	—	—	92.5
碱性	5.3	2.5	—	—	0.2	91.6
氧化	—	—	—	—	—	99.7
光照	—	5.8	2.5	4.2	—	87.2
高温	—	15.6	2.1	0.2	—	81.7

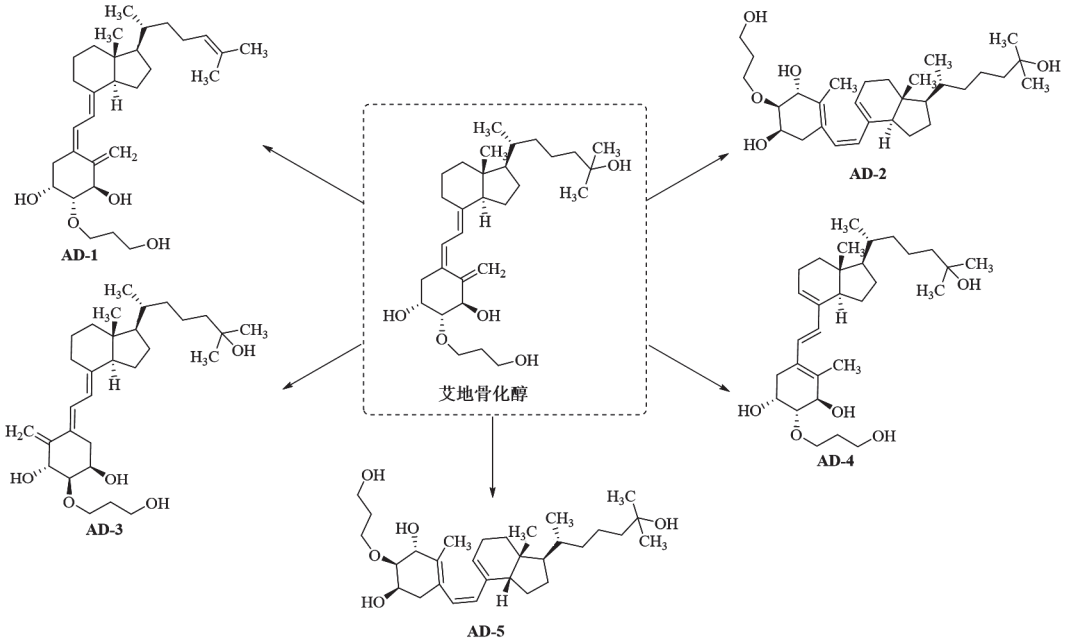


图 2　艾地骨化醇降解产物的化学结构

Fig.2　Chemical Structures of Degradation Products of Eldecalcitol

经检索，**AD-1** 和 **AD-5** 这 2 个化合物及其合成方法，均未见文献报道。**AD-2** 可通过加热艾地骨化醇得到[6]；**AD-3** 可通过艾地骨化醇与二氧化硫反应，使 19 位双键翻转成环，再经碳酸氢钠脱除二氧化硫得到[7,9]（图 3）。**AD-2** 和 **AD-3** 的制备工艺已相对成熟，本文不再赘述。

文献[6,8—9]报道了降解产物 **AD-4** 的合成路线（图 3），即在低温氩气中，采用紫外照射（1*R*,2*R*,3*R*）-2-（3-羟基丙氧基）- 胆甾基 -5,7- 二烯 -1,3,25- 三醇（去氢胆甾醇型化合物）的 THF 溶液得到。但由于紫外光

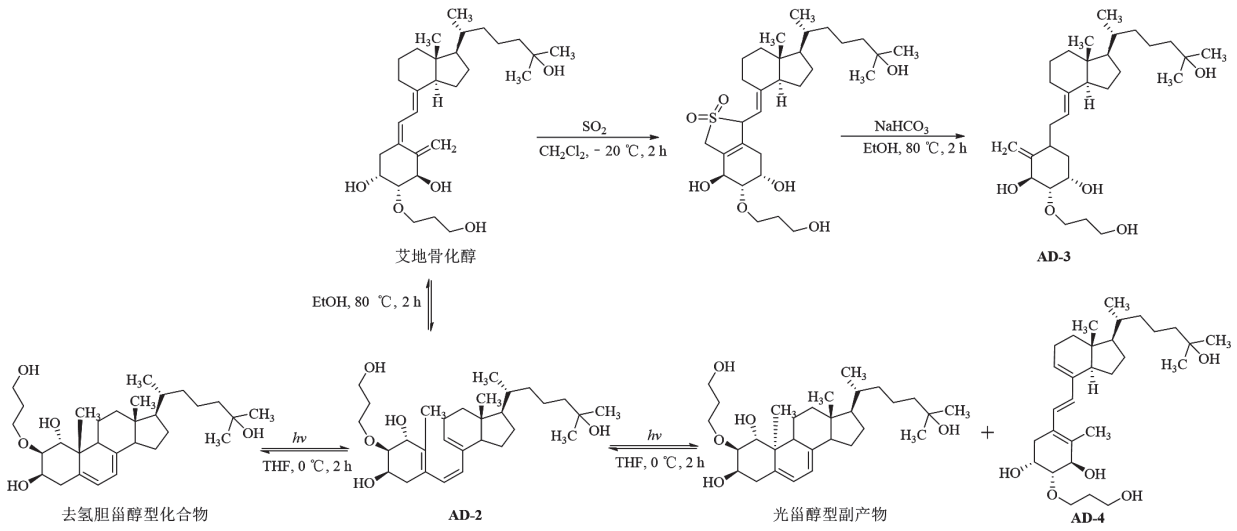


图 3　文献报道 AD-2、AD-3 和 AD-4 的合成路线

Fig.3　Synthetic Routes of **AD-2**, **AD-3** and **AD-4** in the Literature

的纯度不够，且反应过程中需经过渡态艾地骨化醇前体（**AD-2**）才能转化生成 **AD-4**，反应物不能够完全转化，副产物较多，纯化难度大，需经反相高效液相色谱纯化。

本文报道了 **AD-1** 和 **AD-5** 的合成方法，并对 **AD-4** 的合成进行优化。**AD-1** 的合成路线如图 4 所示。

以（1*R*,3a*R*,4*S*,7a*R*）-1-[（2*R*）-6- 羟基 -6- 甲基庚基]-7a- 甲基八氢 -1*H*- 茚 -4- 醇（**1**）为起始原料，在一水合对甲苯磺酸作用下经选择性脱水，得（1*R*,3a*R*,4*S*,7a*R*）-1-[（2*R*）-6- 甲基 -5- 庚烯基]-7a- 甲基八氢 -1*H*- 茚 -4- 醇（**2**）。**2** 的羟基经重铬酸吡啶鎓（pyridinium dichromate，PDC）氧化，得（1*R*,3a*R*,4*S*,7a*R*）-1-[（2*R*）-6- 甲基 -5- 庚烯基]-7a- 甲基八氢 -1*H*- 茚 -4- 酮（**3**）。**3** 与（2*Z*）-2-[（3*R*,4*R*,5*R*）-3,5- 二（叔丁基二甲硅氧基）-4-[3-（叔丁基二甲硅氧基）丙氧基]-2- 亚甲基环己 -1- 亚基]- 乙基二苯基氧磷（**4**）经 Wittig-Horner 偶联反应，得（1*R*,2*R*,3*R*,5*Z*,7*E*）-2-[3-（叔丁基二甲硅氧基）丙氧基]-1,3- 二（叔丁基二甲硅氧基）-9,10- 开环胆甾 -5,7,10(19),24(25)- 四烯（**5**）。**5** 与四丁基氟化铵（tetrabutylammonium fluoride，TBAF）反应脱保护得目标产物 **AD-1**。该路线总收率 51.0%（以 **1** 计），纯度 97.6%。

AD-5 的合成路线如图 5 所示。

以（1*R*,3a*R*,7a*R*）-1-[（2*R*）-6- 羟基 -6- 甲基庚基]-7a- 甲基八氢 -1*H*- 茚 -4- 酮（**6**）为起始原料，与三乙基氯硅烷（TESCI）反应，用三乙基硅基保护羟基，得（1*R*,3a*R*,7a*R*）-7a- 甲基 -1-[（*R*）-6- 甲基 -6-[（三乙基甲硅烷基）氧基] 庚烷 -2- 基] 八氢 -4*H*- 茚 -4- 酮（**7**）。**7** 在甲醇钠的甲醇溶液中发生异构化，得（1*R*,3a*S*,7a*R*）-1-[（2*R*）-6- 三乙基硅氧基 -6- 甲基庚基]-7a- 甲基八氢 -1*H*- 茚 -4- 酮（**8**）。**8** 与 **4** 在 －60 ℃、正丁基锂存在条件下，发生 Wittig-Horner 偶联反应，得（1*R*,2*R*,3*R*,14*R*,5*Z*,7*E*）-2-[3-（叔丁基二甲硅氧基）-丙氧基]-1,3- 二（叔丁基二甲硅氧基）-25-（三乙基硅氧基）-9,10- 开环胆甾 -5,7,10(19)- 三烯（**9**）。**9** 与 TBAF 反应脱保护，得（1*R*,2*R*,3*R*,14*R*,5*Z*,7*E*）-2-（3-羟基丙氧基）-9,10- 开环胆甾 -5,7,10(19)- 三烯 -1,3,25- 三醇（**10**），最后在 80 ℃乙醇中加热异构化，得目标产物 **AD-5**。该路线总收率 46.7%（以 **6** 计），纯度 96.8%。

AD-4 的优化合成路线如图 6 所示。

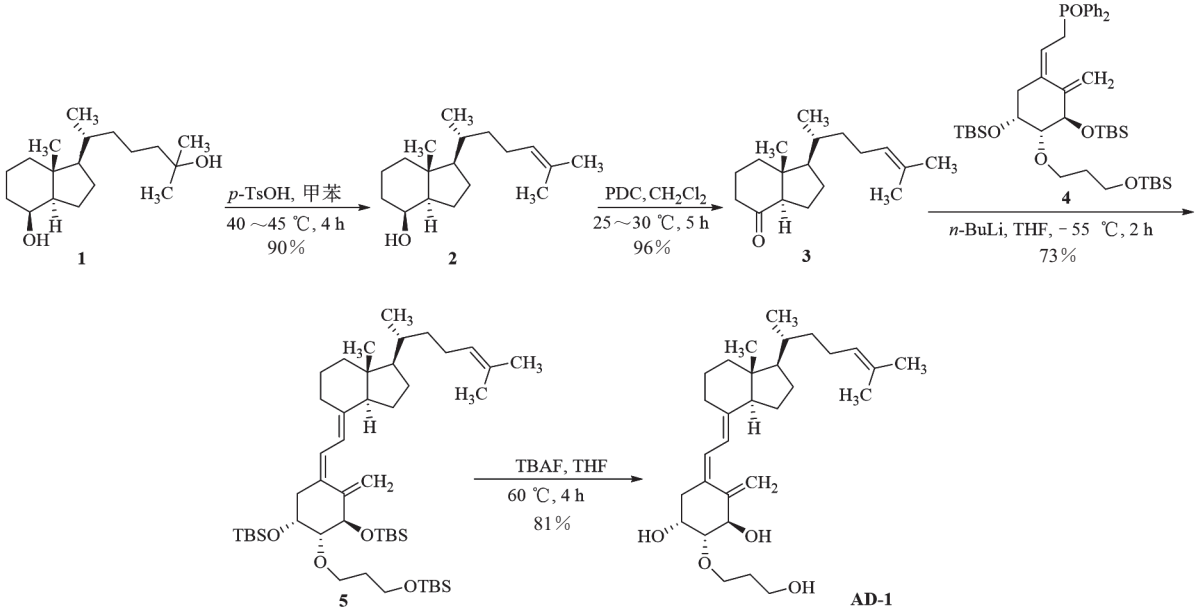


图 4 AD-1 的合成路线

Fig.4 Synthetic Route of **AD-1**

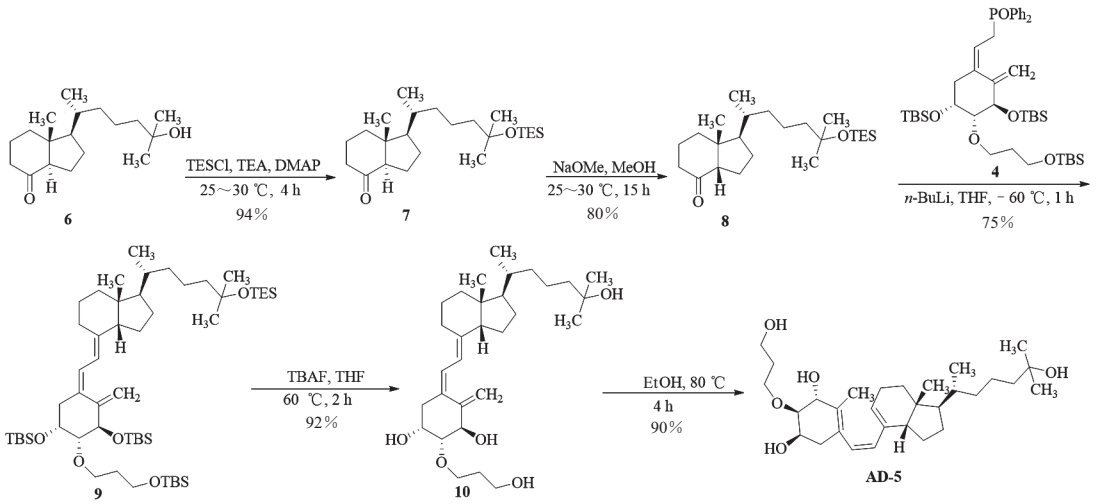


图 5　AD-5 的合成路线

Fig.5　Synthetic Route of **AD-5**

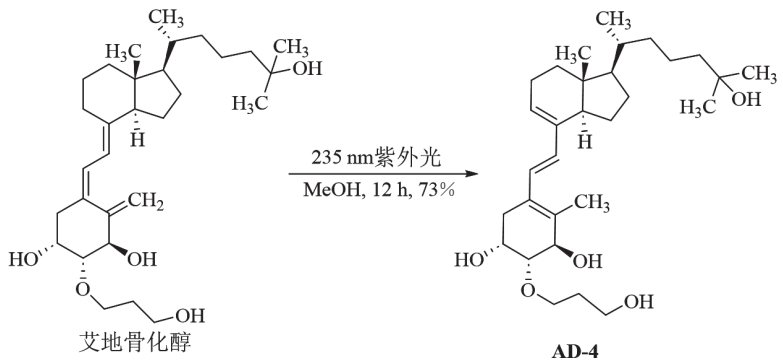


图 6　AD-4 的合成路线

Fig.6　Synthetic Route of **AD-4**

将艾地骨化醇溶解于甲醇，置光催化反应系统中，选用 235 nm 滤光器。在 235 nm 紫外光照射下，加热至 35 ～ 40 ℃反应 12 h，后经硅胶柱色谱分离纯化，得目标产物 **AD-4**。该方法避免了光甾醇型副产物的生成，无需使用反相高效液相色谱，简化了纯化操作。收率 73.0%，纯度 90.0%。

实验部分

仪器：Bruker AVANCE Ⅲ 600 型核磁共振波谱仪；Waters Xevo TQD 型质谱仪；Agilent 1260 Infinity Ⅱ型高效液相色谱仪；Perfect Light PCX50C Discover 型光催化反应系统。

（1*R*,3a*R*,4*S*,7a*R*）-1-［（2*R*）-6- 甲基 -5- 庚烯基 ］-7a- 甲基八氢 -1*H*- 茚 -4- 醇（2）

将 **1**（5.0 g，17.7 mmol，甘肃皓天生物科技有限公司）、甲苯（50 mL）、一水合对甲苯磺酸（5.0 g，26.0 mmol）加至 250 mL 反应瓶中，于 40 ～ 45 ℃搅拌反应 4 h，TLC［展开剂：正己烷和乙酸乙酯（体积比 10 ∶ 1）］监测反应。加入饱和碳酸氢钠水溶液（100 mL）和乙酸乙酯（100 mL），静置分层；有机相依次用纯化水（100 mL）、饱和氯化钠水溶液（100 mL）洗涤，经无水硫酸镁（50 g）干燥后，过滤，滤液于 25 ～ 30 ℃减压浓缩，所得残留物经硅胶柱色谱［洗脱剂：正己烷和乙酸乙酯（体积比 5 ∶ 1）］分离纯化，得无色透明油状物 **2**（4.2 g，90%）。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 5.08 ～ 5.10（m, 1H）, 4.07（s, 1H）, 1.99 ～ 2.05（m, 2H）, 1.81 ～ 1.92（m, 4H）, 1.68（s, 3H）, 1.60（s, 3H）, 1.27（m, 9H）, 1.02 ～ 1.17（m, 3H）, 0.93（s, 3H）, 0.92（d, *J*=6.6 Hz,

3H)；^{13}C NMR(150 MHz, $CDCl_3$) δ: 130.89, 125.09, 69.36, 56.69, 52.58, 41.80, 40.40, 35.91, 35.12, 33.60, 27.16, 25.73, 24.71, 22.55, 18.49, 17.64, 17.45, 13.53；MS-ESI(*m*/*z*): 285.41[M+Na]$^+$。

(1*R*,3a*R*,4*S*,7a*R*)-1-[(2*R*)-6-甲基-5-庚烯基]-7a-甲基八氢-1*H*-茚-4-酮(3)

将**2**(4.2 g，15.9 mmol)、PDC(9.0 g，23.9 mmol)、二氯甲烷(200 mL)加至500 mL反应瓶中，于25～30 ℃反应5 h，TLC[展开剂：正己烷和乙酸乙酯(体积比5∶1)]跟踪反应。反应液过滤，滤液于25～30 ℃减压浓缩，所得残留物经柱色谱(条件同化合物**2**)分离纯化，得无色透明油状物**3**(4.0 g，96%)。^{1}H NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.01～5.09(m, 1H), 2.42～2.46(m, 1H), 2.19～2.29(m, 2H), 2.11～2.13(m, 1H), 1.96～2.05(m, 2H), 1.84～1.95(m, 3H), 1.71～1.75(m, 1H), 1.69(s, 3H), 1.55(s, 3H), 1.29～1.51(m, 6H), 1.05～1.11(m, 1H), 0.96(m, 3H), 0.64(s, 3H)；^{13}C NMR(150 MHz, $CDCl_3$) δ: 212.17, 131.24, 124.86, 62.01, 56.68, 49.96, 40.99, 39.00, 35.88, 35.30, 27.50, 25.72, 24.67, 24.08, 19.10, 18.65, 17.65, 12.50；MS-ESI(*m*/*z*): 283.35[M+Na]$^+$。

(1*R*,2*R*,3*R*,5*Z*,7*E*)-2-(3-羟基丙氧基)-9,10-开环胆甾-5,7,10(19),24(25)-四烯-1,3-二醇(AD-1)

氮气保护下，将化合物**4**(6.5 g，8.4 mmol)和无水四氢呋喃(50 mL)加至250 mL反应瓶中，降至－60 ℃，依次滴加1.6 mol/L正丁基锂/己烷溶液(8.5 mL)和**3**(2.0 g，7.6 mmol)的无水THF(15 mL)溶液，滴毕，升至－55 ℃搅拌反应2 h。加入纯化水(200 mL)淬灭反应，升至室温，加入乙酸乙酯(300 mL)，静置分层；有机相依次用纯化水(200 mL)、饱和氯化钠水溶液(200 mL)洗涤，经无水硫酸镁(50 g)干燥后，过滤，滤液于25～30 ℃减压浓缩，所得残留物经硅胶柱色谱[洗脱剂：正己烷和乙酸乙酯(体积比100∶1)]分离纯化，得无色透明胶状物**5**(4.5 g，73%)。直接用于下一步反应。

将**5**(4.5 g，5.5 mmol)和1 mol/L TBAF的THF溶液(50 mL)加至100 mL反应瓶中，于60 ℃反应4 h，TLC[展开剂：二氯甲烷和甲醇(体积比20∶1)]监测反应。反应液于25～30 ℃减压浓缩，所得残留物经硅胶柱色谱[洗脱剂：二氯甲烷和甲醇(体积比20∶1)]分离、纯化，得白色固体**AD-1**(2.1 g，81%)。mp 108.2～109.5 ℃。纯度97.6%[HPLC归一化法：色谱柱YMC-Pack ODS-AM反向色谱柱(4.6 mm×250 mm，5μm)；流动相A为水，B为乙腈，梯度洗脱(0—40 min，A 45%—30%；40—45 min，A 30%—0；45—60 min，A 0；60—60.1 min，A 0—45%；60.1—70 min，A 45%)；检测波长265 nm；柱温10 ℃；流速1.0 mL/min；进样量20 μL。保留时间为54.9 min，艾地骨化醇保留时间为39.1 min]。^{1}H NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.36(d, *J*=11.2 Hz, 1H), 6.04(d, *J*=11.2 Hz, 1H), 5.49(s, 1H), 5.08(s, 2H), 4.32(d, *J*=8.9 Hz, 1H), 4.26(d, *J*=3.3 Hz, 1H), 3.88～3.96(m, 1H), 3.85(t, *J*=5.6 Hz, 2H)，3.67～3.76(m, 1H), 3.26(dd, *J*=8.9、2.8 Hz, 1H), 2.81(dd, *J*=12.2、4.2 Hz, 1H), 2.54(dd, *J*=14.5、4.0 Hz, 2H), 2.42(d, *J*=14.2 Hz, 2H), 1.82～2.05(m, 8H), 1.68(s, 3H), 1.60(s, 3H), 1.58～1.17(m, 12H), 1.12～1.02(m, 1H), 0.94(s, 3H), 0.55(s, 3H)；^{13}C NMR(150 MHz, $CDCl_3$) δ: 144.10, 143.11, 132.03, 131.00, 125.16, 124.95, 117.17, 111.82, 85.38, 71.55, 68.26, 66.55, 61.24, 56.54, 56.38, 45.91, 40.48, 40.45, 36.02, 35.91, 31.84, 29.13, 27.60, 25.73, 24.73, 23.71, 22.36, 18.77, 17.65, 11.95；MS-ESI(*m*/*z*): 473.81[M+H]$^+$。

(1*R*,3a*R*,7a*R*)-7a-甲基-1-[(*R*)-6-甲基-6-[(三乙基甲硅烷基)氧基]庚烷-2-基]八氢-4*H*-茚-4-酮(7)

将化合物**6**(3.8 g，13.5 mmol)、三乙胺(30 mL)和DMAP(0.84 g，6.8 mmol)加至100 mL反应瓶中，控温于15～20 ℃加入TESCI(4.1 g，27.1 mmol)，于25～30 ℃反应4 h，TLC(条件同化合物**3**)监测反应。加水(5 mL)和二氯甲烷(50 mL)，静置分层；有机相依次加水(100 mL)、饱和氯化钠水溶液(50 mL)洗涤，经无水硫酸镁(50 g)干燥后，过滤，滤液于25～30 ℃减压浓缩，所得残留物经

硅胶柱色谱［洗脱剂：正己烷和乙酸乙酯（体积比80 ∶ 1）］分离、纯化，得无色透明油状物**7**（5.0 g，94%）。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 2.42 ～ 2.44（m, 1H）, 2.19 ～ 2.27（m, 2H）, 2.11 ～ 2.13（m, 1H）, 1.98 ～ 2.02（m, 1H）, 1.86 ～ 1.94（m, 2H）, 1.69 ～ 1.77（m, 1H）, 1.57 ～ 1.58（m, 1H）, 1.29 ～ 1.51（m, 8H）, 1.18 ～ 1.21（m, 7H）, 0.93 ～ 0.96（m, 12H）, 0.64（s, 3H）, 0.54 ～ 0.58（m, 6H）；^{13}C NMR（150 MHz, $CDCl_3$）δ: 212.32, 73.53, 62.16, 56.88, 50.09, 45.59, 41.13, 39.14, 36.42, 35.65, 30.14, 29.96, 27.66, 24.23, 20.86, 19.21, 18.84, 12.26, 7.25, 6.94；MS-ESI（*m/z*）: 417.32［M+Na］$^+$。

（1*R*,3a*S*,7a*R*）-1-［（2*R*）-6- 三乙基硅氧基 -6- 甲基庚基］-7a- 甲基八氢 -1*H*- 茚 -4- 酮（8）

氮气保护下，将化合物**7**（5.0 g，12.7 mmol）、甲醇（50 mL）和甲醇钠（2.0 g，37.0 mmol）加至100 mL反应瓶中，25 ～ 30 ℃搅拌反应15 h，TLC（条件同化合物**AD-1**）监测反应。反应液中加入水（200 mL）和乙酸乙酯（400 mL）搅拌，静置分层；有机相依次加水（100 mL）、饱和氯化钠水溶液（100 mL）洗涤，经无水硫酸镁（50 g）干燥后，过滤，滤液于25 ～ 30 ℃减压浓缩，所得残留物经硅胶柱色谱分离纯化（条件同化合物**7**），得无色油状物**8**（4.0 g，80 %）。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 2.27 ～ 2.36（m, 3H）, 2.14 ～ 2.16（m, 1H）, 1.74 ～ 1.90（m, 5H）, 1.58（m, 1H）, 1.26 ～ 1.40（m, 8H）, 1.18（s, 6H）, 1.04（s, 3H）, 0.95 ～ 1.02（m, 1H）, 0.94（t, *J*=6 Hz, 9H）, 0.91（d, *J*=12 Hz, 3H）, 0.55（q, *J*=6 Hz, 6H）；^{13}C NMR（150 MHz, $CDCl_3$）δ: 213.85, 73.40, 61.44, 50.60, 48.67, 45.42, 40.17, 36.41, 36.07, 34.36, 29.96, 29.86, 27.74, 23.08, 21.24（2C）, 19.10, 7.12（3C）, 6.80（3C）；MS-ESI（*m/z*）: 417.32［M+Na］$^+$。

（1*R*,2*R*,3*R*,14*R*,5*Z*,7*E*）-2-（3- 羟基丙氧基）-9,10- 开环胆甾 -5,7,10（19）- 三烯 -1,3,25- 三醇（10）

氮气保护下，将**4**（6.5 g，8.4 mmol）和无水四氢呋喃（50 mL）加至250 mL反应瓶中，降至 －60 ℃，加入1.6mol/L正丁基锂己烷溶液（6 mL），搅拌反应30 min，再加入**8**（4.0 g，10.1 mmol）的无水四氢呋喃（15 mL）溶液，升至0 ℃搅拌反应1 h，TLC［展开剂：正己烷和乙酸乙酯（体积比20 ∶ 1）］监测反应。反应液中加入水（200 mL）和乙酸乙酯（300 mL）萃取，静置分层；有机相依次用水（200 mL）、饱和氯化钠水溶液（200 mL）洗涤，经无水硫酸镁（50 g）干燥后，过滤，滤液于25 ～ 30 ℃减压浓缩，所得残留物经硅胶柱色谱［洗脱剂：正己烷和乙酸乙酯（体积比150 ∶ 1）］分离、纯化，得无色透明胶状物**9**（7.2 g，75%）。直接用于下一步反应。

氮气保护下，将**9**（7.2 g，7.6 mmol）和1 mol/L TBAF的THF溶液（50 mL）加至100 mL反应瓶中，于60 ℃搅拌反应2 h，TLC［展开剂：二氯甲烷和甲醇（体积比15 ∶ 1）］监测反应。反应液于25 ～ 30 ℃减压浓缩，所得残留物经硅胶柱色谱［洗脱剂：二氯甲烷和甲醇（体积比50 ∶ 1）］分离、纯化，得白色固体**10**（3.4 g，92%）。mp 139.6 ～ 140.5 ℃。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 6.29（d, *J*=12 Hz, 1H）, 6.16（d, *J*=12 Hz, 1H）, 5.51（s, 1H）, 5.08（s, 1H）, 4.31（d, *J*=12 Hz, 1H）, 4.25（m, 1H）, 3.90 ～ 3.91（m, 1H）, 3.83（t, *J*=6 Hz, 2H）, 3.72 ～ 3.73（m, 1H）, 3.26 ～ 3.28（m, 1H）, 2.52 ～ 2.54（m, 1H）, 2.41 ～ 2.51（m, 1H）, 2.17 ～ 1.27（m, 25H）, 1.22（s, 6H）, 0.92（s, 3H）, 0.88（m, 3H）；^{13}C NMR（150 MHz, $CDCl_3$）δ: 144.24, 143.47, 132.39, 125.00, 120.31, 112.13, 85.28, 71.54, 71.18, 68.27, 66.60, 61.02, 57.77, 54.26, 45.38, 44.37, 40.49, 38.99, 34.66, 34.06, 31.84, 29.34（2C）, 29.14, 27.13, 25.23, 22.47, 21.75, 19.76, 14.13；MS-ESI（*m/z*）: 513.36［M+Na］$^+$。

（1*R*,2*R*,3*R*,14*S*,5*E*,6*Z*,8*Z*）-2-（3- 羟基丙氧基）-9,10- 开环胆甾 -5（10）,6,8（9）- 三烯 -1,3,25- 三醇（AD-5）

氮气保护下，将化合物**10**（3.4 g，6.9 mmol）和乙醇（20 mL）加至50 mL反应瓶中，于80 ℃搅拌反应4 h，TLC（条件同化合物**10**）监测反应，反应液于25 ～ 30 ℃减压浓缩，所得残留物经硅胶柱色谱（条件同化合物**10**）分离纯化，得白色固体**AD-5**（3.0 g，88 %）。mp 126.4 ～ 128.2 ℃。纯

度 96.8%（HPLC 条件同化合物 **AD-1**。保留时间为 36.8 min）。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 5.86（d, *J*=12 Hz, 1H）, 5.78（d, *J*=12 Hz, 1H）, 5.64（s, 1H）, 4.18 ～ 4.19（m, 1H）, 4.13（m, 1H）, 3.80 ～ 3.86（m, 4H）, 3.43 ～ 3.44（m, 1H）, 2.51 ～ 2.54（m, 1H）, 2.45（br s, 1H）, 2.31（br s, 1H）, 2.23 ～ 2.26（m, 1H）, 1.75 ～ 2.02（m, 7H）, 1.75（s, 3H）, 1.25 ～ 1.53（m, 13H）, 1.22（s, 6H）, 1.07 ～ 1.12（m, 1H）, 0.94（d, *J*=6 Hz, 3H）, 0.91（s, 3H）；^{13}C NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 138.73, 132.64, 129.20, 128.65, 127.49, 125.69, 83.30, 71.83, 71.12, 68.58, 65.60, 61.20, 52.14, 52.01, 44.42, 41.07, 35.78, 34.27, 34.14, 33.88, 31.98, 29.55（2C）, 29.05, 28.53, 22.92, 21.68, 20.96, 19.61, 15.91；MS-ESI（*m*/*z*）: 513.36［M+Na］$^+$。

（1*R*,2*R*,3*R*,5*E*,6*E*,8*Z*）-2-（3- 羟基丙氧基）-9,10- 开环胆甾 -5（10）,6,8（9）- 三烯 -1,3,25- 三醇（AD-4）

氮气保护下，将艾地骨化醇（1.0 g，2.0 mmol）和甲醇（200 mL）加至 500 mL 反应瓶中，放入光催化反应系统，搅拌，开启紫外光源，波长为 235 nm，于 35 ～ 40 ℃下反应 12 h 后，冷却至室温，用纯化水（500 mL）和乙酸乙酯（200 mL）萃取，静置分层；有机相依次用纯化水（200 mL）、饱和氯化钠水溶液（200 mL）洗涤，经无水硫酸镁（50 g）干燥后，过滤，滤液于 25 ～ 30 ℃减压浓缩，所得油状残留物经硅胶柱色谱［洗脱剂：二氯甲烷和甲醇（体积比 25 ∶ 1）］分离、纯化，得白色固体 **AD-4**（0.73 g，73.0 %）。mp 119.5 ～ 121.5 ℃。纯度 90.0%（HPLC 条件同化合物 **AD-1**。保留时间为 33.5 min）。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 6.65（d, *J*=18.0 Hz, 1H）, 6.10（d, *J*=18.0 Hz, 1H）, 5.72（d, *J*=6.0 Hz, 1H）, 4.20 ～ 4.24（m, 2H）, 3.76 ～ 3.81（m, 4H）, 3.44 ～ 3.46（m, 2H）, 1.95（s, 3H）, 1.22（s, 6H）, 0.97（d, *J*=18.0 Hz, 6H）, 0.68（s, 3H）；^{13}H NMR（150 MHz, $CDCl_3$）δ: 137.12, 129.83, 126.78, 124.98, 123.42, 82.03, 71.31, 70.13, 61.26, 52.59, 49.01, 43.39, 41.81, 35.42, 35.02, 34.80, 30.91, 27.67, 21.28, 19.80, 17.85, 10.21；ESI-MS（*m*/*z*）: 513.36［M+Na］$^+$。

参考文献：

［1］ 曾婧娉 , 阎 卉 , 王成港 , 等．骨质疏松症治疗药物——艾尔骨化醇［J］．药物评价研究 , 2011, **34**（3）: 224-229.

［2］ 赵国栋 , 刘兆鹏．艾地骨化醇合成路线图解［J］．中国医药工业杂志 , 2014, **45**（10）: 994-998.

［3］ KONODO S, TAKANO T, ONO Y, *et al*. Eldecalcitol reduces osteoporotic fractures by unique mechanisms［J］. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2015, **148**: 232-238.

［4］ ONO Y. Multifunctional and potent roles of the 3-hydroxypropoxy group provide eldecalcitol's benefit in osteoporosis treatment［J］. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2014, **139**: 88-97.

［5］ NISHII Y, OKANO T. History of the development of new vitamin D analogs: studies on 22-oxacalcitriol（OCT）and 2β-（3-hydroxypropoxy）calcitriol（ED-71）［J］. *Steroids*, 2001, **66**（3-5）: 137-146.

［6］ 中外制药株式会社．维生素 D 衍生物结晶及其制备方法 : 中国 , 1276927C［P］. 2006-09-27.

［7］ 中外制药株式会社．ED-71 制剂 : 中国 , 1938034A［P］. 2007-03-28.

［8］ 拉斐尔·瑞恩特珍斯 , 安德里亚·鲍尔．用于制造前维生素 D 的光化学方法 : 中国 , 101668739A［P］. 2010-03-10.

［9］ KAISHA C S K, SUZUKI K, YAMAUCHI T, MIZUTANI A, *et al*. ED-71 preparation: WO, 2005074943［P］. 2005-08-18.