

DOI:10.11784/tdxbz202502018

3-羟基保护的胆固醇衍生物区域选择性溴代反应研究

宋 健¹, 王 渊¹, 张 宝¹, 王钟悦¹, 景少雄¹, 王 飞²

(1. 天津大学化工学院, 天津 300350; 2. 苏州恩泰新材料科技有限公司, 苏州 215000)

摘要: 以胆固醇为原料, 采用溴代脱溴法合成 7-去氢胆固醇时, 在烯丙位溴代反应中会生成 7-溴和 4-溴两种溴代胆固醇衍生物, 生成的 4-溴代胆固醇衍生物在后续步骤中会生成难以分离的 4, 6-双烯异构体, 因此提高溴代反应的选择性是十分重要的. 设计合成了 11 种 3-羟基保护基结构不同的 3-羟基胆固醇衍生物, 以 N-溴代琥珀酰亚胺为溴代试剂、偶氮二异丁腈为引发剂, 在 67 °C 条件下搅拌 1 h 进行溴代反应. 研究了不同保护基结构对溴代反应的影响, 并利用 Gaussian 09W 对 3-羟基胆固醇衍生物的最优构型进行了计算. 结果表明, 空间位阻大的保护基或给电子保护基对于反应是有利的, 以苯甲酰基和叔丁基二甲基硅基为保护基的 3-羟基胆固醇衍生物在溴代反应中 7-溴代物生成量高、位置选择性好, 是较佳的保护基. 选取了 3 种典型的 3-羟基胆固醇衍生物, 研究了有无引发剂、不同波长的光照对溴代反应的影响. 结果表明: 在无引发剂的条件下, 采用热引发的溴代反应选择性较差; 光引发不仅能在温和条件下引发该自由基反应, 而且 7-溴代物生成量和位置选择性均优于热引发反应; 以叔丁基二甲基硅基为保护基, 在不添加引发剂的条件下, 37 °C、365 nm 的光照条件下可以快速完成溴代反应, 且反应后的 7-溴代物生成量和位置选择性最好. 采用光引发溴代反应在工业化生产中可以减少能耗, 避免使用引发剂, 提高生产安全性, 对 7-去氢胆固醇的工业化生产具有参考意义.

关键词: 3-羟基胆固醇衍生物; 烯丙位溴代反应; 7-溴代胆固醇衍生物; 光引发

中图分类号: TQ213

文献标志码: A

文章编号: 0493-2137(2025)12-1255-08

Regioselective Bromination Reaction of 3-Hydroxy-Protected Cholesterol Derivatives

Song Jian¹, Wang Yuan¹, Zhang Bao¹, Wang Zhongyue¹, Jing Shaoxiong¹, Wang Fei²

(1. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300350, China;

2. Suzhou Entai New Materials Technology Co., Ltd., Suzhou 215000, China)

Abstract: The synthesis of 7-dehydrocholesterol uses cholesterol as the starting material with the bromination-debromination method. Two brominated cholesterol derivatives, 7-bromo and 4-bromo, are generated in the allyl-site bromination reaction. The 4-bromocholesterol derivatives produce 4, 6-dienyl isomers that are difficult to separate in subsequent steps. Thus, the selectivity of the bromination reaction needs to be improved. Eleven 3-hydroxy-protected cholesterol derivatives with different 3-hydroxy-protecting group structures were synthesized, and the bromination reaction was initiated with N-bromosuccinimide as the bromination reagent and azobisisobutyronitrile as the initiator under stirring for 1 h at 67 °C. The effects of different protecting group structures on the bromination reaction were investigated, and the optimal configurations of the 3-hydroxy-protected cholesterol derivatives were calculated using Gaussian 09W. The results showed that protecting groups with high steric hindrance and electron-donating protecting groups were favorable for the reaction, and 3-hydroxy-protected cholesterol derivatives with benzoyl and *tert*-butyldimethylsilyl as protecting groups were preferable for the bromination reaction with a high content of 7-bromocholesterol derivatives and good position selectivity. Three typical 3-hydroxy-protected cholesterol derivatives were selected to investigate the effects of different wavelengths of light on the bromination reaction with or without an initiator. Notably, the bromination reaction using thermal initiation without an initiator had poor results. The

收稿日期: 2025-02-21; 修回日期: 2025-03-30.

作者简介: 宋 健 (1969—), 男, 博士, 教授.

通信作者: 宋 健, songjian@tju.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(22478297).

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 22478297).

photoinitiation not only could initiate radical reaction under mild temperature conditions, but also the content of 7-bromocholesterol derivatives of the reaction, and the selectivity of the position were better than that in the thermal initiation reaction. With *tert*-butyldimethylsilyl ether as the protecting group, the bromination reaction could be completed quickly at 37 °C and 365 nm light without adding an initiator, and the content of 7-bromocholesterol derivatives and position selectivity after the reaction were the best. The photoinitiated bromination reaction can reduce energy consumption, avoid the use of an initiator, and improve production safety in industrial production, which is significant for the industrial production of 7-dehydrocholesterol.

Keywords: 3-hydroxycholesterol derivatives; allyl-site bromination reaction; 7-bromocholesterol derivatives; photoinitiation

维生素 D₃ 在维持血液中钙、磷的稳定、骨骼生长、肌肉收缩和神经递质的传导中发挥重要作用,因而在药物制剂、食品及饲料添加剂等方面有着广泛的应用^[1-4]。合成维生素 D₃ 的关键中间体 7-去氢胆固醇的生产主要有生物合成法和化学合成法。

生物合成法主要以角鲨烷、醋酸盐、胆固醇为原料经生物酶作用后得到 7-去氢胆固醇,生物合成的反应条件温和、环境友好^[2, 5-7]。常见化学合成法主要是氧化还原消除法和溴代脱溴法。氧化还原消除法是以胆固醇为原料经酯化、烯丙位氧化、还原、水解等反应得到 7-去氢胆固醇^[8-13]。溴代脱溴法是以胆固醇为原料经酯化、烯丙位溴代、消除、水解等反应得到 7-去氢胆固醇。溴代脱溴法具有成本低、安全性高、反应条件可控的优点,适用于工业生产。

溴代脱溴法制备 7-去氢胆固醇衍生物的主要问题是在溴代反应过程中除了 7-溴代物,还会生成 4-溴代副产物,其在后续脱溴反应时会生成 4, 6-双烯异构体。例如:以胆固醇乙酰酯为原料利用该方法合成 7-去氢胆固醇乙酰酯时,含量只有 60% 左右^[14-15]。因此,溴代反应时,提高 7-溴代胆固醇衍生物的选择性是十分重要的。

本文以胆固醇为原料合成了 11 种 3-羟基胆固醇衍生物(I₁ ~ I₁₁),研究了 3-羟基保护基的结构对溴代反应选择性的影响,以确定最有利于合成 7-溴代胆固醇衍生物的保护基。研究了光引发方式对此类甾体化合物的烯丙位溴代反应的影响。与其他合成方法^[8-13]相比,本实验方法反应路线短、无需使用 NaBH₄ 等还原剂、安全系数高。与传统的溴代脱溴法^[14-15]相比,本文采用了光引发反应,降低了能源消耗,避免使用引发剂。

1 实验

1.1 试剂与仪器

胆固醇(97%),北京百灵威科技有限公司; 2, 4,

6-三甲基吡啶(98%),赞城(天津)科技有限公司; N-溴代琥珀酰亚胺(99%),天津希恩思奥普德科技有限公司; 氢氧化钠(95%),上海迈瑞尔生化科技有限公司; 乙酸酐(98.5%),上海凌峰化学试剂有限公司; 4-二甲氨基吡啶(99%)、异丁酰氯(98%)、苯甲酰氯(99%)、邻甲基苯甲酰氯(99%)、2, 4, 6-三甲基苯甲酰氯(98%)、对甲氧基苯甲酰氯(98%)、4-硝基苯甲酰氯(98%)、三苯基氯甲烷(99%)、3, 4-二氢-2H-吡喃(97%)、对甲苯磺酸(99%)、三乙胺(AR)、石油醚(60 ~ 90 °C, AR),上海泰坦科技有限公司; 偶氮二异丁腈(98%)、丙酰氯(98%)、叔丁基二甲基氯硅烷(98%),安徽泽升科技股份有限公司; 环己烷(工业级)、二氯甲烷(AR)、无水乙醇(AR),苏州市联统仪器仪表试剂有限公司; 乙腈(HPLC),上海迈瑞尔生化科技有限公司; 纯水,娃哈哈集团有限公司。

LC-2030 高效液相色谱,日本岛津公司; Bruker Advance 400 MHz 核磁共振波谱仪,美国 Bruker 公司; WRS-2A 微机熔点仪,上海申光仪器仪表有限公司。

1.2 实验方法

本研究的合成路线如图 1 所示。

1.2.1 3-羟基胆固醇衍生物的合成

I₁ 的合成方法:将 30.00 g(77.59 mmol)胆固醇加入 500 mL 三口烧瓶后,加入 270.00 g 石油醚溶解,再依次加入 20.00 g(195.91 mmol)乙酸酐和 0.60 g(4.91 mmol) 4-二甲氨基吡啶,在 60 ~ 65 °C 温度下回流反应 2 h。高效液相色谱(HPLC)检测无胆固醇剩余,反应结束。停止加热,将反应液冷却至室温,用 10% 氢氧化钠溶液调节反应液 pH = 7 ~ 8,静置分去水层,将有机层旋蒸减压浓缩脱去石油醚后,加入 90.00 g 乙醇打浆,室温搅拌 2 h 后降温至 0 ~ 5 °C 搅拌 1 h。过滤,滤饼在 40 °C 鼓风干燥,得到白色粉末状固体,收率为 96.70%。

I₂ ~ I₁₀ 的合成方法:将 30.00 g(77.59 mmol)胆固醇加入 500 mL 三口烧瓶后,加入 150.00 g 二氯甲

烷溶解,再依次加入 1.2 当量的相应结构的酰氯或氯代烷烃和 0.60 g (4.91 mmol) 4-二甲氨基吡啶,用恒压滴液漏斗缓慢滴加 13.35 g (131.90 mmol) 三乙胺,大约 1 h 全部加完.在室温下反应 6~9 h,HPLC 检测无胆固醇剩余,反应结束.将反应液旋蒸减压浓缩

脱去二氯甲烷后,加入 90.00 g 乙醇打浆,室温搅拌 2 h 后降温至 0~5 °C 搅拌 1 h.过滤,滤饼在 40 °C 鼓风干燥,得到白色粉末状固体, $I_2 \sim I_{10}$ 的收率分别为 87.66%、85.90%、96.08%、88.72%、94.10%、92.32%、97.24%、88.08%、87.41%.

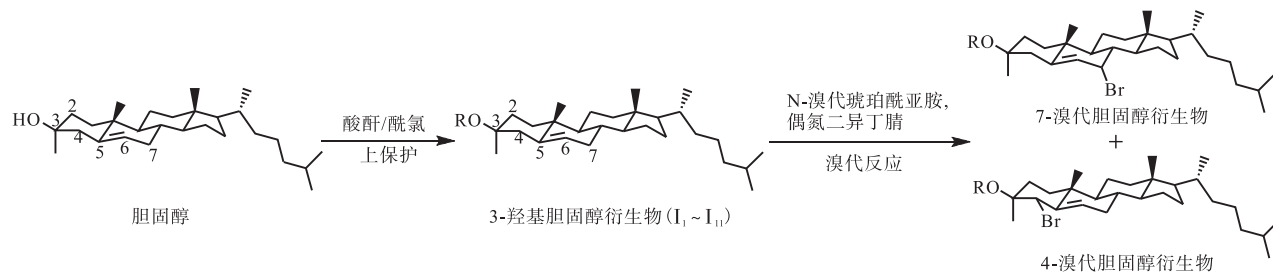


图 1 合成路线

Fig.1 Synthesis route

I_{11} 的合成方法:将 30.00 g (77.59 mmol) 胆固醇加入 500 mL 三口烧瓶后,加入 150.00 g 二氯甲烷溶解后,再依次加入 7.83 g (93.15 mmol) 3,4-二氢-2H-吡喃、0.60 g (4.91 mmol) 4-二甲氨基吡啶和 1.20 g (6.97 mmol) 对甲苯磺酸.在室温下反应 12 h,HPLC 检测无胆固醇剩余,反应结束.将反应液减压浓缩脱去二氯甲烷后,加入 90.00 g 乙醇打浆,室温搅拌 2 h 后降温至 0~5 °C 搅拌 1 h.过滤,滤饼在 40 °C 鼓风干燥,得到白色粉末状固体,收率为 49.61%.

$I_1 \sim I_{11}$ 的分子结构式如图 2 所示.

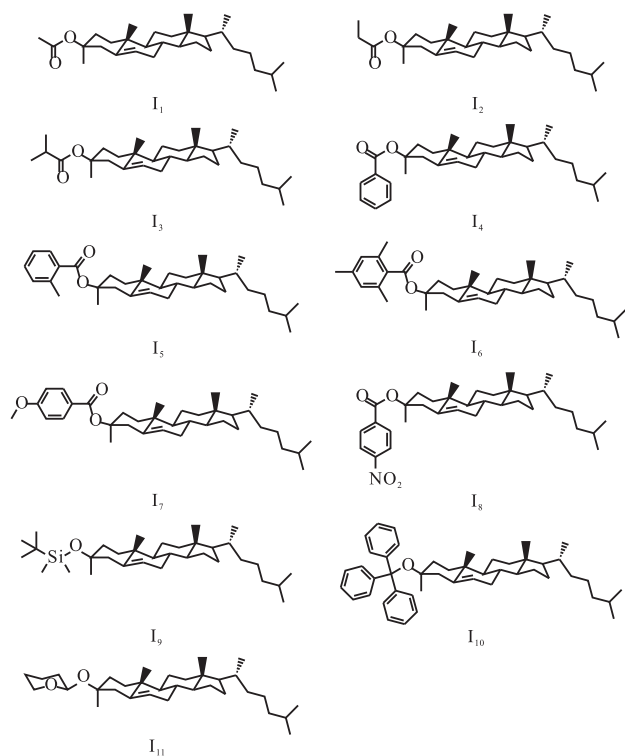


图 2 $I_1 \sim I_{11}$ 的结构示意

Fig.2 Structure schematic of $I_1 \sim I_{11}$

产物 ^1H NMR 与熔点如下.

胆固醇乙酯 I_1 . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.40~5.35 (m, 1H), 4.65~4.55 (m, 1H), 2.32 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.03 (s, 5H), 1.89~1.77 (m, 3H), 1.65~1.41 (m, 8H), 1.37~1.04 (m, 11H), 1.02 (s, 3H), 1.00~0.93 (m, 2H), 0.91 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.86 (dd, $J = 6.6$, 1.8 Hz, 6H), 0.67 (s, 3H). 熔点: 114.0~114.5 °C.

胆固醇丙酯 I_2 . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.40~5.35 (m, 1H), 4.67~4.57 (m, 1H), 2.30 (q, $J = 7.5$ Hz, 4H), 2.04~1.92 (m, 2H), 1.89~1.77 (m, 3H), 1.65~1.43 (m, 7H), 1.30 (dd, $J = 32.3$, 8.8 Hz, 4H), 1.14 (q, $J = 7.6$ Hz, 9H), 1.02 (d, $J = 15.5$ Hz, 7H), 0.91 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.86 (dd, $J = 6.6$, 1.8 Hz, 6H), 0.68 (s, 3H). 熔点: 96.7~97.4 °C.

胆固醇异丁酯 I_3 . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.39~5.35 (m, 1H), 4.65~4.55 (m, 1H), 2.50 (hept, $J = 7.0$ Hz, 1H), 2.30 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.06~1.92 (m, 2H), 1.83 (td, $J = 15.3$, 14.6, 6.5 Hz, 3H), 1.64~1.39 (m, 8H), 1.37~1.19 (m, 4H), 1.18~1.04 (m, 13H), 1.02 (s, 3H), 1.01~0.94 (m, 2H), 0.91 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.86 (dd, $J = 6.6$, 1.8 Hz, 6H), 0.68 (s, 3H). 熔点: 129.1~129.5 °C.

胆固醇苯甲酯 I_4 . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.05 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.54 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.43 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 5.46~5.40 (m, 1H), 4.86 (dtd, $J = 12.0$, 8.5, 4.5 Hz, 1H), 2.47 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.05~1.89 (m, 4H), 1.87~1.68 (m, 2H), 1.63~1.39 (m, 7H), 1.38~1.28 (m, 3H), 1.26~1.08 (m, 7H), 1.07 (s, 3H), 1.05~0.97 (m, 3H), 0.92 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.87 (dd, $J = 6.6$, 1.8 Hz,

6H), 0.69(s, 3H). 熔点: 147.9 ~ 149.9 °C.

胆固醇邻甲基苯甲酰酯 I₅. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.88(dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 7.38(t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.23(d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 5.46 ~ 5.40(m, 1H), 4.90 ~ 4.80(m, 1H), 2.59(s, 3H), 2.47(d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.02(td, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 3H), 1.92(dt, *J* = 13.5, 3.6 Hz, 1H), 1.87 ~ 1.67(m, 2H), 1.64 ~ 1.55(m, 2H), 1.54(s, 3H), 1.51 ~ 1.45(m, 2H), 1.37 ~ 1.09(m, 10H), 1.06(s, 3H), 1.04 ~ 0.95(m, 3H), 0.93(d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.87(dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz, 6H), 0.69(s, 3H). 熔点: 112.0 ~ 120.4 °C.

胆固醇 2, 4, 6-三甲基苯甲酰酯 I₆. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.84(s, 2H), 5.43(d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.95 ~ 4.85(m, 1H), 2.45(d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.28(d, *J* = 10.5 Hz, 9H), 2.01(td, *J* = 8.2, 7.4, 3.8 Hz, 3H), 1.94 ~ 1.79(m, 2H), 1.76 ~ 1.65(m, 1H), 1.63 ~ 1.43(m, 7H), 1.42 ~ 1.04(m, 12H), 1.03(s, 3H), 1.02 ~ 0.95(m, 2H), 0.92(d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.87(dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz, 6H), 0.69(s, 3H). 熔点: 144.7 ~ 145.8 °C.

胆固醇对甲氧基苯甲酰酯 I₇. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.99(d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.91(d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 5.45 ~ 5.38(m, 1H), 4.89 ~ 4.77(m, 1H), 3.86(s, 3H), 2.45(d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.06 ~ 1.88(m, 4H), 1.87 ~ 1.66(m, 2H), 1.63 ~ 1.41(m, 7H), 1.34(dq, *J* = 10.3, 5.3, 4.2 Hz, 3H), 1.26 ~ 1.08(m, 7H), 1.07(s, 3H), 1.05 ~ 0.98(m, 3H), 0.92(d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.87(dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz, 6H), 0.69(s, 3H). 熔点: 176.9 ~ 177.7 °C.

胆固醇对硝基苯甲酰酯 I₈. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.28(d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 8.20(d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 5.44(d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 4.95 ~ 4.85(m, 1H), 2.48(d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 2.06 ~ 1.90(m, 4H), 1.89 ~ 1.71(m, 2H), 1.70 ~ 1.41(m, 7H), 1.34(td, *J* = 10.1, 5.1 Hz, 3H), 1.27 ~ 1.09(m, 7H), 1.08(s, 3H), 1.05 ~ 0.97(m, 3H), 0.92(d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.87(dd, *J* = 6.6, 1.7 Hz, 6H), 0.69(s, 3H). 熔点: 190.0 ~ 195.4 °C.

胆固醇叔丁基二甲基硅醚 I₉. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.34 ~ 5.29(m, 1H), 3.48(tt, *J* = 10.5, 4.7 Hz, 1H), 2.32 ~ 2.13(m, 2H), 2.04 ~ 1.92(m, 2H), 1.81(dt, *J* = 13.9, 3.9 Hz, 2H), 1.71(d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 1.61 ~ 1.40(m, 8H), 1.38 ~ 1.20(m, 4H), 1.19 ~ 1.03(m, 7H), 1.00(s, 5H), 0.91(d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.89(s, 9H), 0.86(dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz, 6H), 0.67(s, 3H), 0.06(s, 6H). 熔点: 158.5 ~

159.1 °C.

胆固醇三苯基甲醚 I₁₀. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.52(d, *J* = 7.1 Hz, 6H), 7.28(d, *J* = 6.9 Hz, 6H), 7.21(t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 4.92 ~ 4.86(m, 1H), 3.35(tt, *J* = 10.9, 4.2 Hz, 1H), 2.13(t, *J* = 11.6 Hz, 1H), 1.95(d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 1.89 ~ 1.72(m, 2H), 1.63(d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 1.52(s, 2H), 1.48(d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 1.41 ~ 1.20(m, 10H), 1.15 ~ 0.95(m, 7H), 0.93(s, 3H), 0.88(d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.85(dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz, 6H), 0.78(ddd, *J* = 13.8, 11.6, 3.6 Hz, 2H), 0.63(s, 3H). 熔点: 111.4 ~ 115.1 °C.

胆固醇四氢吡喃基醚 I₁₁. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.34(t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.71(t, *J* = 3.7 Hz, 1H), 3.96 ~ 3.87(m, 1H), 3.50(ddd, *J* = 18.8, 9.9, 5.5 Hz, 2H), 2.37 ~ 2.19(m, 2H), 1.98(t, *J* = 14.5 Hz, 2H), 1.89 ~ 1.79(m, 4H), 1.73(d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 1.58 ~ 1.43(m, 12H), 1.40 ~ 1.20(m, 5H), 1.20 ~ 1.03(m, 8H), 1.01(s, 3H), 0.91(d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.86(dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz, 6H), 0.67(s, 3H). 熔点: 147.1 ~ 147.6 °C.

1.2.2 3-羟基胆固醇衍生物的溴代反应

以胆固醇乙酰酯(I₁)为原料的溴代反应为例.

热引发溴代反应: 将 20.00 g (46.65 mmol) 胆固醇乙酰酯(I₁)加入 500 mL 三口烧瓶后, 加入 200.00 g 环己烷溶解, 再依次加入 8.50 g (70.14 mmol) 2, 4, 6-三甲基吡啶、9.96 g (55.96 mmol) N-溴代琥珀酰亚胺、加入或不加入 0.22 g (1.34 mmol) 偶氮二异丁腈, 在氮气保护下加热至 65 ~ 70 °C, 保温反应 1 h, HPLC 检测无胆固醇乙酰酯(I₁)剩余, 反应结束. 将反应液自然冷却至室温, 抽滤. 将滤液减压浓缩至无液体馏出, 得到溴代 3-羟基胆固醇衍生物的混合物. I₂ ~ I₁₁ 的热引发溴代反应方法与上述类似.

光引发溴代反应: 将 20.00 g (46.65 mmol) 胆固醇乙酰酯(I₁)加入光反应器后, 加入 200.00 g 环己烷溶解, 再依次加入 8.50 g (70.14 mmol) 2, 4, 6-三甲基吡啶和 9.96 g (55.96 mmol) N-溴代琥珀酰亚胺, 在氮气保护下使用不同波长的 LED 灯光照. 从 37 °C 逐渐升温至 67 °C, 在最低可反应温度下保温反应 1 ~ 2 h, HPLC 检测无胆固醇乙酰酯(I₁)剩余, 反应结束. 将反应液自然冷却至室温, 抽滤. 将滤液减压浓缩至无液体馏出, 得到溴代 3-羟基胆固醇衍生物的混合物. I₄ 和 I₉ 的光引发溴代反应方法与上述类似.

1.3 测试与表征

1.3.1 HPLC 分析方法

本研究使用 InfinityLab Poroshell 120SB-C8 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm × 2.7 μm), 流动相为水(A)和乙

腈(B), 梯度洗脱见表 1, 流速 0.6 mL/min, UV 检测器波长 210 nm, 进样量 10 μ L, 柱温 40 $^{\circ}$ C.

表 1 HPLC 梯度洗脱条件

Tab.1 HPLC gradient elution conditions

时间梯度/min	流动相 A(水)/%	流动相 B(乙腈)/%
0	15	85
3.0	15	85
23.0	0	100
28.0	0	100
28.1	15	85
35.0	15	85

1.3.2 ^1H NMR 分析方法

取 6 mg 样品溶解于 0.6 mL 氘代氯仿(CDCl_3)中, 以四甲基硅烷为内标, 使用 Bruker Advance 400 MHz 核磁共振波谱仪进行测试.

1.3.3 计算方法

利用 Gaussian 09W 软件和杂化密度泛函理论

(DFT)方法, 采用 B3LYP 函数、6-31G(d, p) 基组, 计算单分子水平上胆固醇衍生物分子的最优化构型.

2 结果与讨论






本文研究了胆固醇不同结构的 3-羟基保护基以及引发方式对烯丙位溴代反应的影响.

2.1 胆固醇 3-羟基保护基对溴代反应的影响

由于胆固醇衍生物在溴代自由基反应过程中会产生 C_4 位和 C_7 位两种烷基自由基, 因此本文以 3 种脂肪族胆固醇酯类保护基、5 种芳香族胆固醇酯类保护基以及 3 种胆固醇醚类保护基的胆固醇衍生物作为底物, 以 N-溴代琥珀酰亚胺为溴代试剂、偶氮二异丁腈为引发剂, 在 67 $^{\circ}$ C 条件下搅拌 1 h 进行烯丙位溴代反应. 并利用 Gaussian 09W 对所选底物的最优构型进行了计算. 实验结果见表 2.

表 2 不同 3-羟基保护基溴代反应结果

Tab.2 Results of bromination reactions of different 3-hydroxy-protecting groups

原料	R	O—C ₃ —C ₄ 夹角/ $^{\circ}$	C ₄ 静电势/a.u.	C ₇ 静电势/a.u.	7-溴代物生成量/%	4-溴代物生成量/%	比值 Δ	转化率/%
I ₁	CH ₃ CO	110.16	-0.249	-0.207	37.96	15.44	2.46	97.70
I ₂	CH ₃ CH ₂ CO	110.23	-0.250	-0.207	38.41	14.43	2.66	96.88
I ₃	(CH ₃) ₂ CHCO	110.19	-0.250	-0.207	41.02	14.36	2.86	97.10
I ₄	C ₆ H ₅ CO	109.41	-0.251	-0.207	51.07	14.80	3.45	94.30
I ₅		112.60	-0.252	-0.206	53.03	16.31	3.25	97.37
I ₆		112.80	-0.254	-0.206	55.05	18.32	3.01	97.75
I ₇		110.21	-0.250	-0.207	52.85	17.01	3.12	96.66
I ₈		109.34	-0.253	-0.208	48.97	14.35	3.41	94.96
I ₉	(CH ₃) ₃ CSi(CH ₃) ₂	109.08	-0.243	-0.206	55.30	11.61	4.76	89.61
I ₁₀	(C ₆ H ₅) ₃ C	111.49	-0.233	-0.205	46.29	7.28	6.36	88.49
I ₁₁		111.70	-0.229	-0.204	37.74	8.27	4.56	91.63

注: O—C₃—C₄ 夹角由计算得到的最优构型测得; 比值 Δ 为 7-溴代物与 4-溴代物 HPLC 含量的比值.

从 7-溴代物的生成量来看, 芳香族酯类保护基(I₄ ~ I₈)的 7-溴代物生成量远高于脂肪族酯类保护基(I₁ ~ I₃), 这是由于芳香族酯类保护基较脂肪族酯类保护基的空间位阻大, 增加保护基的空间位阻可以提高溴代反应产生 7-溴代物的选择性. 胆固醇叔丁基二甲基硅醚(I₉)的保护基支链多、体积大, 其 7-溴代物生成量最多. 成明等^[16]报道了在 NBS 参与的烯丙位溴代反应中, 邻位取代基的空间位阻大会使溴代反应变得困难.

从比值 Δ 来看, 醚类保护基的选择性明显高于酯类保护基, 这可能是由于醚键使 C₄ 位自由基活性降

低, 抑制了 C₄ 位自由基的链传递反应能力. 另外, 芳香族酯类保护基的选择性高于脂肪族酯类保护基, 这是由于位阻更大的保护基会阻碍溴自由基进攻甾环上 C₄ 位点, 减少 4-溴代物的产生, 进而提高反应的位置选择性.

本文通过计算得到了 I₁ ~ I₁₁ 分子的最稳定构型, 由其测得的 O—C₃—C₄ 夹角可以发现: O—C₃—C₄ 夹角相差不大的 I₁、I₂、I₃, 通过延长碳链和增加支链增加了保护基的空间位阻, 减少了 4-溴代物的生成; I₄、I₈ 的 O—C₃—C₄ 夹角较小, 不利于 4-溴代物的产生, 使比值 Δ 增大, 位置选择性提高; I₉ 的 O—C₃—

C₄ 夹角最小,最不利于 4-溴代物的产生,而且由于其保护基空间位阻大,7-溴代物的生成量也最多.综合 7-溴代物的生成量和比值 Δ 可以发现 I₉ 的溴代反应结果最好.

根据计算结果可以得到不同原料 C₄ 与 C₇ 位的静电势数据,由于 C₇ 位静电势远低于 C₄ 位静电势,因此 7-溴代物为主要生成物.夹角相近的 I₄、I₇、I₈ 三者的 C₄ 和 C₇ 位静电势数值越小其溴代物生成量越多,I₁、I₂、I₃ 的 7-溴代物和 4-溴代物生成量也符合上述规律.因此可以发现给电子基团更利于溴代物的生成,而保护基团的空间位阻可以有效地减少 4-溴代物的产生,进而使比值 Δ 增大,提高溴代反应的选择性. I₁、I₄、I₉ 三者中 I₉ 的 C₇ 静电势最低,因此其 7-溴代物生成量最多,但由于其 O—C₃—C₄ 夹角最小并且保护基团的体积大,对 4-溴代物生成有抑制作用,因此其比值 Δ 较大,反应选择性好.

综上所述,在胆固醇衍生物合成 7-溴代胆固醇

衍生物时,电子效应和空间位阻效应是重要的影响因素.具有较大空间位阻或给电子的苯甲酰基和叔丁基二甲基硅基为保护基时,3-羟基胆固醇衍生物的 7-溴代物生成量多且位置选择性好.醚类保护基的溴代反应的 7-溴代物生成量和位置选择性均较高,但其转化率较低,有必要对引发方式进行研究.

2.2 自由基引发方式对 3-羟基胆固醇衍生物溴代反应的影响

本文在研究胆固醇 3-羟基保护基构效关系的基础上,进一步对烯丙位溴代反应的引发方式进行了研究.分别以胆固醇乙酰酯(I₁)、胆固醇苯甲酰酯(I₄)、胆固醇叔丁基二甲基硅醚(I₉)为原料,研究引发剂是否加入、不同光照条件对溴代反应的影响.通过 HPLC 监测反应,采用逐渐升温的方式,确定了不同波长条件下引发溴代反应的最低温度.实验结果如表 3 所示.

表 3 不同引发方式溴代反应结果

Tab.3 Results of bromination reactions with different initiation methods

序号	原料	引发条件	反应时间/h	反应温度/°C	引发剂	7-溴代物生成物/%	4-溴代物生成物/%	比值 Δ	转化率/%
1	I ₁	热引发	1.0	67	无	33.48	10.97	3.05	96.35
2	I ₁	热引发	1.0	67	有	37.96	15.44	2.46	97.70
3	I ₁	LED (275 nm)	2.0	67	无	38.57	7.24	4.27	69.64
4	I ₁	LED (340 nm)	1.0	67	无	44.36	10.69	4.79	99.72
5	I ₁	LED (365 nm)	1.0	37	无	37.97	11.78	3.22	95.88
6	I ₄	热引发	1.0	67	无	48.17	14.32	3.36	94.73
7	I ₄	热引发	1.0	67	有	51.07	14.80	3.45	94.30
8	I ₄	LED (275 nm)	1.0	67	无	1.751	—	—	8.56
9	I ₄	LED (340 nm)	1.0	67	无	43.52	12.45	3.50	92.22
10	I ₄	LED (365 nm)	0.3	37	无	51.10	15.29	3.34	95.41
11	I ₉	热引发	1.0	67	无	50.11	14.47	3.46	90.82
12	I ₉	热引发	1.0	67	有	55.30	11.61	4.76	89.61
13	I ₉	LED (275 nm)	1.0	67	无	50.36	8.42	5.98	75.33
14	I ₉	LED (275 nm)	2.0	67	无	52.22	12.66	4.13	84.50
15	I ₉	LED (340 nm)	1.0	57	无	55.14	9.57	5.76	82.90
16	I ₉	LED (365 nm)	0.5	37	无	57.14	10.49	5.45	88.65
17	I ₉	LED (365 nm)	1.0	37	无	57.74	10.91	5.29	91.93
18	I ₉	LED (365 nm)	2.5	37	无	55.48	11.80	4.70	92.79

在热引发条件下,通过比较引发剂是否加入可以发现,不加入引发剂也可以引发溴代反应,但 I₁、I₄、I₉ 的 7-溴代物的生成量均明显减少,且 I₄、I₉ 溴代反应的比值 Δ 变小,即位置选择性变差.

在 275 nm 的 LED 光照条件下,在 67 °C 才能引发溴代反应,并且原料的转化率低.这是由于反应体系中的 2,4,6-三甲基吡啶在 270 nm 的吸收强度较大,275 nm 光照时能量可能被其大量吸收,导致无法引发 N-溴代琥珀酰亚胺产生自由基,使溴代反应难以进行.

在 340 nm 的 LED 光照条件下,不能在 37 °C 下

引发自由基溴代反应,在 57 °C 甚至 67 °C 才能引发.但是与热引发方式相比,I₁ 与 I₉ 在该引发方式下溴代反应的 7-溴代物生成量增加.由于 N-溴代琥珀酰亚胺在非极性溶剂体系中难溶,反应体系中溴自由基浓度较低,在 340 nm 光照条件不能顺利完成溴代反应.提高反应温度能够促进 N-溴代琥珀酰亚胺产生溴自由基,在光热的协同作用下使溴代反应顺利进行.

在 365 nm 的 LED 光照条件下,37 °C 就可以引发溴代反应,且反应后的 7-溴代物生成量和位置选择性与有引发剂的热引发结果相近甚至更好.在

365 nm 的 LED 光照下不仅可以减少引发剂的使用, 还能够降低反应温度、缩短反应时间, 在工业生产中能够减少能源消耗并且增加了安全性。

对于 I₁ 适宜的引发方式为 67 °C、340 nm 的 LED 光照, 比值 Δ 由 2.46 提升至 4.79, 提高了 94.72%。这可能是由于与 I₄、I₉ 相比, I₁ 分子保护基的空间位阻最小且给电子能力较差, 导致溴代反应选择性差, 因此引发条件的改变对其溴代反应选择性的提升幅度最大。I₄、I₉ 适宜的引发方式为 37 °C、365 nm 的 LED 光照条件。由于叔丁基二甲基硅基的空间位阻较大且有一定的给电子能力, 可以发现以 I₉ 为原料的 7-溴代物的生成量最高且位置选择性最好。在光引发条件下胆固醇 3-羟基保护基构效关系的影响顺序仍为 I₉ 优于 I₄、I₄ 优于 I₁。

综上所述, 在 37 °C、365 nm LED 光照条件下的溴代反应, 选用 I₉ 为原料时溴代反应结果最好。反应 1 h 即可使转化率达到 88.65%, 不仅减少了能源消耗还提高了反应的安全性。虽然延长反应时间可以使 I₉ 的转化率提升但会降低反应选择性, 未来可通过改变光照波长等方式进一步探究 I₉ 为原料进行溴代反应时最佳的反应条件。

3 结 语

本文以胆固醇为原料, 在 3 位羟基引入不同结构的保护基团, 对烯丙位溴代反应进行了研究。实验结果表明, 空间位阻大或具有给电性的保护基会减少 4-溴代物的生成, 提高反应的位置选择性, 其中苯甲酰基和叔丁基二甲基硅基是最佳的保护基。研究了不同的引发方式对烯丙位溴代反应的影响。在无引发剂的条件下, 采用热引发方式可以进行溴代反应, 但 7-溴代物生成量少、位置选择性差。光引发方式可以提高 7-溴代物的生成量和位置选择性, 还能在 37 °C 条件下进行反应, 反应的 7-溴代物生成量和位置选择性比热引发反应结果更好。采用光引发方式可以降低反应温度, 缩短反应时间, 减少能耗, 避免使用引发剂, 增加生产安全性。本研究工作对 7-去氢胆固醇的工业化生产具有参考意义。

参考文献:

- [1] 张建成. 维生素 D₃ 生产新工艺[J]. 精细与专用化学品, 2000(8): 23-24.
Zhang Jiancheng. New technology for VD₃[J]. Fine and Specialty Chemicals, 2000(8): 23-24 (in Chinese).
- [2] 夏小斌, 吴孔阳, 李湘萍, 等. 生物法合成 7-脱氢胆固醇研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(11): 339-342.
Xia Xiaobin, Wu Kongyang, Li Xiangping, et al. Research progress on biological synthesis of 7-dehydrocholesterol[J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(11): 339-342 (in Chinese).
- [3] 葛书旺. 维生素 D₃ 的光反应合成研究[D]. 南京: 东南大学化学化工学院, 2014.
Ge Shuwang. The Photochemical Reaction Synthesis of Vitamin D₃[D]. Nanjing: School of Chemistry and Chemical Engineering, Southeast University, 2014 (in Chinese).
- [4] 李荣杰, 尚海涛, 吴鹏举, 等. 一种制备 7-去氢胆固醇的方法: CN 102030794A [P]. 2011-04-27.
Li Rongjie, Shang Haitao, Wu Pengju, et al. Method for Preparing 7-Dehydrocholesterol: CN 102030794A [P]. 2011-04-27 (in Chinese).
- [5] 刘绍鹏, 姜 艳, 宋 凯, 等. 维生素 D₃ 及其羟基衍生物合成研究进展[J]. 山东化工, 2023, 52(7): 73-82.
Liu Shaopeng, Jiang Yan, Song Kai, et al. Progress in synthesis of vitamin D₃ and its hydroxyl derivatives[J]. Shandong Chemical Industry, 2023, 52(7): 73-82 (in Chinese).
- [6] 王子强, 姚园园, 王庆华, 等. 胆固醇制备 7-脱氢胆固醇的研究进展[J]. 浙江化工, 2017, 48(4): 8-12.
Wang Ziqiang, Yao Yuanyuan, Wang Qinghua, et al. The synthesis development of 7-dehydrocholesterols from cholesterol[J]. Zhejiang Chemical Industry, 2017, 48(4): 8-12 (in Chinese).
- [7] 查 娟, 高启楠, 张丹丹, 等. 7-脱氢胆固醇的合成工艺研究[J]. 绍兴文理学院学报(自然科学版), 2009, 29(10): 33-35.
Cha Juan, Gao Qinan, Zhang Dandan, et al. Study on the synthesis of 7-dehydrocholesterol[J]. Journal of Shaoxing University (Natural Science), 2009, 29(10): 33-35 (in Chinese).
- [8] Bernstein S, Sax K J. Preparation of 7-Dehydrocholesteryl Esters: US 2498390A [P]. 1950-02-21.
- [9] Pickholz S, Roberts E. Process for the Production of 7-Halogenosterols: US 2568025A [P]. 1951-09-18.
- [10] 高岩松, 戚兴凯, 孙春亮, 等. 一种用于生产维生素 D₃ 的 7-去氢胆固醇的制备方法: CN 112608360B [P]. 2022-04-19.
Gao Yansong, Qi Xingkai, Sun Chunliang, et al.

- Preparation Method of 7-Dehydrocholesterol for the Production of Vitamin D₃: CN 112608360B[P]. 2022-04-19(in Chinese).
- [11] Yablonskaya E V, Segal M G. Synthesis of 7-dehydrocholesterol acetate[J]. *Khimiya Prirodnikh Soedineii*, 1973(6): 739-741.
- [12] Bamford W R, Stevens T S. The decomposition of p-tolyl sulfonylhydrazones by alkali[J]. *Journal of the American Chemical Society(Resumed)*, 1952: 4735-4740.
- [13] 阿尔吐克·艾沙. 7-脱氢胆固醇的合成工艺改进[J]. *合成化学*, 2016, 24(9): 828-831.
Aisha Aertuke. Process improvement on the synthesis of 7-dehydrocholesterol[J]. *Chinese Journal of Synthetic Chemistry*, 2016, 24(9): 828-831(in Chinese).
- [14] 范桂香. 7-去氢胆甾乙酸酯的合成研究[J]. *化学工程与装备*, 2009(7): 28-35.
- Fan Guixiang. Study on synthesis of the 7-dehydrocholesteryl acetate[J]. *Chemical Engineering & Equipment*, 2009(7): 28-35(in Chinese).
- [15] Nishikawa O, Oshida J, Tsuruta H. An improved synthesis of 1 α -hydroxy-7-dehydrocholesterol derivatives[J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1984, 32(8): 3244-3247.
- [16] 成明, 裘亚, 刘红山, 等. 7-O-取代-8-甲基香豆素和 4H-色烯-4-酮化合物与 NBS/CCl₄ 试剂的溴化反应[J]. *有机化学*, 2010, 30(11): 1737-1741.
Cheng Ming, Qiu Ya, Liu Hongshan, et al. Bromination of 7-O-substituted-8-methyl-coumarins and 4H-chromen-4-ones with N-bromosuccinimide in CCl₄[J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2010, 30(11): 1737-1741(in Chinese).

(责任编辑: 田 军)