

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 특허공보(B1)(51) Int. Cl.⁵
C07J 9/00(45) 공고일자 1993년05월01일
(11) 공고번호 특1993-0003496

(21) 출원번호	특1986-0700401	(65) 공개번호	특1986-7000354
(22) 출원일자	1986년06월28일	(43) 공개일자	1986년10월06일
(86) 국제출원번호	PCT/US 85/001980	(87) 국제공개번호	WO 86/02648
(86) 국제출원일자	1985년10월15일	(87) 국제공개일자	1986년05월09일
(30) 우선권주장	667295 1984년11월01일 미국(US)		
(71) 출원인	위스콘신 알룸니 리서어치 파운데이션 원본미기재		
	미합중국 위스콘신주 53705 메디슨시 노스 월넛 스트리트 614		
(72) 발명자	헥토어 에프 데루카		
	미합중국 위스콘신주 53705 메디슨시 미노쿼 크레스트 5130		
	하인리히 카 슈닉스		
	미합중국 위스콘신주 53705 메디슨시 서밋 아바뉴 1806		
	석호 리		
	미합중국 매사추세츠주 02135 브라이튼시 고어든 스트리트 지이 3 107		
	메리 이이 펄프스		
	미합중국 위스콘신주 53589 스타우튼시 웨스트 프로스펙트 아바뉴 116		
(74) 대리인	차윤근, 차순영		

심사관 : 백남훈 (책자공보 제3244호)

(54) 1 α -히드록시비타민 D화합물의 제조방법

요약

내용 없음.

명세서

[발명의 명칭]

1 α -히드록시비타민 D화합물의 제조방법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 헬스 앤드 휴먼 서비스부에 의해 수여된 AM-14881이라는 NIH인가번호 하에서 정부의 지원을 받아 이루어진 것이다. 정부는 이 발명에 대한 일정 권리를 갖는다.

[기술분야]

본 발명은 1 α -히드록시비타민 D화합물을 제조하기 위한 신규의 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 1 α -히드록시비타민 D화합물과 그에 상응하는 5,6-트랜스-비타민 D이성체가 함유된 혼합물로부터 실질상 순수한 1 α -히드록시비타민 D화합물을 얻기 위한 신규 과정에 관한 것이다.

[배경기술]

1 α -히드록시비타민 D화합물들, 구체적으로 1 α ,5-디히드록시비타민 D₃와 1 α ,25-디히드록시비타민 D₂는 동물과 인간내에서 적합한 뼈 형성 및 칼슘 항상성의 중요 조정제로 알려져 있다.

그러므로 이들 화합물과 특정 구조 동족체들(예 : 1 α -히드록시비타민₃, 1 α -히드록시비타민 D₂ 및 관련 화합물들)은 인간 및 수의 약품내에서 중요한 많은 용도가 밝혀지거나 그러한 용도로 제안되어 왔다. 그러한 용도중에는 신성 골이영양증, 구루병, 골연화증, 골조송증, 동물 내유열(乳熱) 상태 등과 같은 칼슘 대사질환의 예방 및/또는 치료가 포함된다.

1 α -히드록시비타민 D화합물의 의학적인 유용성으로 인하여 그들을 제조하는 여러가지 방법이 개발되었다. 이들 공지 방법의 개요가 예컨대 Yakhoimovich[Russ. Chem. Rev. 49, 371(1960)]와 DeLuca 일행[Topics in Current Chem. Vol. 83, p.1-65(1979)] 및 DeLuca와 Schnoes [Ann. Rev. Biochem. 52, 411(1983)]에 의해서 제공되었다.

1 α -히드록시비타민 D화합물을 제조하는 이들 방법중의 몇몇에 의하면 5,6-시스와 트랜스 이성체들(즉, 1 α -히드록시비타민 D와 그에 상응하는 5,6-트랜스 이성체)의 혼합물이 생성된다. 몇몇 치료용

또는 다른 용도로 그와 같은 혼합물이 직접 사용될 수 있기는 하나, 특히 의약 조제용으로 바람직한 것은 일반적으로 5,6-시스 생성물이다.

그와 같은 시스-트랜스 혼합물을 산출시키는 모든 합성법은 어렵고 매우 힘들며 순수 생성물의 수율을 현저하게 감소시키는 이성체 분리작업을 필요로한다.

본 발명과 관련된 것으로서, 미합중국 특허 제4, 195, 027호와 제4, 260, 549호에 기재된 바와 같이 3,5-시클로비타민 D중간체를 통한 1α -히드록실화법이 있다. 이 방법에서는 비타민 D화합물의 C-3-히드록시기를 토실화시키고 그 토실레이트를 가용매 분해하여 3,5-시클로비타민 중간체를 얻는다. 그 다음에는, 이중간체를 1α -히드록시시클로비타민 화합물로 산화시키고 이것을 가용매 분해하여, 5,6-시스 및 5,6-트랜스- 1α -히드록시비타민 D화합물(보통은 3-아세테이트 유도체 형태로)의 혼합물을 얻는다. 제약용으로 쓰일 경우 5,6-시스 화합물이 원하는 생성물이라면, 가용매 분해로부터 생성된 시스/트랜스 혼합물을 분리시켜야 한다.

또한 본 발명과 관련된 것으로서 Salmond의 미합중국 특허 제4,206,131호에 나와 있는 1α -히드록시비타민 D화합물의 제조방법을 들 수 있다. 이 과정에서는 1α -히드록시-5,6-트랜스-비타민 D화합물을 중간체로서 생산한 후, 이것을 원하는 5,6-시스 비타민으로 이성체화시킨다. 공지의 이성체화 방법에 의하면 시스 및 트랜스 비타민 D화합물의 혼합물이 생성되기 때문에, 원하는 시스-생성물을 혼합물로부터 분리해내는 작업이 다시 요구된다. 마찬가지로, 5,6-트랜스-비타민 D화합물의 직접적인 1-히드록실화와 5,6-이중결합 이성체화 단계를 포함하는 미합중국 특허 제4, 202, 829호, 제4, 263, 215호, 제4, 265, 822호 및 제4,338, 250호에 제안된 1α -히드록실화 방법에 의하면, 순수한 시스 생성물이 필요한 경우 5,6-시스 화합물을 시스/트랜스 혼합물로부터 분리시키는 방법이 요구된다.

시스 이성체와 트랜스 이성체는 매우 유사한 크로마토그래피적 성질을 갖기 때문에, 유효컬럼을 사용하는 소규모의 그 같은 분리작업은 비록 가능하기는 하지만 특히 제조 규모상에 있어서 매우 어렵고 힘들며 가격이 많이 든다. 따라서, 시스 및 트랜스 이성체 분리시의 이 같은 난점은 전술한 방법들의 주된 단점이다.

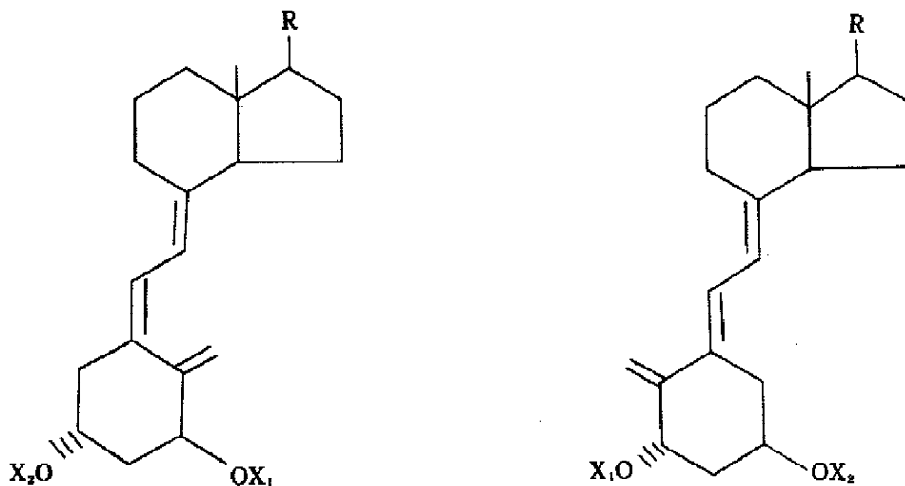
[발명의 개시]

이제, 원하는 5,6-시스-비타민 D이성체를 실질상 순수한 형태로 얻도록 5,6-트랜스- 1α -히드록시비타민 D화합물을 5,6-시스- 및 트랜스-이성체의 혼합물로부터 효과적으로 효율적으로 제거하도록 해주는 5,6-시스- 1α -히드록시비타민 D화합물의 신규 제조방법이 발견되었다. 구체적으로 말하면 이 신규방법은, 5,6-트랜스-비타민 D화합물의 딜스-알더 부가물을 선택적으로 생산하도록 선택된 반응 조건하에서, 5,6-시스- 및 트랜스- 1α -히드록시비타민 D화합물의 혼합물을 친디엔체로 처리하는 것으로 구성된다.

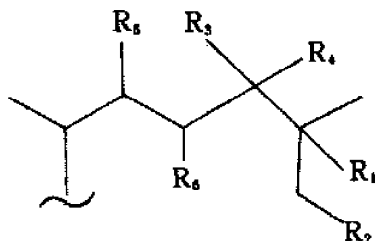
이제 5,6-트랜스-비타민 D화합물의 딜스-알더 부가물과 미반응 5,6-시스-비타민 D화합물의 혼합물은 크로마토그래피 또는 추출 단계에서 용이하게 분리된다.

따라서 친디엔체와 반응시키는 목적은 크로마토그래피적으로 매우 유사한 혼합물의 두성분인 5,6-시스 및 트랜스-비타민 D화합물을 화학적으로, 그리고 크로마토그래피적으로 매우 다른 두 성분들, 즉 트랜스-화합물의 부가물과 미반응 5,6-시스-비타민의 혼합물로 전환시키는 것인데, 이때 그 부가물은 혼합물로부터 용이하게 제거되어, 원하는 5,6-시스-비타민 D화합물이 실질상 순수한 형태로 수득될 있게 된다.

그의 혼합물이 앞서 요약한 과정에 의하여 분리될 수 있는 5,6-시스- 및 5,6-트랜스 비타민 D화합물들은 하기의 일반식을 갖는다 :



상기식들에서, X_1 과 X_2 는 각기 독립적으로 수소 또는 히드록시-보호기를 나타내고, R은 어떠한 스테로이드 측쇄일 수도 있고, 예컨대, R은 수소 또는 알킬 라디칼일 수 있고, 혹은 R이 다음과 같은 유형의 치환된 측쇄일 수 있다 :



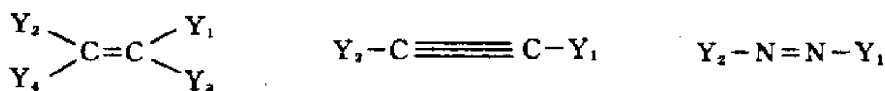
(이때, R_1 , R_2 및 R_3 는 수소, 히드록시, 할로겐 및 보호된 히드록시로 이루어진 군으로부터 각기 선택되고, R_4 는 수소, 할로겐 또는 알킬이며, R_5 와 R_6 는 각기 독립적으로 수소, 히드록시 및 보호된 히드록시로부터 선택되거나, 혹은 R_5 와 R_6 가함께 탄소-탄소 이중결합을 형성할 수 있다.)

본 명세서와 청구범위 내에서, 히드록시-보호기는 히드록시 관능기를 일시적으로 보호하기 위해 사용되는, 당분야에 공지되어 있는 어떤기라도 나타내는 것이며, 그예로서 아실기, 아킬실릴기, 또는 에테르기를 들 수 있다. 따라서, 보호된 히드록시는 이들 보호기중의 하나에 의해 유도된(즉, 아실화, 에테르화) 히드록시 관능기이다.

아실기는 모든 이성체 형태로 존재하는 C_1 - C_6 알카노일기, 예컨대 포르밀, 아세틸, 프로피오닐, 부틸릴, 피발로일 등이거나, 아르오일기, 예컨대 벤조일, 또는 알킬-, 할로- 또는 니트로-치환 벤조일기이다. 적합한 알킬실릴 히드록시-보호기로는, 예컨대 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, t-부틸디메틸실릴 및 유사한 알킬-치환 실릴-라디칼이 있다. 적합한 에테르 보호기는 메톡시메틸 또는 에톡시메틸기, 혹은 테트라히드로푸라닐 또는 테트라히드로피라닐기인데, 이들은 모두 당분야에 공지된 것들이다. "알킬"이라는 용어는, 그의 모든 이성체 형태로 존재하는 C_1 - C_6 탄화수소 라디칼, 예컨대 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸 등의 의미한다. "아릴"이라는 용어는 페닐기 또는 알킬-, 할로- 또는 니트로-치환 페닐기를 의미한다.

시스 및 트랜스 비타민 D화합물의 혼합물을 분리하는데 있어서의 주된 양상은, 그러한 혼합물을 반응성 친디엔체로 처리하는 것이다. 5,6-시스 및 트랜스 비타민 D화합물들이 모두 친디엔체와 반응할 수 있기는 하나, 5,6-트랜스 화합물이 보다 더 신속하게 반응을 겪게되고, 따라서 몇몇 조건하에서 시스 및 트랜스 화합물의 혼합물을 친디엔체로 처리하면 시스-화합물은 변하지 않은채 남아 있는 반면 트랜스-이성체의 딜스-알더 부가물이 거의 지배적으로 생성될 것이다.

상기한 용도로서 적합한 친디엔체는 각기 다음과 같은 일반구조를 갖는 올레핀 화합물, 아세틸렌 화합물 또는 디아젠 화합물이다.



기상기식들에서, Y_1 , Y_2 , Y_3 및 Y_4 는 수소, 알킬 및 전자 끄는기로 이루어진 군으로부터 각기 선택되며, 함께 취하여진 Y-치환체중의 두개가 카르보사이클릭 또는 헤테로사이클릭 고리를 형성할 수 있지만, 각 경우에 있어서 치환체 Y중 적어도 하나는 전자 끄는 기이다. 본 발명의 문맥내에서의 전자 끄는기관, 친디엔체를 디엔과의 방향을 향하여 활성화시키는 기이다. 그러한 활성화기는 당분야에 공지된 것이며 [예컨대, M.C.Kloetzel의 문헌(Organic Reactions, vol.5,p.2-4) ; H.L.Holmes의 문헌(Organic Reactions, vol.5,p.65)을 참조], 예로서, 캐토, 시아노, 니트로, 0-알킬, 0-아실, 할로겐, 아릴, 카르복시알데히드, 카르복실산, 알킬카르복실레이트, 카르복시아미드 또는 이미드, 또는 디카르복실산의 무수물형이 포함된다.

적합한 친디엔체의 예로써, 아크릴산 및 그의 알킬에스테르, 아크릴 아마이드 및 아크릴로니트릴 ; 아세틸렌산 및 에스테르, 예컨대 프로피올산 및 그의 알킬 에스테르 또는 아세틸렌 디카르복실산 및 그의 모노- 또는 디-알킬 에스테르 ; 말레인산 및 그의 유도체들, 예컨대 무수말레인산, 말레이미드, N-치환 말레이미드 및 말레인산 모노- 또는 디-알킬 에스테르 ; 퀴논, 예컨대 벤조퀴논 또는 나프토퀴논 ; 디아젠-친디엔체, 예컨대 N(4)-알킬- 또는 N4-아릴-치환 트리아졸린-3,5-디온, 디아조-p-벤조퀴논, 디아조-p-나프토퀴논, 또는 아조디카르복실산의 알킬 에스테르가 있다.

그들의 저렴한 가격 및 생성된 부가물이 가수분해/추출 작업(아래에 기재될 것임)에 의해 혼합물로부터 제거될 가능성 때문에, 더 큰 규모에서의 작업을 위하여는 말레인산 및 그의 유도체들(예 : 무수 말레인산)과 같은 친디엔체가 특히 유용하다. 그외의 바람직한 친디엔체로는 아세틸렌 디카르복실산 및 에스테르, 그리고 N(4)-알킬 또는 페닐치환 트리아졸린-3,5-디온이 있다. 디아조-p-벤조퀴논 또는 디아조나프토퀴논 친디엔체들도 본 발명의 목적을 위하여 사용될 수 있기는 하나, 그들의 극도로 높은 반응성은 시스 및 트랜스 비타민 D화합물들 간의 부가물 생성에 있어서의 식별을 성취시키기 위하여 극도로 낮은 온도에서 반응이 수행될 것을 요구하기 때문에, 그들은 더 적은 장점을 제공한다.

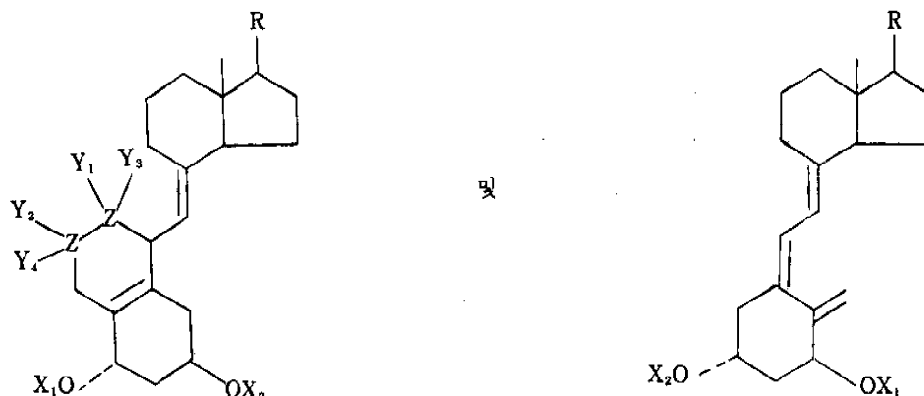
상기한 친디엔체들과 시스/트랜스 비타민 D 혼합물과의 반응은 친디엔체를 유기용매내의 비타민 혼합물에 첨가함으로써 수행된다. 그와 같은 혼합물내에서 5,6-시스 및 트랜스 비타민 D 화합물들은

서로에 대하여 어떠한 비율로도 존재할 수 있음을 주목해야 한다.

트랜스-비타민의 완전 반응을 보장하기 위해서, 존재하는 5,6-트랜스 화합물의 알려진양(또는 추정량)에 대하여 1.5 내지 5배 과량으로 친디엔체 시약을 첨가한다. 적합한 용매는 탄화수소, 염소화 탄화수소, 저분자량의 에테르 또는 저분자량의 산 또는 에스테르 용매이며 ; 구체적인 예로써 벤젠, 헥산, 톨루엔, 클로로벤젠, 에틸 에테르 또는 초산에틸이 포함된다. 앞서 지정한 바와같이, 친디엔체는 존재하는 5,6-트랜스화합물의 추정량에 비하여 약 1.5 내지 5배 과량으로 첨가하는 것이 유리하다. 이 반응은 약 -50℃에서 사용된 용매의 비등점에 이르기까지의 광범위한 온도범위에 걸쳐, 그리고 존재하는 모든 5,6-트랜스-화합물이 반응하기에 충분한 시간동안 수행될 수 있다. 선택된 구체적인 온도와 시간은 친디엔체의 반응성에 따라 좌우된다. 매우 반응성이 큰 친디엔체의 경우에는 지시된 범위중의 낮은 온도 범위가 적합하며 반응성이 더 작은 친디엔체의 경우에는 그 온도범위중 더 상부에 있는 온도 범위가 바람직하다. 반응에 요구되는 시간도 친디엔체의 반응성에 따라 좌우되며 분에서부터 시간에 이르기까지 다양하다.

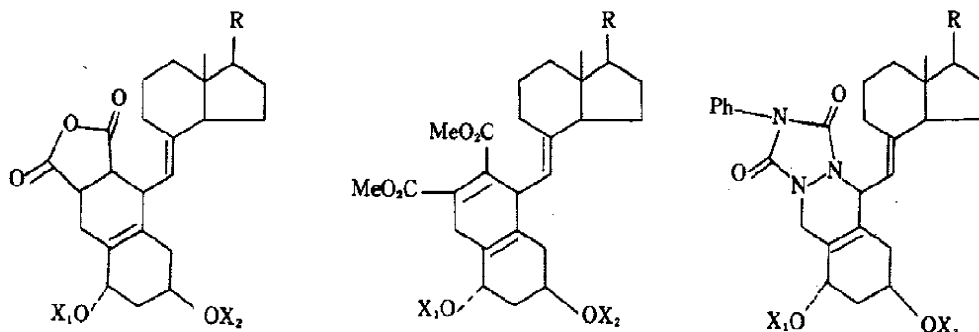
예를들어 시스/트랜스 비타민 D화합물과 반응성 친디엔체 4-페닐-트리아졸린-3,5-디온과의 반응의 경우 적합한 반응 조건은, ca, 2 내지 3배 과량의 시약을 사용하여 1-2시간동안 0-10℃의 온도에서 반응을 수행하는 것이다. 시스/트랜스 비타민 혼합물과 다소 반응성이 적은 시약인 무수말레인산과의 반응의 경우 적합한 조건은 4배 과량의 친디엔체를 사용하여 ca. 12-24시간동안 30-40℃의 온도에서 반응을 수행하는 것이다. 더 높은 온도, 예컨대 50-60℃에서는 1-2시간내에 반응이 완료되며, 약 80℃에서는 반응 시간이 10-20분이면 적합하다. 일반적으로, 주어진 어떠한 친디엔체의 경우에도, 적합한 반응조건(예 : 시간과 온도)은 시스/트랜스 비타민 D혼합물의 시험 샘플 소량을 친디엔체로 간단히 처리하고 반응 혼합물을 분석하여(예컨대 박막 또는 고성능 액체 크로마토그래피에 의하여)반응의 진행(즉, 트랜스-화합물과의 반응의 완료)를 점검함으로써 쉽게 결정될 수 있다. 명백히, 원하는 5,6-시스-비타민 D화합물이 친디엔체와 반응(부가물형성)함으로 인하여 5,6-시스-비타민 D화합물이 손실되는 것을 막기 위해서는 시스/트랜스 비타민 D혼합물과 친디엔체의 반응이 과도하게 지연되는 것을 피해야 할 것이다.

친디엔체로 처리한 후의 반응 혼합물은 하기 구조로 표현되는 5,6-트랜스 화합물의 딜스-알더 부가물과 미반응 5,6-시스 화합물로 구성된다 :



상기식들에서, R과 X₁과 X₂는 앞서 정의한 바와 같은 치환체들을 나타내며, Z는 반응에 사용된 친디엔체에 따라서 좌우되는, 단일 또는 이중결합에 의하여 결합될 수 있는 탄소 또는 질소를 나타내고, Y₁, Y₂, Y₃ 및 Y₄는 각각 앞서 정의한 바와 같은 의미를 갖지만, Z이 질소이거나 이중결합 탄소인 경우에는 당업자에게 자명한 바와 같이 Y₃와 Y₄가 부재할 것이다.

예를들어, 5,6-트랜스 화합물과 무수말레인산, 디메틸 아세틸렌 디카르복실레이트 및 4-페닐트리아졸린-3,5-디온과의 각각의 반응에 의하면, 각기 다음과 같은 구조를 갖는 부가물이 생성된다.



상기 구조들을 봄으로써 할 수 있는 바와 같이, 5,6-시스 이성체와 크로마토그래피적으로 매우 유사한 유리상태의 5,6-트랜스 화합물들과는 달리 트랜스 화합물의 딜스-알더 부가물들은 실질적으로 변화되었으며, 그에 따라 크로마토그래피상에서 유리상태의 5,6-시스화합물과는 매우 다르게 행동된다. 그러므로 그러한 부가물들은 예컨대 실리카겔 컬럼상에서의 크로마토그래피에 의하여 또는 조제용 고압액체에 크로마토그래피에 의하여 유리상태의 5,6-시스-화합물로부터 용이하게 분리될 수 있다. 특히 대규모 제조를 위해서는 간단한 용매 추출에 의하여 부가물을 유리 5,6-시스 비타민

화합물로부터 분리하는 것이 한층 더 유리하다.

상기 딜스-알더 반응에 사용된 친디엔체가 카르복실레이트로 쉽게 비누화될 수 있는 에스테르 또는 무수물과 같은 관능기 또는 산성 관능기(예 : 페놀 또는 산 관능기)를 함유할 때면 언제든지 이러한 것이 가능하다. 이제 5,6-트랜스-비타민-부가물은 묽은 염기를 사용하는 유기상 추출에 의하여 5,6-시스-비타민으로부터 제거될 수 있다. 예를들어, 시스/트랜스 비타민 D화합물을 무수말레인산으로 처리하면 유리 5,6-시스-비타민 D화합물과, 5,6-트랜스 화합물의 무수말레인산 부가물로 되어 있는 혼합물이 생성된다. 이같은 반응생성물 혼합물을 수성 알칼리 금속 수산화물(예 : NaOH 또는 KOH)로 처리함으로써 무수물 부가물을 상응하는 디카르복실레이트로 비누화시킬 수 있다. 생성된 수용성을 부가물-디카르복실레이트 유도체는, 염기성 용액을 비혼화성 유기 용매에 대하여 간단히 분배시키고 상들을 분리시킴으로써 유기-용해성 5,6-시스-1 α -히드록시비타민 D화합물로 부터 쉽게 분리된다. 유기상속에 보유되어 있는 소량의 1 α -히드록시-5,6-시스-비타민 생성물은 용매를 증발시킴으로써 분리되며, 필요에 따라서는 통상적인 방법으로, 즉 크로마토그래피 및/또는 결정화에 의해 더 정제된다. 그와는 달리, 혼합물을 표준 방식에 의해 이온교환수지로 처리하여(또는 이온교환수지에 통과시켜)원치않는 5,6-트랜스-비타민 D 부가물 카르복실레이트를 유리 1 α -히드록시비타민 D화합물로부터 제거함으로써 유리 1 α -히드록시비타민 D화합물을 회수하고, 필요에 따라서는 더 정제할 수 있다.

1 α -히드록시비타민 D화합물을 제조하는 상기 방법은 혼합물의 합성 기원에 개의치 않고서 어떠한 5,6-시스- 및 트랜스-이성체 혼합물이라도 유용하게 적용될 수 있다. 본 신규 방법은 5,6-시스- 및 트랜스-이성체 혼합물을 직접 분리(예 : 크로마토그래피에 의하여)하는 것이 각별히 어려운 경우에 특히 유용한 것이다. 예컨대 앞서 도식된 5,6-시스 및 트랜스 화합물들의 구조내에 있는 치환체 X_1 과 X_2 가 서로 같거나 매우 유사한 경우(예 : X_1 과 X_2 가 모두 수소이거나 모두 아실인 경우)에는 언제든지 이 같은 말이 사실이다. 또한, 대규모(예컨대 상업적 규모)로 수행된 모든 제조 작업에 이같은 신규 방법이 유리하게 적용될 수 있음이 명백하다. 또한 필요에 따라서는, 친디엔체를 사용하는 전술한 분리과정이, 동일한 제조작업에 반복하여 적용될 수 있다는 것도 명백하다. 예컨대 본 발명의 방법에 의하여 수득된 1 α -히드록시비타민 D생성물속에 원치않는 5,6-트랜스-이성체가 잔류량 함유되어 있다면(예컨대, 반응시간이 불충분했을 경우에 생길 수 있는 일임), 그같은 원치않는 잔류물질을 제거하기 위하여 상기 과정에 따라서 이 생성물을 같거나 다른 친디엔체로 다시금 간단히 처리해 줄 수 있다.

[실시예 1]

초산에틸(25ml)내에 용해되어 있는 5,6-시스- 및 5,6-트랜스-1 α -히드록시비타민 D₃의 혼합물(1g)(약 20-25%의 트랜스 화합물이 함유된 것)을 재결정화된 무수말레인산으로(존재하는 5,6-트랜스-비타민 화합물에 비하여 4배 물 과량으로)처리하고 질소하에서 24시간동안 35℃로 가온시켰다. 진공하에서 용매를 제거하고 10% 수성 NaOH(25ml)를 첨가하여 5,6-트랜스 화합물의 무수물 부가물을 가수분해시켰다. 15분후에 혼합물을 에테르로 추출하고 에테르 추출물들을 10% NaOH, 물, 그리고 염수로 세척한 후 MgSO₄ 상에서 건조시켰다. 진공속에서 용매를 제거하고, 생성된 잔사를 실리카겔 컬럼(2×30cm)에 적용시킨 후 생성물을 초산에틸/헥산 혼합물들로 용리시켰다(처음에는 초산에틸이 10% 함유된 500ml, 그 다음에는 헥산내 초산에틸이 30%인 500ml과 50%인 500ml). 원하는 1 α -히드록시비타민 D₃가 함유된 분획물들을 모으고 용매를 증발시킨 후, 생성된 기름의 일부분을 포름산에틸로 부터 결정화시켰다. 동일한 용매로 부터 두번 재결정화시킴으로써, 융점이 135-37° 인 결정성 1 α -히드록시비타민 D₃가 수득되었다.

[실시예 2]

1 α -히드록시비타민 D₃ 3-아세테이트와 1 α -히드록시-5,6-트랜스-비타민 D₃ 3-아세테이트의 혼합물(0.75g)(트랜스 이성체가 약 30% 함유된 것)을 초산에틸 25ml내에 용해시키고 과잉량의 무수말레인산으로(존재하는 5,6-트랜스 이성체의 추정량에 비하여 ca. 4배 물 과량으로)처리하였다. 35℃에서 24시간이 지난후 용매를 진공내에서 제거하고 10% 수성 수산화나트륨(25ml)을 첨가한 후 혼합물을 10-20분간 교반시킴으로써, 5,6-트랜스-화합물의 무수물 부가물을 비누화시켰다.(또한 이러한 비누화에 의하면 아세틸기가 제거된다.) 이 혼합물을 분별 깔때기에 옮긴후 에테르로 반복하여 추출시키고, 결합된 에테르 추출물들을 10% 수성 NaOH, 물 그리고 NaCl 포화용액으로 세척한 다음 건조시켰다(MgSO₄ 상에서). 용매를 증발시켜 원하는 1 α -히드록시비타민 D₃ 생성물을 얻고, 이것을 실리카겔 컬럼상에서의 크로마토그래피(용리액 : 초산에틸/헥산 혼합물)에 의해 정제시킨 다음 조제용 TLC(50% 초산에틸/헥산)에 의해 정제시킴으로써, 1 α -히드록시비타민 D₃ 290mg이 생성되었다.

[실시예 3]

초산에틸 10ml내에 있는 5,6-시스 및 트랜스 1 α -히드록시비타민 D₃의 혼합물(840mg)(트랜스 화합물이 ca. 20-25% 함유된 것)을 N₂ 하에 55℃에서 90분간 무수말레인산 820mg으로 처리하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 수성 NaOH로 처리(20분, 실온)한 다음, 혼합물을 에테르로 반복하여 추출시키고; 유기상을 H₂O와 NaCl 포화용액으로 세척한 후 MgSO₄ 상에서 건조시키고 여과한 다음 용매를 증발시켰다. 잔사(원하는 1 α -히드록시비타민 D₃ 화합물로 이루어진것)를 3×27Florisiil 컬럼상에서 크로마토그래피시켰다. 헥산내 15% 초산에틸 300ml을 통과시킨 후에, 생성물(1 α -히드록시비타민 D₃)을 헥산내 25% 초산에틸로 용리시켰다. 용매를 증발시킴으로써 무색의 기름 440mg이 얻어졌으며, 이를 포름산에틸로 부터 결정화시킴으로써 결정성 1 α -히드록시비타민 D₃생성물이 얻어졌다.

[실시예 4]

1 α -히드록시비타민 D₃ 3-아세테이트와 1 α -히드록시-5,6-트란스-비타민 D₃ 3-아세테이트의 ca. 1 : 1혼합물을 헥산내에 용해시키고 1.5배 물 과량(존재하는 트란스-화합물에 비하여)의 4-페닐트리아졸린-3,5-디온(초산에틸내의 1mg/ml용액)으로 처리하였다. 생성된 혼합물을 0-10℃에서 65분간 반응시켰다. 이소프렌을 첨가함으로써 과잉량의 시약을 없애버리고, 혼합물을 직접 크로마토그래피시켜 순수한 형태의 1 α -히드록시비타민 D₃를 얻었다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

1 α -히드록시비타민 D화합물과 그에 상응하는 1 α -히드록시-5,6-트란스-비타민 D이성체가 함유된 혼합물을 친디엔체로 처리함으로써, 1 α -히드록시-5,6-트란스-비타민 D이성체의 친디엔체-부가물과 미반응 1 α -히드록시비타민 D화합물이 함유된 혼합물을 얻고, 상기 혼합물을 분리시키는 것으로 구성되는 1 α -히드록시비타민 D화합물의 제조방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 친디엔체가 말레인산, 말레인산 모노알킬에스테르, 말레인산 디알킬 에스테르 및 무수말레인산으로 이루어진 군으로 부터 선택되는 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 사용된 친디엔체가 아세틸렌 디카르복실산 또는 그의 알킬-또는 디알킬 에스테르인 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 친디엔체가 4-알킬-또는 4-아릴-트리아졸린-3,5-디온 화합물인 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 원하는 1 α -히드록시비타민 D화합물이 크로마토그래피에 의하여 5,6-트란스 이성체의 부가물로 부터 분리되는 방법.

청구항 6

제 2 항 또는 제 3 항에 있어서, 혼합물을 알칼리금속 수산화물로 처리하고 수성 및 유기용매 매체 사이에 분배시켜 1 α -히드록시비타민 D화합물이 유기용매로 부터 회수될 수 있도록 함으로써, 원하는 1 α -히드록시비타민 D화합물이 5,6-트란스-비타민 D이성체의 부가물로 부터 분리되는 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 시스/트란스 비타민 D혼합물속에 1 α -히드록시비타민 D₃ 와 1 α -히드록시-5,6-트란스-비타민 D₃가 함유되어 있는 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 시스/트란스 비타민 D혼합물속에 1 α -히드록시비타민 D₂ 와 1 α -히드록시-5,6-트란스-비타민 D₂가 함유되어 있는 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서, 시스/트란스 비타민 D혼합물속에 1 α , 25-디히드록시비타민 D₃ 와 1 α , 25-디히드록시-5,6-트란스-비타민 D₃가 함유되어 있는 방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 시스/트란스 비타민 D혼합물속에 1 α , 25-디히드록시비타민 D₂ 와 1 α , 25-디히드록시-5,6-트란스-비타민 D₂가 함유되어 있는 방법.