

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109456378 B

(45) 授权公告日 2020.11.06

(21) 申请号 201811550168.4

审查员 王欢

(22) 申请日 2018.12.18

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109456378 A

(43) 申请公布日 2019.03.12

(73) 专利权人 湖南科瑞生物制药股份有限公司

地址 422900 湖南省邵阳市新邵县酿溪镇
大坪经济开发区财兴路

(72) 发明人 吴来喜 胡爱国 甘红星

(74) 专利代理机构 长沙欧诺专利代理事务所
(普通合伙) 43234

代理人 欧颖

(51) Int.Cl.

C07J 1/00 (2006.01)

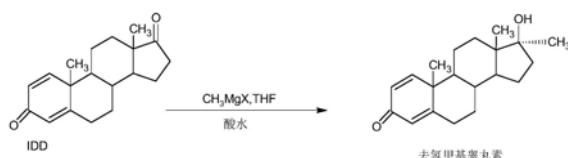
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54) 发明名称

一种制备去氢甲基睾丸素产品的方法

(57) 摘要

本发明提供一种制备去氢甲基睾丸素产品的方法，所述方法包括先采用大豆油生产过程中的脱臭馏出物经包含结晶分离的步骤得到植物甾醇，再采用营养培养基和一种或多种微生物菌种使得植物甾醇经微生物发酵后制备得到1,4-雄二烯二酮即IDD，再以所述IDD为原料，在甲基卤化镁、有机溶剂和酸存在下，制备得到所述去氢甲基睾丸素，然后精制得去氢甲基睾丸素产品。本发明以IDD为原料制备去氢甲基睾丸素，相对以薯蓣皂素作原料的传统方法，原料来源广泛，工艺经济环保，生产成本大幅下降。本发明方法与传统生产方法相比，合成路线短，工艺简便环保，产品收率高，质量好，以目前原材料价格计算，生产原料成本降低40-45%。



1.一种制备去氢甲基睾丸素产品的方法,其特征在于,所述方法包括先采用大豆油生产过程中的脱臭馏出物经包含结晶分离的步骤得到植物甾醇,再采用营养培养基和一种或多种微生物菌种使得植物甾醇经微生物发酵后制备得到1,4-雄二烯二酮即IDD,再以所述IDD为原料,在甲基卤化镁、有机溶剂和酸存在下,在17位引入 α -CH₃和 β -OH,制备得到所述去氢甲基睾丸素,然后将得到的去氢甲基睾丸素在丙酮或C4以下低碳醇中以活性炭加热回流脱色并重结晶,得去氢甲基睾丸素产品;

其中,格氏试剂甲基卤化镁的制备步骤和由IDD制备去氢甲基睾丸素的步骤为:

加入35g镁粉、800ml四氢呋喃,搅拌,保温于30~35℃通入98g氯甲烷,通完后,继续搅拌反应4~6小时,直至镁粉基本消失,得格氏试剂甲基氯化镁备用;加入100gIDD,500mlTHF,搅拌升温至50~55℃,慢慢滴加800ml上述格氏试剂甲基氯化镁溶液,1~1.5小时滴完,再继续保温搅拌反应2~3小时,TLC检测反应终点,反应完后,慢慢滴加2N盐酸至pH2~3,滴完后于50~55℃继续水解反应2~3小时;

或者是加入35g镁粉、800ml四氢呋喃,搅拌,保温于40~45℃通入120g溴甲烷,通完后,继续搅拌反应2~3小时,直至镁粉基本消失,得格氏试剂甲基溴化镁备用;加入100gIDD,500ml甲苯,搅拌升温至50~55℃,慢慢滴加800ml上述格氏试剂甲基溴化镁溶液,1~1.5小时滴完,再继续保温搅拌反应2~3小时,TLC检测反应终点,反应完后,慢慢滴加2N盐酸至pH2~3,滴完后于50~55℃继续水解反应2~3小时;

或者是加入35g镁粉、800ml乙醚,搅拌,保温于30~35℃滴加150g碘甲烷,通完后,继续搅拌反应4~6小时,直至镁粉基本消失,得格氏试剂甲基碘化镁备用;加入100gIDD,500ml苯,搅拌升温至50~55℃,慢慢滴加800ml上述格氏试剂甲基碘化镁溶液,约1~1.5小时滴完,再继续保温搅拌反应2~3小时,TLC检测反应终点,反应完后,慢慢滴加2N盐酸至pH2~3,滴完后于50~55℃继续水解反应2~3小时。

2.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,反应过程中包括先向有机溶剂和IDD中添加甲基卤化镁发生格氏加成反应,再添加酸将格氏加成反应得到的格氏物水解,然后减压回收有机溶剂和加水进行水析后得到所述去氢甲基睾丸素。

3.根据权利要求1所述方法,其特征在于,所述营养培养基中包含葡萄糖、玉米浆、无机盐、酵母膏、牛肉膏和蛋白胨中的一种或多种。

4.根据权利要求1所述方法,其特征在于,所述微生物菌种为包括分枝杆菌属、镰孢属和解淀粉芽孢杆菌中的一种或多种。

一种制备去氢甲基睾丸素产品的方法

技术领域

[0001] 本发明属于甾体激素药物的制备工艺技术,具体涉及到一种制备蛋白同化激素药物去氢甲基睾丸素产品的方法。

背景技术

[0002] 去氢甲基睾丸素是一种蛋白同化激素药物,兼具雄激素作用,临幊上主要用于烧伤、创伤及术后治疗,儿童营养不良的治疗等,也用于治疗再生障碍性贫血、慢性消耗性疾病旳恢复期及长期或大量应用肾上腺皮质激素的病人等,市场具大。

[0003] 去氢甲基睾丸素的传统生产方法,是从薯蓣植物中提取薯蓣皂素,经保护、氧化、裂解、消除,获得的关键中间体醋酸妊娠双烯醇酮(简称双烯)为原料,经肟化、贝克曼重排、酸水解等3步反应制得醋酸去氢表雄酮,然后由去氢表雄酮再经格氏反应、碱水解、奥氏氧化、DDQ 1位脱氢等4步反应制得去氢甲基睾丸素,其合成路线见附图1。其中薯蓣皂素的提取、氧化裂解、贝克曼重排、酸、碱水解、DDQ脱氢反应等工艺,产生废水较多,不易处理,易污染环境;生产中采用的奥氏氧化工艺,需用水蒸汽蒸馏,水耗、能耗大。更重要的是,随着野生薯蓣植物资源日益枯竭,而人工种植薯蓣植物,也因人工、化肥等种植成本的日益上升,导致皂素、双烯的生产成本成倍增长,致使去氢甲基睾丸素的生产成本与市场价格大幅增长,业已对全球去氢甲基睾丸素药物市场产生了重大影响。

[0004] 根据产品去氢甲基睾丸素的结构特点,具体说来,去氢甲基睾丸素的制备有三个关键点,第一点是将原料中第17位的酮基转化为 α -CH₃和 β -OH;第二点是在第4位上引入双键;第三点是在第1位上引入双键。最传统的生产去氢甲基睾丸素的方法是使用双键在5位上的醋酸去氢表雄酮为原料,先在17位上引入 α -CH₃和 β -OH,再在3位引入酮基的同时在4位引入双键,最后在1位上引入双键得到去氢甲基睾丸素,即如本发明图1所示方案。在本申请人的在先发明CN201710754305中公开了另一种去氢甲基睾丸素的制备方案,具体是使用17位上已经引入 α -CH₃和 β -OH的美雄诺龙为原料,先在1位和4位形成双溴美雄诺龙,再在1位和4位形成双键得到去氢甲基睾丸素。

[0005] 但本领域仍然需要更为优异的去氢甲基睾丸素的制备方法。

发明内容

[0006] 而本发明的方案却是直接使用1位和4位已经形成双键的IDD为原料,在17位上去掉酮基而引入 α -CH₃和 β -OH,一步得到去氢甲基睾丸素。

[0007] 因此,本发明提供一种制备去氢甲基睾丸素产品的方法,所述方法包括先采用大豆油生产过程中的脱臭馏出物经包含结晶分离的步骤得到植物甾醇,再采用营养培养基和一种或多种微生物菌种使得植物甾醇经微生物发酵后制备得到1,4-雄二烯二酮即IDD,再以所述IDD为原料,在甲基卤化镁、有机溶剂和酸存在下,在17位引入 α -CH₃和 β -OH,制备得到所述去氢甲基睾丸素,然后将得到的去氢甲基睾丸素在丙酮或C4以下低碳醇中以活性炭加热回流脱色并重结晶,得去氢甲基睾丸素产品。

[0008] 在一种具体的实施方式中，所述甲基卤化镁为甲基氯化镁、甲基溴化镁或甲基碘化镁。

[0009] 在一种具体的实施方式中，所述有机溶剂为甲苯、苯、氯仿、四氢呋喃和二氧六环中的一种或几种，优选四氢呋喃。

[0010] 在一种具体的实施方式中，所述酸为有机酸或无机酸，且优选为醋酸、对甲苯磺酸、盐酸和硫酸中的一种，更优选盐酸。

[0011] 在一种具体的实施方式中，反应温度为30~100℃，且反应过程中包括先向有机溶剂和IDD中添加甲基卤化镁发生格氏加成反应，再添加酸将格氏加成反应得到的格氏物水解，然后减压回收有机溶剂和加水进行水析后得到所述去氢甲基睾丸素。

[0012] 在一种具体的实施方式中，所述营养培养基中包含葡萄糖、玉米浆、无机盐、酵母膏、牛肉膏和蛋白胨中的一种或多种。

[0013] 在一种具体的实施方式中，所述微生物菌种为包括分枝杆菌属、镰孢属和解淀粉芽孢杆菌中的一种或多种。

[0014] 本发明中将IDD溶入有机溶剂中，与甲基卤化镁试剂的溶液发生格氏加成反应一步合成去氢甲基睾丸素；

[0015] 进一步地，其合成的具体操作如下：

[0016] A:格氏试剂的制备

[0017] 将镁粉、有机溶剂加入至反应器中，搅拌，控温至25~55度，慢慢通入甲基卤代烷，反应4~6小时，直至镁粉完全消失，得格氏试剂备用；

[0018] B:去氢甲基睾丸素的制备

[0019] 将起始原料IDD溶解于有机溶剂中，搅拌，控温至30~100度，慢慢滴加上述备好的格氏试剂，约1~1.5小时滴完，再保温于30~100℃反应2~3小时，TLC(薄层色谱分析)确认反应终点，反应完后，再慢慢滴加酸，水解2~3小时，水解完后，分水，水洗，有机层减压浓缩回收有机溶剂，自来水水析，然后以酒精水溶液结晶，得去氢甲基睾丸素粗品，HPLC含量98.0%以上，重量收率90~95%。

[0020] C:去氢甲基睾丸素的精制

[0021] 将去氢甲基睾丸素粗品溶解于有机溶剂中，加入活性炭，回流脱色1~1.5小时，趁热过滤，用相当于粗品重量1倍体积的溶剂洗炭，滤饼送厂家回收，滤液和洗液合并，减压浓缩溶剂至有晶体析出，然后冷却至-5~0度析晶3~4小时，过滤，洗涤，烘干，得去氢甲基睾丸素产品，熔点165~168℃，HPLC含量99.0~99.5%，母液回收套用，本步重量总收率90~95%，合成总收率84~88%。

[0022] 上述格氏试剂合成中所述有机溶剂，可以是二氯甲烷、甲苯、乙醚、THF等中的一种或几种；合成中所用的甲基卤代烷可以是氯甲烷、溴甲烷或碘甲烷；上述格氏试剂合成反应温度20~50℃；反应物间的重量配比是：镁：卤代烷=1g:2.5~4.0g；反应物与溶剂间的配比是：镁：有机溶剂=1g:2~12ml。

[0023] 上述去氢甲基睾丸素合成中格氏反应的有机溶剂，可以是甲苯、苯、氯仿、四氢呋喃、二氧六环等中的一种或几种；水解所用的酸可以是有机酸如醋酸、对甲苯磺酸等，也可选无机酸如盐酸、硫酸等；格氏反应与水解反应的反应温度为30~100℃；反应物间的重量配比是：IDD:格氏试剂溶液=1g:5~15ml；反应物与溶剂间的配比是：IDD:反应有机溶剂=

1g:2~10ml。

[0024] 上述去氢甲基睾丸素精制所用有机溶剂,可以是甲苯、丙酮、C4以下低碳醇如甲醇、乙醇、异丙醇、叔丁醇等中的一种或几种;精制控制温度40~100℃;各物料间的重量配比是:粗品:活性炭=1g:0.03~0.10g;粗品与溶剂间的配比是,粗品:有机溶剂=1g:3~10ml。

[0025] 特别地,本发明所述的最优选工艺说明如下:

[0026] 上述格氏试剂合成中所述有机溶剂,优选THF,安全环保,方便回收;合成中所用的甲基卤代烷,优选氯甲烷,经济环保;上述格氏试剂合成反应温度优选20~30℃;反应物间的重量配比优选:镁:氯甲烷=1:2.8;反应物与溶剂间的配比优选:镁:THF=1g:6ml。

[0027] 上述去氢甲基睾丸素合成中格氏反应的有机溶剂,优选THF,后处理方便。水解所用的酸优选盐酸,物美价廉;格氏反应与水解反应的反应温度优选50~55℃;反应物间的重量配比优选:IDD:格氏试剂溶液=1g:8ml;反应物与溶剂间的配比优选:IDD:反应有机溶剂=1g:5ml。

[0028] 上述去氢甲基睾丸素精制所用有机溶剂,优选酒精,精制效果好,安全环保,方便回收;精制温度优选酒精回流温度;各物料间的重量配比优选:粗品:活性炭=1g:0.05g;粗品与溶剂间的配比优选,粗品:有机溶剂=1g:5ml。

[0029] 本发明的有益效果包括:

[0030] 1、本发明以IDD为原料制备去氢甲基睾丸素,相对以薯蓣皂素作原料的传统方法,原料来源广泛,工艺经济环保,生产成本大幅下降。本发明方法与传统生产方法相比,合成路线短,工艺简便环保,产品收率高,质量好,以目前原材料价格计算,生产原料成本降低40~45%;工艺中使用的溶剂,可回收循环套用,既经济,又环保,十分利于工业化生产。

[0031] 2、本发明得到的去氢甲基睾丸素产品,熔点165~168℃,HPLC含量99.0~99.5%,合成总收率84~88%。

附图说明

[0032] 图1为传统的生产去氢甲基睾丸素合成路线图。

[0033] 图2为本发明中生产去氢甲基睾酮合成路线图。

具体实施方式

[0034] 为了更详细地说明本发明的要点与精神,下面举几个实施例予以说明。

[0035] 在如下实施例中,所述方法均包括先采用大豆油生产过程中的脱臭馏出物经包含结晶分离的步骤得到植物甾醇,具体例如以现有技术CN200680047150.1、CN200710014171.X或CN101074258B中所述的方法从大豆油生产过程中的脱臭馏出物制备得到植物甾醇。然后采用现有技术中如CN1250709C所述的方法微生物发酵使得植物甾醇转化为1,4-雄二烯二酮即IDD。以及随后还包括如下步骤。

[0036] 实施例1

[0037] A、格氏试剂的制备

[0038] 在一个1000ml三口瓶中,加入35g镁粉、800ml四氢呋喃,搅拌,保温于30~35℃通入98g氯甲烷,通完后,继续搅拌反应4~6小时,直至镁粉基本消失,得格氏试剂备用;

[0039] B、去氢甲基睾丸素的制备

[0040] 在一个1000ml三口瓶中,加入100g IDD,500ml THF,搅拌升温至50~55℃,慢慢滴加上述备好的约800ml格氏试剂溶液,约1-1.5小时滴完,再继续保温搅拌反应2~3小时,TLC检测反应终点,反应完后,慢慢滴加2N盐酸至PH2-3,滴完后于50~55℃继续水解反应2-3小时,TLC检测水解完全,反应完后,减压浓缩出约90-95% THF,回收的THF处理套用。再在上述残液中加入600ml自来水,并将体系降温至5~10℃,搅拌析晶2~3小时,过滤,滤饼用自来水洗涤至中性,70℃以下烘干,得去氢甲基睾丸素粗品94.6g,HPLC含量98.2%,重量收率94.6%。

[0041] C、去氢甲基睾丸素的精制

[0042] 在一个1000ml三口瓶中,加入100g上述B步制备的去氢甲基睾丸素粗品,500ml酒精,于30-35℃下搅拌使其完全溶解,然后加入5g活性炭,将其加热回流1.5-2小时,然后降温至55-60度,趁热过滤,滤饼用约100ml酒精泡洗,滤饼送厂家回收,滤液与洗液合并后常压浓缩至回收约88-90% 酒精,再将体系降温至-5~0℃,搅拌析晶3~4小时,过滤,滤液回收溶剂与母液料套用,滤饼用少量50%的乙醇水溶液洗涤,70℃以下烘干,得去氢甲基睾丸素产品92.5g,熔点165~168℃,HPLC含量99.5%,重量收率92.5%。

[0043] 实施例2

[0044] A、格氏试剂的制备

[0045] 在一个1000ml三口瓶中,加入35g镁粉、800ml四氢呋喃,搅拌,保温于40-45℃通入120g溴甲烷,通完后,继续搅拌反应2~3小时,直至镁粉基本消失,得格氏试剂备用;

[0046] B、去氢甲基睾丸素的制备

[0047] 在一个1000ml三口瓶中,加入100g IDD,500ml甲苯,搅拌升温至50~55℃,慢慢滴加上述备好的约800ml格氏试剂溶液,约1-1.5小时滴完,再继续保温搅拌反应2~3小时,TLC检测反应终点,反应完后,慢慢滴加2N盐酸至PH2-3,滴完后于50~55℃继续水解反应2-3小时,TLC检测水解完全,反应完后,减压浓缩出约90-95% THF和甲苯的混和物,回收的THF和甲苯的混和物处理套用。再在上述残液中加入600ml自来水,并将体系降温至5~10℃,搅拌析晶2~3小时,过滤,滤饼用自来水洗涤至中性,70℃以下烘干,得去氢甲基睾丸素粗品93.8g,HPLC含量98.5%,重量收率93.8%。

[0048] C、去氢甲基睾丸素的精制

[0049] 在一个1000ml三口瓶中,加入100g上述B步制备的去氢甲基睾丸素粗品,500ml异丙醇,于30-35℃下搅拌使其完全溶解,然后加入5g活性炭,将其加热回流1.5-2小时,然后降温至55-60度,趁热过滤,滤饼用约100ml异丙醇泡洗,滤饼送厂家回收,滤液与洗液合并后常压浓缩至回收约88-90% 异丙醇,再将体系降温至-5~0℃,搅拌析晶3~4小时,过滤,滤液回收溶剂与母液料套用,滤饼用少量50%的异丙醇水溶液洗涤,70℃以下烘干,得去氢甲基睾丸素产品93.8g,熔点165.5~167.5℃,HPLC含量99.3%,重量收率94.6%。

[0050] 实施例3

[0051] A、格氏试剂的制备

[0052] 在一个1000ml三口瓶中,加入35g镁粉、800ml乙醚,搅拌,保温于30-35℃滴加150g碘甲烷,通完后,继续搅拌反应4~6小时,直至镁粉基本消失,得格氏试剂备用;

[0053] B、去氢甲基睾丸素的制备

[0054] 在一个1000ml三口瓶中,加入100g IDD,500ml苯,搅拌升温至50~55℃,慢慢滴加上述备好的约800ml格氏试剂溶液,约1-1.5小时滴完,再继续保温搅拌反应2~3小时,TLC检测反应终点,反应完后,慢慢滴加2N盐酸至PH2-3,滴完后于50~55℃继续水解反应2-3小时,TLC检测水解完全,反应完后,减压浓缩出约90-95%乙醚和苯的混和物,回收的乙醚和苯的混和物处理套用。再在上述残液中加入600ml自来水,并将体系降温至5~10℃,搅拌析晶2~3小时,过滤,滤饼用自来水洗涤至中性,70℃以下烘干,得去氢甲基睾丸素粗品91.2g,HPLC含量98.7%,重量收率91.2%。

[0055] C、去氢甲基睾丸素的精制

[0056] 在一个1000ml三口瓶中,加入100g上述B步制备的去氢甲基睾丸素粗品,500ml丙酮,于30-35℃下搅拌使其完全溶解,然后加入5g活性炭,将其加热回流1.5-2小时,然后降温至55-60度,趁热过滤,滤饼用约100ml丙酮泡洗,滤饼送厂家回收,滤液与洗液合并后常压浓缩至回收约88-90%丙酮,再将体系降温至-5~0℃,搅拌析晶3~4小时,过滤,滤液回收溶剂与母液料套用,滤饼用少量50%的丙酮水溶液洗涤,70℃以下烘干,得去氢甲基睾丸素产品90.8g,熔点165~168℃,HPLC含量99.7%,重量收率90.8%。

[0057] 本发明提供的方法合成路线短,工艺操作简便,生产经济环保。克服了上述传统生产工艺中合成原料贵、合成路线长、工艺操作复杂、环保处理难、生产成本高等诸多不足。

[0058] 以上内容是结合具体的优选实施方式对本发明作的进一步详细说明,不能认定本发明的具体实施只局限于这些说明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干简单推演和替换,都应当视为属于本发明的保护范围。

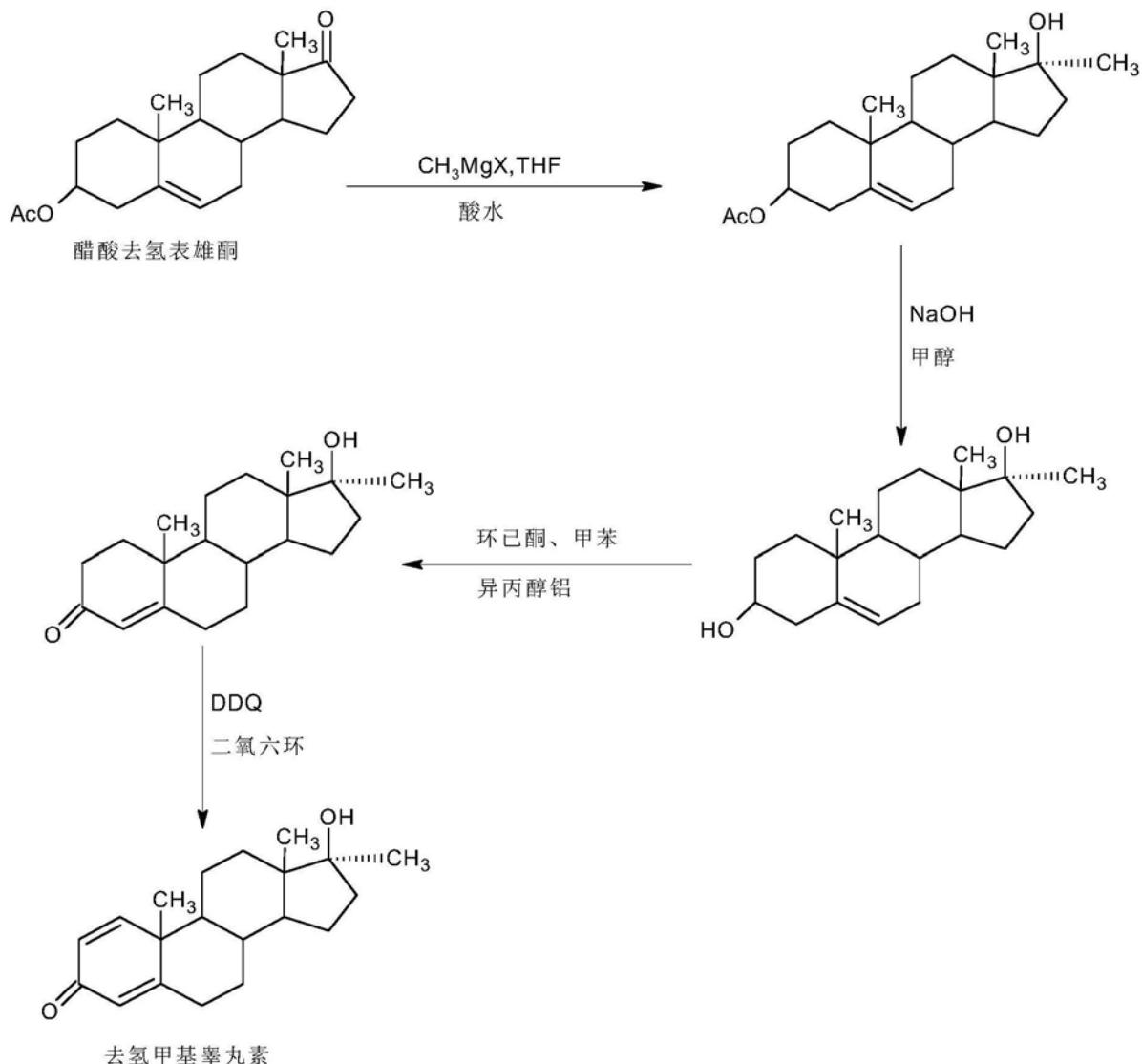


图1

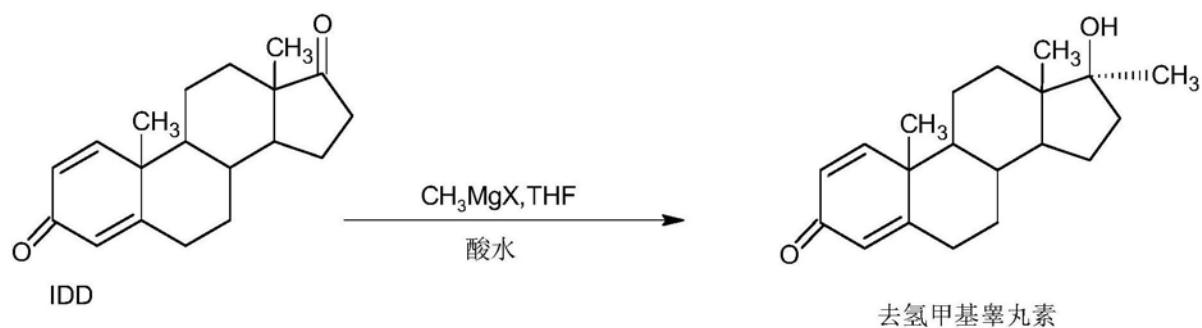


图2