

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **034739**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.03.16

(51) Int. Cl. **C07J 9/00** (2006.01)

(21) Номер заявки
201790879

(22) Дата подачи заявки
2015.11.19

(54) 6-АЛЬФА-АЛКИЛ-3,7-ДИОНОВЫЕ СТЕРОИДЫ В КАЧЕСТВЕ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СТЕРОИДНЫХ МОДУЛЯТОРОВ FXR

(31) 1420593.4; 1420594.2; 1505676.5
(32) 2014.11.19; 2014.11.19; 2015.04.01

(33) GB

(43) 2017.11.30

(86) PCT/GB2015/053518

(87) WO 2016/079519 2016.05.26

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭнЗедПи ЮКей ЛИМИТЕД (GB)

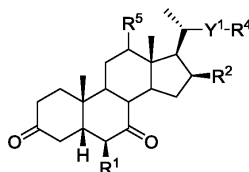
(72) Изобретатель:
**Уэймаут-Уилсон Александер, Комста
Зофия, Бойдэлл Джеймс, Уоллис
Лаура, Батчелор Риз, Оттер Карл,
Дэвис Юань (GB)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В. (RU)**

(56) WO-A2-2006122977
US-A1-2014148428
WO-A1-2010059859

UEKAWA T. ET AL.: "Short-step Synthesis of Chenodiol from Stigmasterol", BIOSCIENCE BIOTECHNOLOGY BIOCHEMISTRY, JAPAN SOCIETY FOR BIOSCIENCE, BIOTECHNOLOGY, AND AGROCHEMISTRY, TOKYO, JAPAN, vol. 68, no. 6, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 1332-1337, XP003016017, ISSN: 0916-8451, DOI: 10.1271/BBB.68.1332, cited in the application, page 1333, schemes 2 and 3

(57) Изобретение относится к соединениям формулы (I)



(I),

где R¹, R², Y¹, R⁴ и R⁵ такие, как определено в описании изобретения. Эти соединения представляют собой промежуточные соединения в синтезе синтетических желчных кислот.

B1

034739

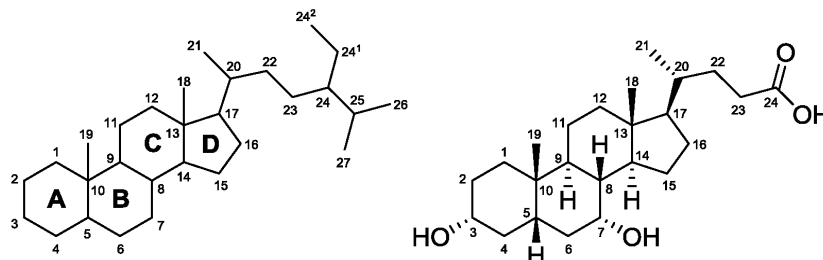
034739

B1

Изобретение относится к соединениям, которые представляют собой промежуточные соединения в синтезе производных желчных кислот с фармакологической активностью. В частности, изобретение относится к промежуточным соединениям в синтезе обетихоловой кислоты и ее аналогов. Кроме того, изобретение относится к способу синтеза этих промежуточных соединений и к способу получения обетихоловой кислоты и аналогов обетихоловой кислоты из соединений по изобретению.

Желчные кислоты представляют собой стероидные кислоты, которые обнаруживаются в желчи млекопитающих и включают такие соединения, как холевая кислота, хенодезоксихолевая кислота, литохолевая кислота и дезоксихолевая кислота, все из которых обнаружены у людей. Многие желчные кислоты представляют собой природные лиганды фарнезоидного X рецептора (FXR), который экспрессируется в печени и кишечнике млекопитающих, включая людей.

Желчные кислоты представляют собой стероидные производные и нумеруются аналогичным образом. Ниже показана общая система нумерации для стероидов и нумерация атомов углерода в хенодезоксихолевой кислоте



Общая нумерация стероидов

Нумерация CDCA

Было обнаружено, что агонисты FXR являются полезными в лечении холестатических расстройств печени, включая первичный билиарный цирроз и неалкогольный стеатогепатит (см. обзор в Jonker et al., in *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2012, 130, 147-158).

Урсодезоксихолевую кислоту (UDCA), желчную кислоту, первоначально выделенную из желчного пузыря медведей, в настоящее время используют в лечении холестатических расстройств печени, хотя она, по-видимому, является неактивной в отношении FXR.

В дополнение к их действию в отношении FXR желчные кислоты и их производные также представляют собой модуляторы связанного с G-белком рецептора TGR5. Он является членом суперсемейства связанных с G-белком родопсиноподобных рецепторов и играет важную роль в сигнальной сети желчных кислот, которая дополняет роль FXR.

В силу значимости агонистов FXR и TGR5 в лечении холестатических расстройств печени были предприняты попытки создать новые соединения, которые обладают агонистической активностью в отношении этих рецепторов. Единственное особенно активное соединение представляет собой обетихоловую кислоту, которая является активным агонистом как FXR, так и TGR5. Обетихоловая кислота описана в WO 02/072598 и EP 1568706, в которых раскрыт способ получения обетихоловой кислоты из 7-кетолитохолевой кислоты, которую получают из холевой кислоты. Дополнительные способы для получения обетихоловой кислоты и ее производных описаны в WO 2006/122977, US 2009/0062256 и WO 2013/192097, и все эти способы также начинаются с 7-кетолитохолевой кислоты.

Из ряда патентных публикаций, направленных на способы получения обетихоловой кислоты, очевидно, что далеко не просто синтезировать это соединение и, действительно, способ, который применяется в настоящее время, начинается с холевой кислоты и имеет 12 стадий с общим выходом всего 5-10%.

В дополнение к неэффективности и высокой стоимости этого способа существуют также проблемы со стоимостью и доступностью исходных веществ. Холевая кислота, обычное исходное вещество для получения обетихоловой кислоты, представляет собой природную желчную кислоту, которую обычно получают от забоя коров и других животных. Это означает, что доступность холевой кислоты и других желчных кислот ограничивается количеством крупного рогатого скота, доступного для забоя и, кроме того, цена желчных кислот чрезвычайно высока. Так как частота возникновения холестатического заболевания печени по всему миру возрастает, спрос на синтетические желчные кислоты, такие как обетихоловая кислота, также может повышаться и сомнительно, чтобы предложение полученных натуральным способом желчных кислот продолжало оставаться достаточным для удовлетворения спроса.

Кроме того, использование исходного вещества животного происхождения означает, что существует вероятность загрязнения этого вещества инфекционными агентами, такими как вирусы, которые могут быть опасными не только для работников, но, теоретически, могут заражать конечные продукты, если не предпринимаются меры для предотвращения этого.

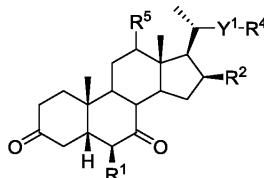
Хотя некоторых пациентов с холестатическим заболеванием печени можно лечить урсодезоксихолевой кислотой, она также представляет собой природную желчную кислоту, для которой имеют место те же проблемы ограниченной доступности и высокой стоимости.

Надеясь таким образом решить проблемы, ассоциированные с использованием желчных кислот в

качестве исходных веществ, авторами настоящего изобретения был разработан способ синтеза синтетических производных желчных кислот, таких как обетихолевая кислота, в котором в качестве исходных веществ используют растительные стеролы.

Растительные стеролы широко доступны при значительно более низкой стоимости, чем желчные кислоты и, действительно, часто представляют собой побочные продукты других процессов. Авторы изобретения разработали способ получения синтетических желчных кислот, исходя из бис-норхолонола (также известного как 20-гидроксиметилпрегн-4-ен-3-он), который осуществляется через новые промежуточные соединения.

Таким образом, в изобретении предложено соединение общей формулы (I)



(I),

где R^1 представляет собой этил;

R^2 представляет собой H;

Y^1 представляет собой алиленовую линкерную группу, имеющую от 1 до 8 атомов углерода; и

R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, $OC(O)R^{10}$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, OR^{10} , $OSi(R^{13})_3$ или OSO_2R^{10} ;

где каждый из R^{10} и R^{11} независимо представляет собой:

а) водород или

б) C_{1-10} алкил или бензил; или

в) фенил, возможно замещенный C_{1-6} галогеналкилом; каждый R^{13} независимо представляет собой C_{1-10} алкил или фенил;

R^5 представляет собой H; или его соль.

Соединения общей формулы (I) являются промежуточными соединениями в синтезе фармацевтически активных соединений, таких как обетихолевая кислота и ее производные.

В данном описании изобретения, за исключением случая, когда по контексту требуется иное из-за конкретных формулировок или необходимо подразумеваемого положения, слово "содержит" или его варианты, такие как "содержат" или "содержащий", используют в широком смысле, а именно для указания на присутствия указанных признаков, но не для исключения присутствия или добавления дополнительных признаков в различных воплощениях изобретения.

Все публикации, включая, без ограничения ими, патенты и заявки на патенты, цитированные в этом описании изобретения, включены посредством ссылки, как если бы каждая отдельная публикация была указана конкретно и индивидуально как подлежащая включению посредством ссылки в данное описание во всей своей полноте.

В данной заявке термин " C_{1-10} "алкил относится к прямой или разветвленной полностью насыщенной углеводородной группе, имеющей от 1 до 10 атомов углерода. Термин охватывает метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил и трет-бутил. Другие алкильные группы, например C_{1-6} алкил или C_{1-3} алкил, являются такими, как определено выше, но содержат другие количества атомов углерода.

Термин " C_{1-6} галогеналкил" относится к прямой или разветвленной алкильной группе, как определено выше, имеющей от 1 до 6 атомов углерода и замещенной одним или более атомами галогена, вплоть до пергалогенозамещения. Примеры включают трифторметил, хлорэтил и 1,1-дифторэтил.

Термин "алкилен" относится к прямой или разветвленной полностью насыщенной углеводородной цепи. Примеры алкиленовых групп включают $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $CH(CH_3)-CH_2-$, $CH_2CH(CH_3)-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_2CH_3)-$ и $-CH_2CH(CH_2CH_3)CH_2-$.

Термин "галоген" относится к фтору, хлору, бромю или йоду, а термин "галогено" относится к группам фторо, хлоро, бромо или йодо.

Термин "изотопный вариант" относится к изотопно-меченым соединениям, которые идентичны соединениям, описанным в формуле (I), за исключением того, что один или более атомов заменены атомом, имеющим атомную массу или массовое число, отличное от атомной массы или массового числа, наиболее часто встречающегося в природе, или в которых доля атома, имеющего атомную массу или массовое число, реже встречающегося в природе, была увеличена (последняя концепция называется "изотопным обогащением"). Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фтора, йода и хлора, такие как 2H (дейтерий), 3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{123}I или ^{125}I (например, 3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{123}I или ^{125}I), которые могут представлять собой природные или неприродные изотопы.

Термин "защищенный OH" относится к группе OH, защищенной любой подходящей защитной группой. Например, защищенный OH может представлять собой группу R^4 , как определено выше.

Подходящие защитные группы включают сложные эфиры, такие как группа $OC(O)R^{14}$, где R^{14}

представляет собой группу R^{10} , как определено выше. Силиловые простые эфиры также являются подходящими, и в этом случае R^2 и/или R^5 могут независимо представлять собой группу $OSi(R^{16})_3$, где каждый R^{16} независимо представляет собой группу R^{13} , как определено выше.

Другие подходящие защитные группы для OH хорошо известны специалисту в данной области техники (см. Wuts P.G.M. and Greene T.W. (2006) "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA).

Ссылки на защитную группу, которая является стабильной в основных условиях, означают, что защитная группа не может быть удалена путем обработки основанием.

Подходящие соли соединений общей формулы (I) включают соли присоединения основания, такие как соли натрия, калия, кальция, алюминия, цинка, магния и других металлов, а также холина, диэтанол-амина, этаноламина, этилдиамин, меглюмина и другие хорошо известные соли присоединения основания, как кратко изложено в Paulekuhn et al., J. Med. Chem. 2007, 50, 6665-6672, и/или известно специалисту в данной области техники.

В некоторых подходящих соединениях общей формулы (I)

Y^1 представляет собой алкиленовую линкерную группу, имеющую от 1 до 6 атомов углерода; и

R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, $C(O)NR^{10}R^{11}$ или OSO_2R^{10} ;

где каждый R^{10} представляет собой водород, или C_{1-6} алкил, или бензил, и R^{11} представляет собой водород, или C_{1-6} алкил, или бензил; или их соль.

В соединениях общей формулы R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, $OC(O)R^{10}$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, OR^{10} , $OSi(R^{13})_3$ или OSO_2R^{10} .

Подходящим образом R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$ или OR^{10} .

Более приемлемо R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$.

В некоторых подходящих соединениях общей формулы (I) независимо или в любой комбинации

Y^1 представляет собой алкиленовую группу, имеющую от 1 до 3 атомов углерода;

R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, где R^{10} такой, как определено выше, но более приемлемо представляет собой H, C_{1-6} алкил или бензил.

В некоторых более подходящих соединениях независимо или в любой комбинации

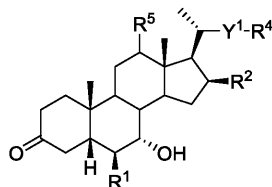
Y представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2CH_2-$; и/или

R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, где R^{10} представляет собой H, C_{1-6} алкил или бензил.

Особенно подходящее соединение по настоящему изобретению представляет собой

(6 α ,5 β)-3,7-диоксо-6-этил-холан-24-овую кислоту и ее C_{1-6} алкиловый и бензиловый эфиры и соли, особенно метиловый и этиловый эфиры.

Соединения общей формулы (I) могут быть получены путем окисления соединения общей формулы (II)



(II),

где Y^1 , R^1 , R^2 , R^4 и R^5 такие, как определено для общей формулы (I), с использованием окисления периодинамом Десс-Мартина (1,1,1-триацетокси-1,1-дигидро-1,2-бензиодоксол); или гипохлорита в кислых условиях; или

реакции Джонса с использованием дихромата натрия или триоксида хрома в разбавленной серной кислоте.

Реакция окисления может быть осуществлена с использованием любого подходящего способа. Один подходящий способ представляет собой окисление периодина (1,1,1-триацетокси-1,1-дигидро-1,2-бензиодоксол) Десс-Мартина, которое можно выполнять в хлорированном растворителе, таком как хлороформ или дихлорметан, при температуре примерно от 15 до 25°C, приемлемо при комнатной температуре.

Альтернативный способ окисления представляет собой окисление с использованием гипохлорита, например гипохлорита натрия, в кислых условиях, например обеспечиваемых уксусной кислотой. Взаимодействие может быть осуществлено в водном растворителе и при температуре от 0 до 15°C, обычно при примерно от 0 до 10°C.

Другие способы окисления включают реакцию Джонса с использованием дихромата натрия или, чаще, триоксида хрома в разбавленной серной кислоте. Этот способ известен как надежный для чистого превращения гидроксильных групп желчных кислот в соответствующее кето-производное (Bortolini et al., J. Org. Chem., 2002, (57, 5802). Альтернативно окисление можно выполнять, используя TEMPO ((2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-ил)окси) или его производное.

Способ является особенно подходящим для получения соединений общей формулы (I), в которых

R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, из соединений общей формулы (II), где R^4 также представляет собой $C(O)OR^{10}$, где R^{10} такой, как определено выше, но особенно представляет собой H, C_{1-6} алкил или бензил.

Способ получения соединения формулы (I) из соединения формулы (II) является новым и составляет часть изобретения.

Альтернативно соединения формулы (I) могут быть получены из других соединений общей формулы (I). Например, соединение общей формулы (I), в котором R представляет собой $C(O)OR^{10}$, может быть превращено в соединение общей формулы (I), в котором R^4 представляет собой $C(O)NR^{10}R^{11}$, $S(O)R^{10}$, SO_2R^{10} , OSO_2R^{10} , SO_3R^{10} или OSO_3R^{10} .

Соединения общей формулы (I), в которых R^4 представляет собой SO_3R^{10} , могут быть синтезированы из соединений общей формулы (I), в которых R^4 представляет собой $C(O)OH$, посредством способов, раскрытых в WO 2008/002573, WO 2010/014836 и WO 2014/066819.

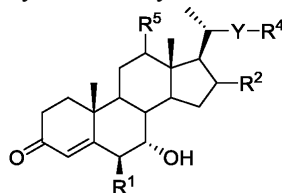
Таким образом, соединение формулы (I), в котором R^4 представляет собой $C(O)OH$, может быть подвергнуто взаимодействию с C_{1-6} алканоил- или бензоилхлоридом или с ангидридом C_{1-6} алкановой кислоты для защиты групп OH. Защищенное соединение затем может быть подвергнуто взаимодействию с восстановителем, таким как гидрид, например алюмогидрид лития или боргидрид натрия, с целью восстановления карбоксильной группы до OH. Спиртовая группа может быть заменена галогеном, например бромом или йодом, посредством способа с использованием системы трифенилфосфин/имидазол/галоген, описанной в Classon et al., J. Org. Chem., 1988, 53, 6126-6130. Галогенированное соединение может затем быть подвергнуто взаимодействию с сульфитом натрия в спиртовом растворителе с получением соединения с заместителем $SO_3^- Na^+$.

Соединение общей формулы (I), в котором R^4 представляет собой OSO_3R^{10} , может быть получено путем взаимодействия спирта, полученного в результате восстановления защищенной карбоновой кислоты, как описано выше, с хлорсерной кислотой в присутствии основания, такого как триэтиламин, с образованием защищенной соли триэтиламмония. Защитные группы могут быть удалены с использованием основного гидролиза, как описано выше. Восстановление карбоновой кислоты с последующим взаимодействием полученного спирта с хлорсернистой кислотой дает соединение общей формулы (I), в котором R^4 представляет собой OSO_2R^{10} .

Соединения общей формулы (I), в которых R^4 представляет собой $C(O)NR^{10}R^{11}$, могут быть получены из карбоновой кислоты путем взаимодействия с амином формулы $H-NR^{10}R^{11}$ в подходящем растворителе при нагревании. Соединения общей формулы (I), в которых R^4 представляет собой $C(O)NR^{10}R^{11}$ или OSO_3R^{10} , также могут быть получены способами, подобными способам, описанным в Festa et al., J. Med. Chem., 2014, 57, 8477-8495.

Соединения общей формулы (I) с другими группами R^4 могут быть получены из указанных выше соединений общей формулы (I) посредством способов, которые известны специалисту в данной области техники. Эти способы также образуют аспект изобретения.

Соединения общей формулы (II) могут быть получены из соединений общей формулы (III)



(III),

где R^1 , R^2 , R^4 и R^5 такие, как определено для общей формулы (I); и

Y представляет собой алкиленовую, алкениленовую или алкиниленовую линкерную группу, имеющую от 1 до 8 атомов углерода;

путем восстановления.

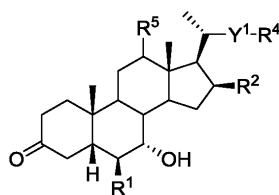
Подходящим образом в соединениях общей формулы (III) Y представляет собой алкиленовую или алкениленовую линкерную группу, имеющую от 1 до 8 атомов углерода.

В некоторых подходящих соединениях общей формулы (III) Y представляет собой незамещенную алкиленовую или алкениленовую линкерную группу, имеющую от 1 до 8 атомов углерода.

Конкретные примеры групп Y включают связь, $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH=CH-$ или $-CH=C(CH_3)-$.

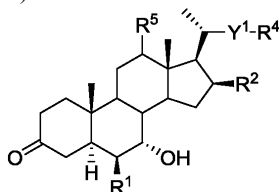
Восстановление может представлять собой гидрирование, обычно каталитическое гидрирование. Подходящие катализаторы для каталитического гидрирования включают палладий/углерод, палладий/карбонат кальция, палладий/оксид алюминия, платина/палладий или никелевый катализатор Ренея. Взаимодействие может быть осуществлено в органическом растворителе, который может представлять собой спиртовой растворитель, такой как метанол, этанол или изопропанол; этилацетат; пиридин; уксусную кислоту; циклопентил-метилловый эфир (CPME) или N,N-диметилформамид (DMF). Органический растворитель возможно может быть смешан с соразстворителем, таким как ацетон или вода, и/или также может быть добавлено основание, такое как триэтиламин.

Выбор катализатора и растворителя влияет на соотношение требуемого продукта общей формулы (II)



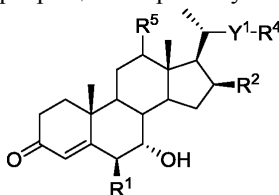
(II)

и его изомера общей формулы (XXX)



(XXX).

Он также сказывается на степени превращения промежуточного соединения формулы (XXXI)



(XXXI)

в продукт.

Более приемлемо, используют катализатор палладий/уголь или палладий/карбонат кальция. Обычно палладий присутствует в катализаторе в количестве 5-10 мас.% по отношению к массе матрицы (где матрица представляет собой уголь, карбонат кальция и так далее).

Растворители, которые дают наилучшие соотношения (II):(XXX), включают метанол, этанол и DMF, особенно метанол и DMF.

Когда в качестве растворителя используют метанол, его можно использовать сам по себе или в присутствии основания, такого как триэтиламин. Приемлемо, когда количество используемого триэтиламина представляет собой субстехиометрическое количество, обычно от 0,1 до 0,5 эквивалентов по отношению к количеству исходного вещества общей формулы (III).

Метанол в присутствии триэтиламина дает особенно высокое соотношение требуемого продукта общей формулы (II) к изомеру общей формулы (XXX).

Взаимодействия, проводимые с метанолом в качестве растворителя, можно выполнять при температуре примерно от -30 до 25°C, и температура имеет незначительное влияние на соотношение (II):(XXX).

Когда в качестве растворителя используют DMF, то его можно смешивать с соразтворителем, таким как ацетон, ТВМЕ, THF (тетрагидрофуран), ацетонитрил или смесь ацетон/вода. Возможно растворитель содержит основание, такое как триэтиламин, в субстехиометрическом количестве, обычно от 0,1 до 0,5 эквивалентов по отношению к количеству исходного вещества общей формулы (III).

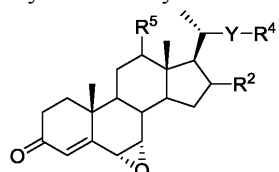
Взаимодействия, проводимые с использованием в качестве растворителя DMF, по всей видимости, более чувствительны к температуре, чем взаимодействия, выполненные в метаноле, и соотношение (II):(XXX) снижается с увеличением температуры. Подходящим образом по этой причине взаимодействия проводят при температуре от -30 до 0°C, более приемлемо от -20 до -10°C.

Было обнаружено, что давление водорода имеет незначительное влияние на селективность и поэтому давление водорода приемлемым образом равно примерно 1 атмосфере.

Подобным образом, разбавление, по-видимому, не имеет значительного влияния на селективность, и поэтому растворитель можно использовать в любом подходящем количестве.

Гидрирование соединения формулы (III) также будет снижать любые алкеновые связи, если они имеются, в линкере Y.

Соединения общей формулы (III) могут быть получены из соединений общей формулы (IV)



(IV),

где R^2 , R^4 и R^5 такие, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

путем селективного алкилирования с помощью металлоорганического реагента.

Подходящие металлоорганические реагенты включают реагенты Гилмана, образованные путем взаимодействия алкиллитиевого соединения формулы (XXIV)



где R^1 такой, как определено для общей формулы (I); и соли меди (I), особенно галогенида меди (I), такого как йодид меди (I).

Взаимодействие можно проводить в органическом растворителе, таком как тетрагидрофуран, другие простые эфиры, такие как диэтиловый эфир, или их смесь.

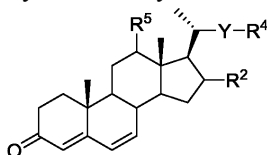
Альтернативно добавление можно выполнять, используя реагенты Гриньяра R^1MgX , где R^1 такой, как определено для общей формулы (I), и X представляет собой галогенид, например этилмагния бромид, и взаимодействие приемлемым образом проводят в присутствии соли цинка (II), такой как хлорид цинка, и каталитического количества соли или комплекса меди (I) или меди (II), например хлорида меди (I), хлорида меди (II), или комплекса ацетилацетонат меди (I) или меди (II) (асас).

Взаимодействие можно выполнять в органическом растворителе, например в простом эфире, таком как THF, 2-метил-THF, метил-трет-бутиловый эфир (tBME), диэтиловый эфир. Неожиданно оказалось, что температура реакции не является особенно важной, и хотя в некоторых случаях взаимодействие может быть выполнено при пониженной температуре, например при примерно от -25 до 0°C , оно также успешно было проведено при более высоких температурах вплоть до примерно 55°C .

Способ получения соединения формулы (II) из соединения формулы (III) является новым и сам составляет часть изобретения.

Способ является особенно подходящим для получения соединений общей формулы (III), в которых R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, из соединений общей формулы (IV), где R^4 также представляет собой $C(O)OR^{10}$, где R^{10} такой, как определено выше, но представляет собой главным образом H, C_{1-6} алкил или бензил.

Соединения общей формулы (IV) могут быть получены из соединений формулы (V)



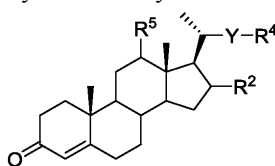
(V),

где R^2 , R^4 и R^5 такие, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

путем окисления, например, с использованием монопероксифталата (ММРР) или 3-хлорпероксибензойной кислоты, (mCPBA).

Взаимодействие с использованием ММРР можно осуществлять в органическом растворителе, таком как этилацетат, и, если используют mCPBA, взаимодействие можно проводить в растворителе, таком как дихлорметан или толуол. Приемлемым образом взаимодействие проводят при температуре флегмообразования растворителя или немного ниже ее.

Соединения общей формулы (V) могут быть получены из соединений общей формулы (VI)



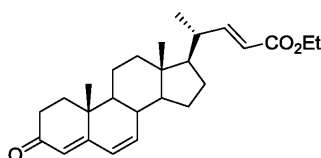
(VI),

где R^2 , R^4 и R^5 такие, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

путем взаимодействия с окислителем, таким как хлоранил.

Взаимодействие можно выполнять в кислой среде, например в присутствии уксусной кислоты, и в органическом растворителе, таком как толуол.

Некоторые соединения общих формул (IV), (V) и (VI) являются известными и, например, в Uekawa et al. в Biosci. Biotechnol. Biochem., 2004, 68, 1332-1337 описывается синтез этилового эфира (22E)-3-оксо-4,22-холладиен-24-овой кислоты из стигмастерола с последующим превращением его в этиловый эфир (22E)-3-оксо-4,6,22-холатриен-24-овой кислоты, который имеет формулу

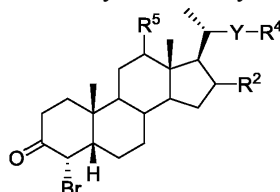


Затем Uekawa et al. переходят к описанию превращения этого соединения в этиловый эфир (6 α ,7 α ,22E)-3,7-эпокси-3-оксо-4,22-халадиен-24-овой кислоты, соединение общей формулы (IV), в котором R² и R⁵ представляют собой H, Y представляет собой -CH=CH-, и R⁴ представляет собой C(O)OCH₂CH₃.

Другие соединения общих формул (IV), (V) и (VI) могут быть получены посредством аналогичных способов из фитостеролов, подобных стигмастеролу.

Стигмастерол и другие фитостеролы представляют собой растительные стеролы и легко доступны или могут быть получены посредством известных путей.

Соединения общей формулы (VI) также могут быть получены из соединений общей формулы (VIIa)

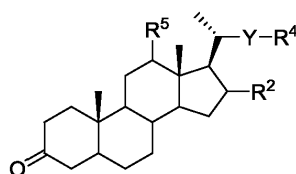


(VIIa),

где R², R⁴ и R⁵ такие, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

путем взаимодействия с бромидом лития и основанием, таким как карбонат лития. Взаимодействие можно осуществлять в растворителе, таком как N,N-диметилформамид (DMF), и при температуре примерно от 120 до 180°C.

Соединения общей формулы (VIIa) могут быть получены путем бромирования соединения общей формулы (VII)

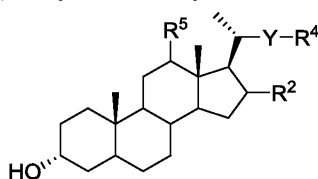


(VII),

где R², R⁴ и R⁵ такие, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

используя, например, бром в уксусной кислоте.

Соединения общей формулы (VII) могут быть получены из соединений общей формулы (VIII)



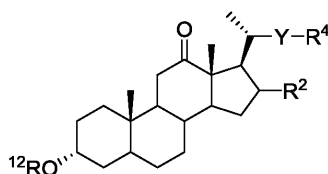
(VIII),

где R², R⁴ и R⁵ такие, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

путем окисления, обычно окислителем на основе хрома или гипохлоритом натрия.

Соединения общей формулы (VIII), в которых R⁴ представляет собой C(O)OR¹⁰, где R¹⁰ представляет собой C₁₋₆алкил или бензил, могут быть получены из соединений общей формулы (VIII), в которых R⁴ представляет собой C(O)OH, путем этерификации, обычно путем взаимодействия с подходящим спиртом в кислых условиях.

Соединения общей формулы (VIII), в которых R⁴ представляет собой C(O)OH, и R⁵ представляет собой H, могут быть получены из соединений общей формулы (IX)



(IX),

где R^2 такой, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, где R^{10} представляет собой C_{1-6} алкил или бензил; и

R^{12} представляет собой защищенный OH;

путем взаимодействия с восстановителем, обычно гидразином, в основных условиях и в спиртовом или гликолевом растворителе, например в диэтиленгликоле.

Когда R^{12} представляет собой защищенную группу OH, которая является стабильной в основных условиях, взаимодействие может сопровождаться реакцией для удаления защитной группы R^{12} с получением группы OH.

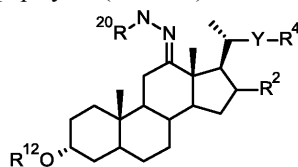
Защитные группы для OH обсуждаются выше и, например, R^{12} может представлять собой группу $C(O)R^{14}$, где R^{14} такой, как определено выше, в частности C_{1-6} алкил или бензил. Силиловые простые эфиры также являются подходящими, и в этом случае R^2 и/или R^5 могут независимо представлять собой группу $Si(R^{16})_3$, где R^{16} такой, как определено выше, но, главным образом, представляет собой C_{1-6} алкил или фенил. Другие подходящие защитные группы для OH хорошо известны специалисту в данной области техники (см. Wuts P.G.M. and Greene T.W. (2006) "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA).

Особенно подходящие группы R^{12} включают группы, которые не являются стабильными в присутствии основания, поскольку это снимает необходимость в дополнительной стадии удаления защитной группы. Примером группы R^{12} , которая не является стабильной в основных условиях, является группа $C(O)R^{14}$, где R^{14} такой, как определено выше, и представляет собой, в частности, C_{1-6} алкил или бензил.

Альтернативно взаимодействие можно выполнять в 2 стадии так, чтобы привести соединение общей формулы (IX) во взаимодействие с соединением общей формулы (XXXII)



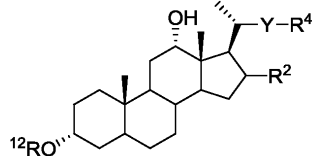
где R^{20} представляет собой уходящую группу, такую как толуолсульфонил или метансульфонил; с получением соединения общей формулы (XXXIII)



(XXXIII)

с последующим восстановлением с помощью подходящего восстановителя. Примеры восстановителей, которые можно использовать в этом взаимодействии, включают гидриды, такие как боргидрид натрия, цианоборгидрид натрия, алюмогидрид лития и так далее.

Соединения общей формулы (IX) могут быть получены из соединений общей формулы (X)



(X),

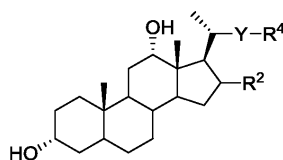
где R^2 такой, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, где R^{10} представляет собой C_{1-6} алкил или бензил; и

R^{12} такой, как определено выше, особенно $-C(O)C_{1-6}$ алкил; посредством взаимодействия с окислителем, например гипохлоритом натрия.

Это взаимодействие можно осуществлять в кислых условиях, например в присутствии уксусной кислоты, и в органическом растворителе, таком как этилацетат.

Соединения общей формулы (X) могут быть получены из соединений общей формулы (XI)



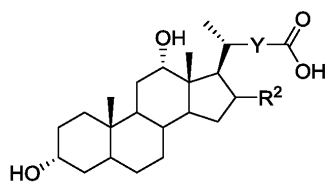
(XI),

где R^2 такой, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III);

R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, где R^{10} представляет собой C_{1-6} алкил или бензил;

посредством взаимодействия с агентом, подходящим для введения защитной группы R^{12} . Например, когда R^{12} представляет собой $C(O)R^{14}$, соединение общей формулы (XI) может быть подвергнуто взаимодействию с ангидридом карбоновой кислоты или хлорангидридом в присутствии слабого основания, такого как пиридин, подходящим образом катализируемому 4-диметиламинопиридином (DMAP). Это взаимодействие можно проводить в растворителе, таком как этилацетат.

Соединений общей формулы (XI) могут быть получены путем этерификации соединений общей формулы (XII)



(XII),

где R^2 такой, как определено в общей формуле (I), и Y такой, как определено для общей формулы (III).

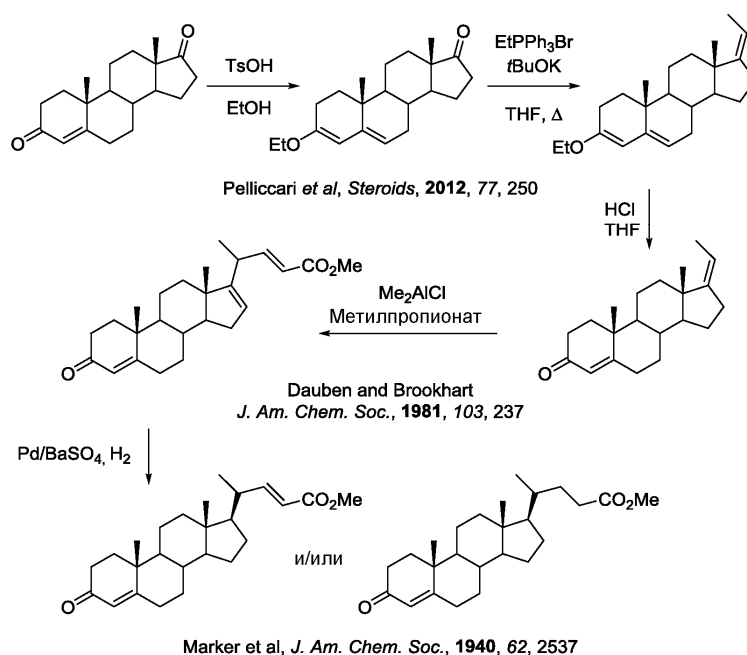
Реакцию можно осуществлять посредством взаимодействия кислоты общей формулы (XII) с подходящим спиртом в кислых условиях.

Соединения общей формулы (XII) известны. Например, соединением общей формулы (XII), в котором Y представляет собой $-CH_2CH_2-$, и R^2 представляет собой H, является дезоксиколевая кислота, которая легкодоступна из ряда источников.

В качестве альтернативных исходных веществ можно использовать другие желчные кислоты с разными значениями для Y и R^2 .

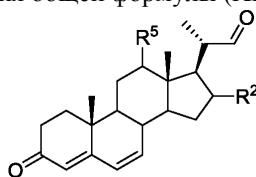
Альтернативный путь для соединений общей формулы (VI) является таким, как показано на схеме 1, согласно которой андростендион превращают в соединение общей формулы (V), в котором R^2 и R^5 представляют собой H; R^4 представляет собой $-C(O)OCH_3$, и Y представляет собой или $-CH_2CH_2-$ или $-CH=CH-$.

Схема 1



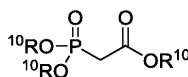
Альтернативным путем для соединений общей формулы (V), в которых Y представляет собой алкениловую группу, является использование реакции олефинирования, например олефинирования Хорне-

ра-Вадсворта-Эммонса (HWE), соединения общей формулы (XIII)



(XIII),

где R^2 и R^5 такие, как определено для общей формулы (I); используя соединение общей формулы (XIV)



(XIV),

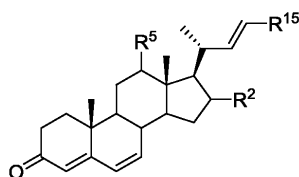
где R^{10} такой, как определено для общей формулы (I).

Взаимодействие можно осуществлять в стандартных условиях для HWE, например, используя основание, такое как гидрид натрия.

Соединения общей формулы (XV) являются легкодоступными или могут быть получены способами, известными специалисту в данной области техники.

Другие реакции олефинирования, такие как олефинирование Теббе, реакция Виттига или олефинирование Жюлиа-Кочиенски, также обеспечивают возможность получения соединений общей формулы (V), в которых Y представляет собой алкениленовую группу. Эти реакции олефинирования хорошо известны специалисту в области химии.

Соединения общей формулы (XIII) могут быть получены путем взаимодействия соединения общей формулы (XV) с озоном

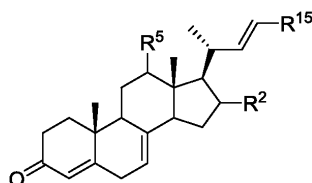


(XV),

где R^2 и R^5 такие, как определено для общей формулы (I), и R^{15} представляет собой C_{1-6} алкил.

Пример взаимодействия этого типа раскрыт в US 2624748.

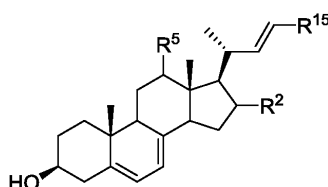
Соединения общей формулы (XV) могут быть получены путем взаимодействия соединения общей формулы (XVI)



(XVI),

где R^2 и R^5 такие, как определено для общей формулы (I), и R^{15} представляет собой C_{1-6} алкил, с кислотой в растворителе, таком как метанол.

Соединения общей формулы (XVI) могут быть получены путем окисления соединения общей формулы (XVII)



(XVII),

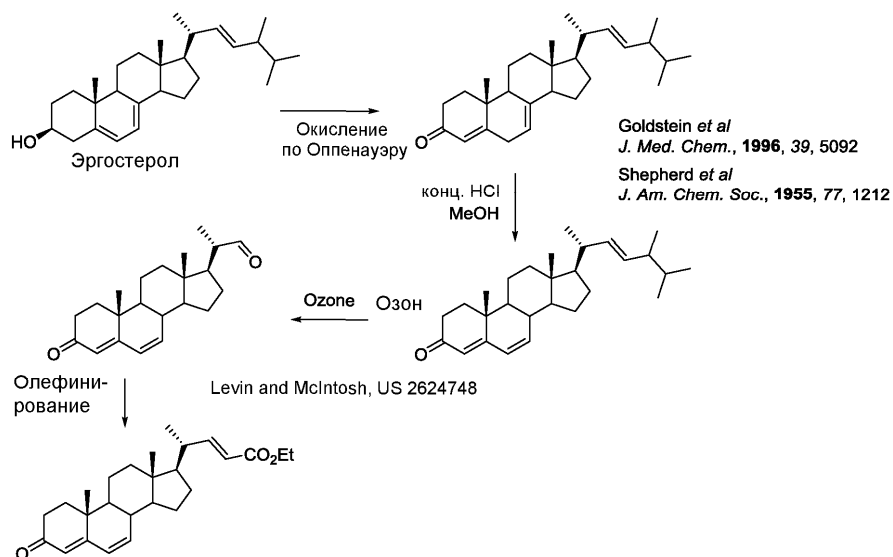
где R^2 и R^5 такие, как определено для общей формулы (I), и R^{15} представляет собой C_{1-6} алкил, используя окисление по Оппенауэру.

Примеры превращения соединений общей формулы (XVII) в соединения общей формулы (XV) раскрыты в Shepherd et al., J. Am. Chem. Soc. 1955, 77, 1212-1215 и Goldstein, J. Med. Chem. 1996, 39, 5092-5099.

Одним примером соединения общей формулы (XVII) является эргостерол, который представляет

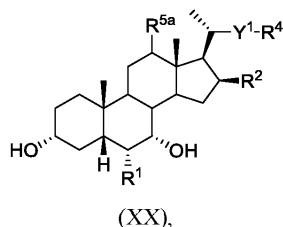
собой грибковый стерол, и на схеме 2 ниже показано превращение эргостерола в соединение общей формулы (V), в которой как R^2 , так и R^5 представляют собой H, Y представляет собой $\text{CH}=\text{CH}_2$, и R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{10}$, где R^{10} представляет собой этил.

Схема 2



Как и в случае соединений общей формулы (I), соединения общих формул (II)-(XII), (VIIa) и (XXXIII), в которых R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{R}^{10}$, $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$, $\text{S}(\text{O})\text{R}^{10}$, SO_3R^{10} или $\text{OSO}_3\text{R}^{10}$, могут быть получены из соответствующих соединений, в которых R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{10}$, путем взаимодействия с подходящими реагентами, используя способы, хорошо известные специалисту в данной области техники. Например, способы, описанные в WO 2008/002573 и WO 2010/014836, или способы, подобные способам, описанным в Classon et al., J. Org. Chem., 1988, 53, 6126-6130 и Festa et al., J. Med. Chem., 2014, 57, 8477-8495.

Соединения общей формулы (I) являются синтетическими предшественниками соединений общей формулы (XX)



где R^1 , R^4 и Y^1 такие, как определено в общей формуле (I);

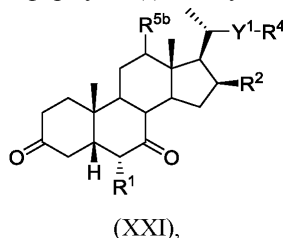
R^2 представляет собой H, галогено или OH; и

R^{5a} представляет собой H или OH.

Соединения общей формулы (I) могут быть превращены в соединения общей формулы (XX) в две стадии посредством промежуточного соединения общей формулы (XXI), как описано ниже.

Таким образом, в еще одном аспекте изобретения предлагается способ получения соединения общей формулы (XX), включающий:

1) эимеризацию соединения общей формулы (I) с получением соединения общей формулы (XXI)



где R^1 , R^2 , R^4 и Y^1 такие, как определено в общей формуле (I); и

R^{5b} представляет собой H;

путем растворения соединения общей формулы (I) в спиртовом растворителе, возможно смешанном с водой, и приведения в контакт с основанием; и

2) восстановление соединения общей формулы (XXI) с использованием гидридного восстановителя с получением соединения общей формулы (XX), как определено выше.

Соединения общей формулы (XX) являются сильными агонистами FXR и TGR5 и включают обети-

холевую кислоту, которая представляет собой соединение формулы (XX), в котором R^1 представляет собой этил, R^2 и R^{5a} оба представляют собой H, Y^1 представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, и R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OH}$.

В соединениях общих формул (XX) и (XXI) более подходящие значения для Y^1 , R^1 и R^4 являются такими, как определено для общей формулы (I).

Реакция эпитеризации со стадии (1) подходящим образом включает обработку соединения общей формулы (I) основанием. Соединение общей формулы (I) может быть растворено в спиртовом растворителе, возможно смешанном с водой, и приведено в контакт с основанием, например гидроксидом натрия или калия, или алкоксидом калия или натрия, обычно этоксидом.

В случае соединений общей формулы (I), в которых R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{10}$, то когда R^{10} представляет собой C_{1-6} алкил или бензил, и когда используют сильное основание, такое как гидроксид натрия или калия, реакция эпитеризации со стадии (1) может сопровождаться гидролизом с получением соединения общей формулы (XXI), в котором R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OH}$.

Если в соединении общей формулы (I) R^2 и/или R^5 представляет собой защищенный OH, например группу $\text{OC}(\text{O})\text{OR}^{14}$, где R^{14} такой, как определено выше, но представляет собой особенно C_{1-6} алкил или бензил, ее удаляют в ходе стадии эпитеризации с получением соединения общей формулы (XXI), в котором R^2 и/или R^{5b} представляет собой OH. Другие защищенные группы OH, которые стабильны в основных условиях (например группа $\text{OSi}(\text{R}^{16})_3$, где каждый R^{16} независимо является таким, как определено выше, но представляет собой главным образом C_{1-6} алкил или фенил), могут быть удалены до или после стадии (2).

На стадии (2) восстановитель обычно представляет собой гидрид, такой как боргидрид натрия, который можно использовать в растворителе, таком как смесь тетрагидрофурана и воды. Обычно это взаимодействие осуществляют в основных условиях, например в присутствии сильного основания, такого как гидроксид натрия или калия, и при температуре примерно от 0 до 110°C , более обычно от 60 до 100°C . Соединение общей формулы (XX), в котором R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OH}$, может быть получено путем восстановления соединения общей формулы (XXI), в которой R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OH}$.

Соединения общих формул (XX) и (XXI), в которых R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{R}^{10}$, $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$, $\text{S}(\text{O})\text{R}^{10}$, SO_2R^{10} или $\text{OSO}_2\text{R}^{10}$, могут быть получены из соответствующих соединений, в которых R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{10}$, путем взаимодействия с подходящими реагентами, используя способы, хорошо известные специалисту в данной области техники.

Соединения общих формул (XX) и (XXI), в которых R^4 представляет собой SO_3R^{10} , могут быть синтезированы из соединений общих формул (XX) и (XXI), в которых R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OH}$, посредством способов, раскрытых в WO 2008/002573, WO 2010/014836 и WO 2014/066819.

Таким образом, соединение формулы (XX) или (XXI), в котором R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OH}$, можно приводить во взаимодействие с C_{1-6} алканойлом, или бензоилхлоридом, или с C_{1-6} алкановым ангидридом для защиты OH-групп. Затем защищенное соединение может быть подвергнуто взаимодействию с восстановителем, таким как гидрид, например боргидрид натрия, с целью восстановления карбоксильной группы до OH. Спиртовая группа может быть заменена галогеном, например бромом или йодом, посредством способа с использованием системы трифенилфосфин/имидазол/галоген, описанного в Clason et al., J. Org. Chem., 1988, 53, 6126-6130. Галогенированное соединение затем может быть подвергнуто взаимодействию с сульфитом натрия в спиртовом растворителе с получением соединения с заместителем $\text{SO}_3^- \text{Na}^+$.

Соединения общей формулы (XX) или (XXI), в которых R^4 представляет собой $\text{OSO}_3\text{R}^{10}$, могут быть получены путем взаимодействия спирта, полученного в результате восстановления защищенной карбоновой кислоты, с хлорсерной кислотой в присутствии основания, такого как триэтиламин, с образованием защищенной соли триэтиламмония. Защитные группы могут быть удалены посредством основного гидролиза, как описано выше. Восстановление карбоновой кислоты с последующим взаимодействием полученного спирта с хлорсернистой кислотой дает соединение общей формулы (XX) или (XXI), в котором R^4 представляет собой $\text{OSO}_2\text{R}^{10}$.

Соединения общей формулы (XX) или (XXI), в которых R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$, могут быть получены из карбоновой кислоты путем взаимодействия с амином формулы $\text{H}-\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$ в подходящем растворителе при нагревании. Соединения общих формул (XX) или (XXI), в которых R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$ или $\text{OSO}_3\text{R}^{10}$, также могут быть получены способами, подобными способам, описанным в Festa et al., J. Med. Chem., 2014, 57 (20), 8477-8495. Эти способы также образуют аспект изобретения.

Соединение общей формулы (XX) или (XXI), в котором R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{R}^{10}$, может быть получено восстановлением соединения, в котором R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{10}$, используя один эквивалент гидрида диизобутилалюминия (DIBAL), с получением альдегида, в котором R^4 представляет собой $\text{C}(\text{O})\text{H}$ (см., например, WO 2011/014661).

Альтернативно альдегид может быть получен окислением защищенного соединения, в котором R^4 представляет собой OH, полученного как описано выше.

Окисление может представлять собой окисление Шверна, выполненное с использованием оксалилхлорида и диметилсульфоксида, а затем триметиламина (см., например, Xiang-Dong Zhou et al., Tetrahe-

dron, 2002, 55, 10293-10299). Альтернативно окисление может быть осуществлено с использованием окислителя, такого как хлорхромат пиридиния (PCC), как описано в Carnell et al. (J. Med. Chem., 2007, 50, 2700-2707).

Соединение общей формулы (I), в котором R^4 представляет собой $C(O)R^{10}$, где R^{10} не представляет собой водород, может быть получено посредством известных способов, например путем взаимодействия альдегида, в котором R^4 представляет собой $C(O)H$, с подходящим реагентом Гриньяра с последующим окислением. Такие способы хорошо известны специалисту в данной области техники.

Теперь изобретение будет описано более подробно со ссылкой на примеры.

В примерах использовали следующие сокращения:

AcOH - уксусная кислота;

CPME - циклопентилметилловый эфир;

DMF - N,N-диметилформамид;

EtOAc - этилацетат;

EtOH - этанол;

IPA - изопропиловый спирт;

MeOH - метанол;

NEt₃ - триэтиламин;

nBuOAc - н-бутилацетат;

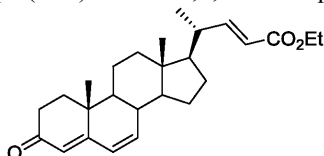
TBME - трет-бутилметилловый эфир;

THF - тетрагидрофуран;

TSCX - тонкослойная хроматография.

Примеры 1-4. Синтез этилового эфира (6 β ,5 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты из стигмастерола.

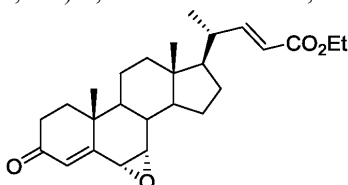
Пример 1. Синтез этилового эфира (22E)-3-оксо-4,6,22-холатриен-24-овой кислоты



Исходное вещество, этиловый эфир (22E)-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты, получали из стигмастерола согласно способу, описанному в Uekawa et al. в Biosci, Biotechnol, Biochem., 2004, 68, 1332-1337.

Этиловый эфир (22E)-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты (1,00 кг, 2,509 моль; 1 экв.) загружали в реакционный сосуд с последующим добавлением AcOH (3 об., 3,0 л) и толуола (1 об., 1,0 л) при перемешивании. Затем загружали хлоранил (0,68 кг, 2,766 моль; 1,1 экв.) и реакционную смесь нагревали до 100°C и выдерживали при этой температуре в течение 1-2 ч (IPC посредством ТСХ на диоксиде кремния, элюент 3:7 EtOAc:гептан; исходное вещество: R_f 0,50, продукт: R_f 0,46; визуализировали с помощью окрашивания анисовым альдегидом). Затем смесь охлаждали на бане лед/вода до 10°C и полученное твердое вещество отфильтровывали. Осадок на фильтре промывали заранее приготовленной смесью 3:1 AcOH:толуол (4×0,5 об.) при 5 ± 4°C и фильтрат концентрировали в вакууме при температуре вплоть до 70°C. Остаток растворяли в ацетоне (3 об.), затем загружали по каплям при перемешивании 3%-ный мас./мас. водный NaOH (10 об.), поддерживая температуру ниже 30°C (экзотермический процесс). Полученную суспензию охлаждали до 10-15°C и перемешивали в течение 30 мин. Твердые вещества собирали фильтрованием и осадок на фильтре промывали заранее приготовленной смесью 1:1 ацетон:вода (1×2 об. затем 3×1 об.). Осадок на фильтре (рыжевато-коричневое твердое вещество) сушили в вакууме при 70-75°C, 672 г (выход 68%). Характеристика соединения совпадает с данными, опубликованными в литературе.

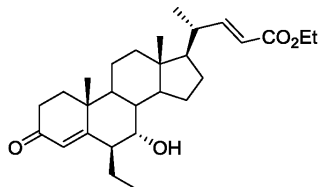
Пример 2. Этиловый эфир (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты



К раствору этилового эфира (22E)-3-оксо-4,6,22-холатриен-24-овой кислоты (58,0 г, 146,3 ммоль) в EtOAc (1,0 л) при кипячении с обратным холодильником добавляли 80% MMPP (магния бис(монопероксифталат) гексагидрат, 197,0 г, примерно 318,6 ммоль) четырьмя равными порциями с 30-минутными интервалами. Суспензию интенсивно перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 5 ч и при температуре окружающей среды в течение еще 16 ч. Реакционную смесь затем нагревали до температуры флегмообразования и перемешивали в течение дополнительных 6 ч. Смесь охлаждали до примерно 50°C и твердые вещества отфильтровывали и промывали горячим EtOAc (200 мл). Фильтрат последовательно промывали 20%-ным водн. NaHSO₃ (100 мл), 1M водн. NaOH (100 мл,

затем 200 мл) и 10%-ным водн. NaCl (250 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток (твердое вещество желтого цвета) кристаллизовали из минимального объема EtOAc при 60°C с получением эпоксидного продукта в виде не совсем белых/бледно-желтых кристаллов (25,7 г, выход 43%, призмы). Характеристика соединения совпадает с данными, опубликованными в литературе.

Пример 3. Синтез этилового эфира (6 β ,7 α ,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холадиен-24-овой кислоты



В суспензию CuI (1,40 г, 7,35 ммоль) в диэтиловом эфире (10 мл), охлажденную до -78°C , в атмосфере аргона загружали EtLi (28,8 мл, 14,4 ммоль, 0,5М раствор в смеси бензол/циклогексан). Образовавшуюся густую белую суспензию оставляли нагреваться до 0°C , перемешивали в течение 5 мин (образование почти черного раствора) и охлаждали до -78°C . Получали раствор этилового эфира (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холадиен-24-овой кислоты (1,00 г, 2,42 ммоль) в смеси диэтиловый эфир/THF (24 мл, 3:1) и загружали в сосуд, содержащий органокупрат. THF (1 мл) использовали для промывки сосуда, который содержал раствор эпоксида, и также загружали к органокупрату. Реакционную смесь оставляли нагреваться до -4°C в течение 30 мин, после которых взаимодействие оказывалось завершенным согласно ТСХ (диоксид кремния, 1:1 EtOAc:гептан). После еще 30 мин перемешивания при примерно -4°C загружали раствор водного насыщенного NH_4Cl и смесь перемешивали в течение 30 мин. Смесь переносили в делительную воронку и водную фазу удаляли вместе с твердым веществом, присутствующим на границе раздела. Органическую фазу промывали 5%-ным мас. водным NaHCO_3 (2×50 мл.) и водой (1×50 мл). TBME (50 мл) использовали для экстрагирования исходной водной фазы из реакционной смеси и объединенных промывок. Объединенные органические фазы концентрировали и остаток очищали посредством хроматографии с использованием диоксида кремния (25 г) в качестве стационарной фазы (градиентное элюирование с 0-30% EtOAc в гептане) с получением этилового эфира (6 β , 7 α , 22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холадиен-24-овой кислоты (0,63 г, 59%)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ = 6.82 (1H, dd, J = 15,6, 8,9, C_{22}H), 5.75 (1H, s, C_4H), 5.74 (1H, d, J = 15,6, C_{23}H), 4.17 (2H, q, J = 7,1, OCH_2CH_3), 3.72 (1H, уширенный синглет, C_7H), 2.52-2.25 (5H, m), 2.05-1.98 (2H, m), 1.82-1.10 (23H, m), 0.91 (3H, t, J = 7,4, CH_3), 0.77 (3H, s, CH_3). ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3): δ = 199.2, 171.2, 167.1, 154.5, 128.4, 119.0, 71.9, 60.1, 55.3, 54.9, 49.9, 44.3, 42.7, 39.6, 39.1, 38.3, 37.4, 35.6, 34.0, 28.0, 26.3, 23.6, 20.8, 19.7, 19.2, 14.2, 12.8, 12.0; (IR) ν_{max} (cm^{-1}): 3467, 2939, 2870, 1716, 1651, 1457, 1268, 1229, 1034; HRMS (ESI-TOF (временноразлетная с электрораспылительной ионизацией)) m/z : ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ вычислено для $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{O}_4$ 443,3161; обнаружено: 443,3156. Точка плавления (т.пл.) = $59,4\text{--}62,9^\circ\text{C}$.

Способ 2.

ZnCl_2 (32,84 г, 240,9 ммоль) сушили в вакууме при медленном перемешивании при 180°C в течение 2 ч. Колбу охлаждали до комнатной температуры в атмосфере аргона и остаток растворяли в THF (520 мл) и переносили с помощью канюли в трехгорлую реакционную колбу, оснащенную механической мешалкой и датчиком температуры. Раствор охлаждали на ледяной бане до $0\text{--}3^\circ\text{C}$ и по каплям добавляли 3М раствор EtMgBr в Et_2O (80 мл, 240,0 ммоль) в течение 20 мин, поддерживая внутреннюю температуру ниже 10°C . После добавления примерно 1/3 раствора Гриньяра наблюдали образование белого осадка (активные цинкаты соединения). Смесь перемешивали в течение 1,2 ч при 0°C , после чего добавляли по каплям раствор эпоксида, этилового эфира (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холадиен-24-овой кислоты (43,0 г, 104,2 ммоль) в THF (300 мл), поддерживая внутреннюю температуру ниже 10°C . Затем при интенсивном перемешивании добавляли двумя равными порциями твердый CuCl (1,03 г, 0,104 ммоль). Через 10 мин охлаждающую баню убирали и перемешивание продолжали при температуре окружающей среды в течение дополнительных 1,2 ч. Реакцию гасили добавлением по каплям насыщенного водного NH_4Cl (800 мл) при температуре ниже 15°C и перемешивали в течение 0,5 ч. Смесь фильтровали и твердое вещество промывали TBME (150 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали в TBME 2×250 мл. Объединенные органические экстракты промывали 10%-ным водным NaCl (2×200 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 43,7 г неочищенного этилового эфира (6 β ,7 α ,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холадиен-24-овой кислоты в виде пены желтого цвета.

Способ 3.

К раствору ZnCl_2 в THF (0,5М, 8,7 мл, 4,85 ммоль, 0,9 экв.) загружали безводный THF (8,0 мл) и затем охлаждали содержимое до -25°C . В течение 30 мин добавляли раствор EtMgBr в ТВМЕ (1,0М, 8,7 мл, 8,70 ммоль, 1,8 экв.) и смесь перемешивали в течение 45 мин при -25°C . Добавляли одной порцией твердый CuCl (24 мг, 0,49 ммоль, 0,05 экв.) и по каплям в течение 30 мин добавляли раствор этилового эфира (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты (2,0 г, 4,85 ммоль) в THF (8,0 мл). Оставшийся твердый CuCl (24 мг, 0,49 ммоль, 0,05 экв.) добавляли в середине добавления этилового эфира (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при -25°C , (ТСХ 1:1 гептан:EtOAc, визуализировали с помощью УФ и проявляли, используя краситель цериевый молибдат аммония) и затем добавляли в течение 10 мин дополнительное количество EtMgBr в ТВМЕ (1,0М, 2,9 мл, 2,91 ммоль, 0,6 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 ч при -25°C и затем гасили путем добавления насыщенного водного NH_4Cl (5 мл), поддерживая температуру ниже -5°C . Неорганические соли отфильтровывали, промывали ТВМЕ и фазы фильтрата разделяли. Водный слой экстрагировали в ТВМЕ и затем объединенные органические экстракты промывали насыщенным водным NH_4Cl (3 $\times$ 5 мл) и 10%-ным рассолом (3 $\times$ 6 мл). Органическую фазу концентрировали в вакууме при 40°C с получением неочищенного этилового эфира (6 β ,7 α ,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты в виде пены желтого цвета (1,91 г).

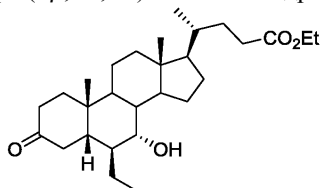
Способ 4.

К раствору ZnCl_2 в THF (0,5М, 8,7 мл, 4,85 ммоль, 0,9 экв.) загружали безводный THF (8,0 мл) и затем нагревали содержимое до 40°C . В течение 30 мин добавляли раствор EtMgBr в ТВМЕ (1,0М, 8,7 мл, 8,70 ммоль, 1,8 экв.) и смесь перемешивали в течение 45 мин при 40°C . Одной порцией добавляли твердый CuCl (24 мг, 0,49 ммоль, 0,05 экв.) и в течение 30 мин по каплям добавляли раствор этилового эфира (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты (2,0 г, 4,85 ммоль) в THF (8,0 мл). Оставшийся твердый CuCl (24 мг, 0,49 ммоль, 0,05 экв.) добавляли в середине добавления этилового эфира (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при 40°C , (ТСХ 1:1 гептан:EtOAc, визуализировали с помощью УФ и проявляли, используя краситель цериевый молибдат аммония) и затем гасили путем добавления по каплям насыщенного водного NH_4Cl (5 мл). Неорганические соли отфильтровывали, промывали ТВМЕ и фазы фильтрата разделяли. Водный слой экстрагировали ТВМЕ и затем объединенные органические экстракты промывали насыщенным водным NH_4Cl (3 $\times$ 5 мл) и 10%-ным рассолом (3 $\times$ 6 мл). Органическую фазу концентрировали в вакууме при 40°C с получением неочищенного этилового эфира (6 β ,7 α ,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты в виде пены желтого цвета (2,08 г).

Способ 5.

К раствору ZnCl_2 в THF (0,5М, 8,7 мл, 4,85 ммоль, 0,9 экв.) загружали безводный THF (8,0 мл) и затем содержимое охлаждали до -15°C . В течение 30 мин добавляли раствор EtMgBr в THF (1,0М, 8,7 мл, 8,70 ммоль, 1,8 экв.) и смесь перемешивали в течение 45 мин при -15°C . Твердый CuCl (24 мг, 0,49 ммоль, 0,05 экв.) добавляли одной порцией и раствор этилового эфира (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты (2,0 г, 4,85 ммоль) в THF (8,0 мл) добавляли по каплям в течение 30 мин. Оставшийся CuCl (24 мг, 0,49 ммоль, 0,05 экв.) добавляли в середине добавления этилового эфира (6 α ,7 α ,22E)-6,7-эпокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при -15°C , (ТСХ 1:1 гептан:EtOAc, визуализировали с помощью УФ и проявляли, используя краситель цериевый молибдат аммония) и затем в течение 15 мин добавляли дополнительное количество EtMgBr в THF (1,0М, 4,35 мл, 4,36 ммоль, 0,9 экв.) и затем гасили путем добавления по каплям насыщенного водного NH_4Cl (5 мл). Неорганические соли отфильтровывали, промывали ТВМЕ и фазы фильтрата разделяли. Водную фазу экстрагировали ТВМЕ и затем объединенные органические экстракты промывали насыщенным водным NH_4Cl (3 $\times$ 5 мл) и 10%-ным рассолом (3 $\times$ 6 мл). Органическую фазу концентрировали в вакууме при 40°C с получением неочищенного этилового эфира (6 β ,7 α ,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты в виде пены желтого цвета (1,94 г).

Пример 4. Синтез этилового эфира (6 β ,5 α ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолодиен-24-овой кислоты



Способ 1.

К суспензии 10 мас.% Pd/C (50% влажность, 20 мг, 8,6 мольн. %) в DMF (2 мл) добавляли раствор этилового эфира (6 β ,7 α ,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты (50 мг, 0,11 ммоль) в DMF (3 мл) и реакционную смесь охлаждали до 0°C . Колбу вакуумировали, затем три раза заполняли водородом при интенсивном перемешивании. Через 3 ч колбу вакуумировали, затем заполняли

аргоном и смесь фильтровали с помощью шприцевого фильтра. Смесь распределяли между ТВМЕ (30 мл) и H₂O (20 мл). Органическую фазу сушили (Na₂SO₄) и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт (50 мг) представлял собой 14:1 смесь изомеров 5β-5α (анализировали посредством ¹H ЯМР) этилового эфира (6β,5β,7α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты, выход 92%.

¹H ЯМР (700 МГц, CDCl₃): δ = 4.12 (2H, q, J = 7,1, OCH₂CH₃), 3.71 (1H, уширенный синглет, C₇H), 3.34 (1H, dd, J = 15,5, 13,6, C₄H), 2.39-2.32 (2H, m), 2.24-2.20 (1H, m), 2.14-2.09 (2H, m), 2.03-1.91 (4H, m), 1.83-1.79 (2H, m), 1.68-1.63 (2H, m), 1.58 (1H, s), 1.55-1.12 (19H, m), 1.04 (3H, s), 0.95-0.93 (6H, m), 0.88 (1H, J=7,0), 0.71 (3H, s). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃): δ = 213.5, 174.2, 72.1, 60.2, 55.9, 50.2, 49.8, 47.0, 46.7, 42.7, 39.5, 37.7, 36.3, 36.0, 35.7, 35.3, 34.2, 31.3, 31.0, 28.1, 27.7, 24.4, 23.8, 20.8, 18.3, 14.2, 13.9, 11.8. (IR) ν_{макс}(см⁻¹): 3514, 2939, 2870, 1710, 1462, 1377, 1159, 1099, 1032; HRMS (ESI-TOF) m/z: (M-H₂O+H)⁺ вычислено для C₂₈H₄₅O₃ 429,3369; обнаружено: 429,3363.

Способ 2.

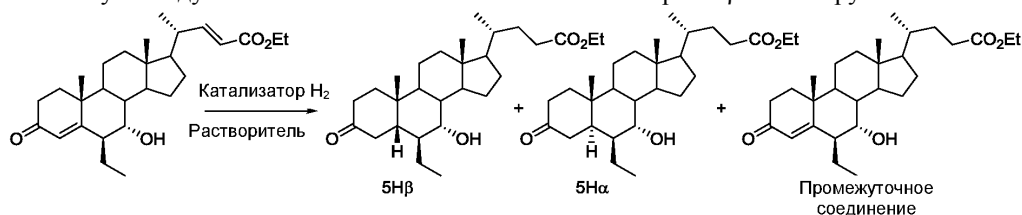
Этиловый эфир (6β,7α,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты (20,0 г) растворяли в DMF (400 мл) и добавляли в атмосфере аргона к твердому 10 мас.% Pd/C (50% влажность, 10,0 г). Смесь охлаждали на бане лед-соль приблизительно до -15°C и колбу вакуумировали, затем три раза заполняли водородом при интенсивном перемешивании. Смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 6 ч, затем колбу вакуумировали, заполняли аргоном и фильтровали через слой целита. Катализатор промывали 400 мл ТВМЕ. Фильтрат промывали 10%-ным водным NaCl (400 мл) и водную фазу экстрагировали ТВМЕ (400 мл). Объединенные органические фазы промывали 10%-ным водным NaCl (3×200 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением неочищенного этилового эфира (6β,5β,7α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты (20,0 г, соотношение 5Hβ:5Hα примерно 28:1) в виде бледно-желтого масла.

Способ 3.

10% Pd/C загружали в атмосфере аргона в реакционный сосуд из нержавеющей стали с рубашкой; добавляли DMF (20 мл) с последующим добавлением раствора неочищенного этилового эфира (6β,7α,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холодиен-24-овой кислоты из примера 3 (приблизительно 72,6 ммоль) в DMF (130 мл). Реакционную смесь охлаждали до -25°C (в течение приблизительно 40 мин) при интенсивном перемешивании (1200 об/мин). Реакционный сосуд вакуумировали и три раза загружали водородом (10-12 бар (1-1,2 МПа)). Смесь перемешивали в течение 16 ч в атмосфере водорода (10-12 бар (1-1,2 МПа)). Сосуд вакуумировали, продували аргоном и нагревали до 20°C при перемешивании. ТСХ реакционной смеси (1:1 гептан:EtOAc, проявляли, используя краситель цериевый молибдат аммония или погружение в ванилин, значения R_f: исходное вещество = 0,42, продукт = 0,67) показала полное расходование исходного вещества. Суспензию разбавляли CH₃CN (120 мл) и H₂O (30 мл) и фильтровали суспензию с помощью двойной фильтровальной бумаги GFA, осадок на фильтре промывали CH₃CN (60 мл). Смесь передавали на следующую стадию без дополнительной очистки. Смесь содержала приблизительно 5% изомера 5H-α.

Оптимизация.

Реакция гидрирования из этого примера происходит посредством промежуточного соединения, показанного ниже, и приводит к получению как требуемого соединения 5Hβ, так и его изомера 5Hα. Проводили скрининг растворителя и катализатора для определения условий реакции, которые приводят к самому высокому выходу и самым высоким соотношениям изомера 5Hβ к изомеру 5Hα.



Скрининг растворителя выполняли, используя 10 мас.% катализатор Pd/C, и взаимодействия проводили при комнатной температуре при атмосферном давлении водорода. Взаимодействие, проведенное в MeOH в присутствии NEt₃, являлось более селективным, чем взаимодействие, проведенное в чистом MeOH, при этом добавления 10% H₂O снижало селективность в отношении 5Hβ. Взаимодействие в DMF давало лучшее соотношение β:α. Взаимодействие в пиридине давало недостаточное превращение в требуемый продукт с присутствием в смеси в основном исходного вещества и промежуточного соединения

	Растворитель	Соотношение 5H β:α
A	MeOH	4 : 1
B	MeOH:H ₂ O	2 : 1

C	MeOH:NEt ₃	7 : 1
D	EtOH	3 : 1
E	IPA	2 : 1
F	EtOAc	2 : 1
G	Пиридин	2 : 1
H	AcOH	1 : 1
I	CPME	1 : 1
J	DMF	9 : 1

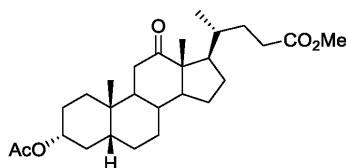
Взаимодействия в DMF и MeOH тестировали в диапазонах температур. При взаимодействиях, проводимых в DMF, температура оказывала существенное влияние на селективность (селективность снижается с увеличением температуры), в то время как при взаимодействиях в MeOH наблюдали небольшое различие.

Взаимодействия в DMF и MeOH тестировали в ряду имеющихся в продаже катализаторов 5 и 10 мас.% Pd на углероде, подложке из карбоната кальция, сульфата бария и оксида алюминия.

Взаимодействия проводили в 10 объемах растворителя при -15°C при атмосферном давлении газобразного водорода. При взаимодействиях, проводимых в DMF, давление оказывает меньшее влияние на селективность, чем температура. Влияние разбавления на селективность является незначительным.

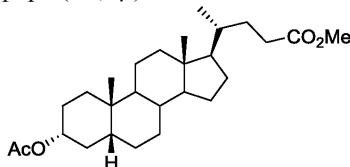
Примеры 5-14. Синтез этилового эфира (6β,5β,7α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты из дезоксихолеовой кислоты.

Пример 5. Синтез метилового эфира (3α,5β)-3-ацетокси-12-оксохолан-24-овой кислоты



В раствор дезоксихолеовой кислоты (500 г, 1,27 моль) в MeOH (1,5 л) загружали H₂SO₄ (0,68 мл, 12,7 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 64°C до завершения. Реакционную смесь охлаждали до 55°C и загружали пиридин (2,06 мл, 25,4 ммоль). MeOH (800 мл) удаляли путем перегонки и реакционную смесь охлаждали до 50°C. Загружали EtOAc (500 мл) и продолжали перегонку. Это совместное выпаривание повторяли до тех пор, пока содержание MeOH не становилось, а затем пиридин (134 мл, 1,65 моль) и DMAP (1,1 г, 8,89 ммоль). По каплям добавляли уксусный ангидрид (150 мл, 1,58 ммоль) и реакционный сосуд встряхивали при 40°C до завершения взаимодействия. Реакционную смесь охлаждали до 22°C и добавляли 2М водную H₂SO₄ (1500 мл), поддерживая температуру ниже 25°C. Водную фазу удаляли и органическую фазу промывали водой (1,2 л), насыщенным водным раствором NaHCO₃ (1,2 л×2) и водой (1,2 л). В органический слой загружали AcOH (1,0 л), затем NaBr (6,6 г, 63,5 ммоль). По каплям загружали водный 16,4%-ный раствор NaOCl (958 мл, 2,54 моль), поддерживая температуру реакции ниже 25°C. Реакционную смесь перемешивали до завершения взаимодействия, затем охлаждали до 10°C и перемешивали в течение 90 мин. Полученные твердые вещества собирали фильтрованием, промывали водой (3×500 мл) и осадок на фильтре сушили в вакууме при 40°C. Твердые вещества кристаллизовали из MeOH (10 об.) с получением метилового эфира (3α,5β)-3-ацетокси-12-оксохолан-24-овой кислоты в виде не совсем белого твердого вещества (268 г).

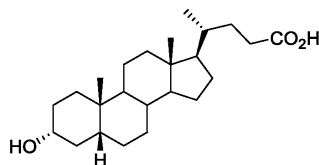
Пример 6. Синтез метилового эфира (3α,5β)-3-ацетоксихолан-24-овой кислоты



В реакционный сосуд под аргоном загружали метиловый эфир (3α,5β)-3-ацетокси-12-оксохолан-24-овой кислоты (268 г, 0,6 моль), а затем AcOH (1,8 л). Затем добавляли тозилгидразид (190 г, 1,02 моль), поддерживая температуру реакции при 25°C. Реакционную смесь перемешивали до завершения взаимодействия и затем по частям загружали NaBH₄ (113,5 г, 3,00 моль), поддерживая температуру ниже 25°C. Реакционную смесь перемешивали до завершения взаимодействия и затем гасили путем добавления по каплям воды (1,34 л), поддерживая температуру ниже 25°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, полученные твердые вещества собирали фильтрованием, промывали водой (3×270 мл) и твердое вещество сушили в вакууме при 40°C. Твердые вещества кристаллизовали из MeOH (3 об.) с получением

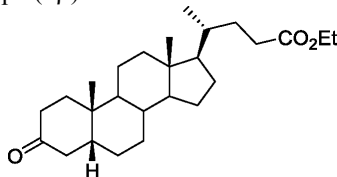
метилового эфира (3 α ,5 β)-3-ацетоксихолан-24-овой кислоты в виде не совсем белого твердого вещества (214,5 г).

Пример 7. Синтез (3 α ,5 β)-3-гидроксихолан-24-овой кислоты (литохоловой кислоты)



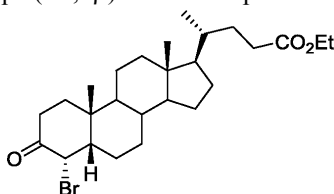
К раствору метилового эфира (3 α ,5 β)-3-ацетоксихолан-24-овой кислоты (214,5 г, 0,50 моль) в IPA (536 мл) загружали воду (536 мл) и 50 мас.%/мас.% NaOH (99 г, 1,24 моль). Реакционную смесь нагревали до 50°C и перемешивали до завершения взаимодействия. Медленно загружали 2М H₂SO₄ при интенсивном перемешивании до получения pH 2-3 и затем реакционную смесь охлаждали до 20°C. Полученные твердые вещества собирали фильтрованием, промывали водой (3×215 мл) и получаемое в результате твердое вещество сушили в вакууме при 40°C с получением (3 α ,5 β)-3-гидроксихолан-24-овой кислоты (176,53 г).

Пример 8. Синтез этилового эфира (5 β)-3-оксохолан-24-овой кислоты



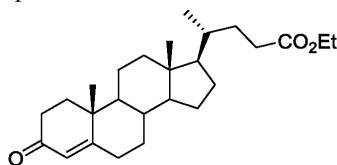
К раствору (3 α ,5 β)-3-гидроксихолан-24-овой кислоты (10 г, 26,5 ммоль) в EtOH (50 мл) загружали H₂SO₄ 96% (14 мкл, 0,27 ммоль) и затем нагревали реакционную смесь до температуры флегмообразования в течение 16 ч. Затем загружали пиридин, смесь перемешивали в течение 30 мин и концентрировали в вакууме при 40°C. Остаток растворяли в EtOAc (30 мл) и затем загружали AcOH (10 мл) и NaBr (136 мг, 1,33 ммоль). Раствор охлаждали до 5°C и загружали по каплям NaOCl 9% (27 мл, 39,8 ммоль), поддерживая температуру ниже 10°C. Полученную суспензию нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C в течение 10 мин, твердые вещества собирали фильтрованием и промывали водой (3×3 об.). Получаемое твердое вещество сушили в вакууме при 40°C с получением этилового эфира (5 β)-3-оксохолан-24-овой кислоты (7,83 г).

Пример 9. Синтез этилового эфира (4 α ,5 β)-3-оксо-4-бромхолан-24-овой кислоты



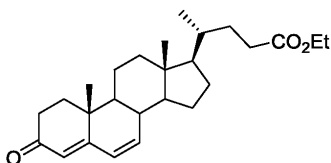
К раствору этилового эфира (5 β)-3-оксохолан-24-овой кислоты (8,0 г, 19,9 ммоль) в AcOH (84 мл) добавляли по каплям Br₂ в AcOH (16 мл, 21,9 ммоль) в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин, затем разбавляли EtOAc (250 мл), промывали водой (2×200 мл) и концентрировали в вакууме при 40°C. Неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии (30% гептан: EtOAc) и концентрировали в вакууме при 40°C с получением этилового эфира (4 α ,5 β)-3-оксо-4-бромхолан-24-овой кислоты в виде светлого кристаллического твердого вещества (7,49 г).

Пример 10. Синтез этилового эфира 3-оксо-4-холан-24-овой кислоты



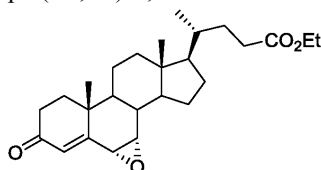
К раствору этилового эфира (4 α ,5 β)-3-оксо-4-бромхолан-24-овой кислоты (4,0 г, 8,33 ммоль) в DMF (40 мл) загружали Li₂CO₃ (4,0 г, 1 масс.-экв.) и LiBr (2,0 г, 0,5 масс.-экв.). Смесь нагревали до 150°C в течение 2 ч, затем оставляли охлаждаться до температуры окружающей среды и выливали на смесь воды и льда (200 г, 50 об.) и AcOH (8 мл). Полученную суспензию перемешивали в течение 15 мин, твердые вещества собирали фильтрованием и затем очищали посредством колоночной хроматографии (30% гептан: EtOAc) с получением этилового эфира 3-оксо-4-холан-24-овой кислоты в виде светлого кристаллического твердого вещества (1,68 г).

Пример 11. Синтез этилового эфира 3-оксо-4,6-холоадиен-24-овой кислоты



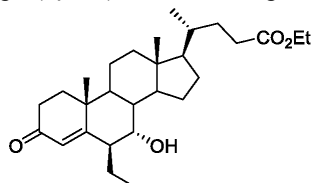
Этиловый эфир 3-оксо-4-холен-24-овой кислоты (2,23 г, 5,57 ммоль) загружали в реакционный сосуд с последующей загрузкой AcOH (6,7 мл) и толуола (2,23 мл). Загружали хлоранил (1,5 г, 6,13 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 100°C в течение 2 ч (IPC посредством ТСХ, 3:7 EtOAc: гептан; визуализировали с помощью окрашивания анисовым альдегидом). Реакционную смесь охлаждали до 10°C в течение 10 мин и полученное твердое вещество удаляли фильтрованием. Осадок на фильтре промывали DCM (9 об.) и полученный фильтрат затем концентрировали в вакууме при 40°C. Остаток растворяли в ацетоне (9 об.), затем добавляли по каплям 3%-ный (мас./мас.) водный NaOH (27 об.), поддерживая температуру ниже 30°C. Полученную смесь охлаждали в ледяной бане в течение 10 мин и твердые вещества собирали фильтрованием. Осадок на фильтре промывали водой (2×9 об.) и смесью ацетон:вода 2:1 (4 об.). Очистка посредством колоночной хроматографии (0-30% гептан: EtOAc) давала этиловый эфир 3-оксо-4,6-холодиен-24-овой кислоты в виде светлого кристаллического твердого вещества (1,45 г)

Пример 12. Синтез этилового эфира (6 α ,7 α)-6,7-эпокси-3-оксо-4-холен-24-овой кислоты



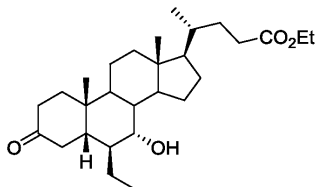
В реакционный сосуд при перемешивании загружали этиловый эфир 3-оксо-4,6-холодиен-24-овой кислоты (1,37 г, 4,27 ммоль), а затем ВНГ (бутилгидрокситолуол, 23 мг, 0,13 ммоль), EtOAc (11 мл) и воду (3,4 мл). Раствор нагревали до 80°C и затем в течение 15 мин добавляли по каплям раствор mCPBA 70% (1,5 г, 7,51 ммоль) в EtOAc (7,5 мл). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч (IPC посредством ТСХ, 3:7 EtOAc: гептан; визуализировали путем окрашивания анисовым альдегидом), охлаждали до температуры окружающей среды и затем промывали 1М водным NaOH (2×20 мл) с последующим промыванием смесью 10% водный Na₂O₃: 2%-ный NaHCO₃ (3×20 мл). Органические фазы сушили над Na₂SO₄ и концентрировали в вакууме при 40°C. Неочищенные твердые вещества кристаллизовали из EtOAc (3 об.) при 60°C с получением не совсем белого твердого вещества, которое сушили в вакууме при 40°C с получением этилового эфира (6 α ,7 α)-6,7-эпокси-3-оксо-4-холен-24-овой кислоты (0,90 г).

Пример 13. Синтез этилового эфира (6 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4-холен-24-овой кислоты



ZnCl₂ (600 мг, 4,25 ммоль) загружали в реакционный сосуд и сушили под вакуумом при 180°C в течение 1 ч. Реакционный сосуд охлаждали до температуры окружающей среды, загружали THF (15 мл) и содержимое реакционного сосуда охлаждали до 3°C. В течение 40 мин в реакционный сосуд загружали раствор 3М EtMgBr в Et₂O (1,5 мл, 4,25 ммоль), поддерживая температуру ниже 5°C. Реакционную смесь затем перемешивали в течение 1 ч. Загружали в реакционный сосуд в течение 40 мин этиловый эфир (6 α ,7 α)-6,7-эпокси-3-оксо-4-холен-24-овой кислоты (0,80 г, 1,93 ммоль) в THF (6 мл), поддерживая температуру ниже 5°C. Одной порцией загружали CuCl (20 мг, 0,19 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 16 ч (IPC посредством ТСХ, 3:7 EtOAc:гептан; визуализировали путем окрашивания анисовым альдегидом). Реакционную смесь охлаждали в ледяной бане и добавляли по каплям насыщенный водный NH₄Cl, поддерживая температуру ниже 10°C. Реакционную смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали ТВМЕ (12,5 об.). Органическую фазу фильтрата отделяли и водную фазу экстрагировали ТВМЕ (2×12,5 об.). Объединенные органические фазы промывали 5%-ным NaCl (3×12,5 об.) и концентрировали в вакууме при 40°C.

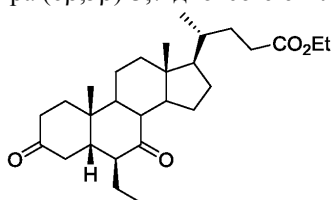
Пример 14. Синтез этилового эфира (6 β ,5 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-холан-24-овой кислоты



10% Pd/C (70 мг) загружали в реакционный сосуд в атмосфере аргона с последующей загрузкой неочищенного вещества из примера 13 в DMF (14,6 мл). Смесь охлаждали до -10°C и реакционный сосуд вакуумировали, затем заполняли три раза водородом при интенсивном перемешивании. Смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 24 ч, поддерживая при этом температуру при -10°C (IPC посредством ТСХ, элюент 1:1 EtOAc:гептан; визуализировали путем окрашивания анисовым альдегидом), затем колбу вакуумировали, заполняли аргоном и проводили фильтрование через слой целита и промывали DMF (7 мл). В реакционный сосуд в атмосфере аргона повторно загружали 10% Pd/C (70 мг) с последующей загрузкой реакционной смеси в DMF. Смесь охлаждали до приблизительно -10°C и реакционный сосуд вакуумировали, затем заполняли три раза водородом при интенсивном перемешивании. Смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 24 ч при -10°C (IPC посредством ТСХ, 1:1 EtOAc:гептан; визуализировали путем окрашивания анисовым альдегидом), затем колбу вакуумировали, заполняли аргоном и проводили фильтрование через слой целита и промывали TBME (62,5 об., 50 мл). Фильтрат промывали 10%-ным водным NaCl (4×25 об.), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме при 40°C . Очистка посредством колоночной хроматографии (SiO_2 , 0-30% гептан:EtOAc) давала этиловый эфир (6 β ,5 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты (0,17 г). Продукт был идентичен веществу, полученному из этилового эфира (6 β ,7 α ,22E)-6-этил-7-гидрокси-3-оксо-4,22-холадиен-24-овой кислоты растительного происхождения (см. пример 4).

Примеры 15-17. Превращение этилового эфира (6 β ,5 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты в (3 α ,5 β ,6 α ,7 α)-6-этил-3,7-дигидроксихолан-24-овую кислоту

Пример 15. Синтез этилового эфира (6 β ,5 β)-3,7-диоксо-6-этилхолан-24-овой кислоты



Способ 1.

Раствор реактива Джонса, полученный из CrO_3 (1,10 г, 11 ммоль) в H_2SO_4 (1,4 мл) и доведенный до 5 мл водой, загружали по каплям в раствор этилового эфира (6 β ,5 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты (0,18 г, 0,40 ммоль) в ацетоне (10 мл) до тех пор, пока сохранялась оранжевая окраска. Реакционную смесь гасили IPA (1 мл), фильтровали через 0,45 мкм нейлоновый шприцевой фильтр и фильтр промывали ацетоном (10 мл). Объединенные фильтрат и промывку концентрировали, остаток растворяли в EtOAc (20 мл) и промывали водой (2×10 мл). Водную фазу экстрагировали EtOAc (20 мл), объединенные EtOAc фазы концентрировали и остаток растворяли и концентрировали из толуола (20 мл), затем ацетона (20 мл) с получением прозрачного масла, содержащего этиловый эфир (6 β ,5 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3,7-диоксохолан-24-овой кислоты (185 мг).

^1H ЯМР (700 МГц, CDCl_3): δ = 4.12 (2H, q, J = 7,1), 2.42 (1H, t, J = 11,4), 2.38-2.17 (6H, m), 2.09-1.74 (9H, m), 1.68-1.11 (17H, m), 0.93 (3H, d, J = 6,5), 0.85 (3H, t, J = 7,4), 0.72 (3H, s). ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3): δ = 214.5, 211.4, 174.0, 60.1, 57.1, 55.1, 50.3, 48.4, 47.3, 44.9, 43.6, 43.1, 39.2, 35.8, 35.2 (×2), 34.9, 31.3, 30.9, 28.1, 24.6, 23.7, 23.4, 21.7, 18.3, 14.2, 12.6, 12.2. (ИК, инфракрасный) $\nu_{\text{макс}}$ (cm^{-1}): 2950, 2872, 1709, 1461, 1377, 1304, 1250, 1177, 1097, 1034; HRMS (масс-спектрометрия высокого разрешения) (ESI-TOF) m/z : $(\text{M}+\text{H})^+$ вычислено для $\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{O}_4$ 445,3318; обнаружено: 445,3312.

Способ 2.

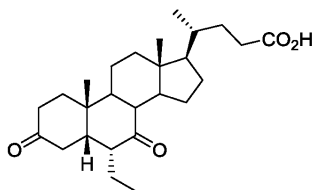
К раствору этилового эфира (6 β ,5 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты (41,0 г сырая масса) в безводном CH_2Cl_2 (600 мл) при 0°C добавляли по частям твердый DMP (реагент Десс-Мартина, 34,0 г, 80,2 ммоль) в течение 20 мин (экзотермический процесс). Смесь перемешивали при $0-5^{\circ}\text{C}$ в течение 2 ч, затем добавляли дополнительную порцию DMP (4,0 г, 9,4 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при $0-5^{\circ}\text{C}$ в течение 1 ч. Смесь фильтровали через фильтровальную бумагу GFA и твердое вещество промывали CH_2Cl_2 (50 мл), фильтрат интенсивно перемешивали с 10%-ным водным $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и 2%-ным водным NaHCO_3 (100 мл) в течение 20 мин. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали в CH_2Cl_2 (2×100 мл). Объединенные органические экстракты промывали 1M NaOH (100 мл). Смесь разбавляли CH_2Cl_2 (300 мл) и фазы разделяли. Органический слой концентрировали при пониженном давлении и остаток (непрозрачное коричневое масло) растворяли в TBME (600 мл) и промывали 1M NaOH (100 мл) и NaCl (3×100 мл). Органическую фазу концентрировали в вакууме до получения темно-желтого текучего масла, сырая масса 38,1 г. Масло растворяли в EtOH (400 мл) и перемешивали с активированным углем (10 г) при 50°C , затем смесь фильтровали, уголь промывали EtOH (200 мл) и фильтрат концентрировали в вакууме с получением этилового эфира (6 β ,5 β)-3,7-диоксо-6-этилхолан-24-овой кислоты в виде желтого масла (35,9 г).

Способ 3.

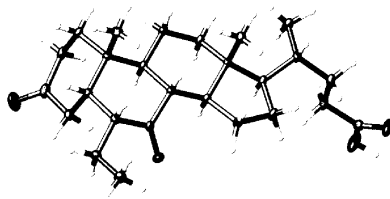
Раствор этилового эфира (6 β ,5 β ,7 α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты (218 ммоль) в

DMF (450 мл), CH₃CN (540 мл) и H₂O (90 мл) загружали в 2 л сосуд и охлаждали до 9°C, затем загружали AcOH (180 мл) с последующей загрузкой NaBr (4,1 г). По каплям в течение 1,5 ч добавляли раствор гипохлорита натрия (приблизительно 10,5 мас.%/об., 450 мл), поддерживая внутреннюю температуру при 5-6°C, затем смесь перемешивали в течение 5 ч при 7°C. ТСХ реакционной смеси показала полное расхождение исходного вещества (IPC посредством ТСХ, элюент EtOAc/гептан 3:7, R_f для этилового эфира (6β,5β,7α)-6-этил-7-гидрокси-3-оксохолан-24-овой кислоты равен 0,34; для этилового эфира (6β,5β)-3,7-диоксо-6-этилхолан-24-овой кислоты равен 0,45). Водный 10%-ный (мас./об.) раствор Na₂SO₃ (360 мл) загружали по каплям при интенсивном перемешивании, поддерживая внутреннюю температуру при 8-10°C, затем добавляли по каплям H₂O (270 мл) и смесь перемешивали при 5°C в течение 16 ч. Твердое вещество отфильтровывали и промывали H₂O (720 мл). Затем твердое вещество растворяли в ТВМЕ (1,1 л) и последовательно промывали водным NaHCO₃ (300 мл) и 10%-ным рассолом (300 мл). Затем органическую фазу в течение 20 мин при 40°C перемешивали с активированным углем (10 г), обрабатывали безводным MgSO₄ (5 г) и фильтровали с помощью фильтровальной бумаги GFA, осадок на фильтре промывали ТВМЕ (50 мл) и фильтрат концентрировали в вакууме с получением этилового эфира (6β,5β)-3,7-диоксо-6-этилхолан-24-овой кислоты в виде светло-коричневого масла, которое затвердевает при стоянии (82,7 г).

Пример 16. Синтез (6α,5β)-3,7-диоксо-6-этилхолан-24-овой кислоты

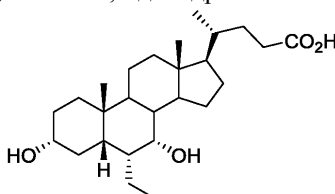


В 500 мл колбу загружали 0,5 об. 0,5M NaOH (9 мл) с последующей загрузкой этилового эфира (6β,5β)-3,7-диоксо-6-этилхолан-24-овой кислоты из примера 15 (18,00 г, 1 экв.) и затем IPA (180 мл, 10 об.) (начальную загрузку NaOH осуществляли для того, чтобы избежать возможности образования C3-кетала). Смесь нагревали до 60 плюс/минус 2°C и выдерживали до получения раствора (10-15 мин). Оставшийся 0,5M раствор NaOH (171 мл, 9,5 об.) загружали в течение 20 мин и затем реакционную смесь перемешивали в течение еще 3,5 ч при 60 плюс/минус 2°C. IPA удаляли в вакууме при 60°C и затем загружали 2M HCl (8 мл) до pH 9. Загружали EtOAc (90 мл, 5 об.) с последующей загрузкой 2M HCl (54 мл) до pH 1. В результате интенсивного перемешивания происходило разделение фаз. Водную фазу снова экстрагировали дополнительным количеством EtOAc (90 мл, 5 об.) и затем объединенные органические фазы промывали водой (54 мл, 3 об.), а затем тремя порциями 10%-ного водного NaCl (3×54 мл, 3×3 об.). Органическую фазу обрабатывали активированным углем (порошок 100 меш, 3,37 г, приблизительно 0,20 мас.-экв.) в течение 12 мин и затем фильтровали через GF/B. В результате концентрирования в вакууме при 50°C получали (6α,5β)-3,7-диоксо-6-этилхолан-24-овую кислоту в виде светло-желтой пены с количественным выходом



¹H ЯМР (700 МГц, CDCl₃): δ = 2.74 (1H, dd, J = 12,8, 5,4), 2.47 (1H, t, J = 12,5), 2.43-0.90 (32H, m), 0.81 (3H, t, J = 7,4), 0.70 (3H, s). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃): δ = 212.1, 210.6, 179.4, 54.9, 52.4, 52.3, 50.0, 48.9, 43.7, 42.7, 38.9, 38.3, 36.7, 36.0, 35.5, 35.2, 30.9, 30.7, 28.2, 24.6, 22.9, 22.3, 18.6, 18.3, 12.1, 11.8. (IR) ν_{макс}(см⁻¹): 2939, 2873, 1706, 1458, 1382, 1284.8. HRMS (ESI-TOF) m/z: (M+H)⁺ вычислено для C₂₆H₄₁O₄ 417,3005; обнаружено: 417,2997; т.пл. = 71,2-75,9°C.

Пример 17. Синтез (3α,5β,6α,7α)-6-этил-3,7-дигидроксихолан-24-овой кислоты

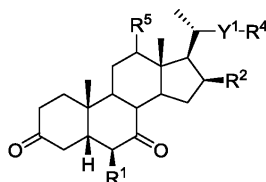


К раствору неочищенной (6α,5β)-6-этил-3,7-диоксохолан-24-овой кислоты (21,7 г сырая масса) в H₂O (260 мл) и 50%-ном NaOH (15,2 мл) при 90°C добавляли по каплям раствор NaBH₄ (4,4 г, 116,3 ммоль) в водном NaOH (приготовленном из 25 мл H₂O и 0,8 мл 50%-ного NaOH). Смесь нагревали до температуры флегмообразования и перемешивали в течение 3 ч. Затем смесь охлаждали до 60°C и добав-

ляли по каплям при интенсивном перемешивании 2М раствор HCl (200 мл). Затем в реакционную колбу загружали nBuOAc (100 мл) и смесь перемешивали в течение еще 20 мин. Фазы разделяли и водную фазу (pH 1/2) экстрагировали nBuOAc (100 мл). Объединенные органические фазы промывали 2М HCl (50 мл) и 10%-ным водным NaCl (100 мл). Органический растворитель отгоняли при пониженном давлении при 70-80°C. Остаток (густое масло) растворяли в nBuOAc (60 мл) при 70°C и оставляли постепенно охлаждаться до комнатной температуры, затем выдерживали при 6°C в течение 2 ч. Твердое вещество собирали фильтрованием, промывали холодным nBuOAc (20 мл), затем сушили в вакууме при 70°C в течение 5 ч с получением (3 α ,5 β ,6 α ,7 α)-6-этил-3,7-дигидроксихолан-24-овой кислоты в виде белого твердого вещества (8,2 г).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение общей формулы (I)



(I),

где R¹ представляет собой этил;

R² представляет собой H;

Y¹ представляет собой алкиленовую линкерную группу, имеющую от 1 до 8 атомов углерода; и

R⁴ представляет собой C(O)OR¹⁰, OC(O)R¹⁰, C(O)NR¹⁰R¹¹, OR¹⁰, OSi(R¹³)₃ или OSO₂R¹⁰,

где каждый из R¹⁰ и R¹¹ независимо представляет собой:

а) водород; или

б) C₁₋₁₀алкил или бензил; или

в) фенил, возможно замещенный C₁₋₆алкилом или C₁₋₆галогеналкилом;

каждый R¹³ представляет собой независимо C₁₋₁₀алкил или фенил;

R⁵ представляет собой H;

или его соль.

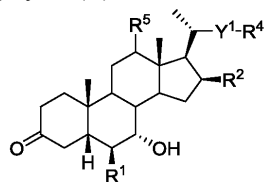
2. Соединение по п.1, где Y¹ представляет собой -CH₂- или -CH₂CH₂-.

3. Соединение по п.1 или 2, где R⁴ представляет собой C(O)OR¹⁰, где R¹⁰ представляет собой H, C₁₋₆алкил или бензил.

4. Соединение по п.1, которое представляет собой (6 β ,5 β)-3,7-диоксо-6-этилхолан-24-овую кислоту или ее C₁₋₆алкиловый или бензиловый эфир или соль.

5. Способ получения соединения по любому из пп.1-4, включающий:

а) окисление соединения общей формулы (II)



(II),

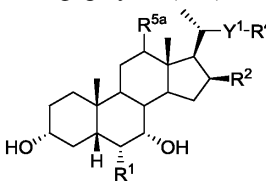
где Y¹, R¹, R², R⁴ и R⁵ такие, как определено в п.1, с использованием

окисления периодианом Десс-Мартина (1,1,1-триацетокси-1,1-дигидро-1,2-бензиодоксол); или

гипохлорита в кислых условиях; или

реакции Джонса с использованием дихромата натрия или триоксида хрома в разбавленной серной кислоте.

6. Способ получения соединения общей формулы (XX)



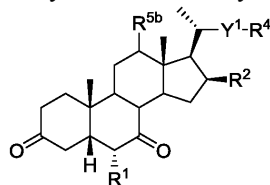
(XX),

где R¹, R², R⁴ и Y¹ такие, как определено для общей формулы (I) в п.1; и

R^{5a} представляет собой H;

включающий:

1) эпимеризацию соединения по любому из пп.1-4 с получением соединения общей формулы (XXI)



(XXI),

где R^1 , R^2 , R^4 и Y^1 такие, как определено для общей формулы (I) в п.1; и

R^{5b} представляет собой H,

путем растворения соединения общей формулы (I) в спиртовом растворителе, возможно смешанном с водой, и приведения в контакт с основанием; и

2) восстановление соединения общей формулы (XXI) с использованием гидридного восстановителя с получением соединения общей формулы (XX), как определено выше.

7. Способ по п.6, где в соединении общей формулы (I) R^4 представляет собой $C(O)OR^{10}$, где R^{10} представляет собой C_{1-6} алкил или бензил и где на стадии (1) основание представляет собой гидроксид натрия или калия, так что реакция эпимеризации сопровождается гидролизом с получением соединения общей формулы (XXI), в котором R^4 представляет собой $C(O)OH$.

8. Способ по п.6 или 7 для получения соединения общей формулы (XX), в котором

R^1 представляет собой этил,

R^2 и R^{5a} оба представляют собой H,

Y^1 представляет собой $-CH_2CH_2-$, и

R^4 представляет собой $C(O)OH$.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2