

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035380**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.06.04

(21) Номер заявки
201791511

(22) Дата подачи заявки
2010.12.17

(51) Int. Cl. **C07J 9/00** (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

(54) СПОСОБ И КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ УМЕНЬШЕНИЯ ПОДКОЖНЫХ ЖИРОВЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

(31) 61/288,132; 61/302,007; 61/303,816;
1008726.0; 61/348,686

(32) 2009.12.18; 2010.02.05; 2010.02.12;
2010.05.25; 2010.05.26

(33) US; US; US; GB; US

(43) 2018.03.30

(62) 201290334; 2010.12.17

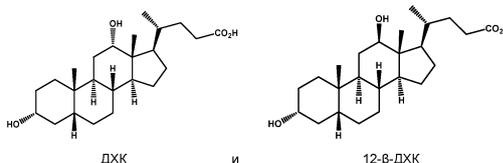
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АЛЛЕРГАН СЕЙЛС, ЛЛС (US)

(72) Изобретатель:
**Мориарти Роберт М., Рейд Джон
Грегори, Сваринген Мл. Рой А. (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A2-2008157635
WO-A2-2008091540
MOMOSE Toshiaki et al. Calcium-Liquid
Ammonia Reduction of 12-Keto Bile Acids: An
Alternative Route to 12 α - and 12 β -Hydroxy Acids.
Journal College of Engineering Nihon University,
1987, A-28, p. 171-173

(57) В изобретении предложены композиции для уменьшения подкожных жировых отложений, содержащие:



Изобретение также относится к способу уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта посредством местного введения в подкожные жировые отложения субъекта указанных композиций.

B1

035380

035380

B1

Ссылки на родственные заявки

Заявка на данное изобретение испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 61/288132, поданной 18 декабря 2009 г., предварительной заявки на патент США № 61/303816, поданной 12 февраля 2010 г., заявки на патент Великобритании № 1008726.0, поданной 25 мая 2010 г., и предварительной заявки на патент США № 61/348 686, поданной 26 мая 2010 г., которые полностью включены в настоящее описание посредством ссылок.

Область техники

Настоящее изобретение относится к композициям, содержащим дезоксихолевую кислоту (ДХК) и 12-β-ДХК, а также к способам уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта посредством местного введения указанных композиций.

Уровень техники

Быстрое удаление жира из организма является давним идеалом, и хотя для многих веществ утверждалось, что они способны обеспечивать этот результат, лишь немногие из них действительно показали результаты. "Мезотерапия", или применение инъекционных лекарственных средств для удаления жира, не находит широкого признания среди врачей из-за проблем, связанных с безопасностью и эффективностью, несмотря на то, что о гомеопатических и косметических свойствах таких препаратов заявлялось еще в 1950-х годах. Мезотерапия первоначально появилась в Европе в качестве способа применения кожных инъекций, содержащих смесь соединений, для лечения местных патологических состояний в медицине и косметологии. Мезотерапию традиционно применяли для облегчения боли, однако об ее применении, в частности, для удаления жира и целлюлита, заговорили лишь недавно в США. Один из таких описанных в косметологии в литературе способов лечения, направленных на удаление локализованного жира, который был популярен в Бразилии и предусматривал применение инъекций фосфатидилхолина, ошибочно считали синонимичным мезотерапии. Несмотря на свою привлекательность в качестве так называемой "жирорастворяющей" инъекции, существует мало данных о безопасности и эффективности указанных косметических способов лечения. См., Rotunda A.M. и Kolodney M., *Dermatologic Surgery*, 32: 465-480 (2006) ("Mesotherapy and Phosphatidylcholine Injections: Historical Clarification and Review").

В опубликованной в последнее время литературе сообщается, что желчная кислота, а именно дезоксихолевая кислота и ее соли способны удалять жир при инъектировании в жировые отложения *in vivo*. См., WO 2005/117900 и WO 2005/112942, а также US 2005/0261258, US 2005/0267080, US 2006/127468 и US 2006/0154906 (все они полностью включены в настоящее описание посредством ссылок). Дезоксихолат, инъектированный в жировую ткань, разрушает жировые клетки по цитолитическому механизму. Поскольку дезоксихолат, инъектированный в жир, быстро инактивируется под воздействием белка, а затем быстро превращается в содержимое кишечника, его действие пространственно ограничено. Вследствие указанного ослабления действия дезоксихолата, которое обеспечивает его клиническую безопасность, терапия, направленная на удаление жира, как правило, предусматривает 4-6 сеансов. Указанное удаление локализованного жира без хирургического вмешательства обеспечивает положительный эффект не только при терапевтическом лечении заболеваний, связанных с локализованными патологическими жировыми отложениями (например, дислипидемий, характерных при медицинском вмешательстве при лечении ВИЧ), но и при косметическом удалении жира без сопутствующего риска, характерного для хирургической операции (например, липосакции). См., Rotunda и др., *Dermatol. Surgery* 30:1001-1008 (2004) ("Detergent effects of sodium deoxycholate are a major feature of an injectable phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution") и Rotunda и др., *J. Am. Acad. Dermatol.* (2005:973-978) ("Lipomas treated with subcutaneous deoxycholate injections"), полностью включенные в настоящее описание посредством ссылок.

Кроме того, многие важные стероиды имеют 12-α-гидроксизаместитель в С-кольце стероида. Такие соединения включают, например, желчные кислоты, такие как дезоксихолевая кислота, холевая кислота, литохолевая кислота и т.п. До настоящего времени такие соединения, как правило, выделяли из бычьих и овечьих источников, которые представляли собой готовый источник желчных кислот, являвшийся экономически выгодным. Однако в связи с недавно установленным фактом, что такие источники могут быть заражены патогенами, такими как прионы, все большее значение приобретают альтернативные способы синтеза желчных кислот из растительных источников или синтетических исходных материалов. Например, по нормативным правилам США, дезоксихолевая кислота, полученная из животных Новой Зеландии, может быть источником желчных кислот для применения у людей лишь при условии, что животные содержатся в изоляции и не содержат наблюдаемых патогенов. Такие жесткие условия накладывают ограничение на количество подходящих желчных кислот, полученных из млекопитающих, и не исключают возможности того, что желчная кислота не будет содержать вышеуказанных патогенов.

Таким образом, сохраняется необходимость в подходящих количествах эффективных желчных кислот, таких как дезоксихолевая кислота, о которых известно, что они изначально не содержат частиц животного происхождения (или патогенов, способных существовать в организме животного, в частности млекопитающего, и в случае применения человеком оказывать неблагоприятное воздействие на человека) и других вредных агентов, таких как животные или микробные метаболиты, токсины, включая бакте-

риальные токсины, такие как пирогены, предназначенных для применения в качестве лекарственных средств у людей.

Кроме того, существует необходимость в получении композиции желчной кислоты, не содержащей других непредусмотренных желчных кислот. В связи с этим известно, что дезоксихолевая кислота, полученная из млекопитающих, загрязнена холевой кислотой. В свою очередь, также известно, что холевая кислота является основным компонентом, вносящим вклад в образование камней в желчном пузыре. Таким образом, существует насущная потребность в обеспечении способов получения дезоксихолевой кислоты, которые не приводили бы к загрязнению другими желчными кислотами.

Ранее в GB 2452358 был предложен синтез дезоксихолевой кислоты, начиная с 9α -гидроксиандрост-4-ен-3,17-диона. В указанном синтезе предложено промежуточное соединение, представляющее собой 3α -гидрокси- 5β -андрост-9(11)-ен-17-он, полученный из 9α -гидроксиандрост-4-ен-3,17-диона. Хотя 9α -гидроксиандрост-4-ен-3,17-дион эффективно превращается в дезоксихолевую кислоту, как предложено в указанном патенте, синтез дезоксихолевой кислоты из гидрокортизона может представлять особенный интерес, так как гидрокортизон является широко доступным.

Кортизон и гидрокортизон содержат 11-кето- или 11- β -гидроксигруппу соответственно, а не 12- α -гидроксигруппу дезоксихолевой кислоты. Превращение 11-кето- или 11- β -гидроксигруппы, присоединенной к стероидному остову, в соответствующую 12- α -гидрокси или 12-кетогруппу не является тривиальным, так как превращение не только должно быть осуществлено, но и должно быть осуществлено стереоселективно. В публикации международной заявки на патент WO 2008/157635 приведено несколько схем реакции, где в одном из примеров 3- β -ацетокси-11-кетостероид превращают в 3- β -ацетокси-12- α -гидроксистероид посредством образования Δ -9,11-еновой функциональной группы указанного стероида с последующим аллильным окислением по положению 12 с применением триоксида хрома. Применение триоксида хрома обеспечивает небольшие выходы Δ -9,11-ен-12-оксо функциональных групп, и побочные продукты, образующиеся в указанной реакции, затрудняют очистку целевого продукта. Более того, триоксид хрома является высокотоксичным, вызывающим коррозию и канцерогенным соединением. Указанное вещество является основным примером соединения шестивалентного хрома, опасного для окружающей среды. Применение триоксида хрома в процессе окисления должно быть ограничено.

На основании вышеизложенного существует необходимость в разработке эффективного способа синтеза для превращения 11- β -гидрокси/11-кетостероидов в соответствующие Δ -9,11-ен, 12- α -гидрокси/12-кетостероиды с применением экологически безопасных и менее токсичных окисляющих агентов.

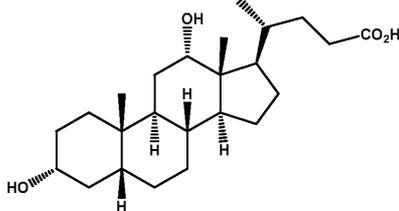
Для химических реактивов фармацевтической степени чистоты требуются воспроизводимые показатели чистоты. В некоторых вариантах реализации изобретения способы очистки должны обеспечивать степень чистоты, составляющую по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99%. Однако очистка до степени чистоты, составляющей по меньшей мере 99%, является технически сложной. Например, растворители, применяемые в процессе очистки, могут удерживаться продуктом, тем самым снижая его чистоту, и другие загрязнения могут быть занесены при любом способе очистки.

Указанная проблема является особенно актуальной в случае дезоксихолевой кислоты и ее солей, так как указанный продукт предложено применять в косметологии для удаления нежелательных жировых отложений. См., например, патент США № 7622130, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Так как косметологические процедуры являются совершенно необязательными, органами контроля, как правило, предусмотрены более высокие стандарты безопасности.

Краткое описание изобретения

Согласно настоящему изобретению предложены способы и композиции для уменьшения подкожных жировых отложений.

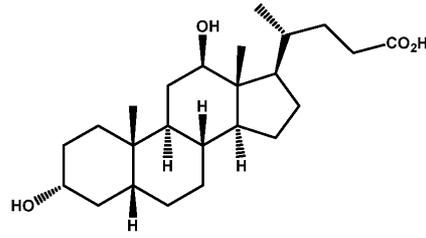
В одном из вариантов реализации изобретения предложена фармацевтическая композиция для уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта, содержащая:



ДХК

где степень чистоты дезоксихолевой кислоты (ДХК) составляет по меньшей мере 96% и ДХК присутствует в фармацевтической композиции в растворяющем жир количестве; и

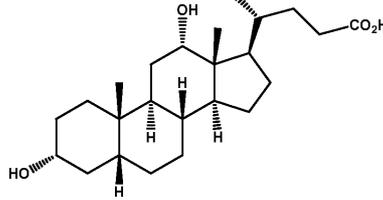
035380



12-β-ДХК

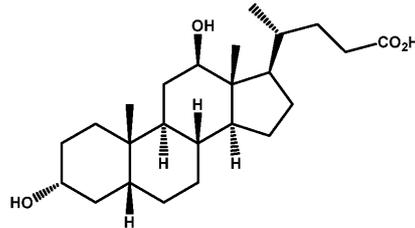
где 12-β-ДХК составляет 0,4% или менее от общего количества ДХК и 12-β-ДХК; и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый наполнитель.

В другом варианте реализации согласно настоящему изобретению предложен способ уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта, включающий местное введение в подкожные жировые отложения субъекта фармацевтической композиции, содержащей:



ДХК

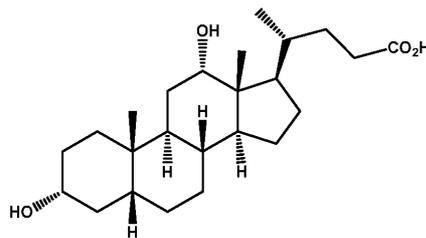
где степень чистоты дезоксихолевой кислоты (ДХК) составляет по меньшей мере 96% и ДХК присутствует в фармацевтической композиции в растворяющем жир количестве; и



12-β-ДХК

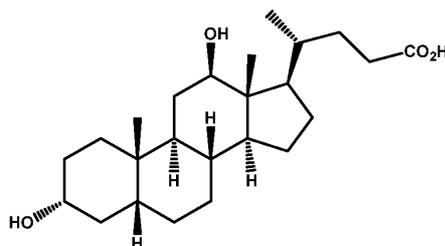
где 12-β-ДХК составляет 0,4% или менее от общего количества ДХК и 12-β-ДХК; и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый наполнитель.

В другом варианте реализации согласно настоящему изобретению предложена композиция для уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта, содержащая:



ДХК

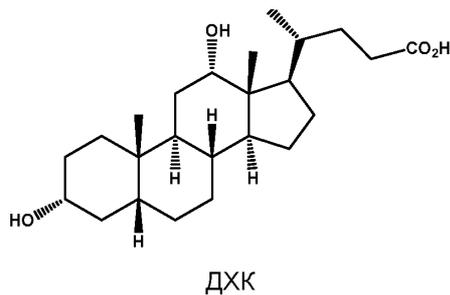
и



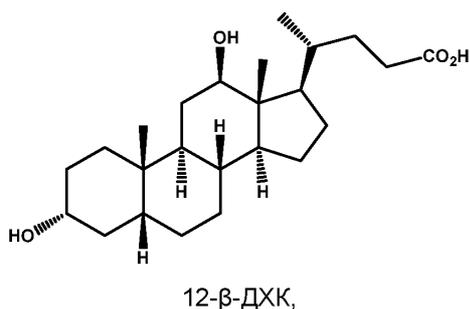
12-β-ДХК,

и по меньшей мере один косметологический наполнитель, где 12-β-ДХК составляет 0,4% или менее от общего количества ДХК и 12-β-ДХК и ДХК присутствует в композиции в растворяющем жир количестве.

В другом варианте реализации согласно настоящему изобретению предложен способ уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта, включающий местное введение в подкожные жировые отложения субъекта композиции, содержащей:



и



и по меньшей мере один косметологический наполнитель, где 12-β-ДХК составляет 0,4% или менее от общего количества ДХК и 12-β-ДХК и ДХК присутствует в композиции в растворяющем жир количестве.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет собой спектр протонного ЯМР соединения 9, полученный с применением прибора с частотой 500 МГц.

Фиг. 2 представляет собой спектр ЯМР ^{13}C соединения 9, полученный с применением прибора с частотой 125 МГц.

Фиг. 3 представляет собой масс-спектр соединения 9.

Подробное описание изобретения

Во всем описании настоящего изобретения сделаны ссылки на различные публикации, патенты и опубликованные патентные описания посредством отождествляющего цитирования. Описание указанных публикаций, патентов и опубликованных патентных описаний, таким образом, включено в настоящий документ посредством ссылок для более полного описания современного уровня области техники, к которой относится настоящее изобретение.

В настоящем документе определенные термины могут иметь следующие значения. В настоящем описании и формуле изобретения форма единственного числа включает ссылки на формы единственного и множественного числа, кроме случаев, когда из контекста явно следует иное.

Если не указано иное, все числа, выражающие количества ингредиентов, условия реакций и т.д., примененные в описании и формуле изобретения, во всех случаях следует понимать как скорректированные термином "примерно". Соответственно, если не указано обратное, числовые параметры, опубликованные в следующем описании и прилагаемой формуле изобретения, являются приблизительными. Каждый числовой параметр должен быть интерпретирован, по меньшей мере, в свете количества указанных значащих цифр и с применением обычных способов округления.

Предполагают, что в настоящем описании термин "содержащий" означает, что соединения и способы включают перечисленные элементы, но не исключают другие. "Состоящий по существу из" при применении для ограничения композиций и способов будет означать исключение других элементов, имеющих любое существенное значение для соединения или способа. "Состоящий из" будет означать исключение более чем незначительного количества элементов других ингредиентов заявленных соединений и существенных этапов способа. Варианты реализации изобретения, обусловленные каждым из указанных промежуточных терминов, находятся в рамках настоящего изобретения. Таким образом, предполагают, что способы и соединения могут включать дополнительные этапы и компоненты ("содержащий") или в качестве альтернативы включать дополнительные этапы и соединения, не имеющие значения ("состоящий по существу из"), или в качестве альтернативы предполагая только изложенные этапы способов или соединения ("состоящий из").

Термин "алкил" относится к одновалентным насыщенным алифатическим углеводородным группам, имеющим от 1 до 10 атомов углерода или от 1 до 6 атомов углерода. Термин "низший алкил" отно-

сится к алкилам, имеющим 1-6 атомов углерода или 1-4 атомов углерода. Указанный термин включает, например, линейные и разветвленные углеводородные группы, такие как метил (CH_3 -), этил (CH_3CH_2 -), н-пропил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), изопропил ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ -), н-бутил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), изобутил ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$ -), втор-бутил ($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}$ -), трет-бутил ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -), н-пентил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -) и неопентил ($(\text{CH}_3)_3\text{CC}$ -).

Термин "трет-алкил" относится к третичным алкильным группам формулы $\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{C}$ -, где каждый из R^1 , R^2 и R^3 независимо друг от друга представляет собой алкил, имеющий от 1 до 3 атомов углерода, и общим количеством атомов углерода, составляющим 10. Такие группы предпочтительно имеют не более чем 4-6 атомов углерода.

Термин "окисляющий агент" относится к реагенту, который может принимать электроны в окислительно-восстановительной реакции. Следовательно, кислород может быть добавлен к молекуле или водород может быть удален из молекулы. Окисляющие агенты включают исключительно в качестве примера реагент Джонса, трет-бутилгидропероксид, гипохлорит натрия, хлорхромат пиридиния и CrO_3 . В одном из примеров окисляющий агент действует конкретно на вицинальные (1, 2) спирты и включает соединения, представляющие собой периодаты. Такие окисляющие агенты иногда называют "окисляющие агенты вицинальных спиртов".

Термин "окисляющие агенты, представляющие собой соединения хрома" относится к соединениям хрома VI, способным осуществлять окисление. В одном из вариантов реализации изобретения окисляющий агент, представляющий собой соединение хрома, способен окислять первичные спирты до альдегидов, а вторичные спирты до кетонов. Такие избирательные окисляющие агенты, представляющие собой соединения хрома, как правило, применяют в комплексе с основанием, таким как пиридин. Одним из наиболее предпочтительных окисляющих агентов, представляющих собой соединения хрома, является хлорхромат пиридиния. В другом варианте реализации изобретения окисляющий агент, представляющий собой соединение хрома, способен окислять альфа-метиленовую группу до винильной ненасыщенности с получением аллильного кетона. В указанном варианте реализации предпочтительные окисляющие агенты, представляющие собой соединения хрома, включают триоксид хрома и смесь соокислителей, представляющих собой NaOCl и трет-алкилгидропероксид, такой как трет-бутилгидропероксид (ТБГП).

Термин "защитная группа для гидроксильной группы" относится к группе, способной защищать гидроксильную группу ($-\text{OH}$) соединения и освобождать гидроксильную группу в подходящих условиях снятия защитной группы. Обычно такие группы включают ацил (который образует сложный эфир с атомом кислорода гидроксильной группы), такой как ацетил, бензоил, и группы, которые образуют простой эфир с атомом кислорода гидроксильной группы, такие как бензил и метоксиметил и т.д. Защитные группы для гидроксильной группы являются хорошо известными в области органического синтеза.

Термин "условия элиминирования" относится к условиям реакции, в которой небольшая молекула, такая как H_2O , HCl или HBr и т.п., выделяется из соединения, содержащего гидроксильную группу, хлор- или бромгруппу и т.п., с получением соответствующего соединения, содержащего алкенильную группу. В одном из примеров условие элиминирования включает условия дегидратации, при которых гидроксильная группа и вицинальный атом водорода отделяются с получением винильной группы ("ен"). Условия дегидратации могут включать превращение гидроксильной группы в уходящую группу, такую как хлор-, бром-, тозил, мезил, $-\text{OS}(\text{O})\text{Cl}$.

Термин "Ас" относится к ацетильной группе, которая имеет формулу $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ -.

Термин "кето" относится к группе ($>\text{C}=\text{O}$).

Термин "защитная группа для кетогруппы" относится к группе, способной защищать кетогруппу соединения и освобождать кетогруппу в подходящих условиях снятия защитной группы. Обычно такие группы включают кетали и ацилалли. Защитные группы для кетогруппы являются хорошо известными в области органического синтеза.

Подходящие защитные группы для гидроксильной группы или кетогруппы и другие защитные группы, которые могут быть применены, и условия их удаления описаны в литературе, такой как *Protective groups in organic synthesis*, 3 изд., Т.В. Greene и Р.Г.М. Wuts, изд. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., США, 1999, которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки, и могут быть хорошо известны обычному специалисту в указанной области.

Термин "кеталь" относится к группе, имеющей две группы $-\text{OR}^{22}$, присоединенные к одному атому углерода в молекуле, где R^{22} представляет собой алкильную группу или две группы R^{22} совместно с атомом углерода и присоединенными к ним двумя атомами кислорода с образованием циклической структуры. Две группы $-\text{OR}^{22}$ могут быть одинаковыми или различными.

Термин "ацилаль" относится к группе, имеющей две группы $-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{R}^{23}$, присоединенные к одному атому углерода в молекуле, где R^{23} представляет собой алкильную группу или две группы R^{23} совместно с атомом углерода и присоединенными к ним двумя группами $-\text{O}(\text{C}=\text{O})$ - с образованием циклической структуры. Две группы $-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{R}^{23}$ могут быть одинаковыми или различными.

Термин "восстанавливающий агент" относится к реагенту, который может являться донором электронов в окислительно-восстановительной реакции, позволяя водороду быть добавленным к молекуле. Подходящие восстанавливающие агенты включают алюмогидрид лития, борогидрид натрия, цианоборо-

гидрид натрия и т.п.

Термин "ацетилирующий реагент" относится к реагенту, с помощью которого можно добавить ацетильную (Ac) группу $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ - к спиртовой части молекулы.

Термин "кислота" относится к реагентам, способным являться донорами H^+ .

Термин "кислота Льюиса" относится к акцептору электронной пары. Кислоты Льюиса включают органометаллические реагенты, такие как галогениды алкилалюминия (например, Et_2AlCl и MeAlCl_2).

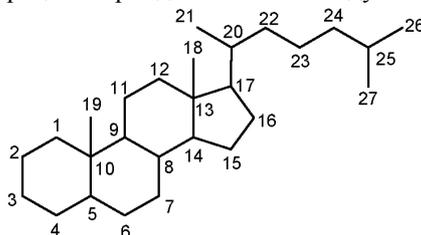
Термин "условия гидрирования" относится к подходящим условиям и катализаторам присоединения H_2 по одной или более двойным связям. Катализаторы гидрирования включают катализаторы на основе металлов группы платины (платина, палладий, родий, и рутений), такие как Pd/C и PtO_2 .

Термин "олефинирующий реагент" относится к реагенту, который реагирует с кетонами с получением соответствующих олефинов. Термин "условия получения олефина" относится к подходящим условиям осуществления таких превращений. Примеры таких реагентов включают реагенты Виттига, а примеры таких условий включают условия олефинирования по реакции Виттига.

Термин "условия кипения с обратным холодильником" относится к условиям, при которых жидкость кипит, а пар кипящей жидкости конденсируется и стекает обратно в жидкость.

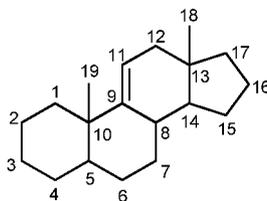
Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к фармацевтически приемлемой соли дезоксихолевой кислоты, причем указанную соль получают из различных органических и неорганических противоионов, хорошо известных в данной области техники, и указанная соль включает исключительно в качестве примера натрий, калий, кальций, магний, аммоний и тетраалкиламмоний.

В настоящем документе нумерация стероидного остова следует общему правилу:

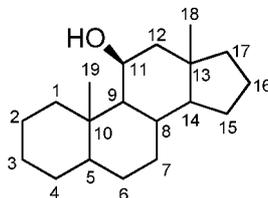


Следует понимать, что если не указано иное, остовы отображают только расположение атомов углерода. Одна или более связей между двумя соседними атомами углерода может быть двойной связью, и один или более атомов углерода, необязательно, может быть связан с заместителем.

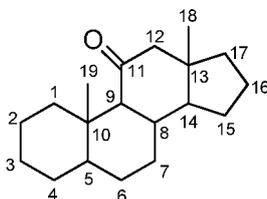
В настоящем документе термин " Δ -9,11-еновый стероидный" или " Δ -9,11-еновое соединение" относится к стероидному соединению, содержащему двойную связь между 9 и 11 атомами углерода, которое можно изобразить в виде остова:



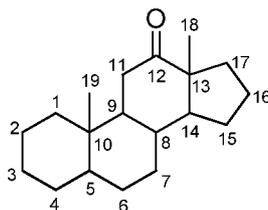
В настоящем документе термин "11 β -гидроксистероидный" или "11 β -гидроксисоединение" относится к стероидному соединению, содержащему заместитель, представляющий собой гидроксильную группу, у атома углерода в положении 11, которое можно изобразить в виде остова:



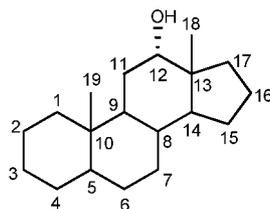
В настоящем документе термин "11-кетостероидный" или "11-кетосоединение" относится к стероидному соединению, содержащему кетозаместитель у атома углерода в положении 11, которое можно изобразить в виде остова:



В настоящем документе термин "12-кетостероидный" или "12-кетосоединение" относится к стероидному соединению, содержащему кетозаместитель у атома углерода в положении 12, которое можно изобразить в виде остова:

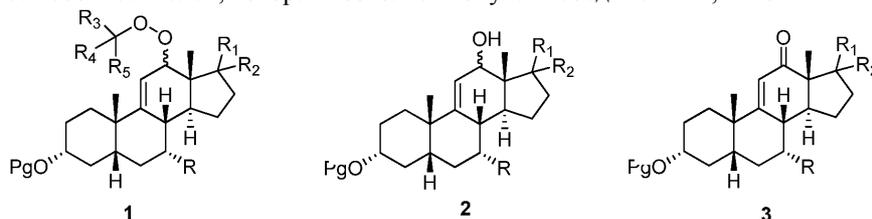


В настоящем документе термин "12-альфа-гидроксистероидный" или "12-альфа-гидроксисоединение" относится к стероидному соединению, содержащему заместитель, представляющий собой гидроксильную группу, у атома углерода в положении 12, которое можно изобразить в виде остова:



Термин "17-боковая цепь желчной кислоты" относится к заместителю у атома углерода в положении 17.

В настоящем документе описан способ окисления, который исключает наличие или ограничивает количество окисляющего агента, представляющего собой соединение хрома (VI), применяемого при аллильном окислении по положению 12 Δ -9,11-еновых стероидов. При окислении применяют экологически безопасную смесь соокислителей, которая позволяет получать соединения 1, 2 и 3:



где Pg представляет собой защитную группу для гидроксильной группы,

R представляет собой водород, гидроксильную группу или -OPg,

R¹ представляет собой боковую цепь в положении 17 желчной кислоты, выбранной из группы, состоящей из хенолевой кислоты, дезоксихолевой кислоты, таурохолевой кислоты и гликохолевой кислоты, причем карбоксильная функциональная группа в указанной боковой цепи необязательно этерифицирована C₁-C₆-алкильной группой, и

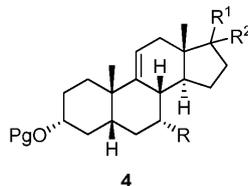
R² представляет собой водород, или

R¹ и R² совместно с атомом углерода, присоединенным к ним, образуют кетогруппу или защитную группу для кетогруппы, и

каждый из R³, R⁴ и R⁵ независимо друг от друга представляет собой C₁-C₃-алкил.

Необязательно, на следующем этапе вышеупомянутую смесь обрабатывают окисляющим агентом, представляющим собой соединение хрома (VI), чтобы превратить продукты, частично окисленные по положению 12, в соответствующий кетон. При осуществлении указанного способа количество примененного окисляющего агента, представляющего собой соединение хрома (VI), значительно меньше количества, указанного в примере 10 заявки на патент США № 12/153446, в котором триоксид хрома применен в качестве единственного окисляющего агента.

Таким образом, описан способ осуществления аллильного окисления по положению 12 Δ -9,11-енового стероидного соединения 4:



в соответствующее 12-кетосоединение 3:

шего агента, представляющего собой соединение хрома (VI), с получением соединения 3,

где Pg представляет собой защитную группу для гидроксильной группы,

R представляет собой водород, гидроксильную группу или -ORg,

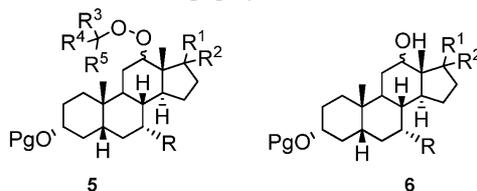
R¹ представляет собой боковую цепь в положении 17 желчной кислоты, выбранной из группы, состоящей из холевой кислоты, дезоксихолевой кислоты, таурохолевой кислоты и гликохолевой кислоты, причем карбоксильная функциональная группа в указанной боковой цепи необязательно этерифицирована C₁-C₆-алкильной группой, и

R² представляет собой водород, или

R¹ и R² совместно с присоединенным к ним атомом углерода образуют кетогруппу или защитную группу для кетогруппы.

Необязательно, перед окислением с применением окисляющего агента, представляющего собой соединение хрома (VI), смесь соединений 1, 2 и 3 подвергают реакции гидрирования Δ-9,11-ена в условиях гидрирования.

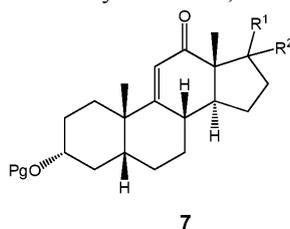
Когда указанное возможное гидрирование происходит перед окислением соединениями хрома (VI), образуются новые промежуточные соединения формул 5 и 6:



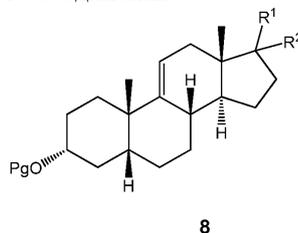
где Pg, R, R¹, R², R³, R⁴ и R⁵ определены выше.

Предпочтительно, гидрирование происходит после завершения этапа(ов) окисления.

В настоящем документе описан способ получения Δ-9,11-ен-12-кетосоединения 7:



из соответствующего Δ-9,11-енового соединения 8:



где Pg представляет собой защитную группу для гидроксильной группы,

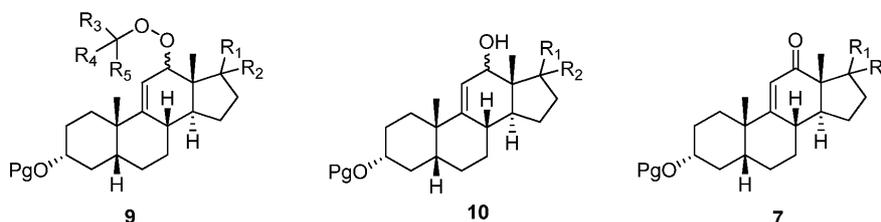
R¹ представляет собой боковую цепь в положении 17 желчной кислоты, выбранной из группы, состоящей из холевой кислоты, дезоксихолевой кислоты, таурохолевой кислоты и гликохолевой кислоты, причем карбоксильная функциональная группа в указанной боковой цепи необязательно этерифицирована C₁-C₆-алкильной группой, и

R² представляет собой водород, или

R¹ и R² совместно с присоединенным к ним атомом углерода образуют кетогруппу или защитную группу для кетогруппы;

при этом указанный способ включает

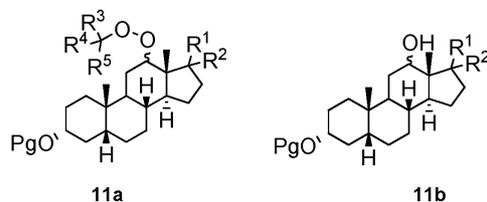
осуществление аллильного окисления по положению 12 соединения 8 посредством реакции с трет-алкилгидропероксидом формулы (R³)(R⁴)(R⁵)C-O-OH, где каждый из R³, R⁴, и R⁵ независимо друг от друга представляет собой C₁-C₃-алкил, в присутствии соокислителя, с получением сначала смеси соединений 9, 10 и 7:



и затем, необязательно, осуществление дополнительного окисления соединения 11b с применением окисляющего агента, представляющего собой соединение хрома (VI), с получением соединения 7, представляющего собой Δ -9,11-ен-12-он.

Необязательно, перед окислением с применением окисляющего агента, представляющего собой соединение хрома (VI), смесь соединений 9, 10 и 7 подвергают реакции гидрирования Δ -9,11-ена в условиях гидрирования.

Когда указанное гидрирование происходит перед окислением с применением окисляющего агента, представляющего собой соединение хрома (VI), образуются новые промежуточные соединения формул 11a и 11b:

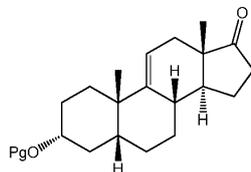


где Pg, R¹, R², R³, R⁴ и R⁵ определены выше.

В настоящем документе описан способ превращения 11- β -гидроксистероида в соответствующий 12-кетостероид, при этом указанный способ включает:

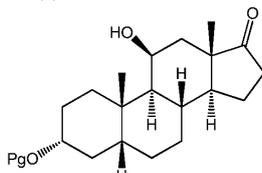
- а) выбор соответствующим образом защищенного 11- β -гидроксистероида;
- б) дегидратацию 11- β -гидроксистероида с получением в указанном стероиде Δ -9,11-еновой функциональной группы;
- в) осуществление аллильного окисления по положению 12 посредством проведения реакции стероидного продукта, полученного на вышеуказанном этапе б), с трет-алкилгидропероксидом в присутствии соокислителя; и
- г) гидрирование Δ -9,11-еновой функциональной группы с получением 9- α -гидро-11-дигидро-12-кетостероида;
- д) необязательно, восстановление функциональной группы 12-кето 9- α -гидро-11-дигидро-12-кетостероида, полученного на вышеуказанном этапе г), эффективным количеством восстанавливающего агента с получением 9- α -гидро-11-дигидро-12- α -гидроксистероида.

В настоящем документе описан способ получения соединения 12:



12

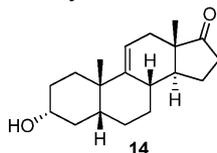
где Pg представляет собой защитную группу для гидроксильной группы, включающий приведение в контакт соединения 13:



13

в условиях дегидратации с получением соединения 12.

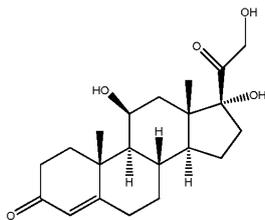
В настоящем документе описан способ получения соединения формулы 14:



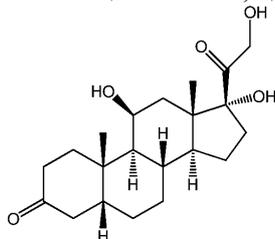
14

при этом указанный способ включает:

a) приведение гидрокортизона:

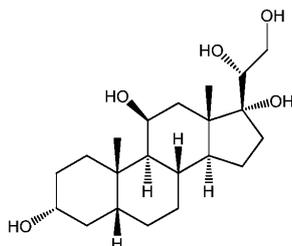


в контакт, по меньшей мере, с эквивалентным по молям количеством водорода в условиях гидрирования с получением соединения 15, представляющего собой 4,5-дигидрогидрокортизон:



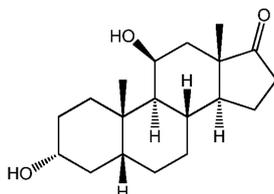
15

b) приведение соединения 15 в контакт по меньшей мере с 2 экв. восстанавливающего агента в условиях, при которых карбонильные группы восстанавливаются до спиртовых групп, с получением соединения 16:



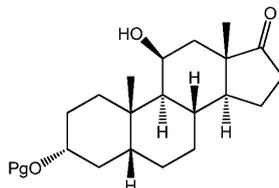
16

c) приведение соединения 16 в контакт с агентом, окисляющим vicinalные спирты, в условиях окисления с получением соединения 17:



17

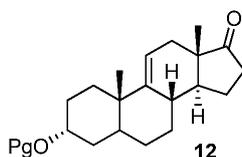
d) избирательную защиту гидроксильной группы соединения 17, находящейся в положении 3, с получением соединения формулы 13:



13

где Pg представляет собой защитную группу для гидроксильной группы;

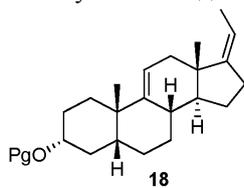
e) приведение в контакт соединения формулы 13 в условиях дегидратации с получением соединения формулы 12:



12

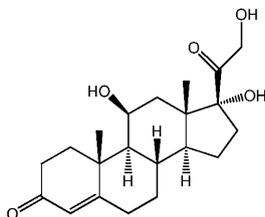
f) удаление защитной группы для гидроксильной группы с получением соединения 14.

В настоящем документе описан способ получения соединения формулы 18:

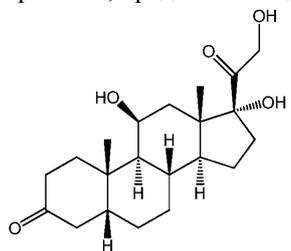


при этом указанный способ включает:

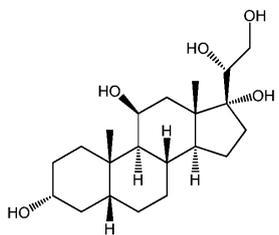
а) приведение гидрокортизона:



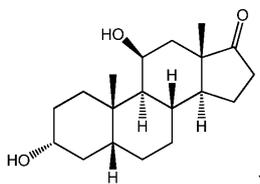
в контакт, по меньшей мере, с эквивалентным по молям количеством водорода в условиях гидрирования с получением 4,5-дигидрогидрокортизона, представляющего собой соединение 15:



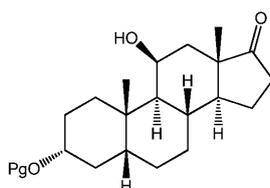
б) приведение соединения 15 в контакт по меньшей мере с 2 экв. восстанавливающего агента в условиях, при которых карбонильные группы восстанавливаются до спиртовых групп, с получением соединения 16:



с) приведение соединения 16 в контакт с агентом, окисляющим vicinalные спирты, с получением соединения 17:

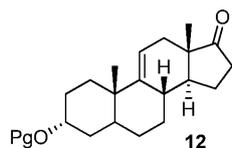


д) селективную защиту гидроксильной группы соединения 17, находящейся в положении 3, с получением соединения 13:

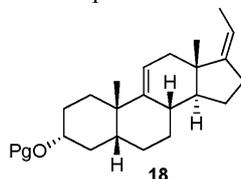


где Pg представляет собой защитную группу для гидроксильной группы;

е) приведение в контакт соединения формулы 13 в условиях дегидратации с получением соединения 12:

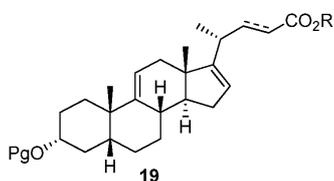


f) превращение соединения 12 в условиях образования олефина с получением соединения 18:



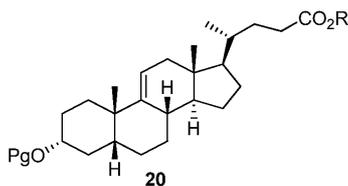
В настоящем документе описан способ получения дезоксихолевой кислоты или ее соли, включающий:

- a) процедуры, соответствующие вышеописанным, с получением соединения 18;
- b) проведение реакции соединения 18 с алкилпропиолатом $\text{CH}=\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ или алкилакрилатом $\text{CH}_2=\text{CHC}(\text{O})\text{OR}'$, где R' представляет собой алкил, в присутствии кислоты Льюиса с получением соединения 19:

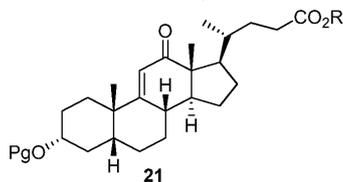


где линия ==== представляет собой одинарную или двойную связь;

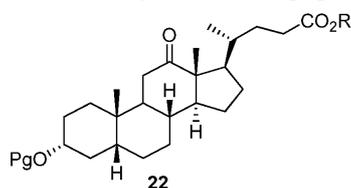
- h) проведение реакции соединения формулы 19 с H_2 в условиях гидрирования с получением соединения 20:



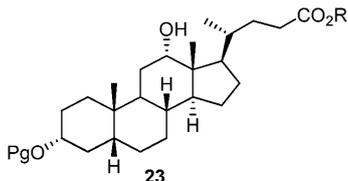
- i) проведение реакции соединения 20 с окисляющим агентом с получением соединения 21:



- j) проведение реакции соединения 21 с H_2 в условиях гидрирования с получением соединения 22:

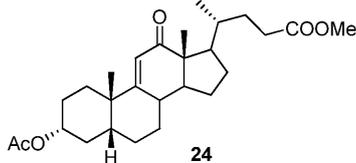


- k) проведение реакции соединения 22 с восстанавливающим агентом с получением соединения 23:



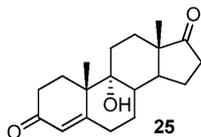
- l) приведение в контакт соединения 23 в условиях снятия защитной группы и гидролиза с получением дезоксихолевой кислоты или ее соли.

В настоящем документе описан способ получения соединения 24:

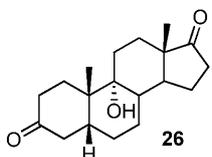


включающий:

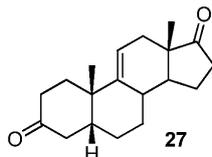
а) приведение в контакт соединения 25:



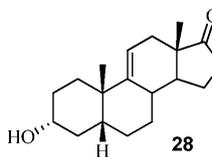
в условиях гидрирования, включающих применение водорода и по меньшей мере 8% по массе Pd на угле влажностью 50% (с применением воды для обеспечения безопасности) в растворителе, выбранном из группы, состоящей из ацетона, изопропанола, этилацетата, N,N-диметилформамида и тетрагидрофурана, в автоклаве, в котором поддерживается повышенное давление, с получением соединения 26:



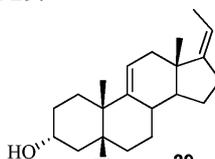
б) дегидратацию соединения 26 в присутствии серной кислоты в условиях, при которых происходит отделение воды, с получением соединения 27:



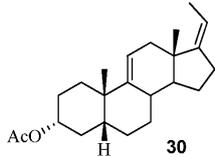
в) приведение соединения 27 в контакт с избытком три(трет-бутокс)алюмогидрида лития в условиях избирательного восстановления, включающих температуру от -40 до -45°C, с получением соединения 28:



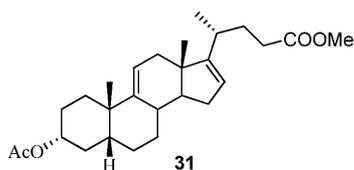
г) приведение соединения 28 в контакт с избытком галогенида этилтриарилфосфония в условиях реакции Виттига с получением соединения 29:



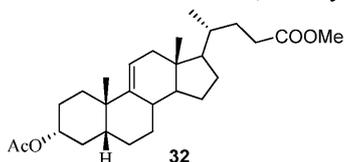
д) защита 3-α-гидроксигруппы соединения 29 в условиях ацелирования, включающих наличие избытка уксусного ангидрида, с получением соединения 30:



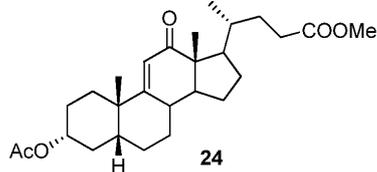
е) приведение соединения 30 в контакт с избытком метилакрилата в присутствии избытка дихлорида C₁-C₂-алкилалюминия в условиях алкилирования с получением соединения 31:



g) приведение соединения 31 в контакт с водородом и катализатором гидрирования, выбранным из платины и безводного палладия на угле, в инертном растворителе в условиях гидрирования, предполагающих автоклав, поддерживающий повышенное давление, с получением соединения 32:



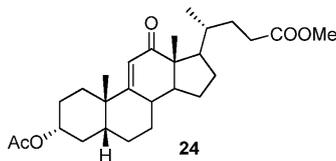
h) приведение в контакт соединения 32, растворенного в инертном растворителе, в условиях совместного окисления, включающих наличие избытка C₄-C₆ трет-алкилгидропероксида в качестве основного окислителя и избытка NaOCl в качестве соокислителя, необязательно, с последующим дополнительным окислением незначительным избытком хлорхромата пиридиния с получением соединения 24:



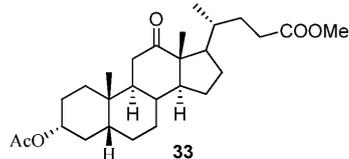
которое промывают метанолом.

В настоящем документе описан способ получения дезоксихолевой кислоты или ее соли, который включает:

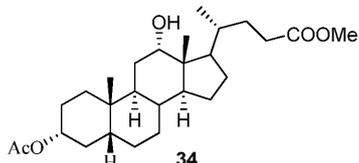
a) приведение соединения 24



в контакт с водородом и Pd/C в условиях гидрирования, включающих применение водорода и Pd на угле в автоклаве, в котором поддерживается повышенное давление, необязательно, с последующим окислением любой из 12-гидроксильных групп, образующихся при гидрировании, с применением хлорхромата пиридиния в условиях окисления с получением соединения 33:

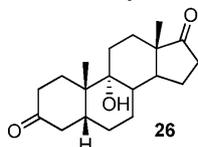


b) проведение реакции соединения 33 с три(трет-алкокси)алюмогидридом лития в условиях восстановления с получением соединения 34:

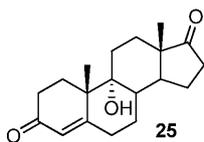


с) действие на соединении 34 условий снятия защитной группы и гидролиза с получением дезоксихолевой кислоты или ее соли.

В настоящем документе также описан способ получения соединения 26:



путем приведения соединения 25



в контакт в условиях гидрирования, включающих применение водорода и 10% Pd/C, с применением растворителя, выбранного из группы, состоящей из N,N-диметилформамида, ацетона, изопропанола, этилацетата и водного ацетона, содержащего до 5% воды.

В настоящем документе описан способ получения дезоксихолевой кислоты (ДХК), степень чистоты которой составляет более 96%, или ее соли, который включает:

(а) приведение ДХК, степень чистоты которой составляет примерно 95% или меньше, в контакт с растворителем, содержащим дихлорметан, в условиях образования раствора ДХК;

(b) кристаллизацию ДХК из раствора ДХК, полученного на этапе (а), с получением раствора, содержащего кристаллическую ДХК;

(с) выделение кристаллической ДХК, степень чистоты которой составляет более 96%.

В настоящем документе описан способ получения дезоксихолевой кислоты (ДХК), степень чистоты которой составляет более 96%, включающий:

(а) приведение ДХК, степень чистоты которой составляет примерно 95% или меньше, в контакт с растворителем, содержащим дихлорметан и метанол, в условиях образования раствора ДХК;

(b) кристаллизацию ДХК из раствора ДХК, полученного на этапе (а), с получением раствора, содержащего кристаллическую ДХК;

(с) выделение кристаллической ДХК и удаление достаточного количества дихлорметана с получением степени чистоты выделенной кристаллической ДХК, составляющей более 96%.

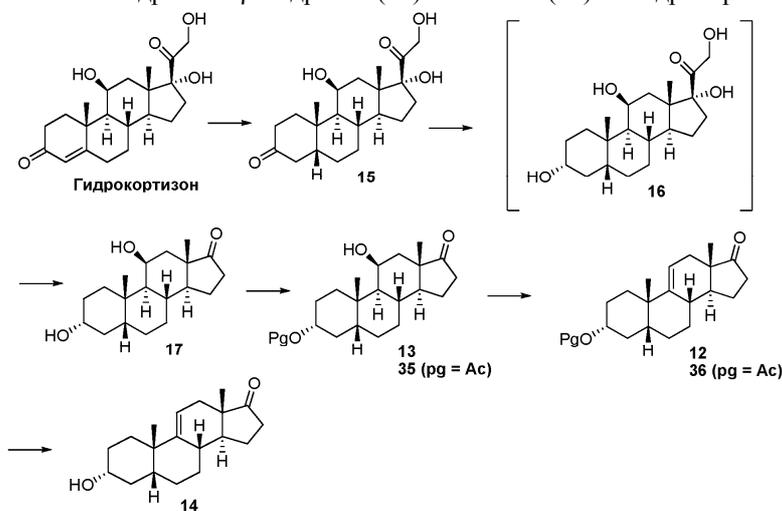
Способы синтеза

А. Синтез ДХК из гидрокортизона.

В одном из вариантов реализации согласно настоящему изобретению предложен синтез соединения 14, которое представляет собой промежуточное соединение синтеза дезоксихолевой кислоты (ДХК) или ее фармацевтически приемлемой соли.

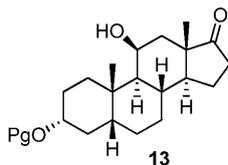
Схема 1

Синтез 3 α -гидрокси-5 β -андрост-9(11)-ен-17-она (14) из гидрокортизона

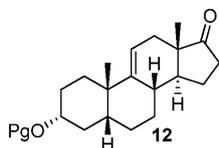


где Pg представляет собой защитную группу.

Указанный способ включает действие на соединение 13 (синтез которого описан ниже):



где Pg представляет собой защитную группу для гидроксильной группы, условий дегидратации с получением соединения 12:

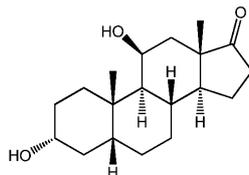


и удаление защитной группы для гидроксильной группы.

В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой $-C(O)R^1$, где R^1 представляет собой низший алкил. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой $-C(O)CH_3$.

В одном из вариантов реализации изобретения условия дегидратации включают превращение гидроксильной группы соединения формулы 13 в $-L$, где $-L$ представляют собой уходящую группу, такую как $-OS(O)Cl$, $-OSO_2R^2$ (где R^2 представляет собой низший алкил, или фенил, или фенил, содержащий в качестве заместителя алкил, например $-CH_3$ или $-C_6H_5CH_3$) или $-OPX_2$ (где X представляет собой бром или OR^3 , где R^3 представляет собой низший алкил). В некоторых вариантах реализации изобретения условия дегидратации включают применение тионилхлорида и пиридина.

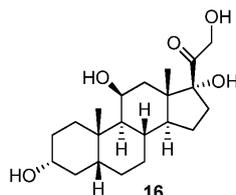
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение 13 получают способом, включающим избирательную защиту 3-гидроксильной группы соединения 17:



17

В одном из вариантов реализации изобретения защитная группа Pg представляет собой $-C(O)$ -низший алкил, например $-C(O)CH_3$. В некоторых вариантах реализации изобретения соединение 17 подвергли воздействию в условиях ацилирования с получением 35, такому как обработка соединения 17 уксусным ангидридом и органическим основанием, таким как триэтиламин (Et_3N), пиридин и/или диметиламинопиридин.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение 17 получают способом, включающим приведение соединения 16

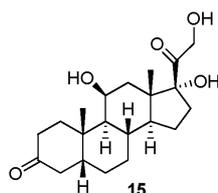


16

в контакт с агентом, окисляющим вицинальные спирты, в условиях окисления.

В некоторых вариантах реализации изобретения лучшим окисляющим агентом вицинального спирта является тетраацетат ($Pb(OAc)_4$) или периодат натрия ($NaIO_4$).

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение 16 получают способом, включающим приведение соединения 15



15

в контакт по меньшей мере с 2 экв. восстанавливающего агента в условиях, при которых карбонильные группы восстанавливаются до спиртовых групп.

В некоторых вариантах реализации изобретения восстанавливающий агент содержит борогидрид натрия, цианоборогидрид натрия, алюмогидрид лития и т.п.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение 15 получают способом, включающим проведение реакции гидрокортизона:

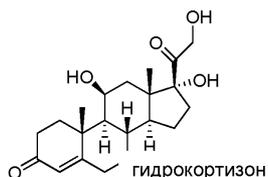


по меньшей мере, с эквивалентным по молям количеством водорода в условиях гидрирования.

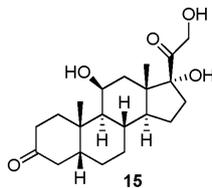
В некоторых вариантах реализации изобретения условия гидрирования включают Pd/C в качестве катализатора. В некоторых вариантах реализации изобретения условия гидрирования включают ДМФ в качестве растворителя.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ получения соединения 12 включает:

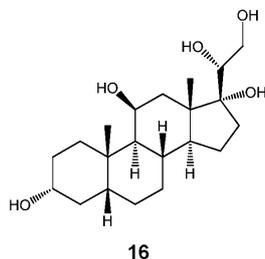
а) приведение гидрокортизона



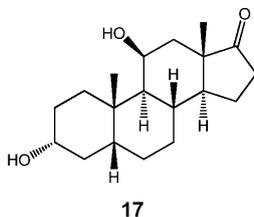
в контакт, по меньшей мере, с эквивалентным по молям количеством водорода в условиях гидрирования с получением соединения 15, представляющего собой 4,5-β-дигидрогидрокортизон:



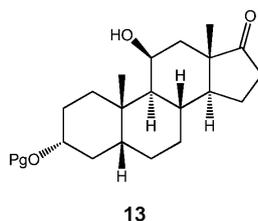
б) приведение соединения 15 в контакт по меньшей мере с 2 экв. восстанавливающего агента в условиях, при которых карбонильные группы восстанавливаются до спиртовых групп, с получением соединения 16:



с) приведение соединения 16 в контакт с агентом, окисляющим вицинальные спирты, в условиях окисления с получением соединения 17:

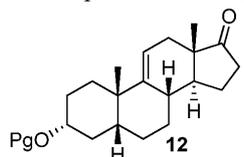


д) избирательную защиту гидроксильной группы соединения 17, находящейся в положении 3, с получением соединения 13:



где Pg представляет собой защитную группу для гидроксильной группы;

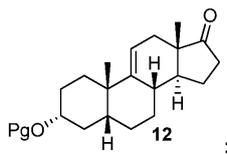
е) действие на соединение 13 условий дегидратации с получением соединения 12:



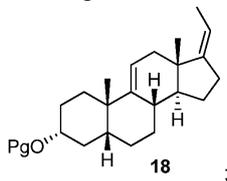
Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ получения соединения 28, включающий действие на соединение 12 условий снятия защитной группы. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой -C(O)-низший алкил, и условия снятия защитной группы включают условия гидролиза. В некоторых вариантах реализации изобретения условия гидролиза включают применение гидроксида щелочного металла или алкоксида щелочного металла и воды.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложен способ получения ДХК или ее соли, включающий:

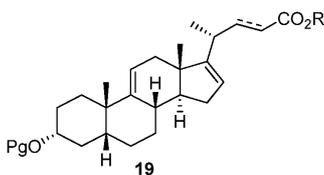
a-e) получение соединения 12, как описано выше:



f) превращение соединения 12 в условиях образования олефина с получением соединения 18:

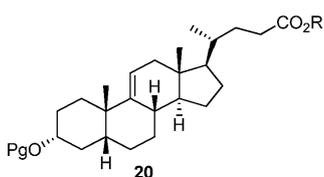


g) проведение реакции соединения 18 с алкилпропиолатом $\text{CH}\equiv\text{CC}(\text{O})\text{OR}$ или алкилакрилатом $\text{CH}_2=\text{CHC}(\text{O})\text{OR}$, где R представляет собой алкил, в присутствии кислоты Льюиса с получением соединения 19:

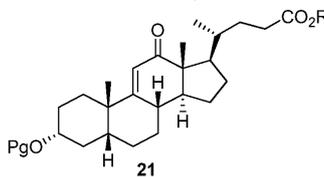


где линия \equiv представляет собой одинарную или двойную связь;

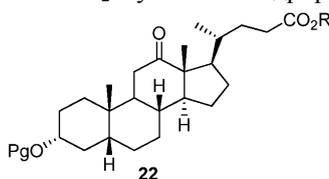
h) проведение реакции соединения формулы 19 с H_2 в условиях гидрирования с получением соединения 20:



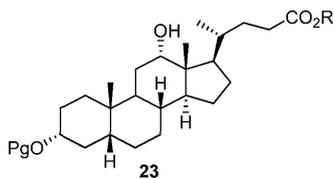
i) проведение реакции соединения 20 с окисляющим агентом с получением соединения 21:



j) проведение реакции соединения 21 с H_2 в условиях гидрирования с получением соединения 22:



k) проведение реакции соединения 22 с восстанавливающим агентом с получением соединения 23:



l) действие на соединении 23 условий снятия защитной группы и гидролиза с получением дезокси-холовой кислоты или ее соли.

В одном из вариантов реализации изобретения условия гидрирования на этапе a) включают катализатор Pd/C. В некоторых вариантах реализации изобретения условия гидрирования включают ДМФ в качестве растворителя.

В одном из вариантов реализации изобретения восстанавливающий агент на этапе b) представляет собой NaBH_4 .

В одном из вариантов реализации изобретения агент, окисляющий vicinalные спирты, на этапе c) представляет собой NaIO_4 .

В одном из вариантов реализации изобретения защитная группа Pg соединений формул 13-23 представляет собой -C(O)-низший алкил, например -C(O)CH₃. В некоторых вариантах реализации изобретения соединение 17 подвергают действию условий ацилирования с получением 35, такому как обработка 17 уксусным ангидридом и органическим основанием, таким как Et₃N, пиридин и/или диметиламинопиридин.

В одном из вариантов реализации изобретения условия дегидратации на этапе e) включают превращение гидроксильной группы соединения формулы 13 в -L, где -L представляет собой уходящую группу, такую как -OS(O)Cl, -OSO₂R² (где R² представляет собой низший алкил, или фенил, или фенил, содержащий в качестве заместителя алкил, например, -CH₃ или -C₆H₅CH₃), -ORX₂ (где X представляет собой бром или OR³, где R³ представляет собой низший алкил). В некоторых вариантах реализации изобретения условия дегидратации включают применение тионилхлорида и пиридина.

В одном из вариантов реализации изобретения условия образования олефина на этапе f) включают агент Виттига, такой как Ph₃PCH₂CH₃⁺Vg⁻.

В одном из вариантов реализации изобретения кислота Льюиса, применяемая на этапе g), представляет собой EtAlCl₂.

В одном из вариантов реализации изобретения алкилпропионат, применяемый на этапе g), представляет собой метилпропионат.

В одном из вариантов реализации изобретения алкилакрилат, применяемый на этапе g), представляет собой метилакрилат.

В одном из вариантов реализации изобретения условия гидрирования на этапе h) включают катализатор PtO₂ или Pd/C.

В одном из вариантов реализации изобретения окисляющий агент, применяемый на этапе i), представляет собой CrO₃.

В одном из вариантов реализации изобретения окисляющий агент, применяемый на этапе i), содержит трет-бутилгидропероксид. В одном из вариантов реализации изобретения окисляющий агент, применяемый на этапе i), содержит избыток трет-бутилгидропероксида (например, примерно 35 экв.) и избыток гипохлорита натрия (например, примерно 7 экв.) при пониженной температуре (например, примерно 0-5°C). В другом варианте реализации изобретения окисляющий агент, применяемый на этапе i), содержит палладиевый реагент (например, Pd/C), избыток трет-бутилгидропероксида (например, примерно 5 экв.) и карбонат калия в дихлорметане (ДХМ).

В одном из вариантов реализации изобретения условия гидрирования на этапе j) включают катализатор Pd/C.

В одном из вариантов реализации изобретения восстанавливающий агент, применяемый на этапе k), представляет собой LiAl(OtBu)₃H.

В одном из вариантов реализации изобретения условия снятия защитной группы и гидролиза на этапе l) при Pg, представляющем собой -C(O)CH₃, включают проведение реакции соединения 38 с гидроксидом щелочного металла, алкоксидом щелочного металла или их смесью.

В одном из вариантов реализации изобретения гидроксид щелочного металла представляет собой LiOH или NaOH.

В одном из вариантов реализации изобретения соли дезоксихолевой кислоты могут быть получены с помощью реакции с алкоксидом или гидроксидом щелочного металла. Соли дезоксихолевой кислоты включают соли натрия (Na⁺), калия (K⁺) и лития (Li⁺).

Как показано в примере 3, в одном из вариантов реализации согласно настоящему изобретению предложено образование побочных продуктов, которые могут быть переработаны как промежуточные соединения в способах, описанных в настоящем документе.

В. Превращение 11-β-гидрокси/11-кетостероидов в соответствующие 12-α-гидрокси/12-кетостероиды.

В другом варианте реализации согласно настоящему изобретению предложены способы синтеза для эффективного превращения 11-β-гидрокси/11-кетостероидов в соответствующие 12-α-гидрокси/12-кетостероиды, которые подходят для применения в синтезе желчных кислот. В указанных способах предпочтительно применяют стероиды, такие как 9-HAD, кортизон или гидрокортизон, которые также могут быть получены синтетически и превращены в соединение 4 способами, описанными, например, в предварительной заявке на патент США №. 61/303816, поданной 12 февраля 2010 г., названной "Preparation of Deoxycholic Acid and Intermediates Thereof", которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки.

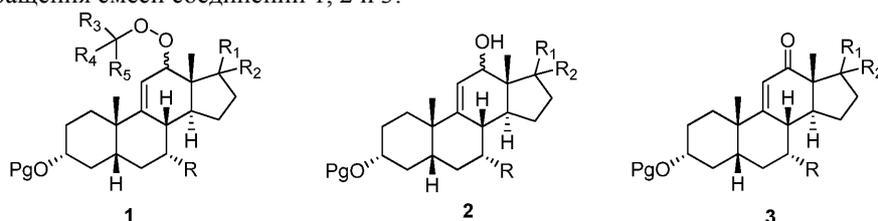
В некоторых вариантах реализации изобретения аллильное окисление осуществляют в присутствии палладия на древесном угле и основания. В другом варианте реализации изобретения аллильное окисление по положению 12 соединения 4 осуществляют с помощью палладиевого реагента (например, Pd/C, Pd(OAc)₂-BINAP, Pd(OCOCF₃)₂ или Pd(OAc)₂ на древесном угле), избытка трет-бутилгидропероксида (например, примерно 5 экв.) и карбоната калия или бифосфата натрия в растворителе, таком как ДХМ.

В некоторых вариантах реализации изобретения превращение соединения 1 в соединение 3 включает добавление палладиевого реагента (например, Pd/C, Pd(OAc)₂-BINAP, Pd(OCOCF₃)₂ или Pd(OAc)₂ на древесном угле), избытка трет-бутилгидропероксида (например, примерно 5 экв.) и карбоната калия или бифосфата натрия в растворителе, таком как ДХМ.

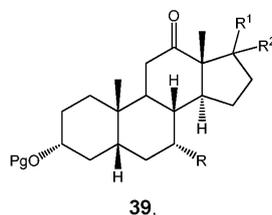
В некоторых вариантах реализации изобретения окисление соединения 2 включает добавление окисляющего агента, способного окислять спиртовую функциональную группу (-OH) до кетонной функциональной группы (=O), который известен в данной области, например, хлорхромата пиридиния (XXII). Количество применяемого при указанном добавлении хлорхромата пиридиния является значительно меньшим, чем применяемого триоксида хрома (IV). Например, в предпочтительном варианте реализации изобретения хлорхромат пиридиния и соединение 2 применяют в молярном соотношении, составляющем примерно 1 к 1,5, и предпочтительно в молярном соотношении, составляющем примерно 1,1. Указанное количество является более подходящим по сравнению с количеством триоксида хрома, применяемого ранее для осуществления окисления, количество триоксида хрома является примерно в 4 раза большим.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение 1 сначала отделяют от смеси, а затем превращают в соединение 2 путем восстановления с применением, например, восстанавливающего агента, такого как амальгама алюминия, или каталитического гидрирования.

Согласно другому аспекту указанного способа, настоящее изобретение относится к двухэтапному способу превращения смеси соединений 1, 2 и 3:



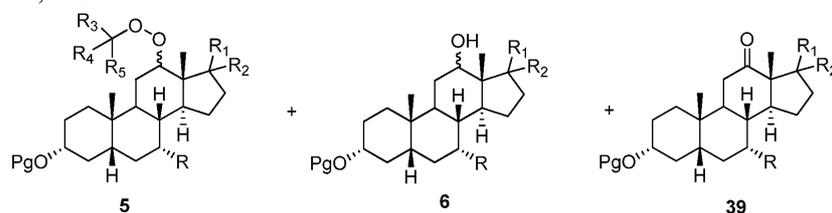
в соответствующее 12-кетосоединение 39:



где каждый из Pg, R, R¹, R², R³, R⁴, и R⁵ определен выше;

при этом указанный способ включают сначала проведение реакции указанной смеси в условиях гидрирования, а затем проведение реакции образующегося таким образом продукта в условиях окисления.

В некоторых вариантах реализации изобретения гидрирование смеси соединений 1, 2 и 3 образует смесь соединений 5, 6 и 39:



В некоторых вариантах реализации изобретения условия гидрирования включают газообразный водород, катализатор и растворитель. В некоторых вариантах реализации изобретения катализатор выбран из группы, состоящей из платины (Pt), палладия (Pd), родия (Rh) и рутения (Ru), являющихся основой катализаторов, таких как Pd/C, PhCl(PPh₃)₃ и PtO₂. В некоторых вариантах реализации изобретения растворитель представляет собой этилацетат (AcOEt).

В некоторых вариантах реализации изобретения условия окисления включают окисляющий агент, способный окислять спиртовую функциональную группу (-OH) до кетонной функциональной группы (=O), который известен в данной области.

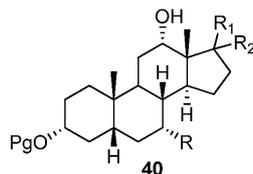
Условия окисления, известные в данной области, включают, но не ограничены ими, окисление Кори-Кима (с применением N-хлорсукцинимидом и диметилсульфида), окисление Десса-Мартина (с приме-

нением 2-иодоксибензойной кислоты или периодина Десса-Мартина), окисление Джонса (с применением CrO_3) и окисление Сверна (с применением диметилсульфоксида и оксалилхлорида).

В некоторых вариантах реализации изобретения окисляющий агент представляет собой хлорхромат пиридиния (XXII). Другой окисляющий агент может включать, но не ограничен ими, дихромат пиридиния, перкарбонат натрия, йодоксибензойную кислоту, V_2O_5 , $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, CrO_3 , комплекс мочевины с пероксидом водорода, оксон и т.д.

В случае образования кетогруппы группами R^1 и R^2 совместно с присоединенным к ним атомом углерода, кетогруппа может быть превращена в боковую цепь желчной кислоты, находящуюся в положении 17, способами, известными в данной области, такими как способ, описанный в WO 2008/157635, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

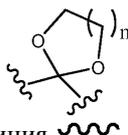
Согласно одному из аспектов указанный способ дополнительно включает восстановление соединения 39 с получением соединения 40:



В некоторых вариантах реализации изобретения восстановление соединения 39 с получением соединения 40 включает добавление восстанавливающего агента, способного стереоселективно, предпочтительно стереоспецифично, восстанавливать кетонную функциональную группу ($=\text{O}$) до спиртовой функциональной группы ($-\text{OH}$), например три(трет-бутокси)алюмогидрид лития.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 и R^2 совместно с присоединенным к ним атомом углерода образуют кетогруппу.

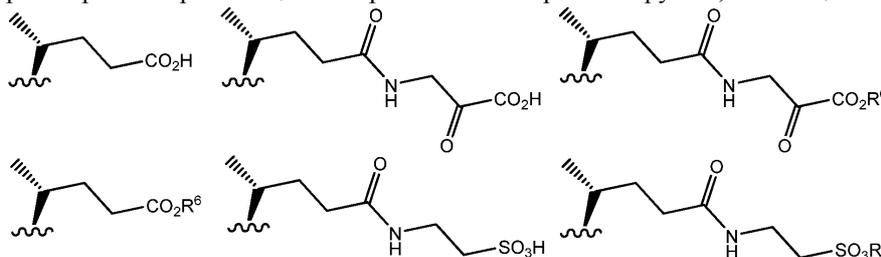
В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 и R^2 совместно с присоединенным к ним атомом углерода образуют защитную группу для кетогруппы, такую как



где n составляет 1, 2, или 3, а волнистая линия  представляет собой место присоединения к остальной молекуле.

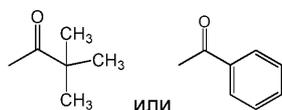
В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 представляет собой боковую цепь в положении 17 желчной кислоты, выбранной из группы, состоящей из хенолевой кислоты, дезоксихолевой кислоты, таурохолевой кислоты и гликохолевой кислоты. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоксильная функциональная группа в указанной боковой цепи необязательно этерифицирована C_1 - C_6 -алкильной группой, например, C_1 - C_4 -алкильной группой, такой как метильная группа.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 выбрана из группы, состоящей из:



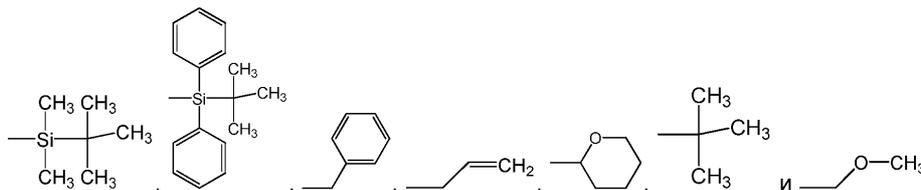
где R^6 представляет собой низший алкил, а волнистая линия  показывает место присоединения по положению 17 стероидного остова.

В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{12}$, где R^{12} представляет собой низший алкил, необязательно, содержащий от одного до пяти заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена и $-\text{OR}^{13}$; и фенил, необязательно, содержащий от одного до пяти заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, низшего алкила и $-\text{OR}^{13}$; где R^{13} представляет собой водород или низший алкил. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой:



В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой $-\text{R}^{14}$, где R^{14} выбран из группы, состоящей из низшего алкила, необязательно, содержащего в качестве заместителя фенил, $-\text{OR}^{13}$ или винил ($-\text{CH}=\text{CH}_2$); $-\text{Si}(\text{R}^{15})_3$, гетероциклоалкила и фенила, необязательно, содержащего от одного до

пяти заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, низшего алкила и $-OR^{13}$; где R^{13} представляет собой водород или низший алкил и каждый из R^{15} независимо друг от друга выбран из группы, состоящей из низшего алкила и фенила. В некоторых вариантах реализации изобретения R_g выбран из группы, состоящей из:



В указанном способе согласно настоящему изобретению осуществляют превращение 11β -гидроксистероида (который может быть получен из соответствующего 11 -кетостероида путем обычной реакции восстановления кетогруппы) с последующей дегидратацией с получением Δ -9,11-енового стероида, который окисляют до соответствующего 12 -кетостероида алкилгидропероксидом. Указанный способ обеспечивает неожиданно высокие выходы по сравнению с ранее известными способами, в которых для превращения Δ -9,11-енового стероида в 12 -кетостероид применяют окисляющий агент, такой как CrO_3 . Как показано в таблице в нижеприведенном Примере 2, выход при применении CrO_3 в ходе получения дезоксихоловой кислоты как правило составлял менее 50 или менее 40%. При применении способа согласно настоящему изобретению неизменно получали неожиданно высокие выходы, составлявшие более 60%. Более того, применение $NaOCl$ (водного раствора гипохлорита натрия) и ТБП является значительно более экологически безопасным, чем окисляющих агентов, представляющих собой соединения хрома (VI).

Согласно другому аспекту указанного способа настоящее изобретение относится к способу превращения 11β -гидроксистероида в соответствующий 12 -кетостероид, включающему:

- а) выбор соответствующим образом защищенного 11β -гидроксистероида;
- б) дегидратацию 11β -гидроксистероида с получением в указанном стероиде Δ -9,11-еновой функциональной группы;
- в) осуществление аллильного окисления по положению 12 посредством проведения реакции стероидного продукта, полученного на вышеуказанном этапе б), с алкилгидропероксидом в присутствии со-окислителя; и
- г) гидрирование Δ -9,11-еновой функциональной группы с получением 9α -гидро-11-дигидро-12-кетостероида; и
- д) необязательно, восстановление функциональной группы 12-кето 9α -гидро-11-дигидро-12-кетостероида, полученного на вышеуказанном этапе г), с применением эффективного количества восстанавливающего агента с получением 9α -гидро-11-дигидро-12- α -гидроксистероида.

В некоторых вариантах реализации изобретения алкилгидропероксид представляет собой трет-бутилгидропероксид. Соокислитель может представлять собой один из соокислителей, описанных в настоящем документе.

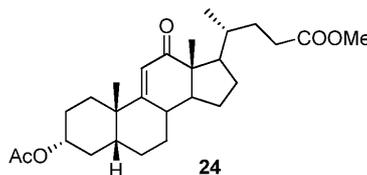
В некоторых вариантах реализации изобретения 11β -гидроксистероид получают восстановлением соответствующего 11 -кетостероида, по меньшей мере, стехиометрическим количеством восстанавливающего агента с получением 11β -гидроксистероида.

В некоторых вариантах реализации изобретения 11β -гидроксистероид представляет собой гидрокортизон или производное гидрокортизона, такое как защищенный гидрокортизон.

Следует понимать, что отдельные этапы способов, описанных в настоящем документе, могут быть проведены последовательно, в порядке их описания, но выполнять их последовательно не обязательно. Один или более этапов могут быть выполнены как часть более общей схемы. Специалист в данной области может легко осуществить реакцию других фрагментов соединений, описанных в настоящем документе, для получения аналогов указанных соединений.

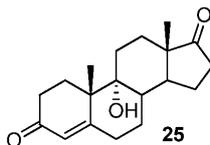
С. Синтез соединения 24 из соединения 25.

В другом варианте реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения 24:

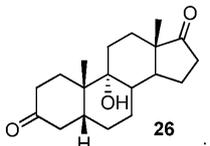


включающий:

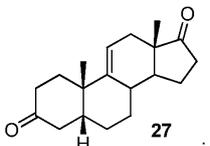
a) приведение в контакт соединения 25



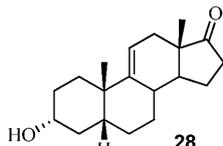
в условиях гидрирования, включающих применение водорода и по меньшей мере 8% по массе Pd на угле влажностью 50% в растворителе, выбранном из группы, состоящей из ацетона, изопропанола, этил-ацетата, N,N-диметилформамида и тетрагидрофурана, в автоклаве, в котором поддерживается повышенное давление, с получением соединения 26:



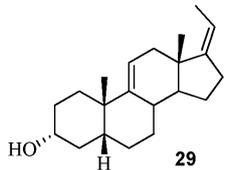
b) дегидратацию соединения 26 в присутствии серной кислоты в условиях, при которых происходит отделение воды, с получением соединения 27:



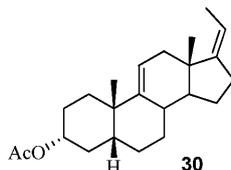
c) приведение соединения 27 в контакт с избытком три(трет-бутоксид)алюмогидрида лития в условиях избирательного восстановления, включающих температуру от -40 до -45°C, с получением соединения 28:



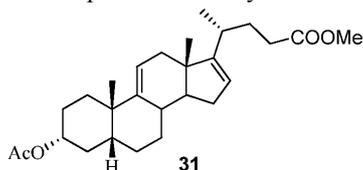
d) приведение соединения 28 в контакт с избытком этилтриарилфосфоний галогенида в условиях реакции Виттига с получением соединения 29:



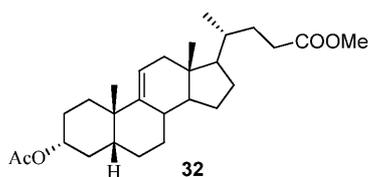
e) защита 3α-гидроксигруппы соединения 29 в условиях ацетилирования, включающих наличие избытка уксусного ангидрида, с получением соединения 30:



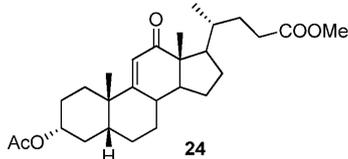
f) приведение соединения 30 в контакт с избытком метилакрилата в присутствии избытка дихлорида C₁-C₂-алкилалюминия в условиях алкилирования с получением соединения 31:



g) приведение соединения 31 в контакт с водородом и катализатором гидрирования, выбранным из платины и безводного палладия на угле, в инертном растворителе в условиях гидрирования, включающих применение автоклава, в котором поддерживается повышенное давление, с получением соединения 32:

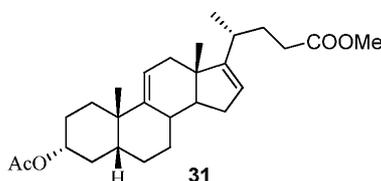


h) приведение в контакт соединения 32, растворенного в инертном растворителе, в условиях совместного окисления, включающих наличие избытка C_4-C_6 трет-алкилгидропероксида в качестве основного окислителя и избытка NaOCl в качестве соокислителя, необязательно, с последующим дополнительным окислением незначительным избытком хлорхромата пиридиния с получением соединения 24:

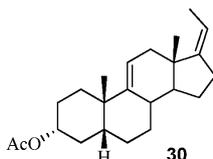


которое промывают метанолом.

В альтернативном варианте реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения 31



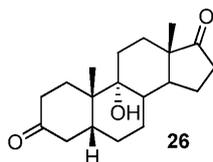
путем приведения соединения 30



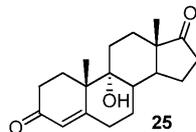
в контакт с метилакрилатом в присутствии кислоты Льюиса.

В другом варианте реализации изобретения кислота Льюиса представляет собой $EtAlCl_2$.

В другом варианте реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения 26



путем приведения соединения 25

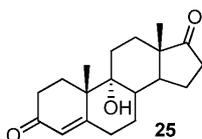


в контакт в условиях гидрирования, включающих применение водорода и 10% Pd/C, причем гидрирование происходит в присутствии N,N-диметилформаида или ацетона.

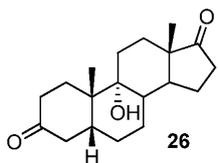
В другом варианте реализации изобретения гидрирование происходит в присутствии ацетона.

В другом варианте реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения 24, включающий:

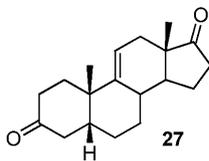
а) приведение в контакт соединения 25



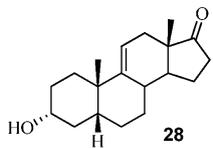
в условиях гидрирования, включающих применение водорода и по меньшей мере 8% по массе Pd на угле влажностью 50% в растворителе, выбранном из группы, состоящей из ацетона, изопропанола, этилацетата, N,N-диметилформаида и тетрагидрофурана, в автоклаве, в котором поддерживается повышенное давление, с получением соединения 26:



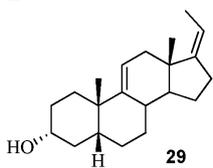
b) дегидратацию соединения 26 в присутствии серной кислоты в условиях, при которых происходит отделение воды, с получением соединения 27:



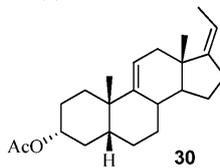
с) приведение соединения 27 в контакт с избытком три(трет-бутокс)алюмогидрида лития в условиях избирательного восстановления, включающих температуру от -40 до -45°C , с получением соединения 28:



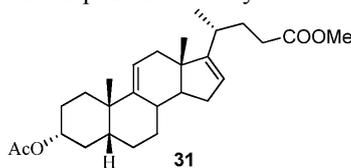
d) приведение соединения 28 в контакт с избытком этилтриарилфосфоний галогенида в условиях реакции Виттига с получением соединения 29:



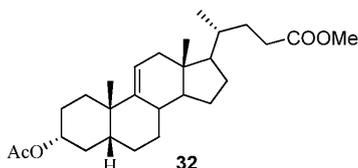
e) защиту 3α -гидроксигруппы соединения 29 в условиях ацелирования, включающих наличие избытка уксусного ангидрида, с получением соединения 30:



f) приведение соединения 30 в контакт с избытком метилакрилата в присутствии избытка дихлорида C_1 - C_2 -алкилалюминия в условиях алкилирования с получением соединения 31:



g) приведение соединения 31 в контакт с водородом и катализатором гидрирования, выбранным из группы, состоящей из платины и безводного палладия на угле, в инертном растворителе в условиях гидрирования, включающих применение автоклава, в котором поддерживается повышенное давление, с получением соединения 32:



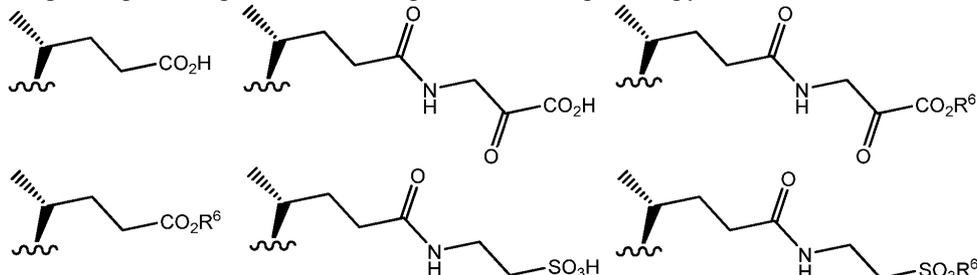
h) приведение в контакт соединения 32, растворенного в инертном растворителе, в условиях совместного окисления, включающих наличие избытка C_4 - C_6 трет-алкилгидропероксида в качестве основного окислителя и избытка NaOCl в качестве соокислителя, необязательно, с последующим дополнительным окислением незначительным избытком хлорхромата пиридиния с получением соединения 24:

R^1 представляет собой боковую цепь в положении 17 желчной кислоты, выбранной из группы, состоящей из холевой кислоты, дезоксихолевой кислоты, таурохолевой кислоты и гликохолевой кислоты, причем карбоксильная функциональная группа в указанной боковой цепи необязательно этерифицирована C_1 - C_6 -алкильной или бензильной группой; и

R^2 представляет собой водород, или R^1 и R^2 совместно с присоединенным к ним атомом углерода образуют кетогруппу или защитную группу для кетогруппы; и

каждый из R^3 , R^4 и R^5 независимо друг от друга представляет собой C_1 - C_3 -алкил.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 выбран из группы, состоящей из:



где R^6 представляет собой низший алкил, а волнистая линия  представляет собой место присоединения к положению 17 стероидного остова.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 представляет собой боковую цепь в положении 17 желчной кислоты, выбранной из группы, состоящей из холевой кислоты, дезоксихолевой кислоты, таурохолевой кислоты и гликохолевой кислоты. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоксильная функциональная группа в указанной боковой цепи необязательно этерифицирована C_1 - C_6 -алкильной группой, такой как метил, этил или трет-бутил.

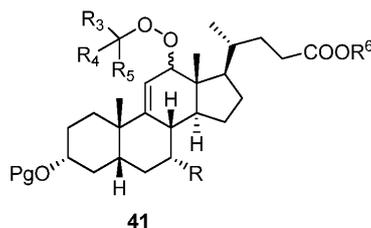
В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 и R^2 совместно с присоединенным к ним атомом углерода образуют кетогруппу.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 и R^2 совместно с присоединенным к ним атомом углерода образуют защитную группу для кетогруппы, такую как:

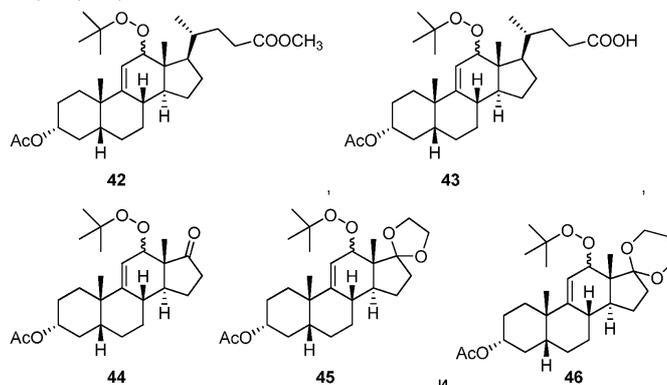


где n составляет 1, 2, или 3, а волнистая линия  показывает место присоединения к остальной молекуле.

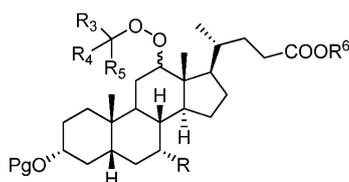
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 1 представляет собой соединение 41:



В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 1 выбрано из группы, состоящей из соединения 42, 43, 44, 45 или 46:

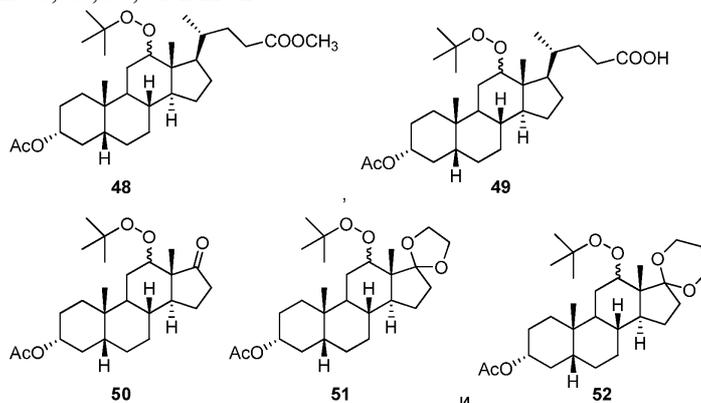


В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 5 представляет собой соединение 47:

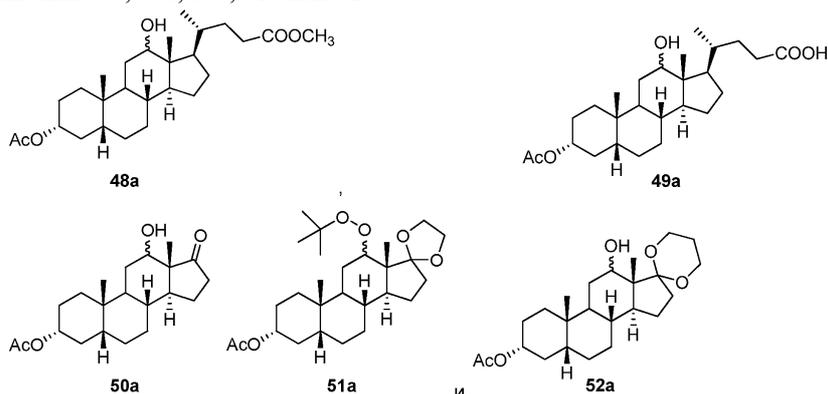


47

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 5 выбрано из группы, состоящей из соединения 48, 49, 50, 51 или 52:



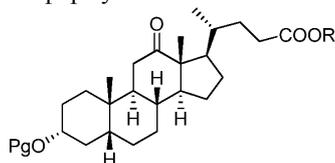
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 6 выбрано из группы, состоящей из соединения 48a, 49a, 50a, 51a или 52a:



D. Синтез ДХК из соединения 53.

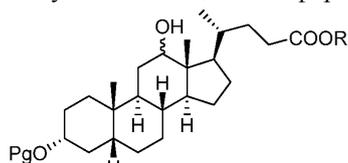
В другом варианте реализации изобретения предложен способ получения дезоксихолевой кислоты (ДХК) или ее фармацевтически приемлемой соли, включающий:

(1) проведение реакции соединения формулы 53



53

с восстанавливающим агентом с получением соединения формулы 54



54

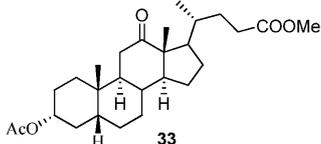
где Pg представляет собой защитную группу, а R представляет собой алкил; и

(2) действие на соединение формулы 54 условий снятия защитной группы и гидролиза с получением дезоксихолевой кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли.

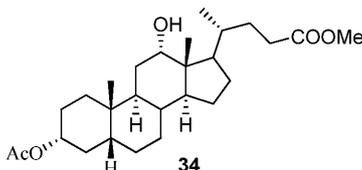
В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой $-C(O)R^1$, где R^1 представляет собой низший алкил. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой $-C(O)CH_3$. В некоторых вариантах реализации изобретения условия гидролиза включают применение

гидроксида щелочного металла, алкоксида щелочного металла или их смеси. В некоторых вариантах реализации изобретения гидроксид щелочного металла представляет собой LiOH или NaOH.

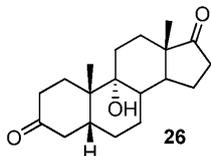
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 53 представляет собой соединение формулы 33, которое представляет собой метил-3 α -ацетокси-5 β -холан-12-он-24-оат:



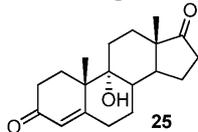
а соединение формулы 54 представляет собой соединение формулы 34, которое представляет собой метил-3 α -ацетокси-12 α -гидрокси-5 β -холан-24-оат:



В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения формулы 26, которое представляет собой 9 α -гидрокси-5 β -андростан-3,17-дион:



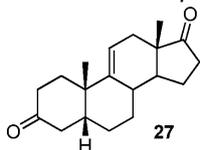
причем указанный способ включает проведение реакции 9 α -гидроксиандрост-4-ен-3,17-диона



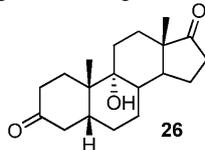
с H₂ в условиях гидрирования с получением 9 α -гидрокси-5 β -андростан-3,17-диона.

В некоторых вариантах реализации изобретения условия гидрирования включают растворитель, который представляет собой ДМФ, ацетон, этилацетат и т.п.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения формулы 27, которое представляет собой 5 β -андрост-9(11)-ен-3,17-дион:

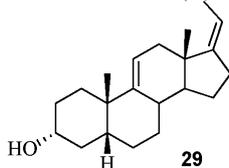


причем указанный способ включает проведение реакции соединения формулы 26:

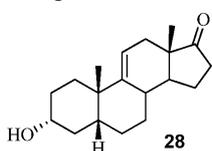


с кислотой с получением соединения формулы 27.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения формулы 29, которое представляет собой (Z)-3 α -гидрокси-5 β -прегна-9(11),17(20)-диен:

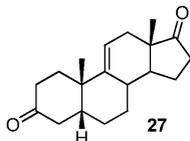


и указанный способ включает проведение реакции соединения формулы 28



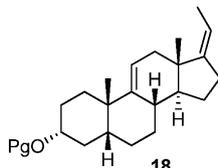
с двухуглеродным реагентом олефинирования в условиях получения олефина с получением (Z)-3 α -гидрокси-5 β -прегна-9(11),17(20)-диена.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 28 получают путем проведения реакции соединения формулы 27

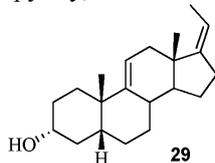


с восстанавливающим агентом с получением соединения формулы 28.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения формулы 18



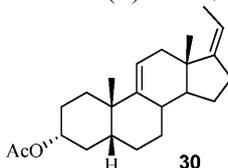
где Pg представляет собой защитную группу, включающий превращение соединения формулы 29



в соединении формулы 18.

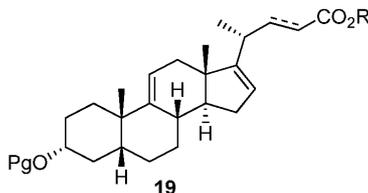
В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой -C(O)R¹, где R¹ представляет собой низший алкил. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой -C(O)CH₃.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 18 представляет собой соединение формулы 30, которое представляет собой (Z)-3 α -ацетокси-5 β -прегна-9(11),17(20)-диен:



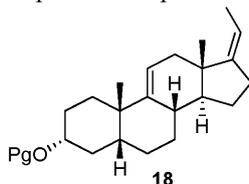
при этом способ получения включает действие на соединение формулы 55 условий ацилирования с получением (Z)-3 α -ацетокси-5 β -прегна-9(11),17(20)-диена.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения формулы 19



где R представляет собой алкил, Pg представляет собой защитную группу, а линия \equiv представляет собой одинарную или двойную связь,

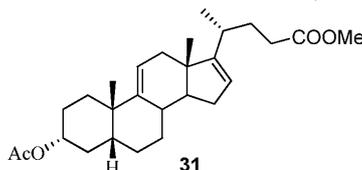
при этом указанный способ включает проведение реакции соединения формулы 18



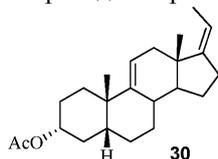
с алкилпропиолатом CH₂=CC(O)OR или алкилакрилатом CH₂=CHC(O)OR в присутствии кислоты Льюиса с получением соединения формулы 19.

В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой -C(O)R¹, где R¹ представляет собой низший алкил. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой -C(O)CH₃. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой CH₃C(O) и R представляет собой CH₃.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 19 представляет собой соединение формулы 31, которое представляет собой метил-3 α -ацетокси-5 β -хол-9(11),16-диен-24-оат:

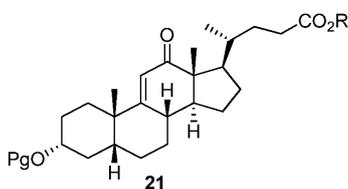


и способ получения которого включает проведение реакции соединения формулы 30

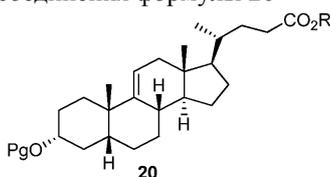


с $\text{CH}_2\text{CHC}(\text{O})\text{OCH}_3$ в присутствии кислоты Льюиса с получением метил-3 α -ацетокси-5 β -хол-9(11),16-диен-24-оата.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения формулы 2:

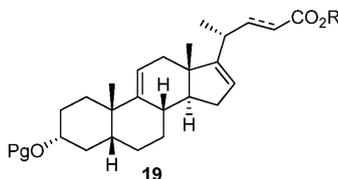


где Pg представляет собой защитную группу, и R представляет собой алкил, при этом указанный способ включает проведение реакции соединения формулы 20



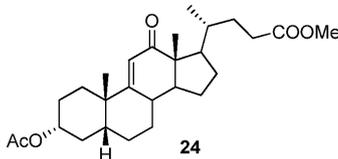
с окисляющим агентом с получением соединения формулы 21.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 20 получают путем проведения реакции соединения формулы 19

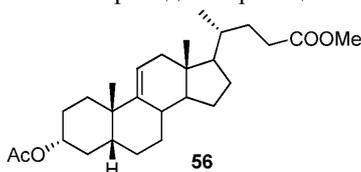


где линия ==== представляет собой одинарную или двойную связь, с H_2 в условиях гидрирования.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 21 представляет собой соединение формулы 24, которое представляет собой метил-3 α -ацетокси-5 β -хол-9(11)-ен-12-он-24-оат:

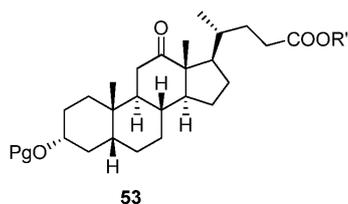


и способ получения которого включает проведение реакции соединения формулы 56

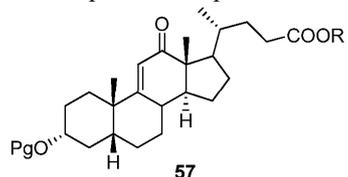


с окисляющим агентом с получением соединения формулы 24.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения формулы 53



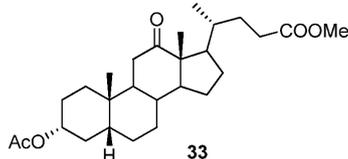
где Pg представляет собой защитную группу и R представляет собой алкил, при этом указанный способ включает проведение реакции соединения формулы 57:



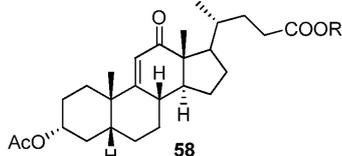
с H₂ в условиях гидрирования с получением соединения формулы 53.

В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой -C(O)R¹, где R¹ представляет собой низший алкил. В некоторых вариантах реализации изобретения Pg представляет собой -C(O)CH₃.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы 53 представляет собой соединение формулы 33, которое представляет собой метил-3α-ацетокси-5β-холан-12-он-24-оат:

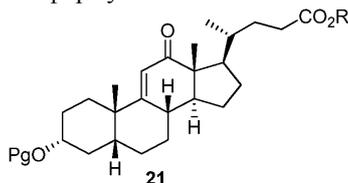


и способ получения которого включает проведение реакции соединения формулы 58

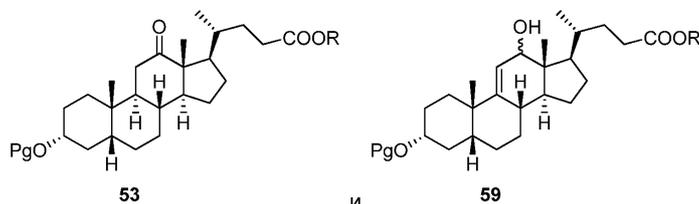


с H₂ в условиях гидрирования с получением метил-3α-ацетокси-5β-холан-12-он-24-оата. В некоторых вариантах реализации изобретения способ включает:

(а) проведение реакции соединения формулы 21



с H₂ в условиях гидрирования с получением смеси соединения формулы 53 и соединения формулы 59:



(b) приведение смеси соединения формулы 53 и соединения формулы 59 в контакт с окисляющим реагентом в условиях получения смеси соединения формулы 57 и соединения формулы 53 и

(с) приведение смеси соединения формулы 57 и соединения формулы 53 в контакт с H₂ в условиях гидрирования с получением соединения формулы 53.

В некоторых вариантах реализации изобретения окисляющий агент представляет собой хлорхромат пиридина.

Согласно предпочтительным вариантам реализации изобретения соединения могут быть получены из легкодоступных исходных материалов с применением следующих общих способов и процедур. Следует принимать во внимание, что если заданы типичные или предпочтительные условия осуществления способа (например, температуры реакций, продолжительность реакций, молярные соотношения реаген-

тов, растворители, величина давления в ходе реакций и т.д.), также могут быть применены другие условия осуществления способа, если не указано иное. Оптимальные условия реакций могут быть изменены в зависимости от применения конкретных реагентов или растворителей, но такие условия могут быть определены специалистом в данной области посредством общепринятых алгоритмов оптимизации.

Кроме того, специалисту в данной области будет очевидно, что традиционные защитные группы могут быть необходимы для предохранения определенных функциональных групп от вступления в нежелательные реакции. Подходящие защитные группы для различных функциональных групп, а также подходящие условия защиты и снятия защиты отдельных функциональных групп являются хорошо известными в данной области. Например, многие защитные группы описаны в T.W. Greene и G.M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, третье издание, Wiley, New York, 1999 и приведенных в ней ссылках.

Исходные материалы и реагенты для реакций, описанных в настоящем документе, являются широко известными соединениями или могут быть получены с применением известных процедур или их понятных модификаций. Например, многие исходные материалы и реагенты предоставлены частными поставщиками, такими как Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, USA), Bachem (Torrance, California, USA), Emka-Chem or Sigma (St. Louis, Missouri, USA). Другие исходные материалы и реагенты могут быть получены с применением процедур или их понятных модификаций, описанных в стандартных справочниках, таких как Fieser и Fieser's Reagents for Organic Synthesis, тома 1-15 (John Wiley and Sons, 1991), Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, тома 1-5 и дополнительные тома (Elsevier Science Publishers, 1989), Organic Reactions, тома 1-40 (John Wiley and Sons, 1991), March's Advanced Organic Chemistry, (John Wiley and Sons, 4th Edition) и Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989). Например, гидрокортизон может быть получен из кортизона с применением традиционных способов восстановления.

Различные исходные материалы, промежуточные соединения и соединения согласно предпочтительным вариантам реализации изобретения в случае необходимости могут быть отделены и очищены с применением традиционных способов, таких как осаждение, фильтрование, кристаллизация, выпаривание, дистилляция и хроматография. Определения параметров указанных соединений могут быть выполнены с применением традиционных способов, таких как способы, основанные на значении температуры плавления, масс-спектре, ядерном магнитном резонансе и других видах спектрального анализа.

Методология.

В способах очистки согласно настоящему изобретению применяют дезоксихолевую кислоту (ДХК), степень чистоты которой составляет примерно 95% или менее и в некоторых случаях примерно 80% или менее. Указанные способы повышают степень чистоты указанных ДХК-композиций по меньшей мере до примерно 96% или по меньшей мере до 99%.

Согласно одному из аспектов согласно настоящему изобретению предложен способ очистки дезоксихолевой кислоты (ДХК) с получением ДХК, степень чистоты которой составляет более чем 96% или по меньшей мере 99%. В одном из вариантов реализации изобретения указанный способ включает:

(a) приведение ДХК, степень чистоты которой составляет примерно 95% или менее, в контакт с растворителем, содержащим дихлорметан, в условиях, при которых образуется раствор ДХК;

(b) кристаллизацию ДХК из раствора ДХК, полученного на этапе (a), с получением раствора, содержащего кристаллическую ДХК;

(c) выделение кристаллической ДХК и удаление достаточного количества дихлорметана с получением степени чистоты выделенной кристаллической ДХК, составляющей более чем 96%.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ очистки дезоксихолевой кислоты (ДХК) с получением ДХК, степень чистоты которой составляет более чем 96% или по меньшей мере 99%. В одном из вариантов реализации изобретения указанный способ включает:

(a) приведение ДХК, степень чистоты которой составляет примерно 95% или менее, в контакт с растворителем, содержащим дихлорметан и метанол, в условиях, при которых образуется раствор ДХК;

(b) кристаллизацию ДХК из раствора ДХК, полученного на этапе (a), с получением раствора, содержащего кристаллическую ДХК;

(c) выделение кристаллической ДХК и удаление достаточного количества дихлорметана с получением степени чистоты выделенной кристаллической ДХК, составляющей более чем 96%.

В некоторых вариантах реализации изобретения один из вышеуказанных способов повторяют.

В одном из вариантов реализации изобретения ДХК, степень чистоты которой составляет примерно 95% или менее, растворяют в смеси дихлорметана и метанола. При необходимости растворению можно способствовать путем нагревания растворителя до кипения с применением обратного холодильника. Кроме того, при необходимости любые нерастворимые примеси могут быть удалены путем фильтрования, как правило, путем фильтрования раствора при повышенной температуре, например, с применением фильтра, размер пор которого составляет примерно 5 мкм или менее.

Наиболее оптимальное количество дихлорметана и метанола, первоначально применяемых в системах растворителей в способах согласно настоящему изобретению, устанавливают в соотношении по массе, составляющем от примерно 100:1 до примерно 3:1, или от примерно 50:1 до примерно 4:1, или от

примерно 20:1 до 10:1 дихлорметана к метанолу.

Наиболее оптимальное количество ДХК по отношению к общему количеству растворителя, применяемого первоначально, устанавливают в соотношении растворителя к ДХК, составляющем от примерно 40:1 до примерно 10:1, или от примерно 30:1 до примерно 15:1, или примерно 19:1.

В другом варианте реализации изобретения добавляют дополнительный дихлорметан при температуре кипения с применением обратного холодильника. Количество дополнительного дихлорметана варьируется от примерно 20 до 100% по объему от первоначального количества дихлорметана, входящего в систему растворителей. В некоторых вариантах реализации изобретения количество дополнительного дихлорметана составляет от примерно 30-70% по объему или примерно 50% по объему от количества первоначально примененного дихлорметана.

После растворения и необязательного фильтрования практически весь метанол удаляют путем азеотропной дистилляции при атмосферном давлении, получая раствор, содержащий преимущественно дихлорметан. Кристаллизация ДХК из дихлорметана обеспечивает получение ДХК, степень чистоты которой составляет по меньшей мере 96% или по меньшей мере 99%.

В одном из вариантов реализации изобретения ДХК получают из источников, представляющих собой млекопитающих, которые как правило являются коммерчески доступными.

В другом варианте реализации изобретения ДХК получают синтетически. Способы получения синтетической ДХК описаны в настоящей заявке и в заявке на патент США № 12/035339, опубликованной как US 2008/0318870 A1, и заявке на патент США № 12/153446, опубликованной как US 2009/0270642 A1, которые полностью включены в настоящее описание посредством ссылок.

Композиции.

Согласно одному из аспектов композиции согласно настоящему изобретению предложено соединение, которое представляет собой синтетическую дезоксихолевую кислоту (ДХК) или ее фармацевтически приемлемую соль, причем степень чистоты синтетической ДХК или ее фармацевтически приемлемой соли составляет по меньшей мере 99%.

Согласно другому аспекту композиции согласно настоящему изобретению предложен раствор, содержащий ДХК и растворитель, который содержит дихлорметан и метанол, причем отношение концентрации растворителя к ДХК составляет от 40:1 до примерно 10:1, и дополнительно отношение количества дихлорметана к количеству метанола составляет от примерно 100:1 до примерно 3:1.

Согласно настоящему изобретению также предложена композиция, содержащая ДХК, степень чистоты которой составляет по меньшей мере 99%, или ее фармацевтически приемлемую соль и приемлемый наполнитель. Согласно настоящему изобретению также предложена композиция, состоящая по существу из ДХК, степень чистоты которой составляет по меньшей мере 99%, или ее фармацевтически приемлемой соли, при этом ДХК представляет собой по существу единственный компонент, удаляющий жир, в указанной композиции.

Композиции могут содержать ДХК согласно настоящему изобретению в комбинации по меньшей мере с одним приемлемым наполнителем или фармацевтически приемлемым наполнителем. Такой наполнитель может представлять собой любой твердый, жидкий, полужидкий или, в случае аэрозольной композиции, газообразный наполнитель, который обычно доступен специалисту в данной области.

Твердые наполнители включают крахмал, целлюлозу, тальк, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат магния, стеарат натрия, глицеролмоностеарат, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко и т.п. Жидкие и полутвердые наполнители могут быть выбраны из глицерина, пропиленгликоля, воды, этилового спирта и различных масел, включая нефтяные масла, растительного или синтетического происхождения, например, арахисового масла, соевого масла, минерального масла, кунжутного масла и т.д. Примеры жидких носителей, особенно для растворов для инъекций, включают воду, физиологический раствор, водный раствор декстрозы и гликоли.

Концентрация ДХК в композиции может составлять примерно от 0,001 до 10, от 0,01 до 5 или от 0,1 до 2% мас./мас., мас./об. или об./об. В некоторых вариантах реализации изобретения концентрация ДХК может составлять примерно 0,1-5% мас./мас., или примерно 1% мас./мас.. В некоторых вариантах реализации изобретения раствор, растворяющий жир, содержит до 100, 50, 20, 10, 5, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,05, 0,02 или 0,01 г одного или более детергентов, желчных кислот и/или солей желчных кислот, дезоксихолевой кислоты или ее солей или дезоксихолата натрия.

В некоторых вариантах реализации изобретения композиции согласно настоящему изобретению не содержат липиды, фосфолипиды или фосфатидилхолин. В некоторых вариантах реализации изобретения композиции согласно настоящему изобретению содержат до 5% мас./мас., мас./об., или об./об. липидов, фосфолипидов или фосфатидилхолина.

В некоторых вариантах реализации изобретения композиции могут дополнительно содержать второй терапевтический агент, выбранный из группы, состоящей из антимикробных агентов, сосудосуживающих средств, антитромботических агентов, антикоагулирующих агентов, средств, снижающих потоотделение, противовоспалительных агентов, анальгетиков, диспергирующих агентов, антидиспергирующих агентов, веществ, способствующих всасыванию, стероидов, транквилизаторов, миорелаксантов и антидиарейных агентов. В некоторых вариантах реализации изобретения раствор помещают в емкость,

содержащую до 500 мл раствора. Такая емкость может представлять собой шприц или емкость, пригодную для впрыскивания.

Способы применения.

Согласно настоящему изобретению ДХК со степенью чистоты, предпочтительно составляющей по меньшей мере 99%, или ее фармацевтически приемлемая соль или композиции подходят для применения в различных фармацевтических или косметологических заявках, например, как описано в патенте США № 7622130 и заявках на патенты США № 2005/0267080 A1 и 2006/0127468 A1, которые полностью включены в настоящую заявку посредством ссылок.

В одном из вариантов реализации настоящее изобретение относится к способам удаления подкожных жировых отложений в организме субъекта. Такие способы включают этап местного введения в подкожные жировые отложения субъекта композиции, содержащей (i) эффективно растворяющее жир количество дезоксихолевой кислоты, степень чистоты которой предпочтительно составляет по меньшей мере 99%, или ее соли, например, дезоксихолата натрия; (ii) фармацевтический, ветеринарный или косметологический наполнитель; и где ДХК или ее соль, по существу, представляет собой единственный компонент указанной композиции, удаляющий жир. В некоторых вариантах реализации изобретения жировые отложения являются внешне непривлекательными, и их удаление способно улучшить внешний вид субъекта. В некоторых вариантах реализации изобретения жировые отложения связаны с состоянием, выбранным из группы, состоящей из ожирения, синдрома перераспределения жира, жировой грыжи века, липом, болезни Деркума, липодистрофии, липодистрофии "бычий горб", дорсоцервикального ожирения, висцерального ожирения, увеличения груди, чрезмерного ожирения, распространения жира в организме вокруг туловища и рук и жировых отложений, обусловленных целлюлитом. В некоторых вариантах реализации изобретения вышеуказанный способ не включает проведения хирургической операции указанному субъекту.

Вышеуказанные и другие аспекты различных вариантов реализации изобретения, предложенные в настоящем изобретении, могут быть лучше поняты в соединении со следующими Примерами.

Примеры

В приведенных ниже примерах и других местах описания следующие аббревиатуры имеют указанные значения. Если аббревиатура не приведена, она имеет общепринятое значение.

As ₂ O	Уксусный ангидрид
ACN	Ацетонитрил
AcOH	Уксусная кислота
ДЗЭ	Детектор заряженного аэрозоля
КОНЦ	Концентрированный
CrO ₃	Триоксид хрома
ДХК	Дезоксихолевая кислота
ДХМ (CH ₂ Cl ₂)	Дихлорметан
ДМАП	4-диметиламинопиридин
ДМФ	N, N-диметилформамид
EtAlCl ₂	Дихлорид этилалюминия
EtOAc	Этилацетат
Ч или ч	Час
H ₂ SO ₄	Серная кислота
HCl	Соляная кислота
HClO ₄	Хлорная кислота
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ВЭЖХ-ПП	Высокоэффективная жидкостная хроматография с измерением показателя преломления
Гц	Герц
KBr	Бромид калия

K-O ^t Bu	Трет-бутоксид калия
LiAl(O ^t Bu) ₃ H	Три(трет-бутокси)алюмогидрид лития
LiOH	Гидроксид лития
ППС	Потери при сушке
MeOH	Метанол
МГц	Мегагерц
Мин	Минуты
Мл	Миллилитр
Ммоль	Миллимоль
Моль	Моль
MTБЭ	Метил-трет-бутиловый эфир
Na ₂ SO ₄	Сульфат натрия
NaOH	Гидроксид натрия
НБЧ	Не более чем
Набл.	Наблюдаемый
ХХП	Хлорхромат пиридиния
Pd/C	Палладий на угле
PtO ₂	Оксид платины
Пред	Представленный
ТЭА	Триэтиламин
ТФУ	Трифторуксусная кислота
ТГФ	Тetraгидрофуран
ТСХ	Тонкослойная хроматография
УФ	Ультрафиолет
Масс.	Масса

Общая информация: Все операции с материалами, чувствительными к кислороду и влаге, проводили в стандартных двугорлых высушенных пламенем колбах в атмосфере аргона или азота. Колоночную хроматографию осуществляли с применением силикагеля (60-120 меш). Аналитическую тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинах Merck Kiesinger 60 F₂₅₄ (0,25 мм). Визуализацию зон осуществляли с помощью УФ-излучения (254 нм) или путем обугливания с применением раствора серной кислоты (5%) и пара-анисового альдегида (3%) в этаноле.

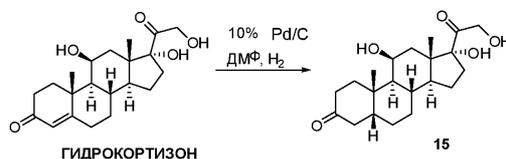
Оборудование: Спектры ядерного магнитного резонанса на ядрах протона и углерода-13 (¹H ЯМР и ¹³C ЯМР) регистрировали на Varian Mercury-Gemini 200 (¹H ЯМР, 200 МГц; ¹³C ЯМР, 50 МГц) или Varian Mercury-Inova 500 (¹H ЯМР, 500 МГц; ¹³C ЯМР, 125 МГц) спектрометре с применением резонансных сигналов растворителей в качестве внутренних стандартов (¹H ЯМР, 7,26 м.д. CHCl₃ или 2,5 м.д. DMSO и 3,33 м.д. DMSO-H₂O; ¹³C ЯМР, 77,0 м.д. CDCl₃ или 39,5 м.д. DMSO). Данные ¹H ЯМР представляют в следующем виде: химический сдвиг (δ, м.д.), мультиплетность (с = синглет, д = дублет, т = триплет, кв = квартет, шир = широкий, м = мультиплет), константы взаимодействия (Гц) и интегральная интенсивность сигнала. Инфракрасные спектры (ИК-ПФ) выполняли на модели JASCO-460⁺. Масс-спектры получали с помощью спектрометра Perkin Elmer API-2000 с применением режима ES⁺. Температуры плавления определяли с применением прибора для измерения температуры плавления LAB-INDIA и не корректировали. ВЭЖХ хроматограммы рисовали с применением модели SHIMADZU-2010 с детектором PDA. Удельное оптическое вращение определяли с применением JASCO-1020 при 589 нм и не корректировали.

Химические реактивы: Если не указано иное, коммерчески доступные реактивы применяли без предварительной очистки. Диэтиловый эфир и ТГФ перегоняли с применением натрия/бензофенона. Применяли безводный ДМФ, коммерчески доступные ДХМ, этилацетат и гексан лабораторного класса чистоты.

Пример 1.

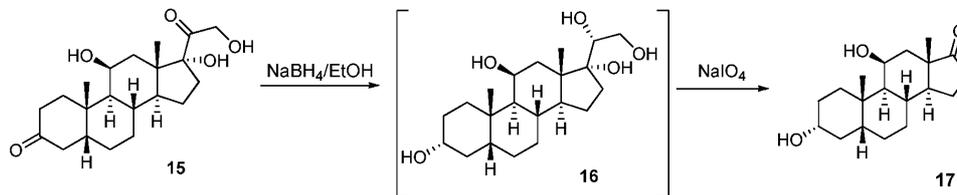
Синтез 3α-ацетокси-5β-андростан-9,11-ен-17-она (36) из гидрокортизона.

Этап 1.



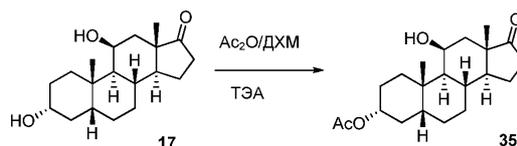
К раствору гидрокортизона (25,0 г) в ДМФ (150 мл) добавляли 10% Pd/C (1,5 г, 6 мас.%) и полученную взвесь гидрировали в автоклаве (60 фунтов/кв.дюйм(0,4 МПа)) в течение 6 ч при 25-35°C. После полного исчезновения исходного материала, что было подтверждено ТСХ (30% EtOAc в ДХМ), неочищенную реакционную смесь фильтровали через слой Celite® (8 г) и промывали ДМФ (100 мл). Растворитель полностью удаляли путем дистилляции в вакууме при температуре ниже 65°C, что обеспечивало получение соединения 15 в виде белого твердого вещества (23,0 г, 91,5 %).

Этап 2.



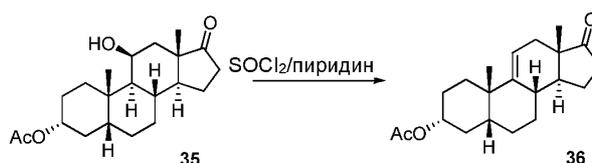
К раствору соединения 15 (23,0 г) в этаноле (350 мл) и ДХМ (350 мл) добавляли борогидрид натрия (2,4 г) и полученный раствор перемешивали в течение 3 ч при 25-35°C. После этого для устранения избытка реагента добавляли 50% водный раствор ацетона (200 мл), а затем добавляли периодат натрия (33,7 г). Полученный раствор перемешивали в течение 16 ч при 25-35°C. ТСХ показала полное исчезновение промежуточного соединения (40% EtOAc в ДХМ). В реакционную смесь добавляли воду (400 мл). Фазы разделяли и водный слой подвергали экстракции ДХМ (600 мл). Органические слои объединяли, а затем промывали солевым раствором (brine solution) (200 мл). Растворитель выпаривали в вакууме с получением неочищенного соединения 16 в виде белого твердого вещества (23,0 г). Неочищенный продукт перемешивали в гексане (200 мл) при 30°C в течение 1 ч, фильтровали и промывали гексаном (50 мл) с получением соединения 16 в виде белого твердого вещества (19,0 г, 98%).

Этап 3.



К раствору соединения 16 (19,3 г) в ДХМ (340 мл) добавляли триэтиламин (12,7 г), ДМАП (0,76 г) и уксусный ангидрид (12,9 г) при 25-35°C. После перемешивания в течение 2 ч при 25-35°C анализ ТСХ (60% EtOAc в гексане) показал, что реакция прошла полностью. Реакционную смесь промывали концентрированным раствором бикарбоната натрия (200 мл) с последующим промыванием солевым раствором (brine solution) (100 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄ (50 г) и фильтровали. Фильтрат концентрировали путем вакуумной дистилляции с получением соединения 35 в виде грязно-белого твердого вещества (18,0 г, 82%).

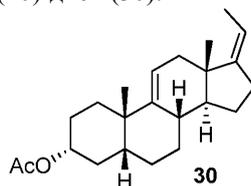
Этап 4.



К раствору соединения 35 (18,0 г) в пиридине (100 мл) добавляли тионилхлорид (6,0 мл) при 25-35°C и полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при 25-35°C. После этого путем ТСХ (30% EtOAc в гексане) определяли, что реакция прошла полностью. Пиридин удаляли путем выпаривания в вакууме при температуре ниже 60°C. Неочищенный материал растворяли в смеси воды (100 мл) и этилацетата (180 мл) и фазы разделяли. Водную фазу подвергали экстракции этилацетатом (180 мл), а органические фазы объединяли. Объединенную органическую фазу промывали 2н. HCl (100 мл) и солевым раствором (brine solution) (100 мл). После сушки над безводным Na₂SO₄ (40 г) смесь фильтровали и фильтрат концентрировали досуха путем вакуумной дистилляции с получением соединения 36 в виде белого твердого вещества (15,0 г, 88%).

Пример 2.

(Z)-3α-Ацетокси-5β-прегна-9(11),17(20)-диен (30):



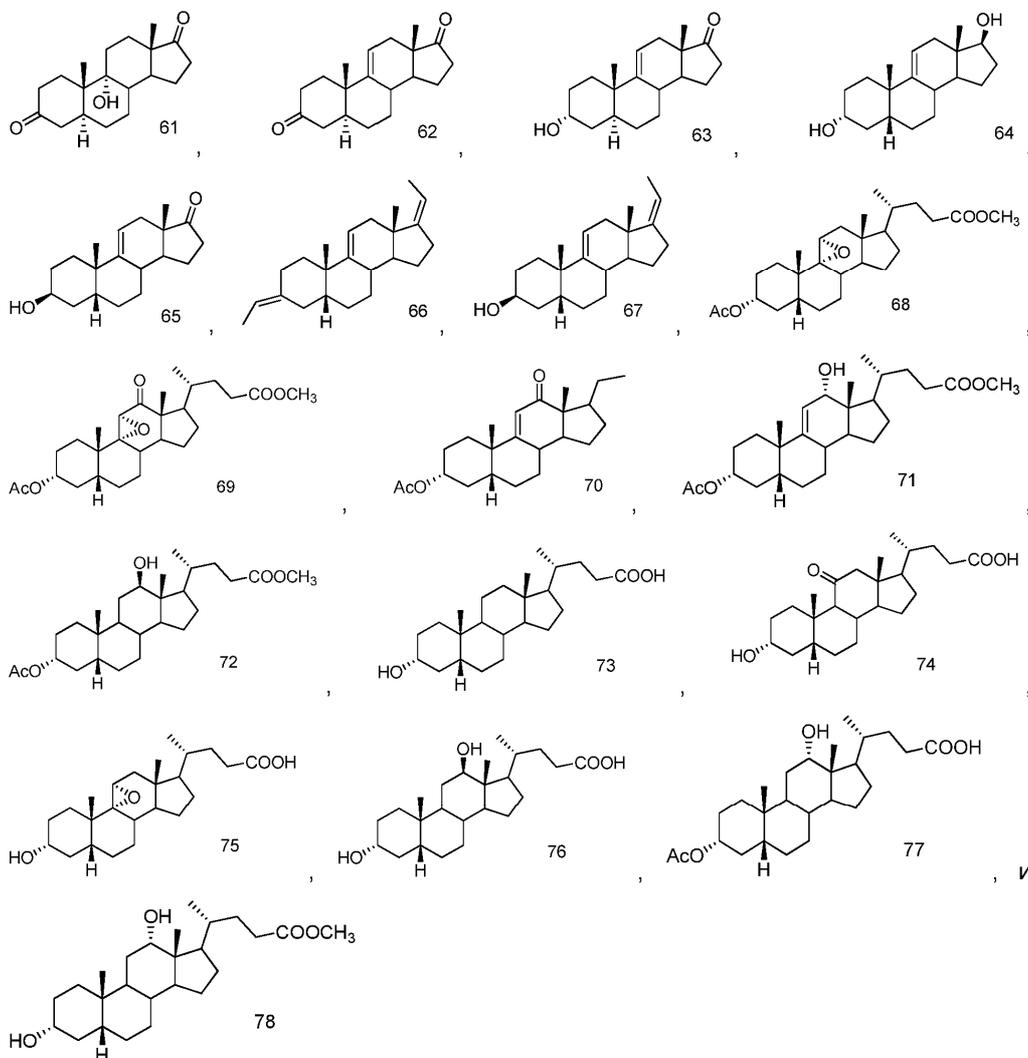
Соединение 30 может быть получено способами, аналогичными описанным в примере 8, с превращением соединения 28 в соединение 30.

Способы и примеры получения ДХК из соединения 60 и очистки ДХК описаны в GB 2452358 и предварительной заявке на патент США № 61/288132, названной "METHODS FOR THE PURIFICATION OF DEOXYCHOLIC ACID", поданной 18 декабря 2009 г., которые полностью включены в настоящее описание посредством ссылок.

Пример 3.

Примеси, отделенные при получении ДХК или промежуточных соединений для ее получения.

Следующие соединения выделяли в качестве примесей в ходе синтеза, описанного в настоящем документе:



Соединения, перечисленные выше, находят применение в качестве промежуточных соединений, которые могут быть повторно применены в схеме реакции, приводящей к образованию соединения 18. Например, соединения 61 и 62 могут быть дегидрированы традиционными способами с получением 4,5-енового соединения, которое может быть повторно гидрировано с получением требуемой стереоизомрии в положении 5.

17-кетогруппа соединений 63 и 65 может быть защищена традиционными способами, такими как образование кетали. Затем 3-гидроксильная группа соединений 63 и 65 может быть окислена с получением 3-кетогруппы. В случае соединения 63 дегидрирование по положениям 4,5 с последующим гидрированием обеспечит получение требуемой стереоизомрии в положении 5. В случае соединений 63 и 65 восстановление 3-кетогруппы с последующим снятием защитной группы 17-кетогруппы обеспечивает получение соединения 18.

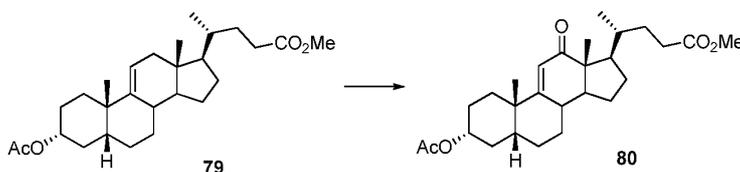
В соединении 64 может быть избирательно защищена 3-гидроксильная группа, а затем 17-гидроксильная группа может быть окислена с последующим снятием защитной группы 3-гидроксильной группы с получением соединения 18.

3,17-Диаллильное соединение 66 может быть окислено с образованием 3,17-дикетосоединения, которое может быть восстановлено традиционными способами с получением 3,17-дигидроксильного соединения, такого как соединение 64.

Соединение 67 может быть окислено по положению 3, а затем восстановлено, и 3-гидроксильная группа защищена с получением соединения 18.

Аналогично остальные соединения могут быть изменены таким же образом с образованием одного или более промежуточных соединений, примененных в способах согласно настоящему изобретению.

Пример 4.



Синтез соединения 80 из соединения 79 способом согласно настоящему изобретению.

Соединение 79 (120,0 г) окисляли с применением 70% раствора трет-бутилгидропероксида ((CH₃)₃C-O-OH) в воде (35 экв.) и 10% раствора гипохлорита натрия (NaOCl) (7,0 экв.; добавляемого в течение 7 ч) в этилацетате при 0-5°C. После выделения продукта реакции органический слой обрабатывали сульфатом натрия с последующей обработкой XXII (1,0 экв.), обработка обеспечивала получение 185 г остатка. Наличие остатка после очистки с образованием взвеси в 20% водном растворе метанола (2 об.) обеспечивало получение 75,2 г (выход 60,6%) чистого соединения 80.

Сравнительный способ синтеза соединения 80 из соединения 79 с применением CrO₃.

CrO₃ (65 г, 599 ммоль) двумя порциями (40 г и 25 г) добавляли к раствору соединения 79 (65 г, 139 ммоль) в AcOH (975 мл) в чистой и сухой колбе. (Внимание: высокоэкзотермичная реакция, необходимо поддерживать температуру ниже 50°C при охлаждении ледяной водой по мере необходимости). Полученную смесь нагревали при 30-35°C в течение 3 ч. Могли быть применены более низкие значения температуры, составлявшие 25-35°C. После завершения реакции определенный путем ТСХ (30% раствор EtOAc в гексане, НБЧ 2% соединения 79), добавляли изопропиловый спирт (108 мл) и смесь перемешивали в течение 15 мин, после чего растворитель выпаривали в вакууме при температуре ниже 60°C. К оставшемуся материалу добавляли воду (1200 мл) и МТБЭ (650 мл). Две фазы разделяли и водный слой подвергали экстракции МТБЭ (2×650 мл). Объединенный органический слой промывали водой (750 мл) и солевым раствором (brine solution) (332 мл). Растворитель полностью удаляли в вакууме при температуре ниже 50°C. К остатку добавляли метанол (195 мл), а затем растворитель полностью удаляли путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C. Метанол (130 мл) добавляли снова и смесь охлаждали до 10-15°C, перемешивали в течение 1 ч при 10-15°C, фильтровали и осадок промывали охлажденным (0-5°C) метанолом (65 мл). Белое твердое вещество сушили в установке для сушки горячим воздухом при 50-55°C до ППС, составлявших НБЧ 0,5%, с получением соединения 80 (36 г, выход 53,7%).

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ = 5,71 (с, 1H), 4,71-4,75 (м, 1H), 3,66 (с, 3H), 2,37-2,42 (м, 3H), 2,02-2,31 (м, 2H), 2,0 (с, 3H), 1,67-1,98 (м, 9H), 1,24-1,56 (м, 9H), 1,19 (с, 3H), 1,01-1,02 (д, J=6,5 Гц, 3H), 0,90 (с, 3H).

¹³C ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ = 204,9, 174,5, 170,4, 163,8, 123,6, 73,7, 53,4, 53,0, 51,3, 47,2, 41,7, 39,8, 37,7, 35,2, 35,0, 33,9, 31,4, 30,5, 29,6, 27,6, 27,3, 26,4, 26,1, 24,1, 21,2, 19,4, 10,6.

Масс. (m/z) = 445,0 [M⁺+1], 462,0 [M⁺+18].

ИК = 3437, 3045, 2946, 2870, 1729, 1680, 1252, 1168, 1020 см⁻¹.

Т.пл. = 137-139°C (из-за смеси EtOAc/гексаны).

[α]_D = +93 (с = 1% в CHCl₃).

Пример 5.

Следующая таблица показывает результаты получения соединения 80 из соединения 79 с применением CrO₃ или (CH₃)₃C-O-OH и NaOCl в качестве окисляющего агента.

Реагент	КОЛ-ВО ИСХОДНОГО ВЕЩЕСТВА	КОЛ-ВО ПРОДУКТА	ВЫХОД	ВЭЖХ-ПП (ЧИСТОТА)*	ВЭЖХ-ПП (АНАЛИТИЧ.):**
CrO ₃	2,5 кг	1,0 кг	38,70%	82,75%	73,90%
CrO ₃	12,2 кг	6,2 кг	49,20%	80,29%	75,30%
(CH ₃) ₃ C-O-OH и NaOCl	20,0 г	13,0 г	63%	96,62%	90,20%
(CH ₃) ₃ C-O-OH и NaOCl	20,0 г	12,8 г	62%	97,06%	89,60%
(CH ₃) ₃ C-O-OH и NaOCl	50,0 г	32,0 г	62%	95,35%	87,30%
(CH ₃) ₃ C-O-OH и NaOCl	50,0 г	31,5 г	61%	93,50%	86,00%
(CH ₃) ₃ C-O-OH и NaOCl	120,0 г	75,2 г	61%	96,00%	86,20%

*Чистота рассчитана как отношение площади пика соединения к общей площади пиков.

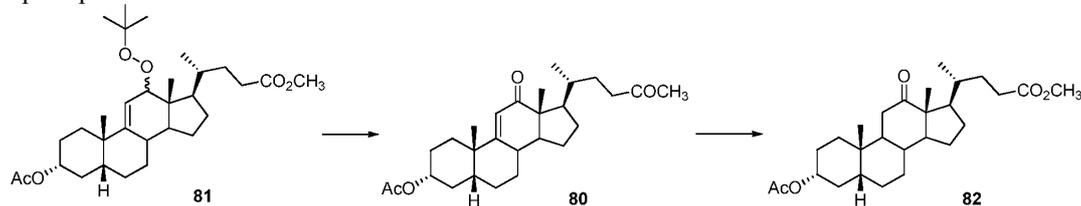
**Чистота рассчитана как отношение площади пика соединения к площади пика известного стандартного образца.

Пример 6.

Определение пероксидного соединения 81.

После фильтрования чистого соединения 80 маточный раствор (обогащенный примесью, составлявшей примерно 30%, время выхода которой составляло 3,14 мин) собирали. Примесь, время выхода которой составляло 3,14 мин, отделяли путем колоночной хроматографии, которая обеспечивала получение 100 мг чистого продукта в виде масла. Данные ЯМР и масс-спектрологии показывали, что примесь представляла собой 12-трет-бутилпероксидное соединение 81, которое предложено на фиг. 1-3.

Пример 7.



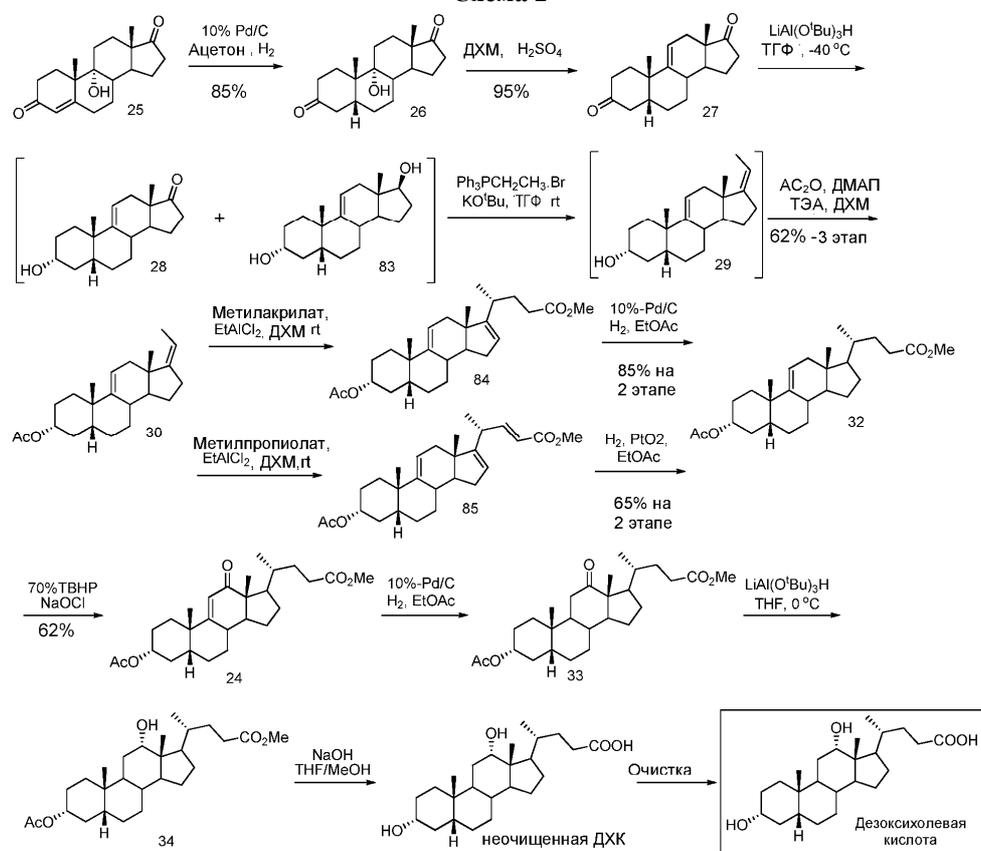
12-трет-Бутилпероксидное соединение 81 (50 мг) обрабатывали с применением Pd/C (12 мас.%), трет-бутилгидропероксида (5 экв.) и карбоната калия (0,025 экв.) в дихлорметане (10 частей) при комнатной температуре в течение 24 ч, тем не менее анализ ВЭЖХ показывал наличие 89% 12-трет-бутилпероксидного соединения 81, не вступившего в реакцию, и выявлял только 11% соединения 80.

Соединение 80 (10,0 г) гидрировали с применением технического безводного 10% Pd/C (25 мас.%) в этилацетате (25 частей) при 45-50°C под давлением водорода в течение 18 ч, получали примерно 25% аллильного спирта, который обрабатывали XXII (1,2 экв.) при комнатной температуре в течение 2 ч, затем промывали водой и солевым раствором (brine solution). Половину органического слоя дистиллировали в вакууме, а затем подвергали повторному гидрированию с применением нового Pd/C (25 мас.%) при 45-50°C под давлением водорода, составлявшим 50 фунт/кв.дюйм, в течение 18 ч, которое обеспечивало получение 9,5 г соединения 82 (выход 95% определенной с помощью ВЭЖХ-ПП степенью чистоты, составлявшей 87%).

Пример 8.

На схеме 2 предложена схема полного синтеза дезоксихолевой кислоты.

Схема 2



Превращение соединения 25 в соединение 26.

Выбор растворителя.

Некоторые растворители исследовали на указанном этапе: нижеследующие эксперименты проводили с применением вышеупомянутых растворителей, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Кол-во исходного материала (г)	Растворитель	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	1,0	ДМФ	0,9	5β-продукт: 85,8%, определённый путём ВЭЖХ-ПП 5α-продукт: 8,6%
2	0,5	Ацетон	0,45	5β-продукт: 88,5% 5α-продукт: 7,8%
3	0,3	ИПС	0,25	5β-продукт: 81,5% 5α-продукт: 11,8%
4	0,3	Этанол	0,25	5β-продукт: 68,6% 5α-продукт: 14,3%
5	0,3	3% водный ацетон	0,25	5β-продукт: 86,9% 5α-продукт: 8,5%
6	0,3	ДХМ	0,25	5β-продукт: 47,2% 5α-продукт: 32,7%
7	0,3	EtOAc	0,25	5β-продукт: 78,7% 5α-продукт: 13,2%
8	0,3	MeOH	0,25	Обнаружена 3-метокси 3,9- одинарная связь
9	0,3	Гексан	0,25	5β-продукт: 50,5% 5α-продукт: 12,9%
10	0,3	н-Бутанол	0,25	5β-продукт: 58,1% 5α-продукт: 34,9%
11	0,3	ТГФ	0,25	5β-продукт: 77,7% 5α-продукт: 13,9%
12	0,3	МТБЭ	0,25	5β-продукт: 57,5% 5α-продукт: 34,0%
13	5,0	1,4-Диоксан	4,5	5β-продукт: 43,8% 5α-продукт: 1,1%, реакция не завершена.

При применении дихлорметана, метанола или этилацетата в качестве растворителя при гидрировании соединения 25 обнаруживали (путем ТСХ) полный расход исходного материала. После выделения продукта и анализа путем ВЭЖХ-ПП обнаруживали, что 5α- и 5β-изомеры соединения 26 образовывались примерно в отношении 1:1. При применении ацетона в качестве растворителя при гидрировании соединения 25 обнаруживали (путем ТСХ) полный расход исходного материала. После выделения продукта и анализа путем ВЭЖХ-ПП обнаруживали, что образовывались почти исключительно 5β-изомер соединения 26 и менее чем 10% 5α-изомера. Таким образом, на указанном этапе ацетон обеспечивал селективность, составлявшую более чем 90%, и выход, составлявший более чем 85%.

К раствору 9α-гидроксиандрост-4-ен-3,17-диона (150,0 г) в ацетоне (3600 мл) добавляли 10% Pd/C (12 г, 8 мас.%, влажность 50%) и полученную взвесь гидрировали в автоклаве (50 фунт/кв.дюйм) в течение 5 ч при 25-25°C. После полного исчезновения исходного материала, о чем свидетельствовала ТСХ (30% EtOAc в ДХМ), неочищенную реакционную смесь фильтровали через слой Celite® (20 г) и промывали дихлорметаном (1500 мл). Фильтрат удаляли в вакууме и неочищенный продукт (145,0 г) получали в виде белого твердого вещества. Указанный неочищенный продукт объединяли с (145,0 г) ацетоном (300 мл) при 0°C, перемешивали в течение 1 ч, затем фильтровали и промывали охлажденным ацетоном (150 мл), после чего сушили в вакууме при 50°C. Таким образом, получали соединение 26 (129 г, 85%) в виде белого твердого вещества. ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 26 = 0,48 и R_f соединения 25 = 0,3, элюент представлял собой 30% EtOAc в ДХМ.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): $\delta = 2,40\text{-}2,37$ (м, 1H), $2,11\text{-}2,02$ (м, 2H), $1,91\text{-}1,31$ (м, 19H), $0,96$ (с, 3H), $0,84$ (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): $\delta = 221,0, 95,7, 80,1, 47,0, 43,6, 38,6, 38,5, 37,1, 35,9, 33,41, 32,9, 32,0, 27,9, 26,9, 21,5, 20,2, 20,0, 12,6$.

Масс. (m/z) = 305,0 [$\text{M}^+ + 1$], 322,0 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК (KBr) = 3443, 2938, 1722, 1449, 1331, 1138 cm^{-1} ,

Тпл. = 213-216°C (ацетон).

$[\alpha]_D = +116$ (с = 1% в CHCl_3). ВЭЖХ/ПП чистота: 99,0%.

Превращение соединения 26 в соединение 27:

К раствору соединения 26 (121 г) в ДХМ (1815 мл) добавляли серную кислоту (19,1 мл) в течение 15 мин в инертной атмосфере при 5-10°C. Температуру повышали до 25-35°C и смесь перемешивали в течение 2 ч. После этого (путем ТСХ, 30% EtOAc в ДХМ) определяли, что реакция прошла полностью. Смесь промывали водой (600 мл), а затем промывали 10% водным раствором NaHCO_3 (600 мл). Органический слой снова промывали водой (200 мл) с последующим промыванием соевым раствором (brine solution) (200 мл). Затем растворитель извлекали путем дистилляции в вакууме с получением соединения 27 (108,2 г, 95%) в виде грязно-белого твердого вещества. Неочищенный продукт применяли на следующем этапе без дополнительной очистки.

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 27 = 0,76 и R_f соединения 25 = 0,44, элюент представлял собой 30% EtOAc в ДХМ.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): $\delta = 5,61$ (с, 1H), $2,57\text{-}2,47$ (м, 2H), $2,42\text{-}2,24$ (м, 4H), $2,20\text{-}2,05$ (м, 3H), $1,99\text{-}1,86$ (м, 2H), $1,85\text{-}1,84$ (д, $J=6$ Гц 1H), $1,63\text{-}1,57$ (м, 5H), $1,40\text{-}1,37$ (д, $J=13,5$ Гц, 1H), $1,28\text{-}1,25$ (дд, $J=4,0, 13,5$ Гц, 1H), $1,17$ (с, 3H), $0,85$ (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): $\delta = 221,3, 212,8, 140,1, 118,5, 48,5, 45,9, 44,3, 43,5, 39,0, 38,0, 37,3, 36,1, 35,8, 33,3, 28,8, 26,0, 25,5, 22,5, 13,9$.

Масс. (m/z) = 287 [$\text{M}^+ + 1$], 304 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК (KBr) = 3450, 2913, 1737, 1707, 1413, 1403, 1207 cm^{-1} .

Т.пл. = 143,4-145,9°C (из-за ДХМ).

$[\alpha]_D = +142$ (с = 1% в CHCl_3).

ВЭЖХ/ПП чистота: 96,7%.

Превращение соединения 27 в соединение 30.

К раствору соединения 27 (108,0 г) в ТГФ (1080 мл) добавляли три(трет-бутокси)алюмогидрид лития (700 мл) при температуре от -40 до -45°C в инертной атмосфере. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при температуре от -40 до -45°C. После завершения реакции, о чем свидетельствовала ТСХ (30% EtOAc в ДХМ), реакционную смесь гасили путем добавления 2н. раствора HCl. Фазы разделяли и полученный водный слой подвергали экстракции дихлорметаном (648 мл). Органические фракции объединяли и промывали водой (648 мл) с последующим промыванием соевым раствором (brine solution) (540 мл). Органический слой выпаривали в вакууме, что обеспечивало получение соединения 28, растворенного в ТГФ (540 мл).

К раствору бромид атилтрифенилфосфония (417 г) в ТГФ (216 мл) по каплям добавляли трет-бутоксид калия (1086 мл, 1 М раствор в ТГФ) в течение 20 мин в азоте при 25-35°C. Полученную реакционную смесь темно-красного цвета дополнительно перемешивали в течение 1 ч при такой же температуре. Вышеуказанный раствор соединения 28 медленно добавляли к вышеуказанной суспензии в течение 30-40 мин при 25-35°C. Реакционную смесь дополнительно перемешивали в течение 3-5 ч, приводя к полному расходу исходного материала (о чем свидетельствовала ТСХ, 30% EtOAc в ДХМ). Реакционную смесь резко охлаждали ледяной водой (1,080 л). Водный слой подвергали экстракции МТБЭ (2×540 мл) и объединенные органические экстракты промывали соевым раствором (brine solution) (540 мл), органический слой концентрировали в вакууме и неочищенный материал очищали с применением МТБЭ (2×540 мл), фильтровали, из полученного фильтрата отгоняли 25% растворителя в вакууме. Раствор соединения 29 охлаждали до 25°C, добавляли триэтиламин (105,2 мл), ДМАП (4,5 г) и уксусный ангидрид (53,5 мл) при 25-35°C в азоте. После перемешивания в течение 2 ч при 25-35°C путем ТСХ (10% EtOAc в гексане) определяли, что реакция прошла полностью. Реакционную смесь промывали водой (1080 мл) с последующим промыванием соевым раствором (brine solution) (324 мл). Органический слой концентрировали в вакууме с получением неочищенного соединения 30 (225 г), остаток перекристаллизовывали в 2% водном растворе метанола, при этом получали 85 г чистого соединения 30 (выход 63,5% со степенью чистоты 96%, определенной путем ВЭЖХ-ПП).

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 30 = 0,5 и R_f соединения 29 = 0,15, элюент представлял собой 10% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): $\delta = 5,38$ (с, 1H), $5,20\text{-}5,18$ (д, $J=6,5$ Гц, 1H), $4,76\text{-}4,72$ (м, 1H), $2,40\text{-}2,35$ (м, 3H), $2,25\text{-}2,22$ (м, 1H), $2,09\text{-}2,03$ (м, 3H), $2,01$ (с, 3H), $1,98\text{-}1,49$ (м, 10H), $1,41\text{-}1,31$ (м, 2H), $1,27\text{-}1,16$ (м, 3H), $1,07$ (с, 3H), $0,79$ (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): $\delta = 170,5, 150,0, 140,4, 119,6, 114,3, 74,7, 53,5, 42,0, 41,7, 39,6, 38,6, 35,6, 35,3, 33,8, 31,9, 29,5, 27,8, 26,7, 26,6, 25,5, 21,3, 16,9, 13,2$

Масс. (m/z) = 342,9 [$\text{M}^+ + 1$], 360 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК (CHCl_3) = 3440, 3035, 1730, 1451, 1367, 1258, 1028 cm^{-1} .

Т.пл. = 93,9-97,8°C.

$[\alpha]_D = +109$ (c = 1% в CHCl_3).

ВЭЖХ/ПП чистота: 96,0%.

Превращение соединения 30 в соединение 32 через соединение 84.

К раствору соединения 30 (56 г) в ДХМ (560 мл) добавляли метилакрилат (35,13 мл) при 0-5°C в инертной атмосфере при перемешивании в течение 60 мин, раствор охлаждали до 0-5°C, дихлорид этилалюминия (272,9 мл; 1,8 М в толуоле) добавляли в течение 60 мин. Затем температуру повышали до 25-35°C и смесь перемешивали в течение примерно 18 ч. После этого анализ с применением ТСХ (10% EtOAc в гексане) показал, что реакция прошла полностью, так что смесь налили в ледяную воду (1120 мл). Фазы разделяли и водный слой подвергали экстракции ДХМ (2×255 мл). Органические слои объединяли и последовательно промывали водой (560 мл) и соевым раствором (brine solution) (560 мл), органический слой выпаривали в вакууме, что обеспечивало получение соединения 84 (66 г) в виде масла.

К раствору соединения 84 в этилацетате (550 мл) добавляли взвесь Pd/C (6,7 г) в этилацетате (110 мл) при 25-35°C. Полученную взвесь перемешивали под давлением водорода, составлявшим примерно 70 фунт/кв.дюйм, в течение примерно 16 ч. Ход реакции контролировали с помощью ВЭЖХ. Катализатор фильтровали на слое Celite® (25 г) и фильтровальную лепешку промывали этилацетатом (990 мл). Фильтрат выпаривали в вакууме, что обеспечивало получение соединения 32 (59 г, 85%) в виде твердого вещества.

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 32 = 0,32 и R_f соединения 84 = 0,30, элюат представлял собой 10% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): $\delta = 5,31$ (с, 1H), 4,73 (м, 1H), 3,66 (с, 3H), 2,37-2,03 (м, 7H), 2,01 (с, 3H), 1,98-1,09 (м, 18H), 1,06 (с, 3H), 0,92-0,91 (д, J=6,0 Гц, 3H), 0,59 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): $\delta = 174,6, 170,5, 139,8, 119,5, 74,8, 56,0, 53,3, 51,4, 41,9, 41,7, 40,9, 38,5, 36,4, 35,4, 35,2, 33,8, 31,0, 30,9, 29,5, 28,2, 27,8, 26,8, 26,7, 25,2, 21,4, 17,9, 11,5$.

Масс. (m/z) = 448,2 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК (KBr) = 3435, 3039, 2941, 1729, 1448, 1435, 1252, 1022 cm^{-1} .

Т.пл. = 122,1-123,9°C.

$[\alpha]_D = +56$ (c = 1% в CHCl_3).

ВЭЖХ/ПП чистота: 93,0%.

Превращение соединения 30 в соединение 32 через соединение 85.

Дихлорид этилалюминия (104,5 мл, 192 ммоль, 1,8 М в толуоле) добавляли к раствору метилпропиолата (13,58 мл, 153 ммоль) в ДХМ (100 мл) при 0°C в инертной атмосфере. Полученный раствор перемешивали в течение 15 мин, а затем добавляли соединение 30 (22 г, 64,3 ммоль). После дополнительного перемешивания в течение 20 мин при 0°C температуру повышали до 25°C и дополнительно поддерживали в течение 18 ч. После этого путем ТСХ определяли, что реакция прошла полностью, и смесь налили в холодную (0°C) воду (200 мл). Фазы разделяли и водный слой подвергали экстракции ДХМ (150 мл). Органические слои объединяли и последовательно промывали водой (200 мл) и соевым раствором (brine solution) (100 мл). Затем указанный раствор сушили над безводным Na_2SO_4 (40 г) и фильтровали. Фильтрат концентрировали в вакууме и полученное твердое вещество очищали путем суспендирования в метаноле (280 мл) с получением соединения 85 (17,5 г, 68%) в виде белого твердого вещества. ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 85 = 0,32 и R_f соединения 30 = 0,5.

Подвижная фаза в ТСХ: 10% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): $\delta = 6,92$ -6,926 (кв, J=7,5, 15,5 Гц, 1H), 5,80-5,83 (д, J=16 Гц, 1H), 5,37-5,43 (м, 2H), 4,73-4,75 (м, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,02-3,04 (t, J=6,5 Гц, 1H), 2,15-2,23 (м, 3H), 2,05-2,08 (м, 3H), 2,01 (с, 3H), 1,48-1,99 (м, 8H), 1,24-1,34 (м, 2H), 1,20-1,21 (д, J=5 Гц, 3H), 1,11-1,17 (м, 1H), 1,07 (с, 3H), 0,67 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): $\delta = 170,5, 167,2, 155,0, 153,7, 141,6, 124,0, 118,8, 118,7, 74,6, 53,9, 51,3, 45,7, 41,7, 38,8, 37,1, 35,5, 35,3, 34,6, 33,7, 31,8, 29,5, 27,7, 26,5, 26,5, 21,3, 19,7, 15,7$.

Масс. (m/z) = 444,0 [$\text{M}^+ + 18$]. ИК (KBr) = 3443, 3030, 2930, 1719, 1650, 1247, 1359, 1032, 1170 cm^{-1} ,

Т.пл. = 114-116°C (из-за метанола)

$[\alpha]_D = +102$ (c = 1% в CHCl_3).

ELSD чистота: 99,7%, время выхода = 19,57 (Inertsil ODS 3V 250×4,6 мм, 5 мкм), АЦН: 0,1% ТФУ в воде (90:10).

К раствору соединения 85 (17,5 г, 41 ммоль) в EtOAc (350 мл) добавляли PtO_2 (4,37 г) и полученную

взвесь гидрировали в аппарате Parr (70 фунт/кв.дюйм) в течение 14-16 ч. После этого путем ТСХ определяли, что реакция прошла полностью. Смесь фильтровали через мелкозернистый наполнитель Celite® и растворитель удаляли в вакууме с получением соединения 32 (17,0 г, 96,0%) в виде белого твердого вещества. Вышеуказанный продукт применяли на следующем этапе без дополнительной очистки. ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 32 = 0,32 и R_f соединения 85 = 0,30,

Подвижная фаза в ТСХ: 10% - EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 5,31 (с, 1H), 4,73 (м, 1H), 3,66 (с, 3H), 2,03-2,37 (м, 7H), 2,01 (с, 3H), 1,09-1,98 (м, 18H), 1,06 (с, 3H), 0,91-0,92 (д, $J=6,0$ Гц, 3H), 0,59 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): δ = 174,6, 170,5, 139,8, 119,5, 74,8, 56,0, 53,3, 51,4, 41,9, 41,7, 40,9, 38,5, 36,4, 35,4, 35,2, 33,8, 31,0, 30,9, 29,5, 28,2, 27,8, 26,8, 26,7, 25,2, 21,4, 17,9, 11,5.

Масс. (m/z) = 448,2 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК (KBr) = 3435, 3039, 2941, 1729, 1448, 1435, 1252, 1022 cm^{-1} .

Т.пл. = 122,1-123,9°C (из-за EtOAc).

$[\alpha]_D^{25} = +56$ (с = 1% в CHCl_3) ELSD чистота: 97,7%, время выхода = 14,57 (ZORBAX SB C-18 150x4,6 мм, 5 мкм, АЦН: 0,1% ТФУ в воде (90:10).

Превращение соединения 32 в соединение 24.

К раствору соединения 32 (20 г) в этилацетате (200 мл) добавляли 70% ТБГП в воде (200 мл), реакционный раствор охлаждали до 0°C, медленно добавляли 10 % раствор гипохлорита натрия в течение примерно 6-7 ч при 0-5°C, перемешивали в течение 2-3 ч при такой же температуре. После полного исчезновения соединения 32, что определено ТСХ (элюент представлял собой 20% EtOAc в гексане), органический слой отделяли и водный слой подвергали экстракции этилацетатом (60 мл). Объединенный органический слой промывали водой (2x400 мл) с последующей обработкой 20% раствором сульфата натрия (220 мл) при 50-55°C в течение 2 ч, после чего разделяли два слоя, органический слой обрабатывали хлорхроматом пиридиния (10,9 г) в течение 6-8 ч при 25-30°C. После полного исчезновения аллильного спирта, что определено ТСХ (элюент представлял собой 20% EtOAc в гексане), органические слои промывали горячей водой (4x500 мл) с последующим промыванием солевым раствором (brine solution) (100 мл). Органический слой выпаривали в вакууме при 45-50°C. Полученный неочищенный материал очищали путем перемешивания с 20% водным метанолом (40 мл) при 5-10°C в течение 1 ч, затем фильтровали; фильтровальную лепешку промывали 20% водным метанолом (20 мл) и затем сушили в вакууме при 45-50°C, что обеспечивало получение соединения 24 (13 г) в виде твердого вещества бледно-желтого цвета.

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 24 = 0,28 и R_f соединения 32 = 0,52, элюент представлял собой 20% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 5,71 (с, 1H), 4,75-4,71 (м, 1H), 3,66 (с, 3H), 2,42-2,37 (м, 3H), 2,31-2,02 (м, 2H), 2,0 (с, 3H), 1,98-1,67 (м, 9H), 1,56-1,24 (м, 9H), 1,19 (с, 3H), 1,02-1,01 (д, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,90 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 204,9, 174,5, 170,4, 163,8, 123,6, 73,7, 53,4, 53,0, 51,3, 47,2, 41,7, 39,8, 37,7, 35,2, 35,0, 33,9, 31,4, 30,5, 29,6, 27,6, 27,3, 26,4, 26,1, 24,1, 21,2, 19,4, 10,6.

Масс. (m/z) = 445,0 [$\text{M}^+ + 1$], 462,0 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК = 3437, 3045, 2946, 2870, 1729, 1680, 1252, 1168, 1020 cm^{-1} .

Т.пл. = 141-142°C.

$[\alpha]_D^{25} = +102$ (с = 1% в CHCl_3).

ВЭЖХ/ПП чистота: 96,2%.

Превращение соединения 24 в соединение 33.

Гидрирование соединения 24 на 10,0 г соединения: добавляли безводный 10 % Pd/C (15 мас.%) в этилацетате (20 частей) и применяли давление водорода, составлявшее примерно 50 фунт/кв.дюйм, и повышали температуру до 70°C. После доведения температуры до 70°C производили повышение давления водорода до примерно 60 фунт/кв.дюйм, все указанные условия поддерживали в течение 60 ч. Через 60 ч по-прежнему обнаруживали 0,6% соединения 24 и 2,75% аллильного спирта, так что дополнительно перемешивали в течение еще 12 ч (обнаруживали 0,16% аллильного спирта и 0,05% соединения 24). После выделения и обработки продукта реакция обеспечивала получение 9,5 г остатка.

Еще одна реакция гидрирования 25 г соединения 24 в вышеуказанных условиях в течение 76 ч обеспечивала получение 24,5 г остатка.

Способ А.

10% Pd/C (900 мг) добавляли к раствору соединения 24 (2,0 г, 4,5 ммоль) в EtOAc (150 мл) и полученную взвесь гидрировали в аппарате Parr (50 фунт/кв.дюйм) при 50°C в течение 16 ч. После этого путем ТСХ определяли, что реакция прошла полностью. Смесь фильтровали через мелкозернистый наполнитель Celite® и растворитель удаляли в вакууме с получением соединения 33 (1,6 г, выход 80%) в виде белого твердого вещества.

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 33 = 0,36 и R_f соединения 28 = 0,32.

Подвижная фаза в ТСХ: 20% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 4,67-4,71 (м, 1H), 3,66 (с, 3H), 2,45-2,50 (т, $J=15$ Гц, 2H), 2,22-2,40 (м, 1H), 2,01 (с, 3H), 1,69-1,96 (м, 9H), 1,55 (с, 4H), 1,25-1,50 (м, 8H), 1,07-1,19 (м, 2H), 1,01 (с, 6H), 0,84-0,85 (д, $J=7,0$ Гц, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): δ = 214,4, 174,5, 170,4, 73,6, 58,5, 57,4, 51,3, 46,4, 43,9, 41,2, 38,0, 35,6, 35,5, 35,2, 34,8, 32,0, 31,2, 30,4, 27,4, 26,8, 26,2, 25,9, 24,2, 22,6, 21,2, 18,5, 11,6.

Масс. (m/z) = 447,0 [$\text{M}^+ + 1$], 464,0 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК (KBr) = 3445, 2953, 2868, 1731, 1698, 1257, 1029 cm^{-1} .

Т.пл. = 142,2-144,4°C (из-за смеси EtOAc/гексаны).

$[\alpha]_D^{25} = +92$ (с = 1% в CHCl_3). ELSD чистота: 96,6%: время выхода = 9,93 (Inertsil ODS 3V, 250×4,6 мм, 5 мкм, АЦН: 0,1% ТФУ в воде (90:10).

Способ В.

Взвесь 10% Pd/C (9 г в 180 мл этилацетата) добавляли к раствору соединения 24 (36 г, 81 ммоль) в EtOAc (720 мл) и полученную взвесь обрабатывали газообразным водородом (50 фунт/кв.дюйм) при 45-50°C в течение 16 ч. (Может быть использовано общее количество растворителя 1080 мл). После этого путем ВЭЖХ определяли, что реакция прошла полностью (НБЧ 1% соединения 24). Смесь фильтровали через Celite® (10 г) и промывали этилацетатом (900 мл). Фильтрат концентрировали до 50% объема путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C. К концентрированному раствору добавляли хлорхромат пиридина (20,8 г) при 25-35°C и смесь перемешивали в течение 2 ч при 25-35°C, после чего путем ВЭЖХ было определено, что реакция прошла полностью (содержание аллильного спирта составляло НБЧ 1%).

Следующий способ может быть осуществлен, если содержание соединения 24 составляет более чем 5%. Реакционную массу фильтровали через Celite® (10 г) и промывали этилацетатом (360 мл). Фильтрат промывали водой (3×460 мл), а затем соевым раствором (brine solution) (360 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом натрия (180 г), фильтровали и промывали этилацетатом (180 мл), после чего концентрировали до 50% объема путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C. Раствор перемещали в чистый и сухой автоклав. Добавляли взвесь 10% палладия на угле (9 г в 180 мл этилацетата). После этого повышали давление водорода до 50 фунт/кв.дюйм и перемешивали реакционную смесь при 45-50°C в течение 16 ч.

После полного расхода соединения 24, определенного путем ВЭЖХ (содержание соединения 24 составлявшее НБЧ 1%), реакционную смесь фильтровали через Celite® (10 г) и фильтровальную лепешку промывали этилацетатом (900 мл). Растворитель концентрировали досуха путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C. Добавляли метанол (150 мл) и концентрировали досуха путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C. К остатку добавляли метанол (72 мл) и смесь перемешивали в течение 15-20 мин при 10-15°C, фильтровали и фильтровальную лепешку промывали метанолом (36 мл). Полученное белое твердое вещество сушили в установке для сушки горячим воздухом при 45-50°C в течение 8 ч до ППС, составлявших НБЧ 1%, с получением соединения 33 (30 г, выход 83,1%).

Превращение соединения 33 в соединение 34.

Способ А.

Раствор три(трет-бутокси)алюмогидрида лития (1 М, 22,4 мл, 22,4 ммоль) в ТГФ по каплям добавляли к раствору соединения 33 (2,5 г, 5,6 ммоль) в ТГФ (25 мл) при комнатной температуре. После дополнительного перемешивания в течение 4-5 ч путем ТСХ определяли, что реакция прошла полностью. Реакционную смесь гасили путем добавления водного раствора HCl (1 М, 10 мл) и смесь разбавляли EtOAc (30 мл). Фазы разделяли и органическую фазу последовательно промывали водой (15 мл) и соевым раствором (brine solution) (10 мл). Затем органическую фазу сушили над безводным Na_2SO_4 (3 г) и фильтровали. Фильтрат концентрировали в вакууме и полученное твердое вещество очищали при помощи колоночной хроматографии [29 мм (ширина)×500 мм (длина), силикагель с размером частиц 60-120 меш, 50 г], при этом элюирование осуществляли с применением EtOAc/гексана (2:8) [5 мл фракции, контролируемые путем ТСХ с применением обугливания при помощи анисового альдегида]. Фракции, содержавшие продукт, объединяли и концентрировали в вакууме с получением соединения 34 (2,3 г, 91%) в виде белого твердого вещества. ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 34 = 0,45 и R_f соединения 33 = 0,55.

Подвижная фаза в ТСХ: 30% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 4,68-4,73 (м, 1H), 3,98 (с, 1H), 3,66 (с, 3H), 2,34-2,40 (м, 1H), 2,21-2,26 (м, 1H), 2,01 (с, 3H), 1,75-1,89 (м, 6H), 1,39-1,68 (м, 16H), 1,00-1,38 (м, 3H), 0,96-0,97 (д, $J=5,5$ Гц, 3H), 0,93 (с, 3H), 0,68 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): δ = 174,5, 170,5, 74,1, 72,9, 51,3, 48,1, 47,2, 46,4, 41,7, 35,8, 34,9, 34,7, 34,0, 33,5, 32,0, 30,9, 30,8, 28,6, 27,3, 26,8, 26,3, 25,9, 23,4, 22,9, 21,3, 17,2, 12,6.

Масс. (m/z) = 449,0 [M⁺+1], 466,0 [M⁺+18].

ИК (KBr) = 3621, 2938, 2866, 1742, 1730, 1262, 1162, 1041 см⁻¹.

Т пл. = 104,2-107,7°C (EtOAc).

[α]_D = +56 (с = 1% в CHCl₃).

ELSD чистота: 97,0%, время выхода = 12,75 (Inertsil ODS 3V, 250×4,6 мм, 5 мкм, АЦН: вода (60:40).

Способ В.

Раствор три(трет-бутокси)алюмогидрида лития (1 М, 107,6 мл, 107,6 ммоль) в ТГФ добавляли в течение 1 ч к раствору соединения 33 (30,0 г, 67 ммоль) в безводный ТГФ (300 мл) при 0-5°C. После дополнительного перемешивания в течение 4 ч при 5-10°C путем ВЭЖХ определяли, что реакция прошла полностью (НБЧ 1% соединения 33). Реакционную смесь охлаждали до 0-5°C и гасили путем добавления 4н. HCl (473 мл). Фазы разделяли. Водный слой подвергали экстракции ДХМ (2×225 мл) и объединенную органическую фазу последовательно промывали водой (300 мл) и соевым раствором (brine solution) (300 мл). Затем органическую фазу концентрировали досуха путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C. К остатку добавляли метанол (150 мл) и концентрировали досуха путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C. Затем к остатку добавляли воду (450 мл) и смесь перемешивали в течение 15-20 мин, фильтровали и фильтровальную лепешку промывали водой (240 мл). Белое твердое вещество сушили в установке для сушки горячим воздухом при 35-40°C в течение 6 ч с получением соединения 34 (30 г, 99,6%).

Преобразование соединения 34 в неочищенную ДХК.

Способ А.

Раствор LiOH (187 мг, 4,4 ммоль) в H₂O (2,0 мл) добавляли к раствору соединения 34 (500 мг, 1,11 ммоль) в ТГФ (8 мл) и MeOH (8 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 3-4 ч при 50°C. После полного исчезновения исходного материала, определенного путем ТСХ, реакционную смесь концентрировали в вакууме. Смесь воды (10 мл) и 3н. HCl (1 мл) объединяли и охлаждали до 0°C, а затем добавляли к неочищенному продукту. После перемешивания в течение 1 ч при 0°C осажденные твердые вещества фильтровали, а затем промывали водой (10 мл) и гексаном (20 мл). Сушка в вакууме при комнатной температуре обеспечивала получение дезоксихолевой кислоты (ДХК, 400 мг, выход 91%) в виде белого твердого вещества. ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f для ДХК = 0,32 и R_f для 2,1a = 0,82. Подвижная фаза в ТСХ: 10% метанол в ДХМ.

¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО): δ = 11,92 (с, 1H), 4,44 (с, 1H), 4,19 (с, 1H), 3,77 (с, 1H), 3,35-3,36 (м, 1H), 2,19-2,21 (м, 1H), 2,08-2,10 (м, 1H), 1,73-1,80 (м, 4H), 1,43-1,63 (м, 6H), 1,15-1,35 (м, 12H), 0,98-1,05 (м, 2H), 0,89-0,90 (д, J=6,0 Гц, 3H), 0,83 (с, 3H), 0,58 (с, 3H).

¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО): δ = 174,8, 71,0, 69,9, 47,4, 46,1, 46,0, 41,6, 36,3, 35,6, 35,1, 34,9, 33,8, 32,9, 30,8, 30,7, 30,2, 28,6, 27,1, 27,0, 26,1, 23,5, 23,0, 16,9, 12,4.

Масс. (m/z) = 393 [M⁺+1].

ИК = 3363, 2933, 2863, 1694, 1453, 1372, 1042 см⁻¹.

Т.пл. = 171,4-173,6°C (из-за этанола); 174-176°C (Alfa Aesar) и 171-174°C (Aldrich).

[α]_D = +47 (с = 1% в EtOH), +54° (с = 2% в этаноле) [Alfa Aesar].

ELSD чистота: 99,7%, время выхода = 5,25 (Inertsil ODS 3V, 250×4,6 мм, 5 мкм, АЦН: 0,1% ТФУ в воде (90:10).

Способ В.

20% раствор NaOH (40 г, 270 ммоль) в H₂O (54 мл) добавляли к раствору соединения 34 (30 г, 67 ммоль) в ТГФ (120 мл) и MeOH (120 мл) при 0-5°C. Полученную смесь перемешивали в течение 4 ч при 25-35°C. После завершения реакции, определенной путем ВЭЖХ (НБЧ 0,5% соединения 34 и промежуточных соединений), растворитель удаляли путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C. Остаток растворяли в воде (300 мл) и промывали ДХМ (2×150 мл). pH водного слоя доводили до 1-2 с применением 2н. HCl (примерно 173 мл). Твердые вещества фильтровали, тщательно промывали водой (3 л) и сушили при помощи установки для сушки горячим воздухом при 70-75°C, пока содержание влаги не составило менее чем 2%, с получением дезоксихолевой кислоты (ДХК, 26 г, выход 99%) в виде белого твердого вещества.

Пример 9.

Очистка дезоксихолевой кислоты (ДХК).

1. Выбор растворителя.

Для дополнительной очистки ДХК исследовали две системы растворителей: 10% раствор гексанов в EtOAc ДХМ.

Были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Растворитель	Кол-во продукта (г)	Чистота, определённая путём ВЭЖХ
1	136	10% раствор гексана в EtOAc	100	95% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
2	9,5	ДХМ*	6,8	>99% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
3	4,0	ДХМ*	3,0	>99% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП

*При очистке ДХК растворяли в смеси метанола и ДХМ, а затем метанол удаляли путем азеотропной дистилляции.

Количество метанола, необходимого для растворения неочищенной ДХК, зависит от ее первоначальной чистоты. Степень чистоты типичного неочищенного материала составляла примерно 75%, и указанный материал мог быть растворен при кипячении с обратным холодильником с применением примерно 20 мл 10% раствора метанола (по объему) на 1 г ДХК. При применении более чистой ДХК доля метанола должна была быть увеличена до 15%.

Эффективной очистки достигали путем кристаллизации продукта из ДХМ, следующей за его растворением в смеси метанола и ДХМ и азеотропном удалении метанола при помощи атмосферной перегонки.

2. Количество растворителя.

Были проведены эксперименты с применением различных объемов растворителя, и результаты экспериментов сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Количество растворителя	Кол-во продукта (г)	Чистота, определённая путём ВЭЖХ
1	4,0	25 об.	3,0	99,3 % чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
2	5,0	15 об.	3,56	99,3 % чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
3	5,0	20 об.	3,4	99,3 % чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
4	100	15 об.	70	99,3% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
5	47	15 об.	44	99,5% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП

Превосходные выходы и качество продукта получали при всех количествах растворителя.

3. Температура при выделении продукта.

Были проведены следующие эксперименты при различной температуре в ходе выделения продукта в чистом виде, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Температура (°С)	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	5,0	10-15	3,0	99,0 % чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
2	100	25-30	70	99,3% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
3	47	25-30	44	99,5% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП

Более высокое качество продукта получали при его выделении при 25-30°С, чем при 10-15°С. Очистка ДХК на 100 г вещества.

Способ окончательной очистки на соответствующем этапе показан ниже.

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	М. масс.	Моль	Молярное соотношение
1	Неочищенная ДХК	100	г	392	0,255	1,0
2	Дихлорметан	5,0	л	-	-	50 V
3	Метанол	250	мл	-	-	2,5 V
4	NaOH	12,23	г	40	0,3058	1,2
5	2 н. HCl	204	мл	-	-	2,04 V
6	Деминерализованная вода	10	л	-	-	100 V

Неочищенную ДХК (110 г) растворяли в 10% растворе метанола в ДХМ (2,5 л) при температуре кипения с применением обратного холодильника. К указанному прозрачному раствору добавляли 2,5 л дихлорметана при температуре кипения с применением обратного холодильника, а затем примерно 3,0 л растворителя дистиллировали при атмосферном давлении (ГХ анализ надосадочной жидкости реакционной массы показывал наличие примерно 3% метанола). Реакционную взвесь охлаждали до 20-25°С, а затем перемешивали в течение 3-4 ч. Смесь фильтровали и твердые вещества промывали ДХМ (300 мл). Продукт сушили в сушильном шкафу при 50-55°С в течение 6-8 ч.

Вышеуказанную сухую ДХК добавляли к воде (1,0 л), а затем добавляли 10% раствор гидроксида натрия (122 мл), получая прозрачный раствор. Указанный раствор фильтровали через фильтровальную бумагу 5μ. Фильтрат разбавляли водой (2,0 л) и рН доводили до 1-2 при помощи 2н. раствора HCl (204 мл). Осажденные твердые вещества перемешивали в течение 1 ч, фильтровали и твердые вещества дополнительно промывали водой (7,0 л). После сушки в сушильном шкафу при 70-75°С в течение 16-20 ч очищенную ДХК (примерно 66 г более чем с 99% степенью чистоты, определенной при помощи ВЭЖХ путем измерения ПП) получили в виде белого твердого вещества. ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f ДХК = 0,32 и R_f соединения 34 = 0,82, элюент представлял собой 10% раствор метанола в ДХМ.

¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО): δ = 11,92 (с, 1H), 4,44 (с, 1H), 4,19 (с, 1H), 3,77 (с, 1H), 3,36-3,35 (м, 1H), 2,21-2,19 (м, 1H), 2,10-2,08 (м, 1H), 1,80-1,73 (м, 4H), 1,63-1,43 (м, 6H), 1,35-1,15 (м, 12H), 1,05-0,98 (м, 2H), 0,90-0,89 (д, J=6,0 Гц, 3H), 0,83 (с, 3H), 0,58 (с, 3H).

¹³C ЯМР (125 МГц, ДМСО): δ = 174,8, 71,0, 69,9, 47,4, 46,1, 46,0, 41,6, 36,3, 35,6, 35,1, 34,9, 33,8, 32,9, 30,8, 30,7, 30,2, 28,6, 27,1, 27,0, 26,1, 23,5, 23,0, 16,9, 12,4.

Масс. (m/z) = 393 [M⁺, +1].

ИК = 3363, 2933, 2863, 1694, 1453, 1372, 1042 см⁻¹.

Т.пл. = 171,4-173,6°С (из-за этанола); 174-176°С (Alfa Aesar) и 171-174°С (Aldrich).

Перекристаллизация дезоксиголевой кислоты (ДХК).

ДХК, полученную вышеуказанным способом В (26 г), загружали в чистую и сухую колбу. Добавляли метанол (65 мл) и ДХМ (585 мл). Смесь нагревали до кипения с обратным холодильником с получе-

20-25°C. Реакцию проводили в течение 3,5 ч, после чего ВЭЖХ анализ показывал, что ППК аллильного спирта 86 составляла <1% и ППК 87 составляла <1%. Реакционную смесь фильтровали через Hyflo® (300 г) и промывали EtOAc (3,0 л). EtOAc фильтрат промывали деионизированной (ДИ) водой (2×3,6 л) и соляным раствором (3,6 л), фильтровали через Hyflo® (300 г) и промывали EtOAc (3,0 л). Полученный фильтрат концентрировали примерно до 7,5 л и направляли далее без дополнительной обработки (77,7% ППК, определенная путем ВЭЖХ, содержащая 5,3% ППК 24).

Этап 1с. Повторное гидрирование 24 до 33.

Порошок активированного угля DARCO (60 г, 20 мас.%) добавляли к вышеуказанному неочищенному раствору 33, содержащему 24. Полученную взвесь нагревали до 45-50°C в течение 4 ч, охлаждали до 30-35°C и фильтровали через Celite®. Фильтровальную лепешку промывали EtOAc (7,5 л), концентрировали примерно до 7,5 л и добавляли к безводному Pd/C (60,0 г, 20 мас.%). Реакционную смесь нагревали до 45-50°C и подвергали давлению H₂, составлявшему 50 фунт/кв.дюйм, в течение 6 ч. ВЭЖХ анализ показывал, что ППК 24 достигала < 1,0%; ППК примеси 86 составляла 1,1% и ППК 87 составляла <1,0%. Реакцию считали прошедшей полностью и смесь охлаждали до 30-35°C, фильтровали через Celite® и промывали EtOAc (7,5 л). EtOAc фильтрат концентрировали примерно до 5 объемов и азеотропно дистиллировали с MeOH (2×4,5 л), вновь снижая количество примерно до 5 объемов. Полученную взвесь разбавляли ДИ водой (2,4 л) и выдерживали при 20-25°C. Взвесь фильтровали, промывали ДИ водой (2×600 мл) и сушили в вакууме при 40- 50°C с выходом 33 (66,2% ППК, определенной путем ВЭЖХ), составлявшим 266 г (88%).

Этап 2. Синтез 34.

Раствор соединения 33 (245 г, 0,5 моль) в ТГФ (2,5 л) охлаждали до 0-5°C и добавляли 1 М раствор Li(t-BuO)₃AlH (822,9 мл, 1,5 экв.), поддерживая температуру ниже 5°C. Реакционную смесь перемешивали при 5-10°C в течение 22 ч. Реакция может пройти полностью в течение 2-4 ч. ВЭЖХ анализ показывал, что реакция прошла полностью при сохранении <1% 33. Реакцию гасили 4 М HCl (3,7 л), поддерживая температуру ниже 20°C. Реакционную смесь подвергали экстракции CH₂Cl₂ (2×2,5 л) и объединенные органические фазы промывали ДИ водой (2×2,5 л). Фазу CH₂Cl₂ концентрировали с получением 300 г (122%) 34 (73,5% ППК, определенной путем ВЭЖХ). ¹H ЯМР анализ показывал, что оставалось 9,7 мас.% ТГФ и 0,8 мас.% CH₂Cl₂.

Этап 3. Синтез ДХК.

Раствор NaOH (87,6 г, 4 экв.) в ДИ воде (438,6 мл) добавляли к раствору 34 (245 г, 0,5 моль) в MeOH (980 мл) и ТГФ (475 мл) при 0-5°C. Обеспечивали нагревание реакционной смеси до 20-25°C. ВЭЖХ анализ показывал, что реакция прошла полностью за 1 ч при сохранении <0,5% 34 и <0,5% промежуточных соединений гидролиза. Реакционную смесь разбавляли ДИ водой (2,5 л) и концентрировали примерно до 10 объемов. Водный раствор промывали CH₂Cl₂ (2×1,3 л) и pH доводили до 1,7-2,0 с применением 2 М HCl (1,6 л). Получали взвесь белого цвета и перемешивали ее при 20-25°C в течение 1 ч. Взвесь фильтровали, промывали ДИ водой (7×1 л) и сушили в вакууме с выходом 195 г (91%) ДХК (82,2% ППК, определенной путем ВЭЖХ).

Этап 4. Очистка ДХК.

Раствор полученной выше ДХК (190 г, 0,48 моль) в MeOH (475 мл) и CH₂Cl₂ (4275 мл) нагревали до 35-40°C. MeOH/CH₂Cl₂ отгоняли из смеси при добавлении CH₂Cl₂ (4740 мл), подбирая скорость дистилляции. Анализ композиции растворителей, проведенный путем ¹H ЯМР, показывал, что оставалось 4,5 мол.% MeOH по сравнению с CH₂Cl₂. Обеспечивали охлаждение взвеси до 20-25°C и выдерживали в течение 16 ч. Твердые вещества отделяли путем фильтрования, промывали CH₂Cl₂ (600 мл) и сушили в вакууме с выходом 104 г (55%) ДХК (>99% ППК, определенной путем ВЭЖХ-ПП, и 98,7% ППК, определенной путем ВЭЖХ с детектором заряженного аэрозоля).

Перекристаллизацию повторяли путем нагревания смеси ДХК (103 г, 0,3 моль) в MeOH (359 мл) и CH₂Cl₂ (1751 мл) до 35-40°C. MeOH/CH₂Cl₂ отгоняли из смеси при добавлении CH₂Cl₂ (3760 мл), подбирая скорость дистилляции. Анализ состава растворителей, проведенный путем ¹H ЯМР, показывал, что оставалось 4,7 мол.% MeOH по сравнению с CH₂Cl₂. Обеспечивали охлаждение взвеси до 20-25°C. Через 1 ч твердые вещества отделяли путем фильтрования, промывали CH₂Cl₂ (309 мл) и сушили в вакууме с получением 82 г (79%) ДХК (>99% ППК, определенной путем ВЭЖХ-ПП, и 99,3% ППК, определенной путем ВЭЖХ с детектором заряженного аэрозоля).

Чтобы оценить эффект дополнительной очистки и повторной обработки, перед обычным заключительным этапом выделения с применением воды продукт перекристаллизовывали третий раз. Вышеуказанный образец ДХК (80 г, 0,2 моль) в MeOH (240 мл) и CH₂Cl₂ (1400 мл) нагревали до 35-40°C. MeOH/CH₂Cl₂ отгоняли из смеси при добавлении CH₂Cl₂ (2000 мл), подбирая скорость дистилляции. Анализ состава растворителей, проведенный путем ¹H ЯМР, показывал, что оставалось 6,7 мол.% MeOH по сравнению с CH₂Cl₂. Обеспечивали охлаждение взвеси до 20-25°C. Через 1 ч твердые вещества отделяли путем фильтрования, промывали CH₂Cl₂ (240 мл) и сушили в вакууме с получением 72 г (89%) ДХК (99,7% ППК, определенной путем ВЭЖХ с детектором заряженного аэрозоля).

Образец суспендировали в ДИ воде (840 мл) и разбавляли раствором NaOH (14,0 г) в ДИ воде (140 мл). Полученный раствор фильтровали через Celite® и промывали ДИ водой (1,4 л). pH фильтрата довели до 1,6 с применением 2 М HCl (примерно 300 мл), получая белый осадок, который выдерживали в течение 1 ч при 20-25°C.

Продукт выделяли путем фильтрования, промывали ДИ водой (9,0 л) и сушили в вакууме с получением 63 г (87%) ДХК (99,7% ППК, определенной путем ВЭЖХ с детектором заряженного аэрозоля).

Пример 11.

Способ получения дезоксихолевой кислоты из соединения 24 как основного исходного материала был модифицирован и сделан подходящим для крупномасштабного производства. Способ получения является безопасным, экономичным, экологически чистым и обеспечивает высокое качество конечного продукта, который неизменно соответствует требованиям. Способ получения включает получение основного исходного материала (например, метил-3 α -ацетокси-12-оксо-5 β -хол-9(11)-ен-24-оата), представляющего собой соединение 24.

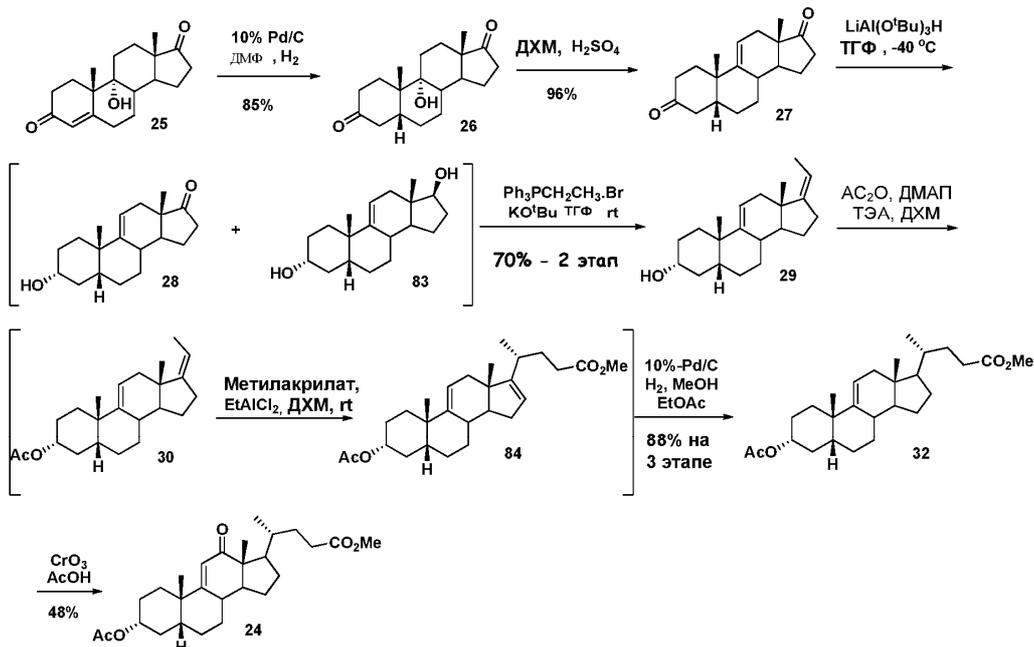
Основной исходный материал получали в восемь химических этапов из 9 α -гидроксиандрост-4-ен-3,17-диона (9-ГАД). Поскольку некоторые промежуточные соединения не выделяли, указанная часть способа соответствовала стадиям I-V. Интерпретации структур всех промежуточных соединений согласовывали с данными ЯМР и масс-спектрометрии. Подробные процедуры в окончательном способе наряду со спектральными данными продукта, полученного на каждом этапе, предложены в разделе, описывающем способ.

Список примесей, а также их состояние (выделенные, обнаруженные, не наблюдаемые и т.д.), перечень исходных материалов и описание основных параметров способа полностью предложены в заключительных разделах описания.

С учетом результатов модификации способа и демонстрации пробной партии продукта способ получения подходит для применения по назначению.

Схема 1

Схема синтеза исходного материала из 9 α -гидроксиандростендиона



Модификация окончательного способа.

Недостатки при пробных запусках предлагаемых этапов способа.

При пробном запуске предлагаемого технологического маршрута способ получения ДХК работал достаточно хорошо, и авторы настоящего изобретения смогли получить большое количество граммов синтетической ДХК довольно высокой чистоты, но недостатками являлись чистота и выход основного исходного материала и то, что колоночная хроматография на стадии применения реакции Виттига была непригодна для промышленного масштаба, указанных недостатков успешно избегали путем применения способов кристаллизации в водном метаноле, реакция аллильного окисления также улучшала выход и чистоту соединения 24, первоначальный порядок проведения эксперимента и результаты на каждом этапе показаны ниже.

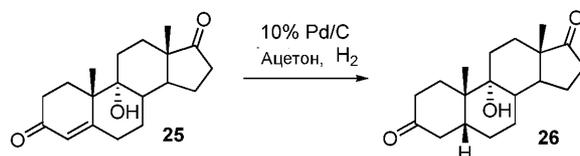
Была предпринята модификация каждого из этапов новых разновидностей процесса. Исследования указанной модификации описаны в данном разделе. Были предприняты попытки объединить этапы для минимизации выделений продуктов реакций, что привело к повышению эффективности. Полученный способ имел всего восемь стадий - пять этапов приводили к получению предписанного исходного мате-

риала (основного исходного материала, представляющего собой соединение 24) и три этапа были необходимы для его превращения в ДХК. Существовала также одна дополнительная стадия конечной очистки.

Исследование модификации этапа 1.

Химическое наименование продукта: 9 α -гидрокси-5 β -андростан-3,17-дион.

Схема синтеза:



План модификации этапа 1:

выбор растворителя,

количество растворителя,

продолжительность реакции,

количество катализатора,

выбор растворителя,

Следующие растворители рассматривали при модификации указанного этапа:

N,N-диметилформамид (ДМФ),

ацетон,

водный ацетон,

дихлорметан (ДХМ),

метанол (MeOH),

этанол (EtOH),

изопропиловый спирт (ИПС),

n-бутанол,

тетрагидрофуран (ТГФ),

метилтретбутиловый эфир (МТБЭ),

1,4-диоксан,

этилацетат (EtOAc).

Следующие эксперименты были проведены с применением вышеуказанных растворителей, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Исходное кол-во (г)	Растворитель	Конечное кол-во (г)	Примечания
1	1,0	ДМФ	0,9	5β-продукт: 85,8%, опред. путём ВЭЖХ-ПП 5α-продукт: 8,6%
2	0,5	Ацетон	0,45	5β-продукт: 88,5% 5α-продукт: 7,8%
3	0,3	ИПС	0,25	5β-продукт: 81,5% 5α-продукт: 11,8%
4	0,3	Этанол	0,25	5β-продукт: 68,6% 5α-продукт: 14,3%
5	0,3	3% водный ацетон	0,25	5β-продукт: 86,9% 5α-продукт: 8,5%
6	0,3	ДХМ	0,25	5β-продукт: 47,2% 5α-продукт: 32,7%
7	0,3	EtOAc	0,25	5β-продукт: 78,7% 5α-продукт: 13,2%
8	0,3	MeOH	0,25	Обнаружена 3-метокси 3,9-одинарная связь
9	0,3	Гексан	0,25	5β-продукт: 50,5% 5α-продукт: 12,9%
10	0,3	н-Бутанол	0,25	5β-продукт: 58,1% 5α-продукт: 34,9%
11	0,3	ТГФ	0,25	5β-продукт: 77,7% 5α-продукт: 13,9%
12	0,3	МТБЭ	0,25	5β-продукт: 57,5% 5α-продукт: 34,0%
13	5,0	1,4-Диоксан	4,5	5β-продукт: 43,8% 5α-продукт: 1,1%, реакция не завершена.

Примечания:

При применении дихлорметана, метанола или этилацетата в качестве растворителя при гидрировании соединения 25 обнаруживали (путем ТСХ) полный расход исходного материала. После выделения продукта и анализа путем ВЭЖХ-ПП обнаруживали, что 5α- и 5β-изомеры соединения 26 образовывались примерно в соотношении 1:1.

При применении ацетона в качестве растворителя при гидрировании соединения 25 обнаруживали (путем ТСХ) полный расход исходного материала. После выделения продукта и анализа путем ВЭЖХ-ПП обнаруживали получение почти исключительно 5β-изомера соединения 26 и менее 10% 5α-изомера.

Вывод: Исходя из вышеуказанных результатов эксперимента, ацетон выбирали в качестве предпочтительного растворителя, на рассматриваемом этапе обеспечивавшего избирательность, составлявшую более 90%, и выход, составлявший более 85%.

Количество растворителя.

Реакцию проводили с применением различных объемов ацетона для определения предпочтительного количества растворителя. Были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Кол-во исходного материала(г)	Кол-во растворителя (мл/г)	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	5,0	20	4,0	Содержание 5а: 8,0%
2	0,5	22	0,4	Содержание 5а: 7,4%
3	10,0	24	8,5	Содержание 5а: 8,5%
4	150,0	24	129	Содержание 5а: 8,5%

Примечания:

Выходы и качество продукта являлись аналогичными при всех концентрациях.

Качество продукта определяли путем ВЭЖХ (с измерением ПП), ЯМР и масс-спектрометрии.

Вывод: Поскольку выход и качество продукта по существу являлись одинаковыми при всех концентрациях растворителя, выбирали количество, составлявшее 24 мл/г, которое, по-видимому, в наибольшей степени повышает продуктивность, к тому же в меньшем объеме исходный материал нерастворим.

Продолжительность реакции.

Для определения наиболее подходящей продолжительности реакции были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Исходное кол-во	Время	Кол-во продукта	Примечания
1	10 г	5 ч	8,63 г	25 было полностью израсходовано
2	10 г	12 ч	8,32 г	25 было полностью израсходовано
3	0,3 г	3 ч	-	25 было не полностью израсходовано
4	50 г	5 ч	43,3 г	25 было полностью израсходовано

Вывод: Исходя из результатов эксперимента устанавливали продолжительность реакции, составлявшую 4-5 ч (при 25-35°C).

Количество катализатора.

Для того чтобы модифицировать количество Pd/C, были проведены следующие эксперименты, и результаты экспериментов сведены в таблицу ниже. Катализатор, примененный в каждом случае, представлял собой палладий на угле влажностью 50%.

№	Номер эксперимента	Размер порции (г)	Кол-во катализатора (г)	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	BDA-09-004-I-024	0,3	0,021 (7%)	-	25 было не полностью израсходовано
2	BDA-09-004-I-025	1,0	0,1 (10%)	0,9	25 было полностью израсходовано
3	BDA-09-004-I-026	0,3	0,036 (12%)	0,9	25 было полностью израсходовано
4	BDA-09-005-I-03	0,3	0,024 (8%)	0,25	25 было полностью израсходовано

Примечания:

Когда эксперименты проводили с применением 7 мас.% катализатора, реакция не проходила полностью даже после 5 ч.

Вывод: Для надежного получения полного расхода исходного материала должно быть применено

по меньшей мере 8% катализатора по массе.

Окончательный модифицированный способ на этапе 1.

Окончательный модифицированный способ на указанном этапе приведен ниже.

Подробная информация о поступавших исходных материалах.

№	Исходные материалы	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	9 α -гидроксиандрост-4-ен-3,17-дион	150,0	г	302	0,496	1,0
2	10% Pd/C (влажность 50%)	12,0	г	-	-	8 масс. %
3	Ацетон	4050	мл	-	-	27,0 V
4	Дихлорметан	1500	мл	-	-	15 V
5	Celite	20	г	-	-	-

Порядок проведения эксперимента: К раствору 9 α -гидроксиандрост-4-ен-3,17-диона (150,0 г) в ацетоне (3600 мл) добавляли 10% Pd/C (12 г, 8 мас.%, влажность 50%) и полученную взвесь гидрировали в автоклаве (50 фунт/кв.дюйм) в течение 5 ч при 25-25 $^{\circ}$ C.

После полного исчезновения исходного материала, о чем свидетельствовала ТСХ (30% EtOAc в ДХМ), неочищенную реакционную смесь фильтровали через слой Celite $^{\circledR}$ (20 г) и промывали дихлорметаном (1500 мл). Фильтрат удаляли в вакууме и неочищенный продукт (145,0 г) получали в виде белого твердого вещества. Указанный неочищенный продукт (145,0 г) объединяли с ацетоном (300 мл) при 0 $^{\circ}$ C, перемешивали в течение 1 ч, затем фильтровали и промывали охлажденным ацетоном (150 мл) и сушили в вакууме при 50 $^{\circ}$ C. Тем самым получали соединение 26 (129 г, 85%) в виде белого твердого вещества.

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида. R_f соединения 26 = 0,48 и R_f соединения 25 = 0,3. Элюент представлял собой 30% EtOAc в ДХМ.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ = 2,40-2,37 (м, 1H), 2,11-2,02 (м, 2H), 1,91-1,31 (м, 19H), 0,96 (с, 3H), 0,84 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl₃): δ = 221,0, 95,7, 80,1, 47,0, 43,6, 38,6, 38,5, 37,1, 35,9, 33,41, 32,9, 32,0, 27,9, 26,9, 21,5, 20,2, 20,0, 12,6.

Масс. (m/z) = 305,0 [M⁺+1], 322,0 [M⁺+18].

ИК (KBr) = 3443, 2938, 1722, 1449, 1331, 1138 см⁻¹.

T пл. = 213-216 $^{\circ}$ C (ацетон).

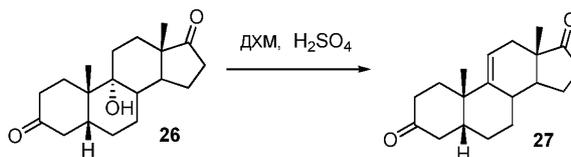
$[\alpha]_D^{25}$ = +116 (с = 1% в CHCl₃).

ВЭЖХ/ПП чистота: 99,0%.

Исследования модификации этапа 2.

Химическое наименование продукта: 5 β -андрост-9(11)-ен-3,17-дион

Схема синтеза:



План модификации этапа 2:

выбор реагента.

Выбор реагента.

Были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Реагент	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	0,1	Смола (H+)	-	соединение 26 не закончилось
2	0,1	Смола (H+)	-	соединение 26 не закончилось
3	0,2	Смола (H+)	-	соединение 26 не закончилось
4	108	H ₂ SO ₄	-	соединение 26 закончилось
5	0,2	H ₃ PO ₄	-	соединение 26 не закончилось
6	0,2	25% водная H ₂ SO ₄	-	соединение 26 закончилось

Вывод: серную кислоту выбирали в качестве предпочтительного реагента для элиминирования, при применении кислотной формы смолы реакция не проходила полностью.

Окончательный модифицированный способ на этапе 2.

Окончательный модифицированный способ на указанном этапе приведен ниже

См. эксперимент № BDA-09-008-II-02.

№	Исходные материалы	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	Соединение 26	121	г	304	0,3979	1,0
2	Серная кислота	19,1	мл	98	0,3579	0,9
3	Дихлорметан	1815	мл	-	-	15 V
4	Вода	800	мл	-	-	6,6 V
5	Бикарбонат натрия	600	мл	-	-	5,0 V
6	Солевой раствор (brine solution)	200	мл	-	-	1,65 V

Порядок проведения эксперимента: К раствору соединения 26 (121 г) в ДХМ (1815 мл) добавляли серную кислоту (19,1 мл) в течение 15 мин в инертной атмосфере при 5-10°C. Температуру повышали до 25-35°C, и смесь перемешивали в течение 2 ч. После этого определяли, что реакция прошла полностью (ТСХ, 30% EtOAc в ДХМ). Смесь промывали водой (600 мл), а затем промывали 10% раствором NaHCO₃ в воде (600 мл).

Органический слой снова промывали водой (200 мл) с последующим промыванием солевым раствором (brine solution) (200 мл). Затем растворитель дистиллировали в вакууме с получением соединения 27 (108,2 г, 95%) в виде грязно-белого твердого вещества. Неочищенный продукт применяли на следующем этапе без дополнительной очистки.

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 27 = 0,76 и R_f соединения 25 = 0,44. Элюент представлял собой 30% EtOAc в ДХМ.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ = 5,61 (с, 1H), 2,57-2,47 (м, 2H), 2,42-2,24 (м, 4H), 2,20-2,05 (м, 3H), 1,99-1,86 (м, 2H), 1,85-1,84 (д, J=6 Гц 1H), 1,63-1,57 (м, 5H), 1,40-1,37(д, J=13,5 Гц, 1H) 1,28-1,25 (дд, J=4,0, 13,5 Гц, 1H), 1,17 (с, 3H), 0,85 (с, 3H).

¹³C ЯМР (125 МГц, CDCl₃): δ = 221,3, 212,8, 140,1, 118,5, 48,5, 45,9, 44,3, 43,5, 39,0, 38,0, 37,3, 36,1, 35,8, 33,3, 28,8, 26,0, 25,5, 22,5, 13,9.

Масс. (m/z) = 287 [M⁺+1], 304 [M⁺+18].

ИК (KBr) = 3450, 2913, 1737, 1707, 1413, 1403, 1207 см⁻¹.

Т.пл. = 143,4-145,9°C (из-за ДХМ).

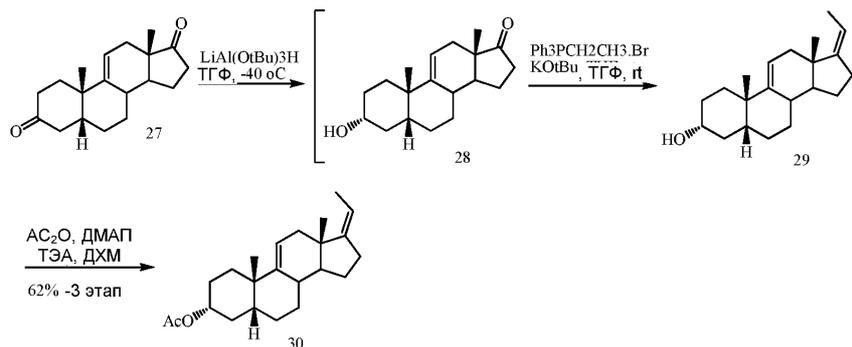
[α]_D = +142 (с = 1% в CHCl₃).

ВЭЖХ/ПП чистота: 96,7%.

Исследования модификации этапа 3.

Химическое наименование продукта: (Z)-3α-ацетокси-5β-прег-9(11),17(20)-диен (соединение 30).

Схема синтеза:



Окончательный модифицированный способ на этапе 3.

Окончательная модифицированная последовательность операций на указанном этапе приведена ниже:

План модификации этапа 3:

количество растворителя.

Количество растворителя

Для того чтобы определить количество растворителя, представлявшего собой МТБЭ, были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Количество растворителя	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	10,4	104 мл	6,8	10 объёмов реакция прошла полностью
2	10,4	156 мл	6,7	15 объёмов реакция прошла полностью
3	43,5	528 мл	29	12 объёмов реакция прошла полностью

Вывод: Указанная реакция также одинаково хорошо проходит и при 12 мл растворителя на 1 г основного исходного материала. Поскольку производительность при 12 мл на 1 г является большей, указанное количество выбирали в качестве предпочтительного.

Выбор растворителя при очистке.

Несколько систем растворителей исследовали для применения при указанной окончательной очистке. Они представляли собой:

- метанол,
- водный метанол,
- этанол,
- изопропиловый спирт,
- ацетон.

Были проведены следующие эксперименты, и результаты экспериментов сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Растворитель	Кол-во продукта (г)	Чистота, определённая путём ВЭЖХ
1	10,4	Метанол	6,8	95,8% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
2	2,0	1% водный метанол	1,3	94% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
3	2,0	2% водный метанол	1,39	96% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
4	2,0	ИПС	0,81	80,3% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
5	2,0	Этанол	0,9	97% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
6	2,0	Ацетон	0,36	97% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
7	5,0	2% водный метанол	3,68	94,3% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
8	11,0	2% водный метанол	8,2	95% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП

Вывод: Чрезвычайно эффективной очистки, высокой чистоты и выхода достигали путем кристаллизации продукта из 2% водного метанола.

Количество растворителя.

Были проведены эксперименты с применением различных объемов растворителя, и результаты экспериментов сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Количество растворителя	Кол-во продукта (г)	Чистота, определённая путём ВЭЖХ
1	2,0	2 об.	1,3	94% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
2	5,0	4 об.	3,45	97,4% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
3	11,0	4 об.	8,2	95,1% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП

Вывод: Превосходные выходы и качество продукта отмечали при всех количествах растворителя, таким образом, выбирали 4 объема как количество, в наибольшей степени повышающее продуктивность. Температура при выделении.

Были проведены следующие эксперименты при различной температуре в ходе выделения продукта, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Температура (°С)	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	5,0	25-30	3,68	95% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
2	11,0	15-20	8,2	95,1% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
3	11,0	10-15	8,3	94% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
4	11,0	15-20	8,2	95% чистота, опр. при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП

Вывод: Выделение продукта при 15-20°С обеспечивало хорошее качество и выход. Окончательный модифицированный способ на этапе 3.

Окончательная модифицированная последовательность операций на указанном этапе приведена ниже.

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	Соединение 27	108	г	286	0,377	1,0
2	Три(трет-бутокси)алюмогидрид лития	700	мл		0,489	1,3
3	ТГФ	1080	мл	-	-	10V
4	Дихлорметан	648	мл	-	-	10V
5	Вода	648	мл	-	-	6,0V
6	2 н. HCl	648	мл	-	-	6,0V
7	Солевой раствор (brine solution)	540	мл	-	-	5,0V
8	ТГФ	756	мл	-	-	7,0V
9	Трет-бутоксид калия (1,0 М в ТГФ)	1086	мл	-	1,085	3,0
10	Бромид этилтрифенилфосфония	417	г	371,26	1,12	2,9
11	МТБЭ	4104	мл	-	-	38V
12	Вода	1080	мл	-	-	10V
13	Солевой раствор (brine solution)	540	мл	-	-	5V
14	Уксусный ангидрид	53,5	мл	102	0,566	1,5
15	МТБЭ	216	мл	-	-	2V
16	Триэтиламин	105,2	мл	101	0,755	2,0
17	4-(N,N-диметиламино)пиридин	4,6	г	122	0,037	0,1
18	Вода	1080	мл	-	-	10V
19	Солевой раствор (brine solution)	324	мл	-	-	3V

Порядок проведения эксперимента: К раствору соединения 27 (108,0 г) в ТГФ (1080 мл) добавляли три(трет-бутокси)алюмогидрид лития (700 мл) при температуре от -40 до -45°С в инертной атмосфере. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при температуре от -40 до -45°С. После

завершения реакции, о чем свидетельствовала ТСХ (30% EtOAc в ДХМ), реакционную смесь гасили путем добавления 2н. раствора HCl. Фазы разделяли и полученный водный слой подвергали экстракции дихлорметаном (648 мл). Органические фракции объединяли и промывали водой (648 мл) с последующим промыванием соевым раствором (brine solution) (540 мл). Органический слой выпаривали в вакууме, что обеспечивало получение соединения 28, растворенного в ТГФ (540 мл).

К раствору бромид этилтрифенилфосфония (417 г) в ТГФ (216 мл) по каплям добавляли трет-бутоксид калия (1086 мл, 1 М раствор в ТГФ) в течение 20 мин в азоте при 25-35°C. Полученную реакционную смесь темно-красного цвета дополнительно перемешивали в течение 1 ч при такой же температуре. Вышеуказанный раствор соединения 28 медленно добавляли в течение 30-40 мин к вышеуказанной суспензии при 25-35°C. Реакционную смесь дополнительно перемешивали в течение 3-5 ч, приводя к полному расходу исходного материала (о чем свидетельствовала ТСХ; 30% EtOAc в ДХМ). Реакционную смесь гасили ледяной водой (1,080 л). Водный слой подвергали экстракции МТБЭ (2×540 мл) и объединенные органические экстракты промывали концентрированным раствором соли (540 мл), органический слой концентрировали в вакууме и неочищенный материал очищали с применением МТБЭ (2×540 мл), фильтровали, полученный фильтрат дистиллировали в вакууме, отгоняя 25% растворителя. Раствор соединения 29 охлаждали до 25°C, к указанному раствору добавляли триэтиламин (105,2 мл), ДМАП (4,5 г) и уксусный ангидрид (53,5 мл) при 25-35°C в азоте. После перемешивания в течение 2 ч при 25-35°C путем ТСХ (10% EtOAc в гексане) определяли, что реакция прошла полностью. Реакционную смесь промывали водой (1080 мл) с последующим промыванием соевым раствором (brine solution) (324 мл). Органический слой концентрировали в вакууме с получением неочищенного соединения 30 (225 г), остаток перекристаллизовывали в 2% водном метаноле, чем обеспечивали получение 85 г чистого соединения 30 (выход 63,5% с определенной путем ВЭЖХ-ПП степенью чистоты, составлявшей 96%).

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 30 = 0,5 и R_f соединения 29 = 0,15. Элюент представлял собой 10% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 5,38 (с, 1H), 5,20-5,18 (д, $J=6,5$ Гц, 1H), 4,76-4,72 (м, 1H), 2,40-2,35 (м, 3H), 2,25-2,22 (м, 1H), 2,09-2,03 (м, 3H), 2,01 (с, 3H), 1,98-1,49 (м, 10H), 1,41-1,31 (м, 2H), 1,27-1,16 (м, 3H), 1,07 (с, 3H), 0,79 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): δ = 170,5, 150,0, 140,4, 119,6, 114,3, 74,7, 53,5, 42,0, 41,7, 39,6, 38,6, 35,6, 35,3, 33,8, 31,9, 29,5, 27,8, 26,7, 26,6, 25,5, 21,3, 16,9, 13,2.

Масс. (m/z) = 342,9 [$\text{M}^+ + 1$], 360 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК (CHCl_3) = 3440, 3035, 1730, 1451, 1367, 1258, 1028 cm^{-1} .

Т.пл. = 93,9-97,8°C.

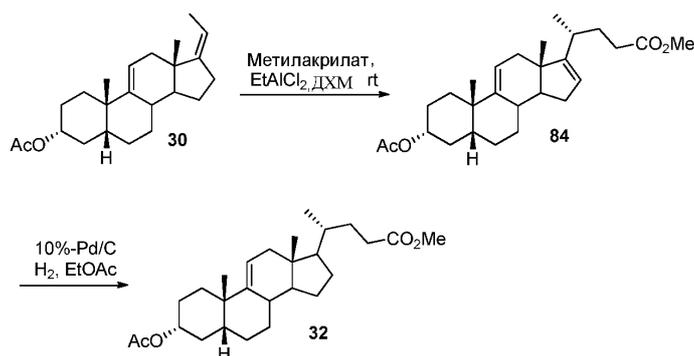
$[\alpha]_D^{25} = +109$ (с = 1% в CHCl_3).

ВЭЖХ/ПП чистота: 96,0%.

Исследования модификации этапа 4.

Химическое наименование продукта: метил-3 α -ацетокси-5 β -хол-9(11),16-диен-24-оат (соединение 84).

Схема синтеза:



План модификации этапа 6:

выбор кислоты Льюиса,
количество кислоты Льюиса,
выбор катализатора,
количество катализатора.

Выбор кислоты Льюиса.

Для того чтобы рассмотреть альтернативные кислоты Льюиса в качестве катализатора на указанном этапе, были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Реагент	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	0,1	SnCl ₄	-	Реакция не протекала – в смеси находился только исходный материал.
2	0,1	ZnCl ₂	-	Реакция не протекала – в смеси находился только исходный материал
3	0,3	SnCl ₄	-	Реакция не протекала – в смеси находился только исходный материал

Количество кислоты Льюиса.

Дихлорид этилалюминия был признан эффективным на указанном этапе. Авторы настоящего изобретения рассматривали различные молярные отношения дихлорида этилалюминия и соединения 30, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Кислота Льюиса (эквив.)	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	0,2	2,0	-	Обнаруживали 10% исходного материала.
2	0,2	2,5	-	Обнаруживали 10% исходного материала.
3	27	3,0	30,0	Обнаруживали отсутствие исходного материала.

Вывод: Реакция проходила хорошо при применении 3,0 экв. дихлорида этилалюминия.

Выбор катализатора.

Первоначально в качестве катализатора на указанном этапе применяли оксид платины. Палладий на угле является менее дорогостоящим, а также является типичным катализатором гидрирования, так что указанный катализатор также рассматривали. Были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Катализатор	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	2,0	Pd/C (влажность 50%)	-	Реакция прошла полностью.
2	5,0	Pd/C (влажность 50%)	-	Реакция прошла не полностью.
3	43,0	Pd/C (безводный)	45,0	Реакция прошла полностью.

Вывод: палладий/уголь влажностью 50% действовал при проведении способа в малых масштабах в среде этилацетата, в крупномасштабном производстве в качестве катализатора возможно применение коммерчески привлекательного безводного палладия.

Окончательная модификация способа на этапе 4.

Окончательная обработка способа на указанном этапе приведена ниже.

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	Соединение 30	56	г	342	0,163	1,0
2	Дихлорметан	1120	мл	-	-	20 V
3	Метилакрилат	35,13	мл	86	0,389	2,38
4	Дихлорид этилалюминия (1,8 М в толуоле)	272,9	мл	-	0,491	3,0
5	Вода	1680	мл	-	-	30 V
6	Солевой раствор (brine solution)	560	мл	-	-	10 V
7	Метанол	336	мл	-	-	6,0 V
8	Этилацетат	1650	мл	-	-	29,5 V
9	10 % палладий на угле	6,7	г	-	-	12 масс. %
10	Celite	25	г	-	-	-

Порядок проведения эксперимента: К раствору соединения 30 (56 г) в ДХМ (560 мл) добавляли метилакрилат (35,13 мл) при 0-5°C в инертной атмосфере, перемешивая в течение 60 мин, раствор охлаждали до 0-5°C, дихлорид этилалюминия (272,9 мл; 1,8 М в толуоле) добавляли в течение 60 мин. Затем температуру повышали до 25-35°C и смесь перемешивали в течение примерно 18 ч. После этого анализ путем ТСХ (10% EtOAc в гексане) показал, что реакция прошла полностью, так что смесь наливали в ледяную воду (1120 мл). Фазы разделяли и водный слой подвергали экстракции ДХМ (2×255 мл). Органические слои объединяли и последовательно промывали водой (560 мл) и солевым раствором (brine solution) (560 мл), органический слой выпаривали в вакууме, что обеспечивало получение соединения 84 (66 г) в виде масла.

К раствору соединения 84 в этилацетате (550 мл), добавляли взвесь Pd/C (6,7 г) в этилацетате (110 мл) при 25-35°C. Полученную взвесь перемешивали под давлением водорода, составлявшим примерно 70 фунт/кв.дюйм, в течение примерно 16 ч. Ход реакции контролировали путем ВЭЖХ. Катализатор фильтровали через слой Celite® (25 г) и фильтровальную лепешку промывали этилацетатом (990 мл). Фильтрат выпаривали в вакууме, что обеспечивало получение соединения 32 (59 г, 85%) в виде твердого вещества.

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 32 = 0,32 и R_f соединения 84 = 0,30. Элюент представлял собой 10% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 5,31 (с, 1H), 4,73 (м, 1H), 3,66 (с, 3H), 2,37-2,03 (м, 7H), 2,01 (с, 3H), 1,98-1,09 (м, 18H), 1,06 (с, 3H), 0,92-0,91 (д, $J=6,0$ Гц, 3H), 0,59 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3): δ = 174,6, 170,5, 139,8, 119,5, 74,8, 56,0, 53,3, 51,4, 41,9, 41,7, 40,9, 38,5, 36,4, 35,4, 35,2, 33,8, 31,0, 30,9, 29,5, 28,2, 27,8, 26,8, 26,7, 25,2, 21,4, 17,9, 11,5.

Масс. (m/z) = 448,2 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК (KBr) = 3435, 3039, 2941, 1729, 1448, 1435, 1252, 1022 cm^{-1} .

$T_{\text{пл.}}$ = 122,1-123,9°C.

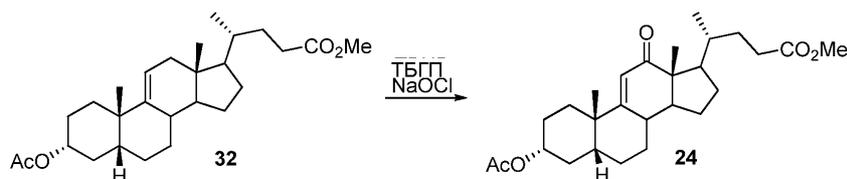
$[\alpha]_{\text{D}} = +56$ (с = 1% в CHCl_3).

ВЭЖХ/ПП чистота: 93,0%.

Исследование модификации этапа 5.

Химическое наименование продукта: метил-3 α -ацетокси-12-оксо-5 β -хол-9(11)-ен-24-оат (соединение 24).

Схема синтеза:



План модификации этапа 8:

- выбор реагента,
- стехиометрический состав реагента,
- выбор растворителя,
- количество растворителя,
- температура реакции,

продолжительность реакции,
растворитель при выделении продукта,
продукт перекристаллизации.
Выбор реагента.

Реакцию пробовали проводить с применением большого количества альтернативных окисляющих агентов. Были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Реагент	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	0,5	БСИ	-	Реакция прошла не полностью.
2	0,2	Br ₂	-	Реакция прошла не полностью.
3	0,2	DDHT	-	Реакция прошла не полностью.
4	0,2	HBr	-	Реакция прошла не полностью.
5	1,0	DDHT / АИБН	-	Реакция прошла не полностью.
6	0,1	БСИ / Бензоилпероксид	-	Реакция прошла не полностью.
7	0,1	DDHT / Бензоилпероксид	-	Реакция прошла не полностью.
8	0,2	SeO ₂ / НМО	-	Реакция прошла не полностью.
9	0,2	SeO ₂ / ТБГП	-	Реакция прошла не полностью.
10	0,1	SeO ₂	-	Реакция прошла не полностью.
11	0,1	Br ₂ / AcOH	-	Реакция прошла не полностью.
12	0,1	Br ₂ / AcOH	-	Реакция прошла не полностью.
13	0,2	CrO ₃ / Пиридин	-	Реакция прошла не полностью.
14	0,1	6% водный CrO ₃	-	Реакция прошла полностью.
15	0,2	CrO ₃ / ДМП	-	Реакция прошла не полностью.
16	0,5	ТБГП, CuI / NaOCl	-	Реакция прошла не полностью.
17	2,0	ТБГП / NaOCl	-	Реакция прошла

				полностью.
18	5,0	ТБГП / NaOCl	2,0	Реакция прошла полностью.
19	0,2	CrO ₃ / Стирен	-	Реакция прошла не полностью.
20	0,2	CrO ₃ / ДМБ	-	Реакция прошла не полностью.
21	1,0	ТБГП / NaOCl	0,4	Реакция прошла полностью.
22	2,0	ТБГП / NaOCl	0,8	Реакция прошла полностью.
23	10,0	ТБГП / NaOCl	4,5	Реакция прошла полностью.
24	5,0	ТБГП / Ca(OCl) ₂	4,5	Реакция прошла полностью.
25	20,0	ТБГП / NaOCl	13,0	Реакция прошла полностью.
26	20,0	ТБГП / NaOCl	12,8	Реакция прошла полностью.

Примечание: DDHT представляет собой дибромдиметилгидантоин, ДМП представляет собой диметилпиразол, ДМБ представляет собой 3,3-диметил-1-бутен, ТБГП представляет собой трет-бутилгидропероксид.

Также пробовали применять некоторые другие реагенты, такие как CrO₃/ТБГП, NaClO₂/ТБГП и т.п.

Вывод: Что касается ТБГП/NaOCl, было отмечено, что альтернативные окислители, отличные от триоксида хрома, действовали неудовлетворительно. Таким образом, в качестве окисляющего реагента выбрали ТБГП/NaOCl.

Выбор растворителя.

При проведении пробных запусков указанного этапа в качестве растворителя применяли уксусную кислоту. В качестве альтернативных выбирали следующие растворители и сравнивали результаты:

дихлорметан,

этилацетат,

вода.

Множество других растворителей пробовали применять при различных условиях окисления. Некоторые из них представляли собой АЦН, ацетон и AcOH, но могли быть включены и другие растворители. Были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Растворитель	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	1,0	ДХМ	-	Исходный материал не был израсходован
2	0,5	Вода	-	Исходный материал не был израсходован
3	1,0	EtOAc	0,4	Реакция прошла полностью.
4	2,0	EtOAc	0,8	Реакция прошла полностью.

Вывод: Результаты были лучше при применении в качестве растворителя EtOAc по сравнению с ДХМ. Следовательно, в качестве предпочтительного растворителя выбрали этилацетат.

Количество растворителя.

20 объемов этилацетата применяли при проведении пробных запусков указанного этапа. Чтобы установить, можно ли применять меньшее количество растворителя, были проведены следующие эксперименты. Результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции(г)	Кол-во растворителя	Отношение растворителя	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	2,0	10 мл	5V	0,8	Реакция прошла полностью
2	10,0	200 мл	20V	4,5	Реакция прошла полностью
3	20,0	200 мл	10V	13,0	Реакция прошла полностью
4	20,0	200 мл	10 V	12,8	Реакция прошла полностью

Вывод: в качестве предпочтительного количества выбрали 10 объемов растворителя. Стехиометрический состав реагента.

Пробные запуски указанного этапа проводили с применением меньшего количества экв. ТБГП. Следующие эксперименты были проведены, чтобы изменить количество указанного реагента, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Молярное отношение	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	0,2	10	-	Реакция прошла не полностью
2	1,0	20	-	Реакция прошла не полностью
3	1,0	25	-	Реакция прошла не полностью
4	1,0	30	-	Реакция прошла не полностью
5	20,0	34	13,0	Реакция прошла полностью
6	20,0	34	12,8	Реакция прошла полностью

Вывод: Реакция подходила к завершению при применении 34 экв. реагента, но не проходила полностью в двух экспериментах, где применяли меньшее количество реагента. Следовательно, в качестве предпочтительного количества выбрали 34 экв.

Стехиометрический состав реагента.

Пробные запуски указанного этапа проводили с применением меньшего количества эквивалента. NaOCl. Следующие эксперименты были проведены, чтобы изменить количество указанного реагента, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Молярное отношение	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	1,0	3,0	-	Реакция прошла не полностью
2	0,2	5,0	-	Реакция прошла не полностью
3	5,0	5,0	-	Реакция прошла не полностью
4	1,0	10,0	0,4	Реакция прошла полностью
5	5,0	7,0	2,0	Реакция прошла не полностью
6	5,0	7,0	2,2	Реакция прошла не полностью

Вывод: Реакция подходила к завершению при применении 7,0 экв. реагента, но не проходила полностью в двух экспериментах, где применяли меньшее количество реагента. Следовательно, в качестве предпочтительного количества выбрали 7,0 экв.

Температура реакции.

Для того, чтобы изменить температуру реакции, были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Температура	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	5,0	25-30°C	2,0	Реакция прошла полностью
2	5,0	10-15°C	2,2	Реакция прошла полностью
3	20,0	0-5°C	13,0	Реакция прошла полностью
4	20,0	0-5°C	12,8	Реакция прошла полностью

Вывод: Реакция проходила при всех температурах в диапазоне от 0 и до 5°C, так что выбирали диапазон 0-10°C, так как предполагали, что реакция более селективна при более низкой температуре, и отмечали более высокие выходы.

Продолжительность реакции

При пробных запусках реакцию проводили при 0-5°C (в течение 24 ч). Для того, чтобы установить, нужно ли изменять продолжительность реакции, были проведены следующие эксперименты, и результаты сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Время	Кол-во продукта (г)	Примечания
1	1,0	24	0,4	Реакция прошла полностью
2	20,0	8,0	13,0	Реакция прошла полностью
3	20,0	8,0	12,8	Реакция прошла полностью

Вывод: Завершение реакции наступало при 0-5°C через 8 ч, так что указанную продолжительность реакции выбрали в качестве предпочтительной.

Выбор растворителя, применяемого при выделении продукта.

Исследовали две системы растворителей для указанной окончательной очистки. Они представляли собой:

метанол,
водный метанол.

Были проведены следующие эксперименты, и результаты экспериментов сведены в таблицу ниже.

№	Номер эксперимента	Размер порции (г)	Растворитель	Кол-во продукта (г)	Чистота, определённая путём ВЭЖХ
1	BDA-09-009-V-05	20,0	Метанол	10,0	95,6% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
2	BDA-09-009-V-017	50,0	20% водный метанол	31,9	95,2% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
3	BDA-10-003-V-01	60,0	20% водный метанол	38,0	91,2% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
4	BDA-10-003-V-06A	13,0	30% водный метанол	10,5	81,8% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
5	BDA-10-003-V-06B	13,0	40% водный метанол	11,0	80,3% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
6	BDA-10-003-V-06C	13,0	50% водный метанол	11,0	80,4% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП

Вывод: Чрезвычайно эффективной очистки, степени чистоты и выхода продукта достигали путем его выделения из 20% водного метанола. В качестве альтернативы применяли очистку на колонке с применением силикагеля и градиентную систему растворителей (EtOAc/гексаны).

Выбор растворителя для очистки.

Исследовали две системы растворителей для указанной окончательной очистки. Они представляли собой:

метанол,
водный метанол.

Были проведены следующие эксперименты, и результаты экспериментов сведены в таблицу ниже.

№	Размер порции (г)	Растворитель	Кол-во продукта (г)	Чистота определённая путём ВЭЖХ
1	10,0	Метанол	8,0	93,6% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
2	18,0	13% водный метанол	15,5	93,8% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
3	25,0	Метанол	10,0	91,9% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
4	20,0	13% водный метанол	17,0	93,8% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП
5	20,0	13% водный метанол	17,0	93,3% чистота, определённая при помощи ВЭЖХ путём измерения ПП

Вывод: Чрезвычайно эффективной очистки, степени чистоты и выхода продукта достигали путем его перекристаллизации из 13% водного метанола. В качестве альтернативы применяли очистку на колонке с применением силикагеля и градиентную систему растворителей (EtOAc/гексаны).

Окончательный модифицированный способ на этапе 8.

Окончательная модифицированная последовательность операций на указанном этапе приведена ниже.

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	Соединение 32	20,0	г	430	0,046	1,0
2	10% гипохлорит натрия	220	мл	74,5	0,322	7,0
3	70% ТБГП в воде	200	мл	90	1,56	34,0
4	Этилацетат	300	мл	-	-	15 V
5	Хлорхромат пиридиния	10,9	г	215,5	0,056	1,1
6	Метанол	140	мл	-	-	7,0 V
7	Вода	2000	мл	-	-	100 V
8	Солевой раствор (brine solution)	100	мл	-	-	5,0 V

Порядок проведения эксперимента: К раствору соединения 32 (20 г) в этилацетате (200 мл) добавляли 70% ТБГП в воде (200 мл), реакционный раствор охлаждали до 0°C, медленно добавляли 10 % раствор гипохлорита натрия в течение примерно 6-7 ч при 0-5°C, перемешивали в течение 2-3 ч при такой же температуре. После полного исчезновения соединения 32, определенного путем ТСХ (элюент представлял собой 20% EtOAc в гексане), органический слой отделяли и водный слой подвергали экстракции этилацетатом (60 мл). Объединенный органический слой промывали водой (2×400 мл) с последующей обработкой 20% раствором сульфата натрия (220 мл) при 50-55°C в течение 2 ч, после чего разделяли два слоя, органический слой обрабатывали хлорхроматом пиридиния (10,9 г) в течение 6-8 ч при 25-30°C. После полного исчезновения аллильного спирта, определенного путем ТСХ (элюент представлял собой 20% EtOAc в гексане), органические слои промывали горячей водой (4×500 мл) с последующим промыванием солевым раствором (brine solution) (100 мл). Органический слой выпаривали в вакууме при 45-

50°C. Полученный неочищенный материал очищали путем перемешивания с 20% водным метанолом (40 мл) при 5-10°C в течение 1 ч, затем фильтровали; фильтровальную лепешку промывали 20% водным метанолом (20 мл) и затем сушили в вакууме при 45-50°C. Органический слой концентрировали и абсорбировали на диоксиде кремния (1,5 экв.). Отдельно силикагелевую (с применением гексанов) колонку заправляли 7 экв. диоксида кремния и смесь, содержащую полученный продукт, загружали в колонку. Затем продукт элюировали градиентной смесью гексана/EtOAc с выходом колоночных фракций, содержащих соединение 24. Из каждой фракции отбирали пробу и проводили испытания на чистоту.

Все фракции желаемой чистоты объединяли и концентрировали в вакууме. Затем полученную смесь осаждали из гексанов, а затем сушили в вакууме при 45-50°C, что обеспечивало получение соединения 24 (13 г) в виде бледно-желтого твердого вещества.

ТСХ: обугливание с применением пара-анисового альдегида, R_f соединения 24 = 0,28 и R_f соединения 32 = 0,52. Элюент представлял собой 20% EtOAc в гексане.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 5,71 (с, 1H), 4,75-4,71 (м, 1H), 3,66 (с, 3H), 2,42-2,37(м, 3H), 2,31-2,02 (м, 2H), 2,0 (с, 3H), 1,98-1,67 (м, 9H), 1,56-1,24 (м, 9H), 1,19 (с, 3H), 1,02-1,01 (д, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,90 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ = 204,9, 174,5, 170,4, 163,8, 123,6, 73,7, 53,4, 53,0, 51,3, 47,2, 41,7, 39,8, 37,7, 35,2, 35,0, 33,9, 31,4, 30,5, 29,6, 27,6, 27,3, 26,4, 26,1, 24,1, 21,2, 19,4, 10,6.

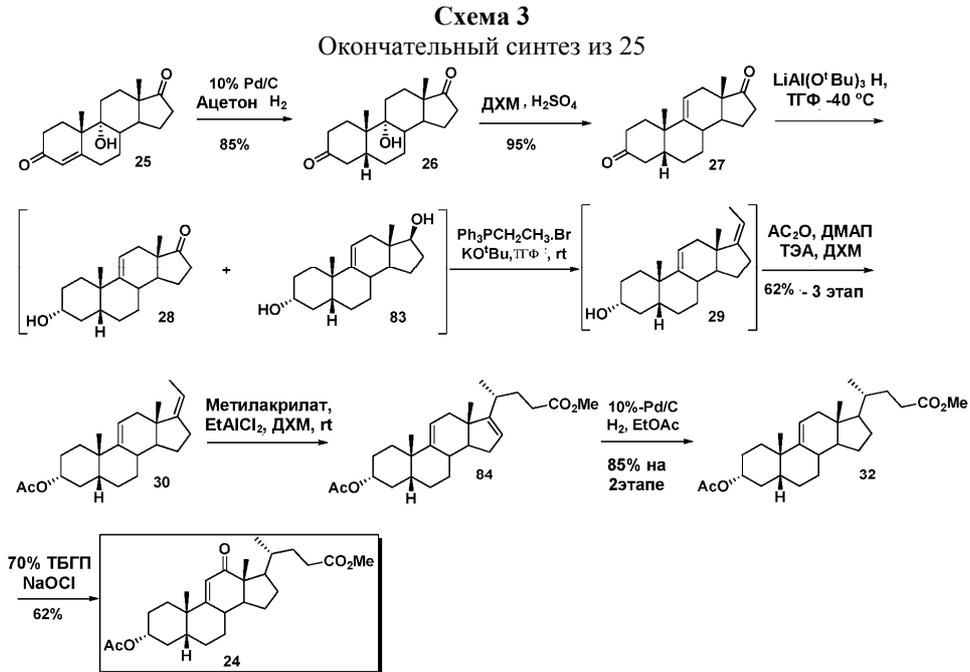
Масс. (m/z) = 445,0 [$\text{M}^+ + 1$], 462,0 [$\text{M}^+ + 18$].

ИК = 3437, 3045, 2946, 2870, 1729, 1680, 1252, 1168, 1020, cm^{-1} .

Т.пл. = 141-142°C.

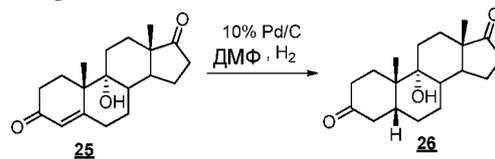
$[\alpha]_D^{25} = +102$ (с = 1% в CHCl_3).

ВЭЖХ/ПП чистота: 96,2%.

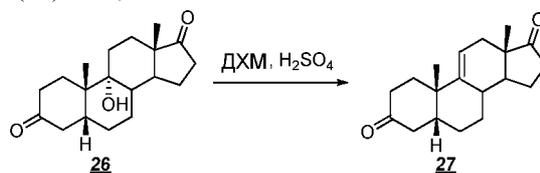


Краткое заключение.

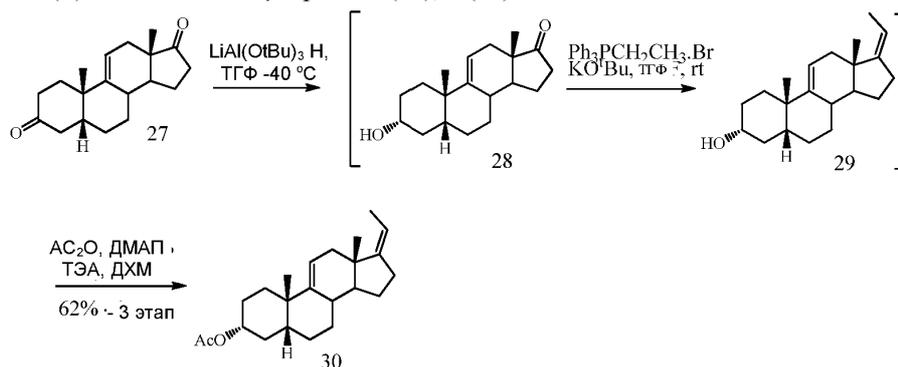
Стадия I: 9 α -Гидрокси-5 β -андростан-3,17-дион



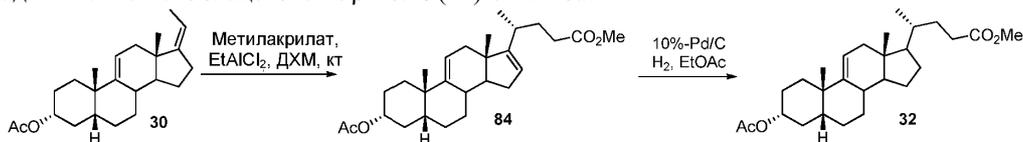
Стадия II: 5 β -Андрост-9(11)-ен-3,17-дион



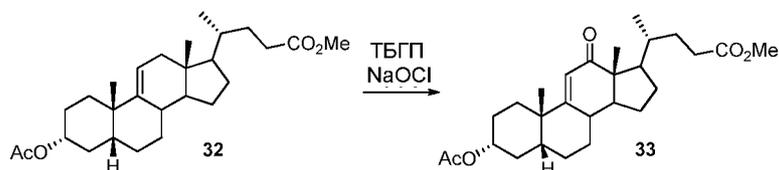
Стадия III: (Z)-3 α -Ацетокси-5 β -прегна-9(11),17(20)-диен



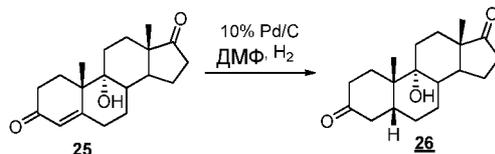
Стадия IV: Метил-3 α -ацетокси-5 β -хол-9(11)-ен-24-оат



Стадия V: Метил-3 α -ацетокси-12-оксо-5 β -хол-9(11)-ен-24-оат



Стадия I: 9 α -Гидрокси-5 β -андростан-3,17-дион



Исходные материалы:

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	9 α -гидроксиандростендион (9- ГАД)	100,0	г	302,4	0,330	1,0
2	10% Pd/C (влажная)	8,0	г	-	-	8,0 масс. %
3	Ацетон	3000	мл	-	-	30,0 V
4	Дихлорметан	1200	мл	-	-	12,0 V
5	Celite	20	г	-	-	-

Порядок проведения эксперимента:

01. Ацетон (2200 мл) загружали в чистый и сухой автоклав.
02. 9-ГАД (100 г) загружали в тот же автоклав.
03. Реакционную смесь перемешивали при 25 $^\circ$ C (КТ) и добавляли взвесь Pd/C (8,0 г) в ацетоне (200 мл).
04. После создания инертной атмосферы с применением азота создавали давление газообразного водорода, составлявшее 60 фунт/кв.дюйм.
05. Перемешивали реакционную смесь при 25-35 $^\circ$ C (КТ) и 60 фунт/кв.дюйм в течение 4-5 ч.
06. Путем ВЭЖХ проверяли, завершилась ли реакция (30% EtOAc в ДХМ; НБЧ 0,5% соединения 25).
07. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (300 мл).
08. Фильтровали через слой Celite® (20 г) и промывали Celite® дихлорметаном (900 мл).

09. Концентрировали фильтрат путем вакуумной дистилляции всего растворителя при температуре ниже 45°C.

10. Загружали ацетон (300 мл) и полностью удаляли растворитель в вакууме при температуре ниже 65°C.

11. Загружали ацетон (200 мл) и охлаждали смесь до 0-5°C.

12. Выдерживали полученную взвесь в течение 2 ч при 0-5°C, а затем фильтровали.

13. Промывали влажную фильтровальную лепешку охлажденным (0-10°C) ацетоном (100 мл).

14. Сушили полученное белое твердое вещество в сушильном шкафу при 45-50°C до ППС, составивших НБЧ 1%.

Масса во влажном состоянии: 105 г.

Масса в сухом состоянии: 86 г.

Выход: 85,4%.

ППС <1,0%.

Температурный интервал плавления: 218-219,7°C.

УОВ: +126,4 (с = 1% в CHCl_3).

ВЭЖХ/ПП чистота: 99,0%.

Примечание: Альтернативный способ гидрирования.

Исходные материалы:

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	9 α -гидроксиандростендион (9-ГАД)	100,0	г	302	0,331	1,0
2	10% Pd/C (безводный)	7,0	г	-	-	7,0 масс. %
3	<i>N,N</i> -диметилформамид	700	мл	-	-	7,0 V
4	Дихлорметан	1200	мл	-	-	12,0 V
5	Ацетон	600	мл	-	-	6,0 V
6	Celite	20	г	-	-	-

Порядок проведения эксперимента:

15. ДМФ (500 мл) загружали в чистый и сухой автоклав.

16. 9-ГАД (100 г) загружали в тот же автоклав.

17. Реакционную смесь перемешивали при 25°C (КТ) и добавляли взвесь Pd/C (7,0 г) в ДМФ (200 мл).

18. После создания инертной атмосферы с применением азота создавали давление газообразного водорода, составлявшее 60 фунт/кв.дюйм.

19. Перемешивали реакционную смесь при 25-35°C (КТ) и 60 фунт/кв.дюйм в течение 3 ч.

20. Путем ТСХ проверяли, завершилась ли реакция (30% EtOAc в ДХМ; НБЧ 2% соединения 25).

21. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (300 мл).

22. Фильтровали через слой Celite® (20 г) и промывали Celite® дихлорметаном (900 мл).

23. Концентрировали фильтрат путем вакуумной дистилляции всего растворителя при температуре ниже 65°C.

24. Загружали ацетон (300 мл) и полностью удаляли растворитель в вакууме при температуре ниже 65°C.

25. Загружали ацетон (200 мл) и охлаждали смесь до 0-5°C.

26. Выдерживали полученную взвесь в течение 2 ч при 0-5°C, а затем фильтровали.

27. Промывали влажную фильтровальную лепешку охлажденным (0-10°C) ацетоном (100 мл).

28. Сушили полученное белое твердое вещество в сушильном шкафу при 45-50°C до ППС, составивших НБЧ 1%.

Масса во влажном состоянии: 105 г.

Масса в сухом состоянии: 88 г.

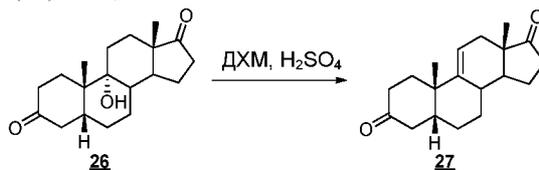
Выход: 87,4%.

ППС <1,0%.

Температурный интервал плавления: 218-219,7°C.

УОВ: +126,4 (с = 1% в CHCl_3).

Стадия II: 5β-Андрост-9(11)-ен-3,17-дион.

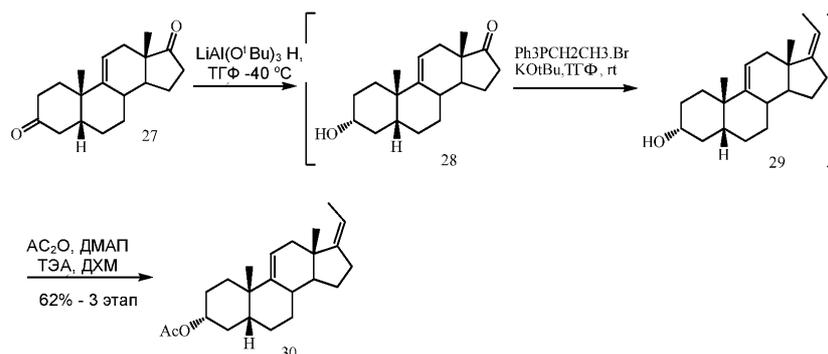


Исходные материалы:

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	Продукт со стадии-I	85,0	г	304	0,279	1,0
2	Серная кислота	13,5	мл	98	0,251	0,9
3	Дихлорметан	1530	мл	-	-	18,0 V
4	Гексаны	340	мл	-	-	4 V
5	Вода	1700	мл	-	-	20,0 V
6	Бикарбонат натрия	425	мл	-	-	5,0 V
7	Солевой раствор (brine solution)	425	мл	-	-	5,0 V

Порядок проведения эксперимента:

01. Загружали дихлорметан (1275 мл) и продукт Стадии-I в чистую и сухую колбу.
02. Охлаждали смесь до 10°C, а затем медленно добавляли серную кислоту (13,5 мл) в течение 15 мин при 10-15°C.
03. Температуру реакционного раствора повышали до 25-35°C и перемешивали в течение 2 ч при 25-35°C.
04. Путем ТСХ проверяли, завершилась ли реакция (30% EtOAc в ДХМ; НБЧ 1% продукта Стадии-I).
05. Промывали реакционную смесь водой (300 мл).
06. Водный слой подвергали обратной экстракции ДХМ (2×212 мл), а затем объединяли органические слои.
07. Промывали органический слой насыщенным раствором бикарбоната натрия (425 мл)
08. Промывали органический слой водой (550 мл) с последующим промыванием солевым раствором (brine solution) (425 мл).
07. Полностью отгоняли растворитель в вакууме при температуре менее чем 45°C.
09. Добавляли гексаны (340 мл) и полностью отгоняли растворитель в вакууме при температуре менее чем 50°C.
10. Добавляли воду (616 мл), перемешивали в течение 15 мин при КТ, затем фильтровали и промывали фильтровальную лепешку водой (255 мл).
11. Сушили белое твердое вещество в установке для сушки горячим воздухом при 55-60°C, пока содержание влаги не составило НБЧ 0,5%.
 Масса во влажном состоянии: примерно 190 г.
 Масса в сухом состоянии: 76 г.
 Выход: 95%.
 Содержание влаги < 0,5%.
 Температурный интервал плавления: 148,5-150,1°C.
 УОВ: +144,4 (с = 1% в CHCl₃).
 ВЭЖХ/ПП чистота: 96,0%.
 Стадия III: (Z)-3α-Ацетокси-5β-прег-9(11),17(20)-диен (соединение 30)



Исходные материалы:

№	Исходные материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	Соединение 27	76	г	286,2	0,265	1,0
2	Три(трет-бутокси)алюмогидрид лития	319	мл	254,2	0,489	1,2
3	ТГФ	760	мл	-	-	10V
4	Дихлорметан	380	мл	-	-	6V
5	Вода	456	мл	-	-	6,0V
6	2н. HCl	456	мл	-	-	6,0V
7	Солевой раствор (brine solution)	380	мл	-	-	5,0V
8	ТГФ	532	мл	-	-	8,0V
9	Трет-бутоксид калия (1,0 М в ТГФ)	768	мл	-	0,797	2,9
10	Бромид этилтрифенилфосфония	295,4	г	371,26	0,795	3,0
11	МТБЭ	2280	мл	-	-	30V
12	Вода	760	мл	-	-	10V
13	Солевой раствор (brine solution)	380	мл	-	-	5V
14	Уксусный ангидрид	37,6	мл	102	0,398	1,5
15	МТБЭ	216	мл	-	-	5V
16	Триэтиламин	73,9	мл	101	0,530	2,0
17	4-(N,N-диметил-амино)пиридин (ДМАП)	3,23	г	122	0,026	0,1
18	Вода	796	мл	-	-	10V
19	Солевой раствор (brine solution)	380	мл	-	-	5V
20	Метанол	380	мл	-	-	5V
21	2% водный метанол	380	мл	-	-	5V

Порядок проведения эксперимента:

01. Безводный ТГФ (760 мл) и продукт со стадии-II (76 г) загружали в чистую и сухую колбу в атмосфере азота.
02. Охлаждали до температуры от -35 до -45°C , а затем добавляли раствор три(трет-бутокси)алюмогидрида лития при температуре от -35°C до -45°C в течение 1 ч.
03. Перемешивали реакционную смесь в течение 2-3 ч при температуре от -35 до -45°C .
04. Осуществляли контроль реакции путем ВЭЖХ (30% EtOAc в ДХМ; НБЧ 3% продукта Стадии-II).
05. К реакционной смеси добавляли 2н. раствор HCl (474 мл), поддерживая температуру $<0^{\circ}\text{C}$.
06. Разделяли слои и водный слой дважды подвергали обратной экстракции дихлорметаном (2 \times 380 мл).
07. Объединенные органические слои промывали водой (380 мл), а затем солевым раствором (brine solution) (380 мл).
08. Полностью удаляли растворители путем атмосферной перегонки при температуре менее 60°C .
09. Проверяли остаточное содержание воды. Если оно составляло $>0,5\%$, добавляли ДХМ (156 мл) и снова подвергали атмосферной перегонке при температуре менее 60°C .
10. Остаток растворяли в безводном ТГФ (380 мл) и хранили раствор в атмосфере азота. Указанный раствор представлял собой продукт Стадии IIIA.
11. Бромид этилтрифенилфосфония (295 г) и безводный ТГФ (250 мл) загружали в чистую и сухую колбу в атмосфере азота.
12. Добавляли раствор трет-бутоксид калия (1М в ТГФ, 769 мл) в течение 10 мин, а затем перемешивали полученный раствор красного цвета в течение 1 ч при $25-35^{\circ}\text{C}$.
13. Добавляли раствор ТГФ, полученный на этапе 10, в течение $\frac{1}{2}$ ч, а затем дополнительно перемешивали 3 ч при $25-35^{\circ}\text{C}$.
14. Путем ТСХ проверяли, завершилась ли реакция (30% EtOAc в ДХМ; НБЧ 1% продукта Стадии-IIIA).
15. К реакционной смеси добавляли ледяную воду (780 мл) при $25-35^{\circ}\text{C}$ (экзотермически $5-8^{\circ}\text{C}$).
16. Слои разделяли и водную фазу подвергали обратной экстракции МТБЭ (2 \times 380 мл).
17. Объединяли органические слои и промывали водой (380 мл), а затем солевым раствором (brine solution) (380 мл).
18. Полностью отгоняли растворители в вакууме и при температуре ниже 50°C .
19. Добавляли МТБЭ (264 мл) и полностью отгоняли в вакууме при температуре ниже 50°C .
20. Снова добавляли МТБЭ (380 мл) и перемешивали в течение 2 ч при $25-35^{\circ}\text{C}$.
21. Нежелательные соли фильтровали, промывали их МТБЭ (380 мл) и объединяли фильтраты.
22. Полностью отгоняли растворители в вакууме и при температуре ниже 50°C .
23. Добавляли новую порцию МТБЭ (380 мл), а затем полностью отгоняли в вакууме.
24. Снова добавляли МТБЭ (380 мл) и перемешивали в течение 2 ч при $25-35^{\circ}\text{C}$.
25. Нежелательные соли фильтровали, промывали их МТБЭ (380 мл) и объединяли фильтраты, подвергнутые дистилляции в вакууме до 20%, добавляли новую порцию МТБЭ (180 мл).
26. Фильтрат (760 мл) продукта Стадии-IIIV загружали в чистую и сухую колбу.
27. Загружали ДМАП (3,2 г).
28. Добавляли триэтиламин (73,8 мл).
29. Медленно добавляли уксусный ангидрид (37,58 мл) при $25-35^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин.
30. Реакционную смесь перемешивали в течение 2-3 ч при $25-35^{\circ}\text{C}$.
31. Путем ТСХ проверяли, завершилась ли реакция (10% EtOAc в гексане; НБЧ 1% продукта Стадии-IIIV).
32. Промывали реакционную смесь водой (760 мл), а затем водный слой подвергали экстракции МТБЭ (380 мл), объединенный органический слой промывали солевым раствором (brine solution) (380 мл).
33. Органический слой полностью концентрировали путем атмосферной перегонки при температуре ниже 50°C .
34. Загружали метанол (152 мл) и полностью удаляли растворитель в вакууме при температуре ниже 50°C .
35. Загружали 2% водный метанол (304 мл) и нагревали до $60-65^{\circ}\text{C}$.
36. Выдерживали полученный прозрачный раствор в течение 1 ч при $60-65^{\circ}\text{C}$, затем медленно охлаждали до $15-20^{\circ}\text{C}$, выдерживали в течение 2 ч при такой же температуре, а затем фильтровали.
37. Промывали влажную фильтровальную лепешку охлажденным ($10-15^{\circ}\text{C}$) 2% водным метанолом (76 мл).
38. Сушили полученное белое твердое вещество в сушильном шкафу при $45-50^{\circ}\text{C}$ до ППС, составлявших НБЧ 1%.

Масса во влажном состоянии: примерно 70 г.

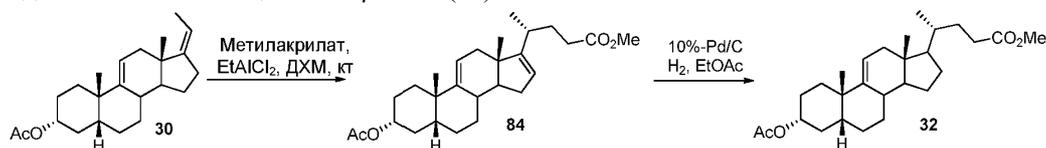
Масса в сухом состоянии: 55 г.

Выход: 63%.

Содержание влаги <0,5%.

ВЭЖХ/ПП чистота: 95,0%.

Стадия IV: Метил-3 α -ацетокси-5 β -хол-9(11)-ен-24-оат



Исходные материалы:

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	Продукт Стадии –III	102	г	342	0,298	1,0
2	Метилакрилат	61,0	мл	86	0,67	2,38
3	Дихлорид этилалюминия (1,8 М в толуоле)	496	мл	126,98	0,893	3,0
4	Дихлорметан	1500	мл	-	-	15 V
5	Насыщенный бикарбонатый раствор	1000	мл	-	-	10 V
6	Этилацетат	1800	мл	-	-	18 V
7	Силикагель (# 60-120)	300	г	-	-	3,0
8	Гексан	1000	мл	-	-	10,0 V
9	10% этилацетат в гексане	3000		-	-	30 V
10	10% Pd/углерод (влажность 50%)	12	г	-	-	12 масс. %
11	Метанол	600	мл	-	-	6,0V
12	3% водный метанол	400	мл	-	-	4,0 V
13	Вода	3000	мл	-	-	30 V
14	Солевой раствор (brine solution)	1000	мл	-	-	10,0 V
15	Celite	30	г	-	-	-

Порядок проведения эксперимента:

01. Загружали дихлорметан (1000 мл) и продукт Стадии-III (102 г), реакционную массу охлаждали до 0°C.

02. Добавляли метилакрилат (61 мл) в течение 1/2 ч при 0-5°C.

03. Перемешивали в течение 1 ч при 0-5°C, а затем добавляли раствор дихлорида этилалюминия (1,8 М в толуоле, 496 мл) в течение 1 ч при 0-5°C. (Внимание: Указанный реагент бурно реагирует с водой.)

04. Перемешивали в течение 1/2 ч при 0-5°C и повышали температуру до 25-35°C, после чего перемешивали в течение 16 ч.

05. Путем ТСХ проверяли, завершилась ли реакция (10% EtOAc в гексане; НБЧ 5% продукта Стадии-III).

06. Медленно выливали реакционную массу в ледяную воду (2000 мл) в течение 10-15 мин и разде-

ляли фазы.

07. Водный слой подвергали экстракции ДХМ (500 мл).

08. Объединяли органические фазы и промывали водой (1000 мл) с последующим промыванием насыщенным раствором бикарбоната (1000 мл), а затем солевым раствором (brine solution) (1000 мл).

09. Органическую фазу концентрировали досуха в вакууме при температуре ниже 50°C. Получали продукт Стадии IVA.

10. Остаток, растворенный в гексане (1000 мл), пропускали через слой диоксида кремния на воронке Бюхнера, слой промывали 10% этилацетатом в гексане (3000 мл).

11. Общий фильтрат собирали досуха в вакууме при температуре ниже 50°C. Получали продукт Стадии IVA.

12. После опорожнения колбы ее промывали 40% метанолом в этилацетате (800 мл) и сохраняли указанную промывочную жидкость для следующего этапа.

13. Продукт Стадии IVA в промывочной жидкости (200 мл), представлявшей собой 40% метанол в этилацетате и являвшейся частью вышеуказанной жидкости, загружали в сухой автоклав.

14. Загружали взвесь 10% палладия на угле (12 г в 200 мл этилацетате).

15. Создавали избыточное давление водорода (70 фунт/кв.дюйм) и перемешивали смесь в течение 16 ч при 25-35°C.

16. Путем ВЭЖХ проверяли, завершилась ли реакция (НБЧ 1% продукта Стадии IVA).

17. Реакционную смесь фильтровали через Celite® (30 г) и промывали фильтровальную лепешку этилацетатом (1000 мл).

18. Концентрировали фильтрат досуха путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 60°C.

19. Добавляли метанол (200 мл) и концентрировали досуха путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 60°C.

20. Добавляли 3% водный метанол (300 мл), перемешивали в течение 15 мин при 0-5°C, фильтровали и промывали фильтровальную лепешку 3% водным метанолом (100 мл).

21. Сушили белое твердое вещество в установке для сушки горячим воздухом при 50-55°C, пока содержание влаги не составило НБЧ 0,5%.

Масса во влажном состоянии: примерно 80 г.

Масса в сухом состоянии: 60 г.

Выход: 85%.

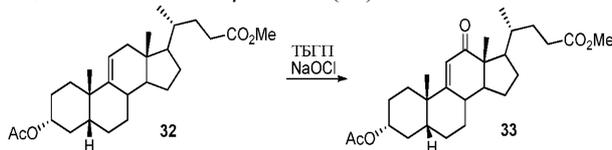
Содержание влаги 0,5%.

Температурный интервал плавления: 131,7-133,1°C.

УОВ: + 57,4 (с= 1% в CHCl₃).

ВЭЖХ/ПП чистота: 93,0%.

Стадия V: Метил-3α-ацетокси-12-оксо-5β-хола-9(11)-ен-24-оат



Исходные материалы:

№	Исходный материал	Кол-во	Ед.	Молярная масса	Кол-во моль	Молярное отношение
1	Продукт стадии – IV	60	г	430	0,139	1,0
2	70% ТБГП в воде	610	мл	99,99	5,06	34,0
3	10% Гипохлорит натрия	660	мл	74,5	1,036	7,0
4	Хлорхромат пиридиния	32,8	г	215	0,1636	1,1
5	Этилацетат	900	мл	-	-	15 V
6	20% водный метанол порции 1 и 2	210	мл	-	-	3,5 V
7	20% сульфат натрия	600	мл	-	-	10V
8	Метанол порция 1	240	мл	-	-	4,0V
9	Вода	6000	мл	-	-	100 V
10	Солевой раствор (brine solution)	300	мл	-	-	5,0 V
11	Метанол порция 2	383	мл	-	-	6,4 V
12	Вода	57	мл	-	-	0,95 V
13	13% водный метанол	40	мл	-	-	0,66 V

Порядок проведения эксперимента:

01. Этилацетат (600 мл) и продукт Стадии IV (60 г) загружали в чистую и сухую колбу.
02. Перемешивали в течение 10 мин при 25-35°C.
03. Добавляли 70% ТБГП в воде (610 мл) при 25-35°C, а затем охлаждали до 0-5°C.
04. Добавляли 10% гипохлорит натрия (660 мл) в течение 7 ч при 0-5°C.
05. Перемешивали реакционную смесь в течение 3 ч при 0-5°C.
06. Путем ВЭЖХ-ПП проверяли, завершилась ли реакция (20% EtOAc в гексане; НБЧ 1% продукта Стадии IV).
07. Органический слой отделяли, водный слой подвергали экстракции этилацетатом (300 мл).
08. Объединенный органический слой промывали водой (2×600 мл).
09. Загружали слой, содержащий этилацетат, и 20% водный сульфат натрия (600 мл) и выдерживали в течение 2 ч при 55°C.
10. Отделяли органический слой, промывали водой (2×600 мл).
11. Органический слой загружали в круглодонную колбу, затем загружали XXII (32,8 г) при 25-30°C.
12. Реакционную смесь перемешивали в течение 6-8 ч при 25-30°C.
13. Путем ВЭЖХ-ПП проверяли, завершилась ли реакция (20% EtOAc в гексане; НБЧ 2% аллильного спирта).
14. Загружали деминерализованную воду (1200 мл) и перемешивали в течение 15 мин, органический слой отделяли.
15. Органический слой промывали деминерализованной водой (3×600 мл) и солевым раствором (brine solution) (300 мл).
16. Полностью удаляли растворитель путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C.
17. Добавляли метанол (240 мл) и полностью удаляли растворитель путем вакуумной дистилляции при температуре ниже 50°C.
18. Добавляли 20% водный метанол (180 мл), а затем охлаждали до 0-5°C.
19. Перемешивали в течение 2 ч при 0-5°C, фильтровали и промывали фильтровальную лепешку охлажденным (0-5°C) 20% водным метанолом (30 мл).
20. Сушили твердое вещество в установке для сушки горячим воздухом при 50-55°C в течение 8 ч, масса неочищенного вещества составляла примерно 38 г.
21. Загружали неочищенный материал со Стадии-V в количестве 38 г в новую и сухую круглодонную колбу.

22. Загружали метанол в количестве 383 мл.
23. Кипятили реакционную массу с применением обратного холодильника для получения прозрачного раствора.
24. По каплям добавляли деминерализованную воду в количестве 57 мл при кипячении с обратным холодильником и продолжали кипятить в течение 30 мин (наблюдалось осаждение твердых веществ).
25. Медленно охлаждали реакционную массу до 20-25°C, затем 10-15°C и перемешивали в течение 1 ч.
26. Фильтровали, сушили и промывали 13% водным метанолом (40 мл).
27. Сушили соединение в сушильном шкафу при 60-65°C, пока ППС не становились <0,5%.
 Масса во влажном состоянии: 38 г.
 Масса в сухом состоянии: 32 г. Выход: 51,6%.
 Температурный интервал плавления: 142-143,1°C.
 УОВ: + 102,4 (с = 1% в ацетоне).
 ВЭЖХ/ПП чистота: 94,0%.
05. Перечень исходных материалов и растворителей.
- Следующий перечень исходных материалов и растворителей основан на особенностях способа, описанного выше.

№	Исходные Материалы
01	9α-гидроксиандростендион (основной исходный материал)
02	10% Pd/C
03	Серная кислота
04	Три(трет-бутокси)алюмогидрид лития
05	Трет-бутоксид калия
06	Бромид этилтрифенилфосфония
07	Уксусный ангидрид
08	Триэтиламин
09	4-(диметиламино)пиридин
10	Метилакрилат
11	Дихлорид этилалюминия
12	70% трет-бутилгидропероксид
13	10% гипохлорит натрия
14	Гидроксид натрия
15	Хлорхромат пиридиния
№	Растворители
01	Ацетон
02	Дихлорметан
03	Метанол
04	Метилтретбутиловый эфир
05	Этилацетат
06	Тetraгидрофуран
07	Гексан

06. Основные параметры.

При модификации способа следующие этапы были определены как основные параметры, которые могут оказывать значительное влияние на качество или выход.

Стадия III.

Действия: Добавление к соединению раствора три(трет-бутокси)алюмогидрида лития в атмосфере азота при температуре от -40 до -45°C.

Пояснение: Контроль за добавлением стехиометрического количества восстанавливающего агента, представлявшего собой три(трет-бутокси)алюмогидрид лития, имеет решающее значение для благоприятного результата на указанном этапе. Если применяют слишком мало восстанавливающего агента, то реакция пройдет не полностью. Если применяют слишком мало восстанавливающего агента, то получат больше побочных продуктов, чем соединения 83.

Контроль за добавлением стехиометрического количества является более затруднительным по причине влажочувствительности восстанавливающего агента. Следовательно, важно применять безводные

растворители и осуществлять реакцию в атмосфере азота. Если допустить попадание в реакционную зону влаги, некоторое количество три(трет-бутокси)алюмогидрида лития будет гаситься.

Действия: Добавление к соединению раствора трет-бутоксид калия в атмосфере азота при температуре от 25 до 35°C.

Пояснение: Для указанной реакции необходимо применение сильного основания. трет-Бутоксид калия является достаточно сильным основанием и действует хорошо. Если трет-бутоксид калия подвергается действию воды, основание гасится и вместо этого образуется гидроксид калия, который не является достаточно сильным основанием для осуществления желаемой реакции. По указанной причине важно применять безводные растворители и осуществлять данную реакцию в атмосфере азота.

Стадия IV.

Действие: Добавление раствора дихлорида этилалюминия в атмосфере азота при температуре от 0 до 5°C.

Пояснение: Дихлорид этилалюминия однозначно является хорошим катализатором для указанной реакции. Пробовали применить другие, менее дорогостоящие катализаторы, но при их применении реакция проходила плохо. Вода будет реагировать с дихлоридом этилалюминия и лишит его способности катализировать данную реакцию. По указанной причине важно применять безводные растворители и азотную атмосферу при осуществлении данной реакции. Если реакция подвергается действию даже небольшого количества воды, она не проходит.

Стадия V.

Действие: Добавление гипохлорита натрия, на которое должно быть затрачено 6-7 ч, температура должна быть ниже 5°C.

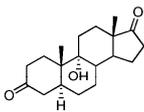
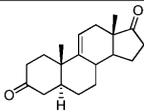
Обоснование: Температура выше 5°C обеспечивает более низкие результаты указанной реакции, а при добавлении гипохлорита натрия температура может подняться выше указанного уровня. Следовательно, важно добавлять гипохлорит натрия с достаточно низкой скоростью, которая по-прежнему обеспечивает приемлемую температуру и регулирование по времени. Указанная проблема может оказаться еще большей при крупномасштабном осуществлении реакции.

07. Порядок проведения очистки.

Проводили исследование промежуточных соединений дезоксихолево́й кислоты для установления порядка проведения очистки. Был сделан вывод, что промежуточные соединения дезоксихолево́й кислоты были легко растворимы в дихлорметане с последующим растворением в воде и метаноле.

08. Примеси в ДХК - промежуточные соединения.

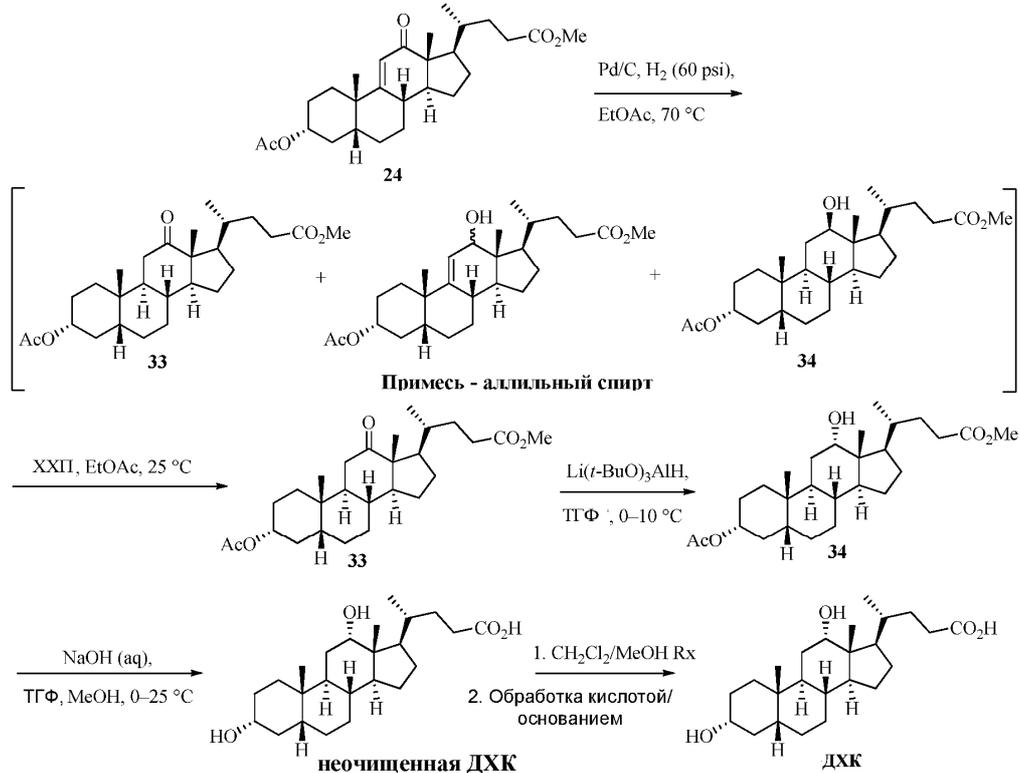
В ходе развития процесса некоторое количество примесей выделяли и идентифицировали, или в некоторых случаях предполагаемые примеси синтезировали независимо друг от друга. Перечень таких соединений вместе с данными, которые имеются для каждого соединения, приведен в таблице ниже.

Номер стадии	Общее наименование примеси	Структура примеси	Имеющиеся данные
I	5 α-соединение 26		1Н ЯМР, масс-спектр, ВЭЖХ-ПП, МР, УОВ
II	5 α-соединение 27		1Н ЯМР, масс-спектр, ВЭЖХ-ПП

III	Соединение 83		1Н ЯМР, масс-спектр, ВЭЖХ-ПП
III	Di-Wittig соединение		1Н ЯМР, масс-спектр, ВЭЖХ-ПП
III	Диацетильное соединение		1Н ЯМР, ВЭЖХ-ПП
IV	8,9-ен-17-этиловое соединение		1Н ЯМР, масс-спектр, ВЭЖХ-ПП
IV	8,9-ен		1Н ЯМР, масс-спектр, ВЭЖХ-ПП
V	Аллильный спирт		1Н ЯМР, масс-спектр, ВЭЖХ-ПП
V	12-трет-бутилпероксисоединение		1Н ЯМР, масс-спектр, ВЭЖХ-ПП

Пример 12.

Способ получения для синтеза дезоксихоловой кислоты из соединения 24 как показано на схеме 2 был сделан подходящим для крупномасштабного производства. Способ получения является безопасным, экономичным, экологически чистым и обеспечивает получение конечного продукта высокого качества, который неизменно соответствует требованиям.



Получение соединения 33.

Получение соединения 33 осуществляли на 40 г исходного вещества. К 10,0 г (25 мас.%) безводного 10% палладия на угле (Pd/C) добавляли соединение 24 (40,0 г, 90,0 ммоль, 98,2% ППК, определенная путем ВЭЖХ) с последующим добавлением 600 мл этилацетата (EtOAc). Реакционную смесь подвергали давлению водорода (H₂), составлявшему 60 фунт/кв.дюйм, и обеспечивали прохождение реакции при 70°C. Через 13 ч ВЭЖХ анализ показывал, что оставалось <1% ППК соединения 24, ППК аллильного спирта составляла <1% и ППК диастереомера соединения 24 34 составляла 14,5%. Реакцию считали прошедшей полностью, охлаждали до 30-35°C и фильтровали через Celite. Фильтровальную лепешку, полученную на Celite, промывали EtOAc (400 мл) и полученный фильтрат концентрировали примерно до 25 объемов и далее не подвергали дополнительной обработке.

Окисление XXII проводили с применением вышеуказанного образца соединения 33 в EtOAc (25 об.). К образцу соединения 33 (90,0 ммоль) в EtOAc (25 об.) добавляли XXII (19,4 г, 1,0 экв., Aldrich серия # S37874-058). Реакционную смесь выдерживали при 20-25°C в течение 25 ч. ВЭЖХ анализ показывал 1,1% ППК диастереомера соединения 34. Реакцию считали прошедшей полностью, разбавляли ДИ водой (400 мл) и фильтровали через Celite. Фильтровальную лепешку промывали EtOAc (2×200 мл).

Полученный фильтрат промывали ДИ водой (2×400 мл) и обрабатывали DARCO KB-G (8,0 г). Смесь нагревали до 45-50°C в течение 4 ч, а затем охлаждали до 20-25°C. Взвесь фильтровали через Celite и фильтровальную лепешку промывали EtOAc (2×200 мл). EtOAc фильтрат концентрировали примерно до 5 объемов и азеотропно перегоняли с MeOH (2×600 мл), вновь снижая количество примерно до 5 объемов. Полученную взвесь анализировали путем ¹H ЯМР, который показывал, что оставалось 6,4 мол.% EtOAc. Взвесь разбавляли ДИ водой (320 мл) и выдерживали при 20-25°C в течение 1 ч. Взвесь фильтровали, промывали ДИ водой (2×200 мл) и сушили в вакууме при 35-45°C с получением 27,4 г (68%) соединения 33 (97,9% ППК, определенной путем ВЭЖХ, содержавшей 0,8% ППК диастереомера соединения 34). КФ анализ показывал наличие 0,02 мас.% воды. Выход ниже ожидаемого с наибольшей долей вероятности объясняют повышенным уровнем EtOAc при осаждении.

Получение соединения 34.

Порцию, содержащую 10 г вышеуказанного образца соединения 33, отбирали для дальнейшего получения соединения 34, выполняя следующие условия выделения. К раствору соединения 33 (10,0 г, 22,4 ммоль) в 60 мл тетрагидрофурана (ТГФ) при 4-6°C добавляли 33,6 мл (1,5 экв., Aldrich серия # 00419TH) 1 М раствора три(трет-бутокси)алюмогидрида лития (Li(t-BuO)₃AlH) в ТГФ, поддерживая температуру ниже 6°C. Через 18 ч ВЭЖХ анализ показывал, что оставалось <1% ППК соединения 33 и получали 5,5% ППК диастереомера соединения 34. Реакцию считали прошедшей полностью и гасили 4 М HCl (150 мл), поддерживая температуру ниже 20°C. Реакционную смесь подвергали экстракции гептаном (2×100 мл). Объединенные органические фазы промывали 1 М HCl (100 мл) и ДИ водой (2×100 мл). Прозрачный раствор отгоняли примерно до 10 объемов и азеотропно перегоняли с гептаном (2×100 мл) примерно до 10 объемов. Часть образца исследовали и образец разбавляли гептаном (100 мл) и МТБЭ (2,5 мл). Затем образец нагревали до 70-75°C для его растворения и обеспечивали поэтапное охлаждение примерно до 52°C в течение 1 ч при осаждении твердых веществ. Слабую взвесь выдерживали при 52°C в течение 1 ч, 48°C в течение 1 ч и 42°C в течение 1 ч, после чего нагревание прекращали и обеспечивали медленное охлаждение взвеси до 20-25°C в течение ночи. Взвесь фильтровали, промывали гептаном (2×25 мл) и сушили в вакууме при 35-45°C с получением 6,8 г (68%) соединения 34 (96,0% ППК, содержащая 2,8% ППК диастереомера соединения 34) в виде белых твердых частиц. В колбе после фильтрования наблюдалось некоторое образование отложений. Твердые частицы растворяли в CH₂Cl₂ и концентрировали с получением 1,3 г (13%) соединения 34 (96,5% ППК, содержащая 1,9% ППК диастереомера соединения 34). Маточный раствор и промывочные жидкости концентрировали с получением 1,6 г (16%) соединения 34.

Из-за более низкого выхода, чем ожидали от осаждения, процедуру повторяли с применением 100% гептана вместо 1,25% МТБЭ/гептана. Образец соединения 34 (10 г, 22,4 ммоль, 93,4% ППК, определенная путем ВЭЖХ) разбавляли гептаном (200 мл) и нагревали до 80-85°C для его растворения. Осуществляли медленное охлаждение раствора примерно до 65°C в течение 1 ч при осаждении твердых веществ. Слабую взвесь выдерживали при 65°C в течение 1 ч и охлаждали с шагом от 5 до 30°C в течение 2 ч. Взвесь фильтровали при 30°C, промывали гептаном (2×25 мл) и сушили в вакууме при 35-45°C с получением 7,5 г (выход 75%) соединения 34 (95,7% ППК, содержащая 0,1% ППК диастереомера соединения 34) в виде белых твердых частиц. В колбе после фильтрования наблюдалось некоторое образование отложений. Проводили ВЭЖХ анализ промывочной жидкости и маточного раствора.

Получение неочищенной ДХК.

Образец водной неочищенной ДХК (340 мл) промывали 2-МеТГФ (2×340 мл). Водную фазу анализировали путем ВЭЖХ, которая показывала 0,1% ППК неизвестной примеси с 1,12 ррт. Водную фазу разбавляли 2-МеТГФ (340 мл) и рН доводили до 1,7-2,0 с применением 4 М HCl (60 мл). Фазы разделяли и 2-МеТГФ фазу промывали ДИ водой (2 ×400 мл). 2-МеТГФ фазу концентрировали примерно до 5 объ-

емов и азеотропно перегоняли с гептаном (3×320 мл), вновь доводя примерно до 5 объемов. Взвесь в количестве 5 объемов анализировали путем ¹H ЯМР, который показывал, что оставалось 2,0 моль % 2-МеТГФ по сравнению с гептаном. Взвесь разбавляли гептаном (320 мл) и выдерживали при 20-25°C в течение 1 ч. Взвесь фильтровали, промывали гептаном (2×150 мл) и сушили в вакууме при 35-45°C с получением 24,2 г (96%) неочищенной ДХК (95,7% ППК, содержащей 0,4% ППК диастереомера неочищенной ДХК, 1,8% ППК неизвестной примеси с 0,5 ррт и 0,04% ППК неизвестной примеси с 1,12 ррт).

Получение ДХК.

Серии очистки неочищенной ДХК с образованием взвесей для определения чистоты и выхода предпринимали на 2,0 г. Образцы неочищенной ДХК (2,0 г, 5,1 ммоль) разбавляли 25 объемами MeOH/CH₂Cl₂ (см. таблицу) и полученные взвеси выдерживали при конкретной температуре (см. таблицу) в течение 1 ч. Обеспечивали охлаждение взвесей до конкретной температуры (см. таблицу) и фильтровали. Фильтровальные лепешки промывали CH₂Cl₂ (2×3 об.) и сушили в вакууме при 35-40°C в течение ночи с получением ДХК (см. таблицу). Результаты сводили в таблицу ниже.

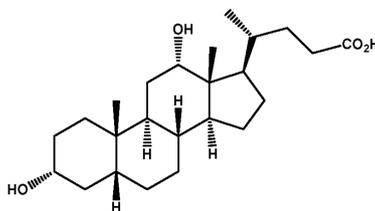
Результаты получения ДХК

Позиция	Мольные % MeOH по сравнению к CH ₂ Cl ₂	Температура взвеси (°C)	Температура при фильтровании (°C)	Результаты ДХК				
				Кол-во, выход	ВЭЖХ результаты (% ППК)			
					ДХК	Диастереомер ДХК	Примеси (ррт)	
							0,5	1,12
1	2	35-37	28-30	1,3 г, 65%	99,00	Н/О	0,87	Н/О
2	1	35-37	28-30	1,7 г, 85%	98,95	Н/О	0,92	Н/О
3	1	20-25	20-25	1,7 г, 85%	99,15	Н/О	0,74	Н/О
4	0,5	20-25	20-25	1,8 г, 90%	98,92	Н/О	0,86	Н/О
5	0	20-25	20-25	1,7 г, 85%	99,02	Н/О	0,70	Н/О

Результаты, представленные в позициях 1-3, показали, что проведение очистки с образованием взвеси при 20-25°C с применением 1 мол.% MeOH обеспечивало лучший выход и результаты, сопоставимые с проведением очистки с образованием взвеси при 35-37°C с применением 2 мол.% MeOH. Образцы ДХК анализировали путем ¹H ЯМР, который показывал наличие <1 мас.% CH₂Cl₂ после сушки.

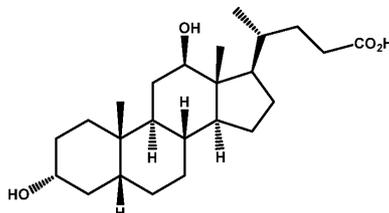
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта, содержащая



ДХК

где степень чистоты дезоксихолевой кислоты (ДХК) составляет по меньшей мере 96% и ДХК присутствует в фармацевтической композиции в растворяющем жир количестве; и



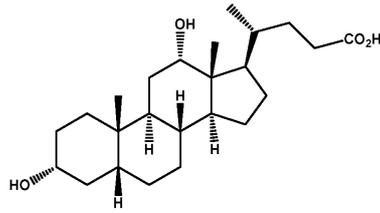
12-β-ДХК

где 12-β-ДХК составляет 0,4% или менее от общего количества ДХК и 12-β-ДХК; и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый наполнитель.

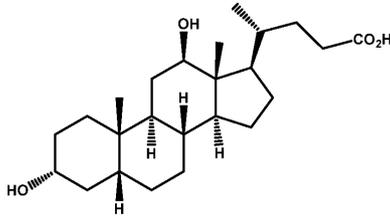
2. Способ уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта, включающий местное введение в подкожные жировые отложения субъекта композиции по п.1.

3. Композиция для уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта, содержащая

035380



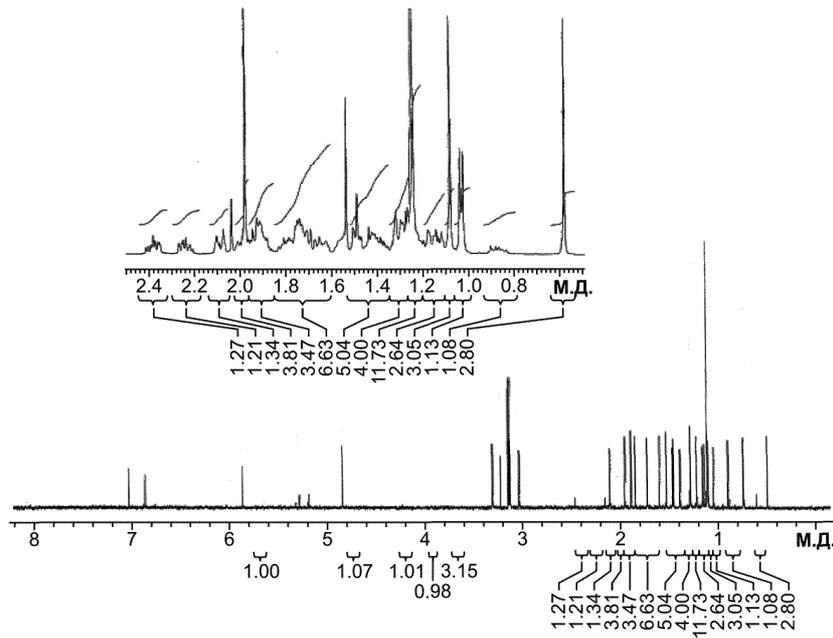
ДХК



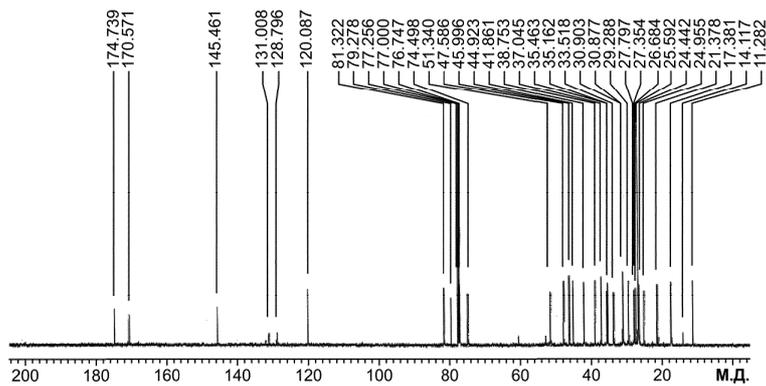
12-β-ДХК

и по меньшей мере один косметологический наполнитель, где 12-β-ДХК составляет 0,4% или менее от общего количества ДХК и 12-β-ДХК и ДХК присутствует в композиции в растворяющем жир количестве.

4. Способ уменьшения подкожных жировых отложений у субъекта, включающий местное введение в подкожные жировые отложения субъекта композиции по п.3.

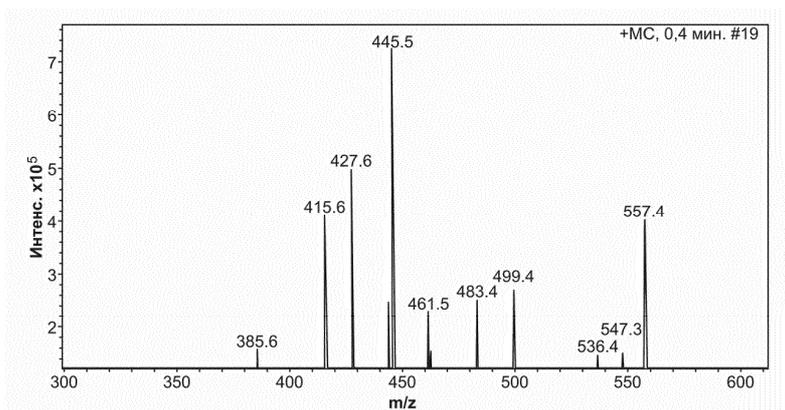


Фиг. 1



Фиг. 2

035380



Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2