



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109311933 A

(43)申请公布日 2019.02.05

(21)申请号 201780034255.1

E·阿托利诺 V·卢基尼

(22)申请日 2017.04.03

R·格拉齐奥西

(30)优先权数据

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所
11247

102016000034216 2016.04.04 IT

102016000115948 2016.11.16 IT

代理人 沈晓书 黄革生

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.Cl.

2018.12.03

C07J 9/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

C07J 21/00(2006.01)

PCT/EP2017/057868 2017.04.03

A61K 31/575(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

A61P 1/16(2006.01)

W02017/174515 EN 2017.10.12

(71)申请人 迪法玛 弗朗西斯有限公司

地址 意大利巴郎扎特

(72)发明人 G·拉泽蒂 A·尤利亚诺

L·吉安诺蒂 G·伊努奇

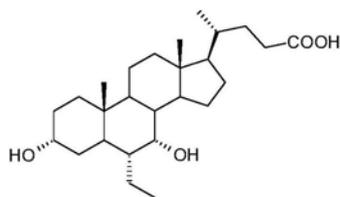
权利要求书11页 说明书22页

(54)发明名称

制备法尼醇X受体激动剂的方法

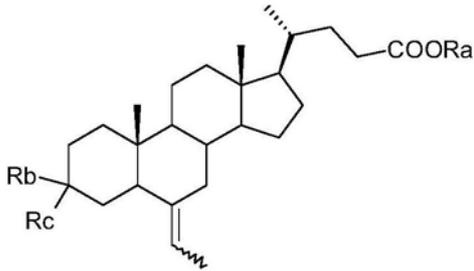
(57)摘要

本发明涉及制备式(I)化合物、特别是奥贝胆酸和适用于其合成的中间体的方法



(I).

1. 制备式 (VII) 化合物的方法



(VII),

其中 R_a 是氢,或者任选取代的直链或支链的 C_1 - C_6 烷基,或者任选取代的芳基;

R_b 是氢,并且 R_c 是OH或O-PG,其中PG是醇保护基;或者

R_b 是 OR_1 ,并且 R_c 是 OR_2 ;

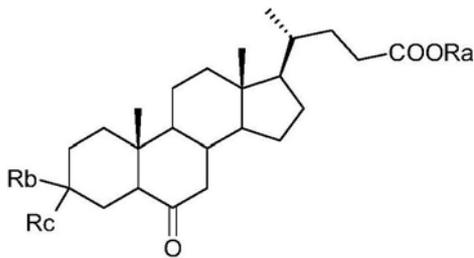
其中 R_1 和 R_2 各自相同或不同,是 C_1 - C_6 烷基,或者 R_1 和 R_2 一起形成 $-(CH_2)_n-$ 链,其中 n 是2或

3,

其中符号  表示双键的绝对构型可以是(E)或(Z)或其混合物;并且

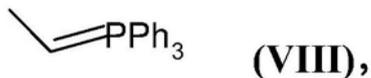
其中H-5质子为 5α 或 5β 构型或其混合物,

该方法包括将式 (VI) 化合物



(VI),

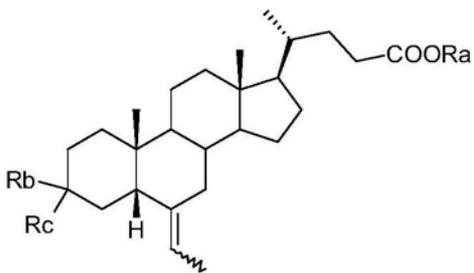
其中 R_a 、 R_b 和 R_c 如上定义,与式 (VIII) 化合物反应



(VIII),

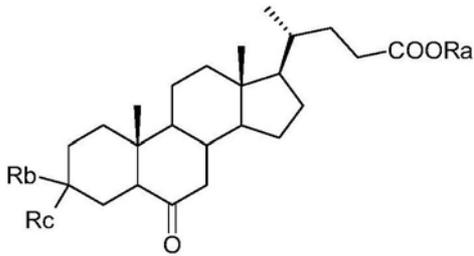
其中Ph是苯基。

2. 根据权利要求1的方法,其中式 (VII) 化合物是式 (VIIa) 化合物:



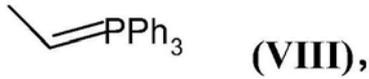
(VIIa),

其中符号 、 R_a 、 R_b 和 R_c 如权利要求1中所定义,并且式 (VIIa) 化合物的质子H-5为 5β 构型;该方法包括将式 (VI) 化合物:



(VI)

与式 (VIII) 化合物反应

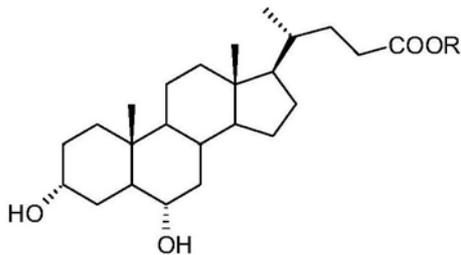


(VIII),

其中Ph是苯基；并且优选通过结晶分离具有质子H-5为5 β 构型的式 (VIIa) 化合物，通常在直链或支链的C₁-C₅醇，例如甲醇、乙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇或正戊醇，优选异丙醇中。

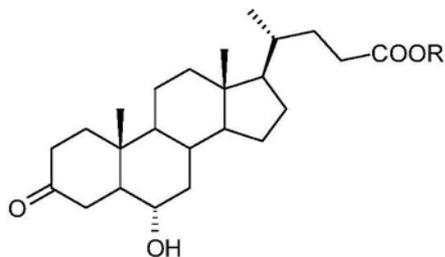
3. 根据权利要求1或2的方法，其中R_b是OR₁，并且R_c是OR₂，并且R₁和R₂如权利要求1中所定义，其中式 (VI) 化合物通过包括以下步骤的方法制备：

a) 选择性氧化式 (III) 化合物的C-3位的羟基



(III),

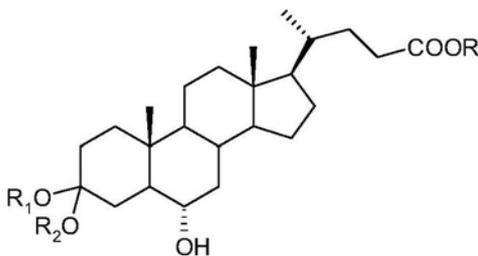
其中R是任选取代的直链或支链的C₁-C₆烷基，或者任选取代的芳基，得到式 (IV) 化合物：



(IV),

其中R如上定义；

b) 保护式 (IV) 化合物C-3位的酮基，得到式 (V) 化合物：



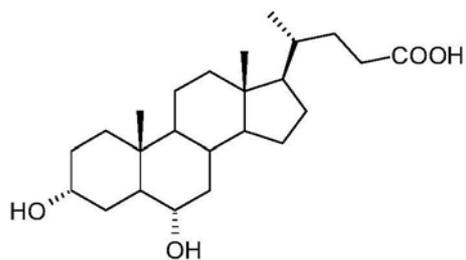
(V),

其中R₁和R₂如权利要求1中所定义，并且R如上定义；

c) 氧化式 (V) 化合物C-6位的羟基，并且任选皂化酯基，得到式 (VI) 化合物。

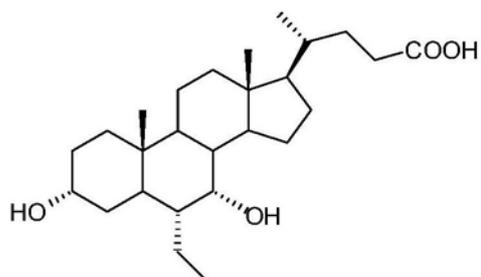
4. 根据权利要求3的方法，其中式 (III) 化合物通过保护式 (II) 的猪去氧胆酸的羧酸基

团来制备



(II).

5. 如权利要求1所定义的式 (VII) 化合物在制备式 (I) 化合物的方法中的用途:

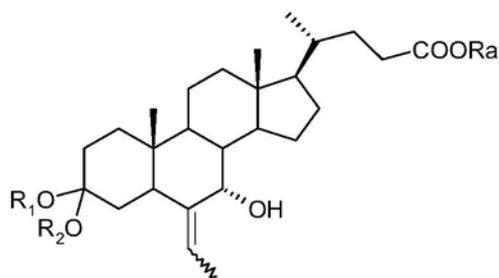


(I),

其中式 (I) 化合物的质子H-5为5 α 或5 β 构型或其混合物。

6. 根据权利要求5的用途, 其中制备式 (I) 化合物的方法包括以下步骤:

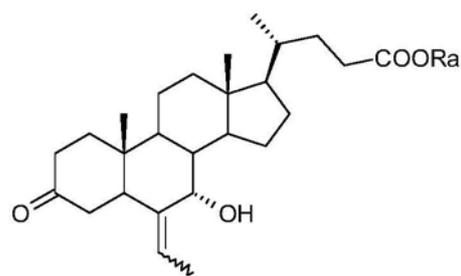
f) 如权利要求1所定义并且其中R_b是OR₁, 并且R_c是OR₂, 并且R₁和R₂如权利要求1中所定义的式 (VII) 化合物的立体选择性烯丙型氧化, 得到式 (IX) 化合物:



(IX),

其中R_a、R₁和R₂和符号  如权利要求1中所定义;

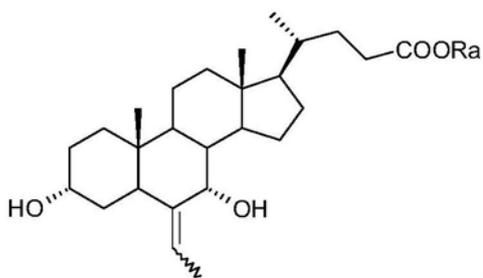
g) 除去式 (IX) 化合物C-3位的保护, 得到式 (X) 化合物:



(X),

其中R_a和符号  如权利要求1中所定义;

h) 式 (X) 化合物C-3位的酮基的立体选择性还原, 得到式 (XI) 化合物:



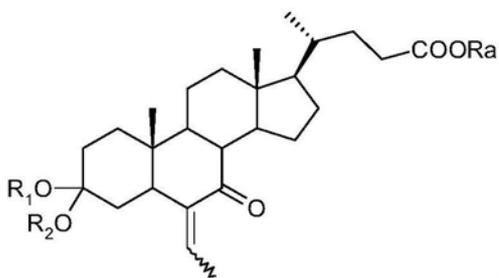
(XI),

其中 R_a 和符号  如权利要求1中所定义；

i) 氢化式 (XI) 化合物, 得到式 (I) 化合物；

或者

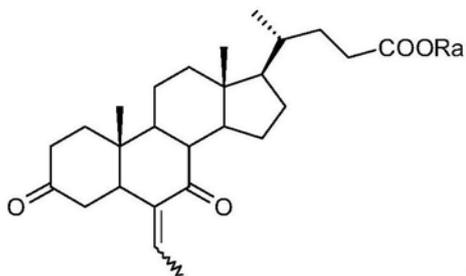
j) 如权利要求1所定义并且其中 R_b 是 OR_1 , 并且 R_c 是 OR_2 , 并且 R_1 和 R_2 如权利要求1中所定义的式 (VII) 化合物的C-7位的烯丙型氧化, 得到式 (XII) 化合物：



(XII),

其中 R_a 、 R_1 和 R_2 和符号  如权利要求1中所定义；

k) 除去式 (XII) 化合物C-3位的保护, 得到式 (XIII) 化合物：

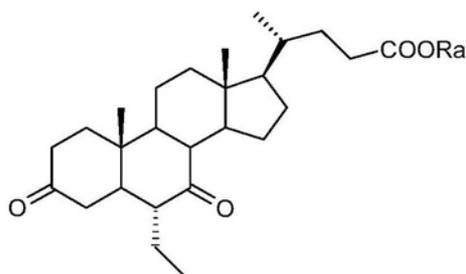


(XIII),

其中 R_a 和符号  如权利要求1中所定义；

和任选其皂化；

l) 氢化式 (XIII) 化合物, 得到式 (XIV) 化合物：



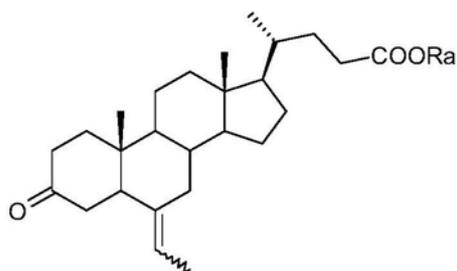
(XIV),

其中 R_a 和符号  如权利要求1中所定义；

m) 还原式 (XIV) 化合物, 得到式 (I) 化合物；

或者

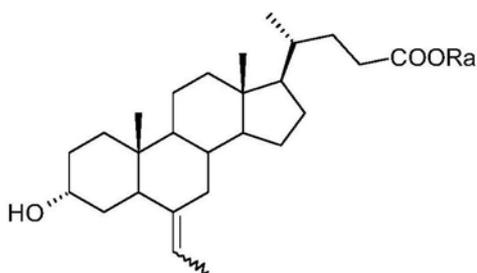
n) 除去如权利要求1所定义并且其中R_b是OR₁, 并且R_c是OR₂, 并且R₁和R₂如权利要求1中所定义的式 (VII) 化合物C-3位的保护, 得到式 (XV) 化合物:



(XV),

其中R_a和符号  如权利要求1中所定义;

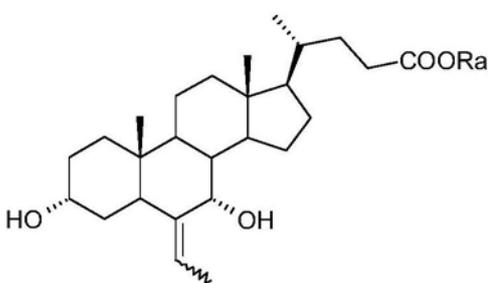
o) 式 (XV) 化合物C-3位的酮基的立体选择性还原, 得到式 (XVI) 化合物, 和任选皂化酯官能团:



(XVI),

其中R_a和符号  如权利要求1中所定义;

p) 式 (XVI) 化合物C-7位的烯丙型氧化和任选皂化酯官能团, 得到式 (XI) 化合物:



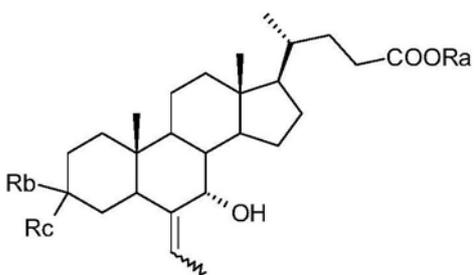
(XI),

其中R_a和符号  如权利要求1中所定义;

q) 氢化式 (XI) 化合物, 得到式 (I) 化合物;

或者

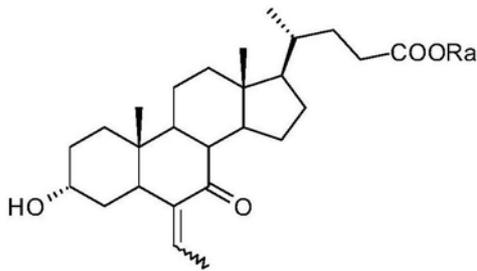
r) 式 (XVI) 化合物C-3位的羟基的保护和C-7位的烯丙型氧化, 或者式 (VII) 化合物C-7位的烯丙型氧化和任选皂化酯官能团, 得到式 (XVII) 化合物,



(XVII)

其中符号  R_a、R_b、R_c如权利要求1中所定义;

s) 将式 (XVII) 化合物C-7位的羟基氧化成酮基, 并且除去C-3的保护, 得到式 (XVIII) 化合物:

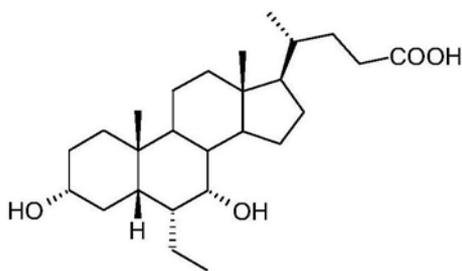


(XVIII),

其中R_a和符号  如权利要求1中所定义;

t) 氢化和还原式 (XVIII) 化合物, 得到式 (I) 化合物。

7. 如权利要求2所定义的式 (VIIa) 化合物在制备为奥贝胆酸的式 (Ia) 化合物的方法中的用途,

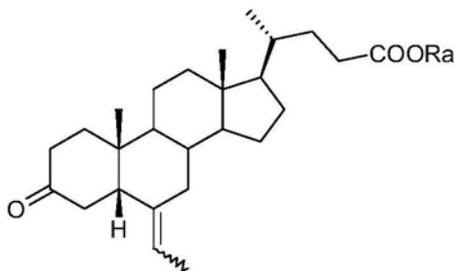


(Ia),

其中式 (Ia) 化合物的质子H-5为5 β 构型。

8. 根据权利要求7的用途, 其中制备式 (Ia) 化合物的方法包括以下步骤:

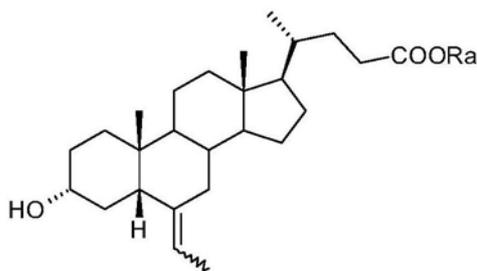
n) 除去如权利要求2所定义并且其中R_b是OR₁, 并且R_c是OR₂, 并且R₁和R₂如权利要求1中所定义的式 (VIIa) 化合物C-3位的保护, 得到式 (XVa) 化合物:



(XVa),

其中R_a和符号  如权利要求1中所定义;

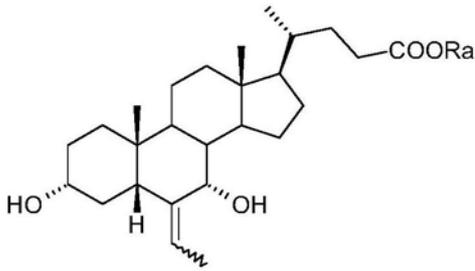
o) 式 (XVa) 化合物C-3位的酮基的立体选择性还原, 得到式 (XVIa) 化合物, 和任选皂化酯官能团:



(XVIa),

其中R_a和符号如权利要求1中所定义；

p) 式 (XVIa) 化合物C-7位的烯丙型氧化和任选皂化酯官能团, 得到式 (XIa) 化合物:

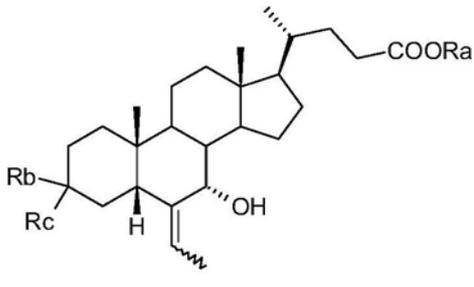


其中R_a和符号如权利要求1中所定义；

q) 氢化式 (XIa) 化合物, 得到式 (Ia) 化合物;

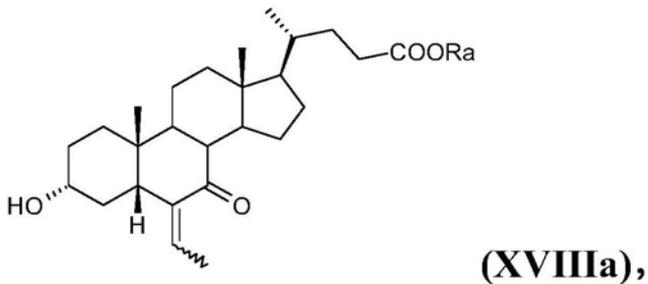
或者

r) 式 (XVIa) 化合物C-3位的羟基的保护和C-7位的烯丙型氧化, 或者式 (VIIa) 化合物C-7位的烯丙型氧化和任选皂化酯官能团, 得到式 (XVIIa) 化合物,



其中符号、R_a、R_b、R_c如权利要求1中所定义；

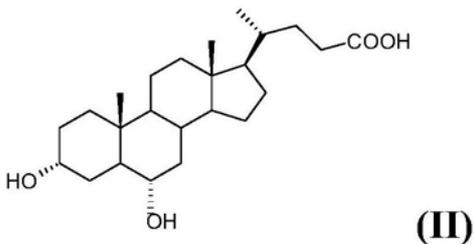
s) 将式 (XVIIa) 化合物C-7位的羟基氧化为酮基, 并且除去C-3的保护, 得到式 (XVIIIa) 化合物:



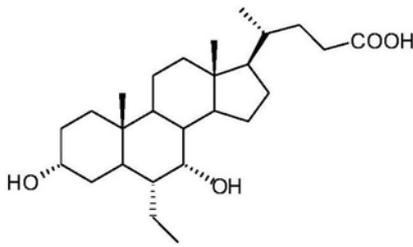
其中R_a和符号如权利要求1中所定义；

t) 氢化和还原式 (XVIIIa) 化合物, 得到式 (Ia) 化合物。

9. 具有以下式 (II) 的猪去氧胆酸



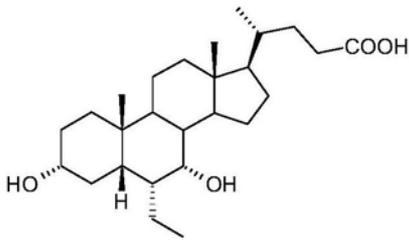
在制备式 (I) 化合物的方法中的用途:



(I),

其中式 (I) 化合物的质子H-5为5 α 或5 β 构型或其混合物。

10. 根据权利要求9的式 (II) 的猪去氧胆酸在方法中的用途, 其中式 (I) 化合物的质子H-5为5 β 构型, 因此是6 α -乙基-3 α , 7 α -二羟基-5 β -胆烷-24-酸, 也称为6 α -乙基-鹅去氧胆酸、奥贝胆酸或6-ECDCA, 其具有式 (Ia),



(Ia).

11. 根据权利要求9或10的式 (II) 的猪去氧胆酸在方法中的用途, 其包括在C-6位引入乙基而不是羟基, 和在C-7位选择性氧化, 使得在 α 位引入羟基官能团。

12. 根据权利要求11的式 (II) 的猪去氧胆酸在方法中的用途, 其中首先将乙基置于C-6位, 然后选择性氧化C-7位。

13. 根据权利要求9至12的式 (II) 的猪去氧胆酸在方法中的用途, 其中C-3位的羟基和/或羧酸基团可以任选被保护。

14. 根据权利要求9至13的式 (II) 的猪去氧胆酸在方法中的用途, 其包括:

I) 将式 (II) 的猪去氧胆酸C-6位的羟基氧化成酮;

II) 将得到的酮与亚乙基正磷, 优选与亚乙基三苯基正磷反应; 和

在所述与亚乙基正磷反应后,

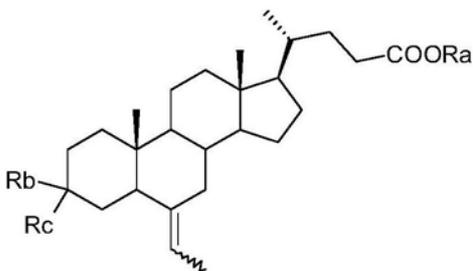
III) 在C-7位氧化, 使得羟基官能团引入 α 位; 或者作为步骤III) 的替换方案是

IV) a) C-7位烯丙型氧化成酮, 和

b) 随后用还原剂, 优选用氢化物还原剂, 例如NaBH₄或LiAlH₄将C-7位的酮还原成 α 羟基, 并且其中可以任选保护步骤I) -IV) 中所述的化合物中存在的C-3位的羟基和羧酸基团。

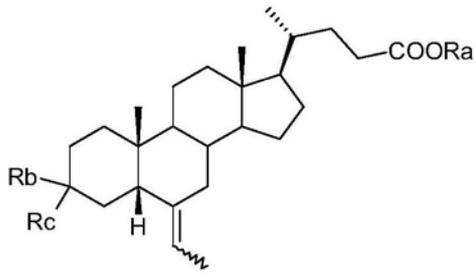
15. 选自以下的化合物:

式 (VII) 化合物:



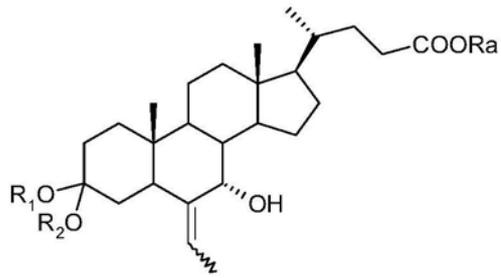
(VII);

式 (VIIa) 化合物:



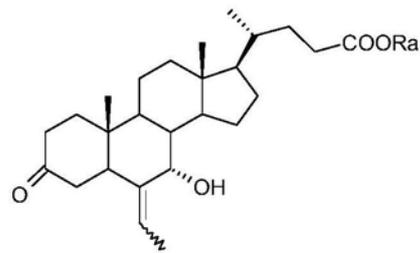
(VIIa);

式 (IX) 化合物:



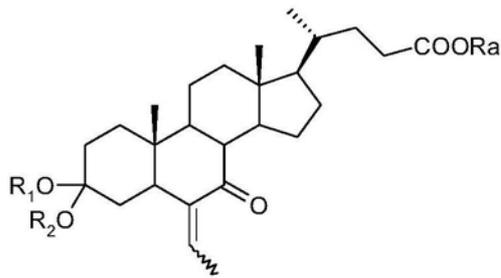
(IX);

式 (X) 化合物:



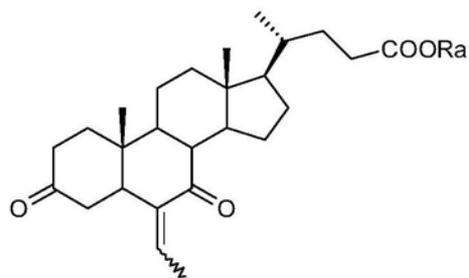
(X);

式 (XII) 化合物:



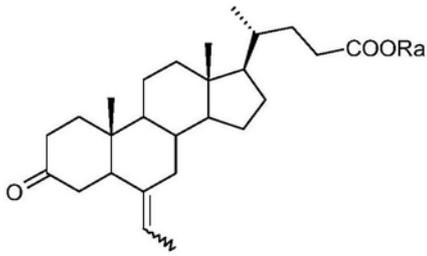
(XII);

式 (XIII) 化合物:

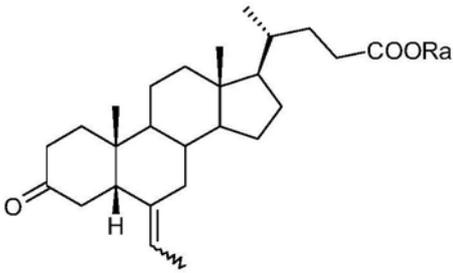


(XIII);

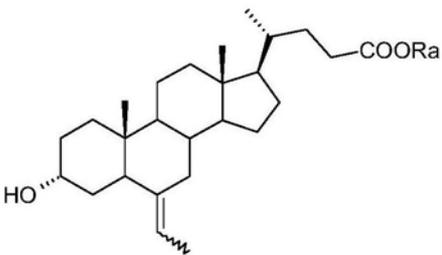
式 (XV) 化合物:

**(XV);**

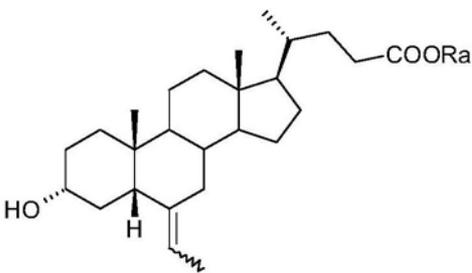
式 (XVa) 化合物

**(XVa);**

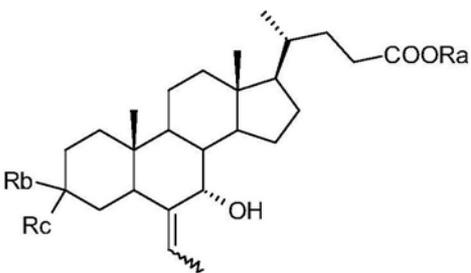
式 (XVI) 化合物

**(XVI);**

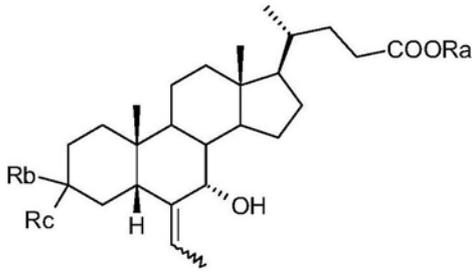
式 (XVIa) 化合物

**(XVIa);**

式 (XVII) 化合物

**(XVII);**

和式 (XVIIa) 化合物



(XVIIa)

其中R_a、R_b、R_c、R₁、R₂和符号  如权利要求1中所定义,并且式(VII)、(IX)、(X)、(XII)、(XIII)、(XV)、(XVI)和(XVII)化合物的质子H-5为5 α 或5 β 构型或其混合物。

16. 根据权利要求15的化合物,其选自

3-螺[1,3]二氧戊环-(6E/Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-胆烷-24-酸;

3-螺[1,3]二氧戊环-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-7 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

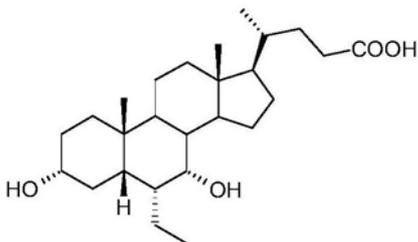
3-氧代-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

3 α -羟基-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

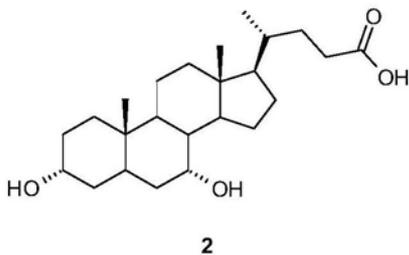
3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-7 α -羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯。

17. 药物组合物,其包含式(Ia)化合物,因此为6 α -乙基-3 α ,7 α -二羟基-5 β -胆烷-24-酸,也称为6 α -乙基-鹅去氧胆酸、奥贝胆酸或6-ECDCA,



(Ia)

和药学上可接受的载体,其中式(Ia)的奥贝胆酸不包含式2的鹅去氧胆酸



2

18. 如权利要求17所定义的药物组合物,其中通过根据权利要求5至14中任一项的方法获得式(Ia)的奥贝胆酸。

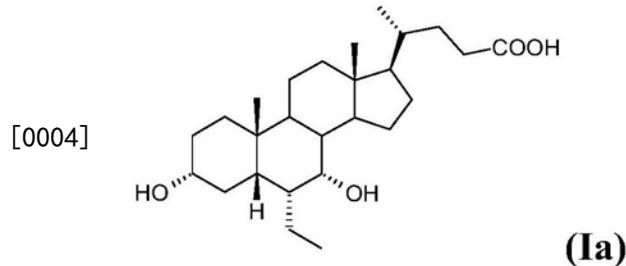
制备法尼醇X受体激动剂的方法

发明领域

[0001] 本发明涉及猪去氧胆酸及其中间体,特别是它们在制备奥贝胆酸的方法中的用途。

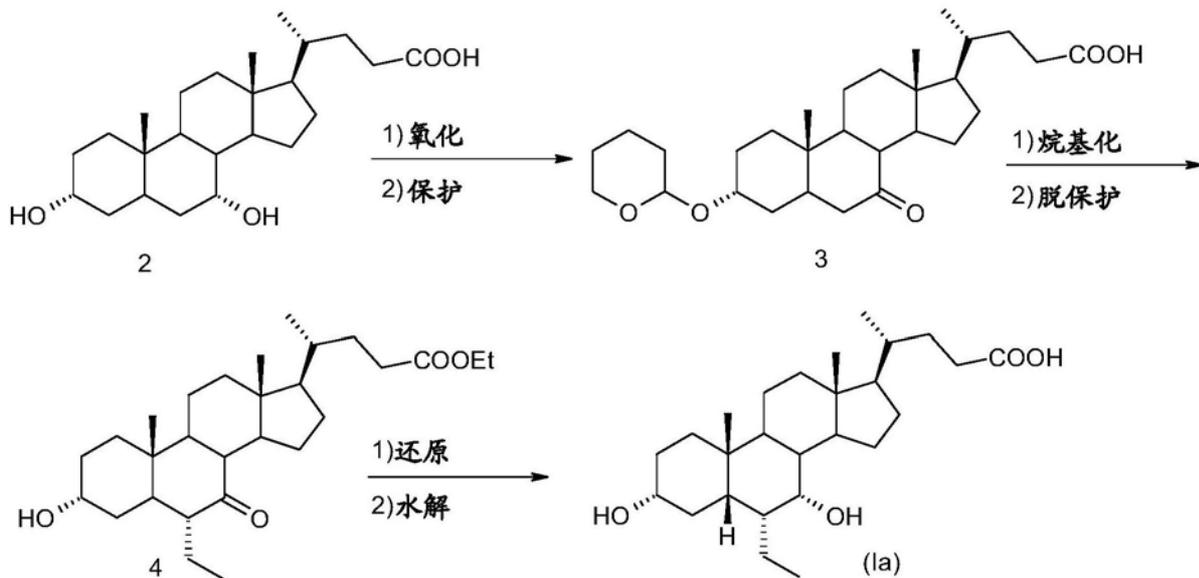
[0002] 现有技术状态

[0003] 6 α -乙基-3 α ,7 α -二羟基-5 β -胆烷-24-酸,也称为6 α -乙基-鹅去氧胆酸、奥贝胆酸或6-ECDCA,其具有式(Ia),



[0005] 其是法尼醇X受体 (FXR) 的激动剂,并且在预注册阶段作为用于治疗多种形式的肝硬化包括非酒精性脂肪性肝炎的活性药物成分。奥贝胆酸从EP 1 392 714已知,其描述了根据以下报道的方案1从式2的鹅去氧胆酸开始制备:

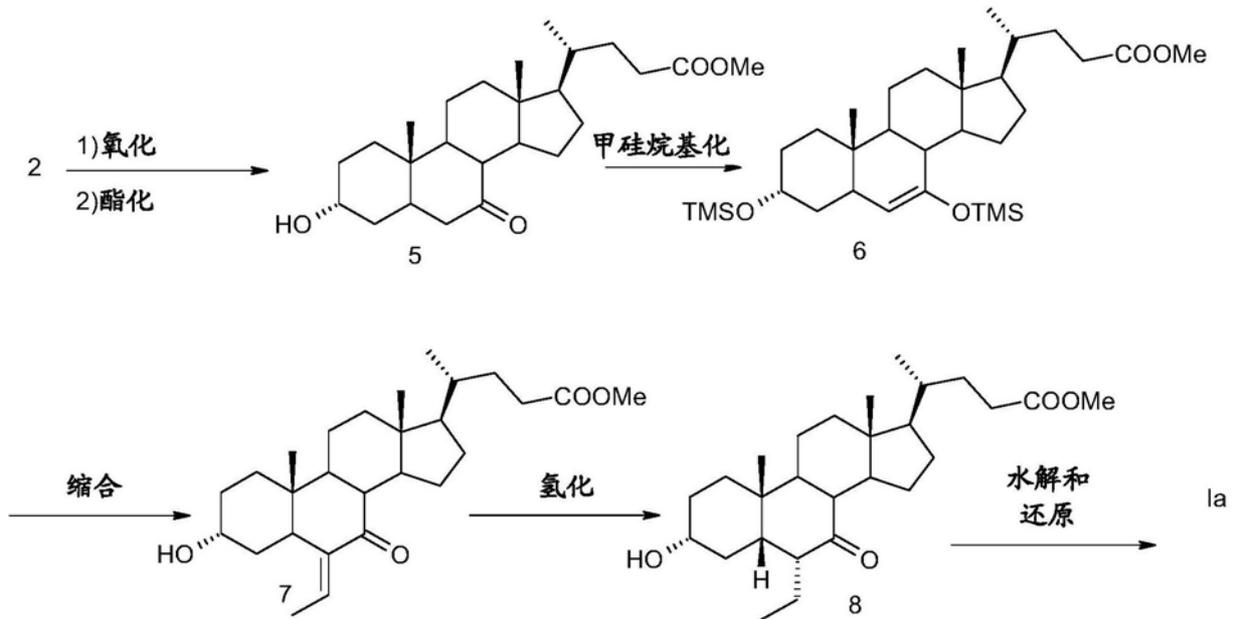
[0006]



[0007] 用于制备奥贝胆酸 (Ia) 的合成起始于式2的鹅去氧胆酸,其是制药工业中广泛使用的产物,又来自胆酸,胆酸是牛胆汁中胆汁酸混合物的主要化合物。在-78 $^{\circ}$ C用BuLi制备的保护的酮3的阴离子与EtBr的烷基化反应得到烷基化的中间体4,是该方法的关键步骤。该步骤的产率很低;反应条件不适合工业规模的方法,并且合成效率有限。随后,在EP 1 888 614中描述了用于制备奥贝胆酸的新合成。方案2中描述的方法在于将化合物5转化为保护的甲硅烷基醚6。使用二异丙基酰胺锂作为碱,通过在-78 $^{\circ}$ C用三甲基甲硅烷基氯处理

化合物5进行甲硅烷基醚的制备。随后,甲硅烷基醚6和乙醛在作为路易斯酸的 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 的存在下的反应以良好的产率提供了 α, β -不饱和酮7。然后,7的双键氢化得到酮8,酮8还原并且水解后,得到式(Ia)的奥贝胆酸。该方法如前一个方法从鹅去氧胆酸2开始,并且在产率方面肯定比前一个方法更有效,但仍然是应用了在低温下通过使用有机锂衍生物制备的昂贵的碱。

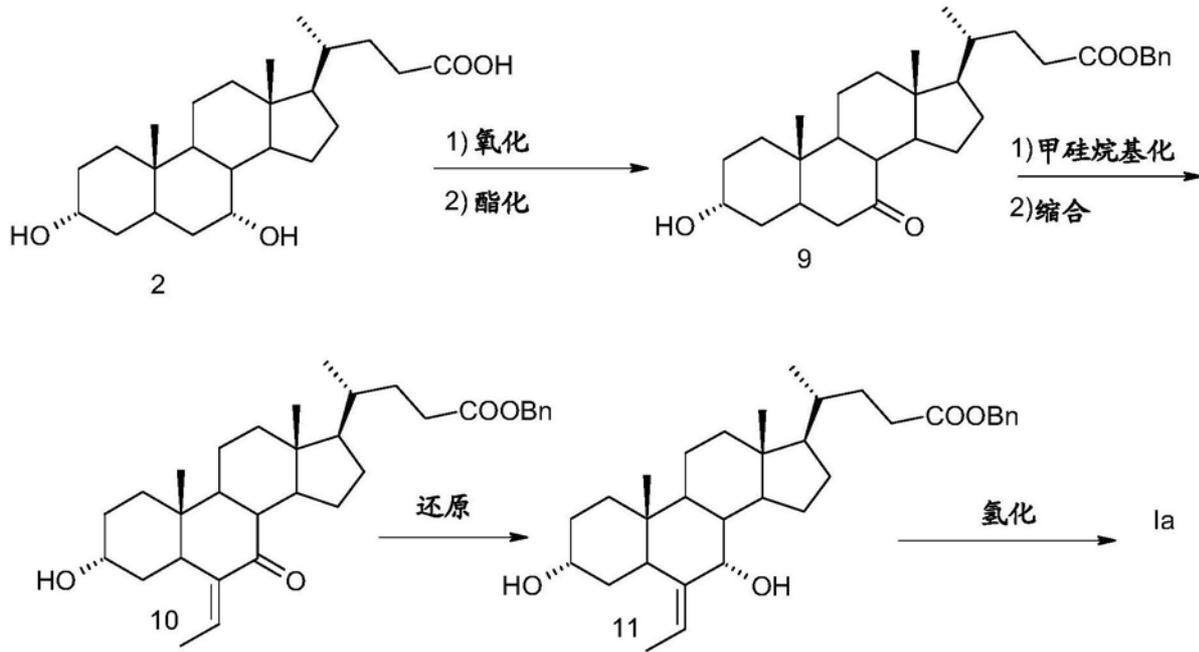
[0008]



方案 2

[0009] 此外, J. Med. Chem 2012, 55, 84-93的作者试图重复所述方法时,强调了在甲酯的还原/碱水解过程中与中间体8的烷基相邻的碳原子的差向异构化的不同问题。出于这个原因,他们建议用苄基酯代替甲酯,并且变换氢化和还原的顺序(方案3)。

[0010]



方案 3

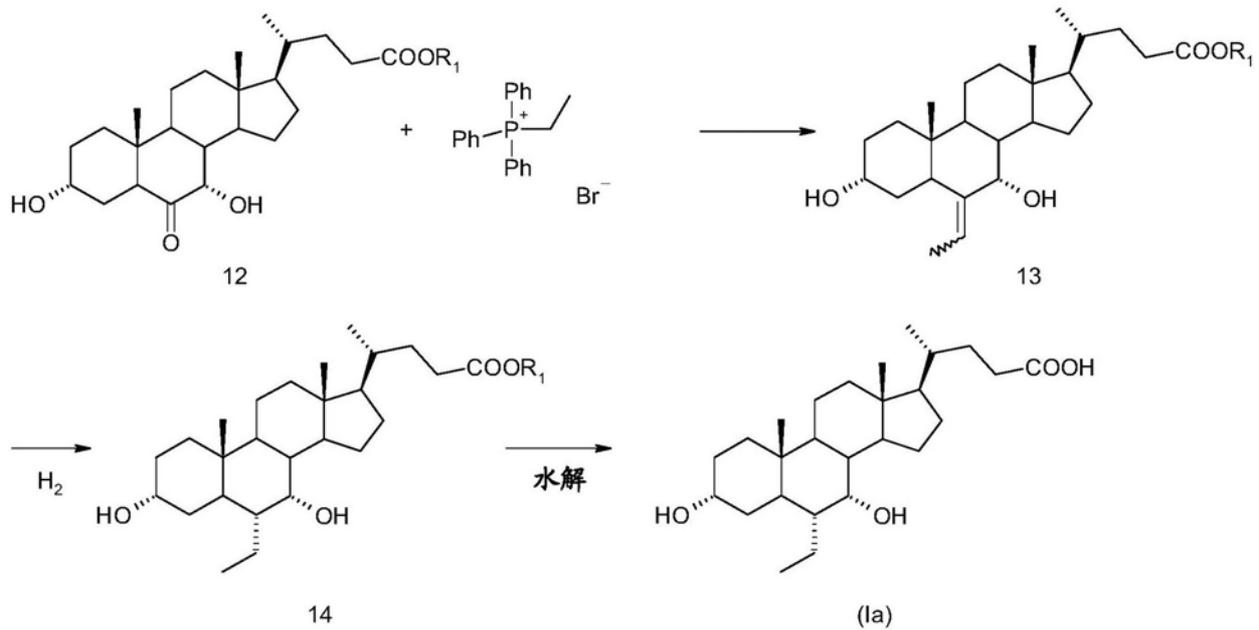
[0011] 以这种方式,以与已经对化合物7所述相同的方式从鹅去氧胆酸2开始获得的 α,β -不饱和酮10的还原产生了保护的烯丙醇11,其经氢化以一步提供奥贝胆酸(Ia)而没有任何差向异构化的问题。从鹅去氧胆酸2开始的式(Ia)的奥贝胆酸的优化合成,比以前的所有合成都更有效,但它仍然受困于应用在低温使用的昂贵的碱来制备甲硅烷基醚衍生物,但特别的是,至于其它合成方法,使用鹅去氧胆酸2作为起始原料。

[0012] 上述公开的制备式(Ia)的奥贝胆酸的方法均具有使用相同的动物或植物来源的起始材料的问题:鹅去氧胆酸2已经用于合成市场上存在的其它活性药物成分,这种本身已经很困难的可用性将来可能变得更加困难或者甚至是不可能的。

[0013] 实际上,鹅去氧胆酸2在工业上由从牛胆汁中提取的胆酸获得。它的可用性受到屠宰牛的数量限制,因为胆酸只是牛胆汁的级分。此外,它已广泛用于制备熊去氧胆酸。熊去氧胆酸是世界上最著名的治疗原发性胆汁性肝硬化的一线药物。

[0014] 2016年7月20日公布的CN 105777835,即本申请2016年4月4日的优先权日后,公开了从6-氧代-鹅去氧胆酸烷基酯12开始制备式(Ia)的奥贝胆酸的另一种方法。在碱存在下与乙基三苯基磷盐的Wittig反应提供6-亚乙基鹅去氧胆酸烷基酯13,其经氢化和脱保护后,得到式(Ia)的奥贝胆酸(方案4):

[0015]



方案 4

[0016] 其中R₁是烷基。

[0017] 6-氧代-鹅去氧胆酸甲酯12可以如J.Chem.Soc.Perkin Trans I,1990,第1-3页中所述从式(II)的猪去氧胆酸开始制备。

[0018] 如CN 105777835中所公开的,本发明的发明人重复若干次式12的化合物与**磷内翁**盐(phosphonium ylide)的Wittig反应,但它们不能得到式13的6-亚乙基鹅去氧胆酸烷基酯。

[0019] 通过详细考虑CN 105777835方法,可以注意到CN 105777835中使用的**磷内翁**盐是强碱和亲核试剂。因此,在CN 105777835的具体方法中,如本发明的发明人进行的试验所证实的,**磷内翁**盐不与羰基反应,而可能仅使C-3和/或C-7位的羟基去质子化。

[0020] 因此,可以安全地得出结论,CN 105777835中公开的方法不能实现。

[0021] 因此,仍然需要有效并且经济的制备式(Ia)的奥贝胆酸的方法,该方法克服了本领域已知方法的缺点,并且可以容易地以工业规模进行。这种方法不应该使用在合成其它活性成分中使用的天然原料,也不应该使用与工业水平上的合成方法几乎不相容的反应条件或试剂。

[0022] 发明概述

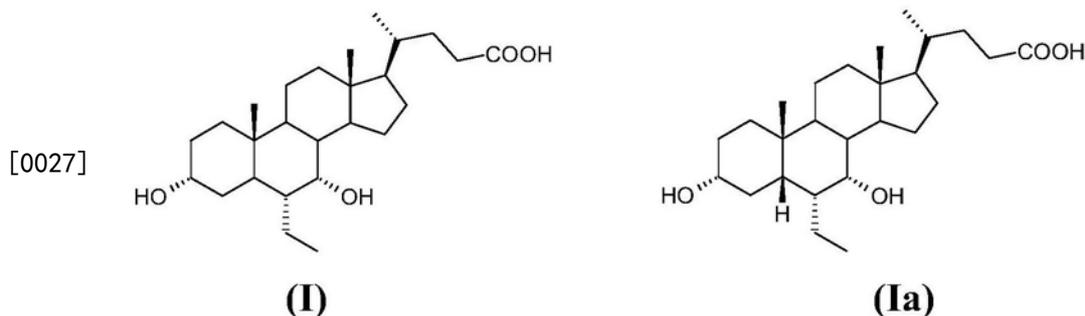
[0023] 本发明涉及式(II)的猪去氧胆酸在制备式(Ia)的奥贝胆酸中的用途。该方法证明对于工业应用是特别有利的,因为式(II)的猪去氧胆酸是猪胆汁后处理中的废物。

[0024] 发明详述

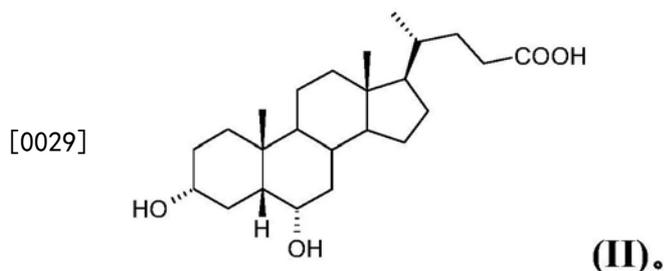
[0025] 本发明的发明人已经发现了新的有效的制备本文定义的式(I)化合物,特别是式(Ia)的奥贝胆酸的方法。该方法在工业规模上特别有利,如下所述克服了现有技术的合成缺点,特别是使用动物来源的原料,式(II)的猪去氧胆酸,其今天仅被认为是来自猪胆汁后处理的废物。因此,制备式(Ia)的奥贝胆酸的新方法不仅仅是获得它的替代方法,还利用了

废物,代表了工业领域的重大进步。

[0026] 本发明的第一个目的是提供制备式 (I) 化合物的方法,其中H-5中的质子可以是5 α 或5 β 构型或其混合物,优选式 (Ia) 的奥贝胆酸,其中H-5中的质子为5 β 构型,



[0028] 所述方法通过包括使用式 (II) 的3 α ,6 α -二羟基-5 β -胆烷-24-酸(也称为猪去氧胆酸)作为起始材料的方法来进行,



[0030] 式 (II) 的猪去氧胆酸是仲胆汁酸,其不同于以上方案1中定义的式2的更著名的鹅脱氧胆酸,因为它在C-6位而不是如在式2的猪去氧胆酸中的C-7具有羟基官能团。猪去氧胆酸以多种比例存在于哺乳动物的胆汁中,但它是存在于猪胆汁中的胆烷酸混合物的主要成分,其中它几乎占总体的40%。过去,它被用于孕酮的合成。在上世纪50年代,前东德的Jenapharm公司将其用作合成类固醇的前体。然而,最近这些合成已经被废弃,而今天的猪去氧胆酸只是猪胆汁加工的废物。

[0031] 本发明的作者惊奇地发现,可以通过既不使用低温也不使用昂贵的有机金属碱的方法从式 (II) 的猪去氧胆酸(否则是废物)获得式 (I) 化合物,特别是式 (Ia) 的奥贝胆酸。

[0032] 使用式 (II) 的猪去氧胆酸制备式 (I) 化合物、特别是式 (Ia) 的奥贝胆酸的问题是,乙基必须置于C-6位而不是羟基,并且必须以在位置 α 引入羟基官能团的方式选择性氧化C-7位。

[0033] 在本发明的方法中,在进行上述反应之一前,必须保护C-3位的羟基官能团和/或本发明化合物和/或其中间体的羧酸,所述化学基团可以根据已知方法被保护和脱保护。例如在Greene和Wuts (Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons Inc., 1991) 中或在Kocienski (Kocienski, P.J. "Protecting Groups", George Thieme Verlag, 1994) 中提供了关于保护/脱保护步骤的详细讨论。

[0034] C-3位的羟基可以被保护为醚,例如未取代或取代的苄基醚,例如对甲氧基-苄基醚、3,4-二甲基苄基醚、二苯甲基醚;四氢吡喃醚或甲硅烷基醚,例如三甲基甲硅烷基醚、三乙基甲硅烷基醚或叔丁基-二甲基甲硅烷基醚;或酯,例如甲酰基酯、乙酰基酯、新戊酰基酯或苯甲酰基酯。优选地,羟基被保护为四氢吡喃基醚、三甲基甲硅烷基醚或叔丁基-二甲基

甲硅烷基醚,或甲酰基酯、乙酰基酯或新戊酰基酯。

[0035] 可选择的是,C-3位的羟基可以用N-溴琥珀酰亚胺选择性地氧化为酮,并且酮可以被保护为无环或环状缩酮,例如二甲基缩酮、1,3-二氧戊环或1,3-二噁烷。一旦不再需要C-3位的保护,可以根据已知方法将缩酮脱保护成酮,然后用还原剂将所得酮还原成羟基,例如用氢化物还原剂,例如NaBH₄或LiAlH₄。

[0036] 羧酸基团可以被保护为酯,例如C₁-C₆烷基酯,其中C₁-C₆烷基可以任选地被苯基取代。优选地,羧酸基团被保护为甲酯、乙酯、异丙酯、叔丁酯或苄酯。羧酸基团的保护或脱保护可以根据已知方法进行。例如,酯可以通过用如上所述的Greene和Wuts中举例说明的良好离去基团活化羧酸酯来制备。可以根据已知方法进行酯的除去,例如通过氢化用酸或碱或苄基酯裂解乙酯或甲酯。

[0037] 本发明的作者已经发现,从式(II)的猪去氧胆酸开始制备式(I)化合物、特别是式(Ia)的奥贝胆酸的优选方法是其中首先将乙基置于C-6位而不是羟基,然后选择性氧化C-7位。

[0038] 本发明的作者已经发现,通过包括以下步骤的方法从式(II)的猪去氧胆酸开始制备式(I)化合物、特别是式(Ia)的奥贝胆酸的甚至更优选的方法:

[0039] I) 将式(II)的猪去氧胆酸的C-6位的羟基氧化成酮;

[0040] II) 将所得酮与亚乙基正膦,优选亚乙基三苯基正膦反应;和

[0041] 在与亚乙基正膦的所述反应后,

[0042] III) 在C-7位氧化,使得羟基官能团被引入 α 位;或者作为步骤III)的替换方案是

[0043] IV) a) 在C-7位烯丙型氧化成酮,和

[0044] b) 随后用还原剂,优选用氢化物还原剂,例如NaBH₄或LiAlH₄,将C-7位的酮还原成 α 羟基,

[0045] 并且其中可以任选保护步骤I)-IV)中所述的化合物中存在的C-3位的羟基和羧酸基团。

[0046] 步骤I)中羟基的氧化可以在本领域已知的用于将仲醇转化为酮的条件下进行。例如,条件和试剂可以是下面对步骤c)描述的那些。

[0047] 步骤II)中酮与亚乙基正膦的反应可以在Wittig条件下进行。例如,条件和试剂可以是下面对步骤d)描述的那些。

[0048] 步骤III)中C-7位的氧化可以使用氧化剂在溶剂中进行。例如,条件和试剂可以是下面对步骤f)描述的那些。

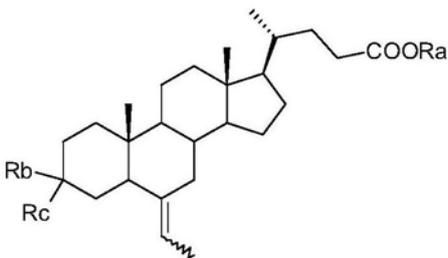
[0049] 在步骤IV) a)中的C-7位烯丙型氧化成酮可以用下面对步骤j)所述的条件和试剂进行。

[0050] 步骤IV) b)中的将酮还原成 α 羟基可以用氢化物还原剂(例如NaBH₄或LiAlH₄) 在溶剂(例如醚)中进行。优选地,还原使用NaBH₄在溶剂(例如二烷基醚或四氢呋喃(THF))中进行。

[0051] 本发明的另外的目的是式(II)的猪去氧胆酸,其用于制备式(I)化合物、特别是式(Ia)的奥贝胆酸的方法。

[0052] 根据本发明的方法,制备式(I)化合物、特别是式(Ia)化合物的关键化合物是式(VII)化合物

[0053]



(VII),

[0054] 其中R_a是氢,或者任选取代的直链或支链C₁-C₆烷基,或者任选取代的芳基;

[0055] R_b是氢,并且R_c是OH或O-PG,其中PG是如上文定义的醇保护基,例如未取代的或取代的苄基醚、四氢吡喃基醚、甲硅烷基醚或酯;或者,可选择的是,

[0056] R_b是OR₁,并且R_c是OR₂;

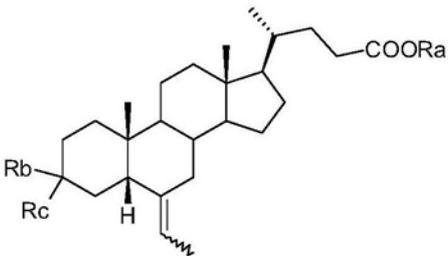
[0057] 其中R₁和R₂各自可以相同或不同,是C₁-C₆烷基,或者R₁和R₂一起形成-(CH₂)_n-链,其中n可以是2或3,

[0058] 并且其中符号  表示双键的绝对构型可以是(E)或(Z)或其混合物;并且其中H-5质子可以是5 α 或5 β 构型或其混合物。

[0059] 优选地,醇保护基是四氢吡喃基醚、三甲基甲硅烷基醚或叔丁基-二甲基甲硅烷基醚或者甲酰基酯、乙酰基酯或新戊酰基酯。

[0060] 优选地,式(VII)化合物是式(VIIa)化合物,其中H-5质子是5 β 构型,

[0061]



(VIIa),

[0062] 并且其中R_a、R_b、R_c和符号  如上文所定义。

[0063] 可以是直链或支链的C₁-C₆烷基通常是C₁-C₄烷基,例如甲基、乙基、丙基、异丙基或丁基、异丁基、叔丁基,其任选被一个或多个取代基、优选1至3个取代基取代,所述取代基可以是相同或不同的,例如卤素例如氯或氟,或芳基例如苯基。

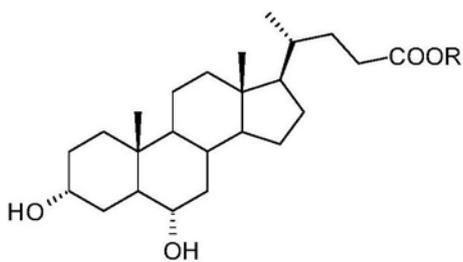
[0064] 芳基可以是例如苯基或萘基,通常是苯基。所述芳基可以任选被1-3个独立地选自直链或支链的C₁-C₄烷基(其又可以任选被1至3个卤素原子,通常是氟取代);羟基;C₁-C₄烷氧基(例如甲氧基);卤素原子(例如溴或氯);氰基;和硝基的取代基取代。

[0065] 优选地,式(VII)或(VIIa)化合物中的取代基R_a是H、甲基或苄基。

[0066] 根据本发明的一个方面,作为单一异构体或作为异构体的混合物,如上文定义并且其中如上文定义,R_b是OR₁,R_c是OR₂的式(VII)化合物,并且特别是式(VIIa)化合物,可以通过包括以下步骤的方法获得:

[0067] a) 选择性氧化式(III)化合物的C-3位的羟基

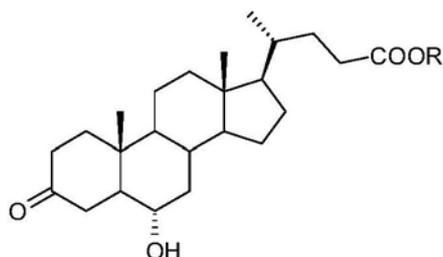
[0068]



(III)

[0069] 其中R是任选取代的直链或支链的C₁-C₆烷基或者任选取代的芳基,得到式(IV)化合物:

[0070]

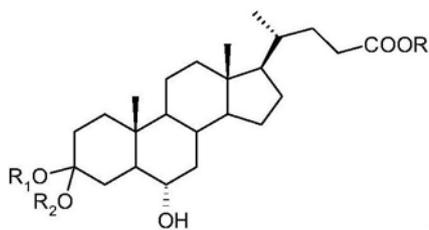


(IV)

[0071] 其中R如上文所定义;

[0072] b) 保护式(IV)化合物的C-3位的酮基,得到式(V)化合物:

[0073]

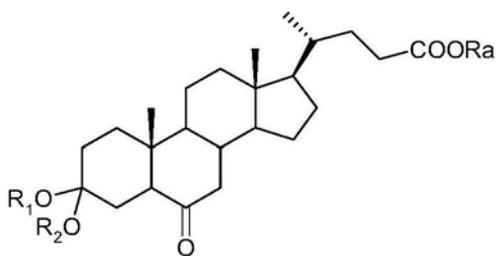


(V)

[0074] 其中R₁、R₂和R如上文所定义;

[0075] c) 氧化式(V)化合物的C-6位的羟基,并且任选皂化酯基,得到式(VI)化合物:

[0076]

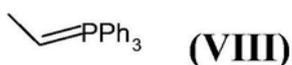


(VI)

[0077] 其中R_a、R₁和R₂如上文所定义;和

[0078] d) 将式(VI)化合物与式(VIII)化合物反应:

[0079]



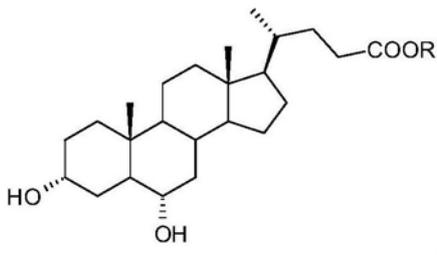
(VIII)

[0080] 其中Ph是苯基,得到式(VII)化合物;并且特别是式(VIIa)化合物。

[0081] 式(III)化合物是已知化合物,或者可以以有利的方式通过以下反应由式(II)的猪去氧胆酸得到

[0082] e) 保护式(II)的猪去氧胆酸的羧基官能团,得到式(III)化合物:

[0083]



(III)

[0084] 其中R如上文所定义。

[0085] 在合成的步骤a)中,将式(III)的猪去氧胆酸的保护的酯在C-3位选择性氧化,得到式(IV)化合物。在C-3位的选择性氧化需要优化研究。实际上,已经在不同的试验条件下研究了式(III)化合物的氧化,例如在Swern条件下,例如用(COCl)₂活化的DMSO,在NaClO或NaClO₂的存在下使用KMnO₄或TEMPO作为催化剂,但在所有情况下,仅获得具有C-3位和C-6位的单或双氧化的产物的混合物。但是,发现可以在溶剂中用N-溴琥珀酰亚胺进行氧化,高选择性地得到式(IV)化合物。该氧化反应可以在极性非质子溶剂中进行,所述极性非质子溶剂选自例如二甲亚砜;乙腈;二甲基甲酰胺或二甲基乙酰胺;酮,例如丙酮或甲基乙基酮;水;或两种或更多种、优选两种或三种所述溶剂的混合物。

[0086] 根据本发明的优选方面,反应可以在水/丙酮的混合物的存在下进行。所述反应可以在约-10°C至50°C、优选约0°C至10°C的温度进行。

[0087] 本发明的优选方面是用N-溴琥珀酰亚胺氧化式(III)化合物,得到式(IV)化合物。

[0088] 根据步骤b),在C-6位氧化之前,保护式(IV)化合物的C-3位的酮基。

[0089] 保护步骤可以根据已知方法进行,例如在C₁-C₄醇、二醇例如乙二醇或丙二醇或乙烯基醚的存在下并且在酸催化剂的存在下进行,以提供保护的式(V)化合物,其中R₁和R₂如上文所定义。优选地,式(V)化合物的取代基R₁和R₂一起形成-(CH₂)_n-链,其中n是2。

[0090] 根据步骤c),由于保护C-3位的酮官能团,式(V)化合物因此可以在C-6上选择性氧化,随后任选皂化酯基,得到式(VI)化合物,其中R_a、R₁和R₂如上文所定义。

[0091] 氧化反应可以在本领域已知的用于将仲醇转化为酮的条件下进行。该反应优选在约4-10的pH值下进行。这些条件允许避免发生在强碱性或强酸性pH值下发生的酯或缩醛官能团的水解。优选地,氧化反应在催化剂TEMPO的存在下使用NaClO或NaClO₂作为氧化剂在溶剂中进行。

[0092] 溶剂可以是极性非质子溶剂,例如二甲基甲酰胺、二甲亚砜或乙腈;醚溶剂,例如乙醚、甲基叔丁基醚或四氢呋喃;酮,例如甲基乙基酮、甲基异丁基酮或丙酮;非极性非质子溶剂,例如己烷、庚烷、甲苯或二甲苯;酯,例如直链或支链的C₁-C₅醇的乙酸酯,优选乙酸乙酯;氯化溶剂,例如二氯甲烷(CH₂Cl₂)、氯仿或氯苯;或水,或能产生约7-10的pH的无机盐的水溶液;或两种或更多种,通常是两种或三种上述溶剂的混合物。优选地,溶剂是由有机溶剂,优选二氯甲烷和pH在约7和10的水溶液组成的两相系统。

[0093] 任选皂化式(VI)化合物可以根据已知方法进行。

[0094] 如上文定义的,根据步骤d),式(VI)化合物可以转化为式(VII)化合物,优选式(VIIa)化合物,例如通过在Wittig条件下使用式(VIII)的磷内盐(其中Ph是苯基)在溶剂中进行的方法。

[0095] (VIII).

[0096] 如本领域技术人员所熟知的,通过用强碱处理乙基三苯基磷盐可以简单地制备式(VIII)的内盐。

[0097] 强碱可以是例如强有机碱,例如碱金属醇盐,优选叔丁醇钾或叔丁醇钠;NaH;或二异丙基氨基锂(LDA)。

[0098] Wittig反应可以在-10°C至溶剂的回流温度,优选约0°C至30°C的温度进行。在式(VI)化合物至式(VII)化合物的转化期间,在Wittig反应的试验条件下可以发生化合物式(VI)的C-5的部分差向异构化。式(VIIa)化合物(其中质子H-5为5β构型)可以例如通过结晶分离,通常在直链或支链的C₁-C₅醇中,例如在甲醇、乙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇或正戊醇,优选异丙醇中。

[0099] 在合成的步骤e)中,将式(II)的猪去氧胆酸转化为具有保护的羧酸官能团的衍生物,例如式(III)的酯。这种保护可以根据本领域例如甾体化学领域已知的方法通过胆烷酸的酯化进行。

[0100] 本发明的发明人已经发现,式(VII)化合物、优选式(VIIa)化合物是制备式(I)化合物并且优选式(Ia)的奥贝胆酸的关键化合物。

[0101] 作为新化合物的式(VII)化合物、特别是式(VIIa)化合物,是本发明的另外的实施方案,以及用于制备式(Ia)的奥贝胆酸的方法的式(VIIa)化合物。

[0102] 本发明的另外的实施方案是选自以下的(VII)或式(VIIa)化合物:

[0103] 3-螺[1,3]二氧戊环-(6E/Z)-亚乙基-5β-胆烷-24-酸甲酯;

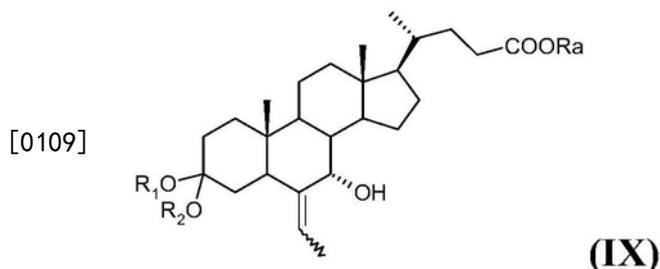
[0104] 3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-胆烷-24-酸;

[0105] 3-螺[1,3]二氧戊环-(6Z)-亚乙基-5β-胆烷-24-酸甲酯;和

[0106] 3α-(2,2-二甲基丙酰基)-(6Z)-亚乙基-5β-胆烷-24-酸甲酯。

[0107] 如上文定义的,式(VII)化合物(其中如上文定义,R_b是OR₁,并且R_c是OR₂)可以转化为式(I)化合物,通过还包括以下步骤的方法进行:

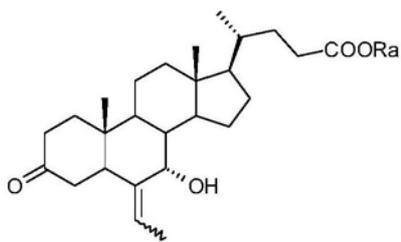
[0108] f) 式(VII)化合物的立体选择性烯丙型氧化,得到式(IX)化合物:



[0110] 其中R_a、R₁和R₂和符号如上文所定义;

[0111] g) 除去式(IX)化合物C-3位的保护,得到式(X)化合物:

[0112]

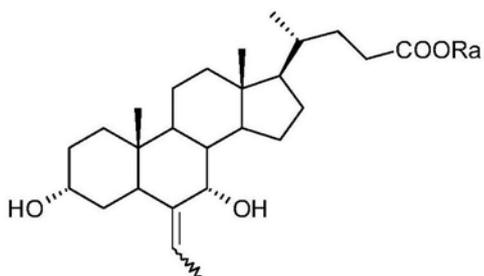


(X)

[0113] 其中符号  和 R_a 如上文所定义；

[0114] h) 式 (X) 化合物 C-3 位的酮基的立体选择性还原, 得到式 (XI) 化合物:

[0115]



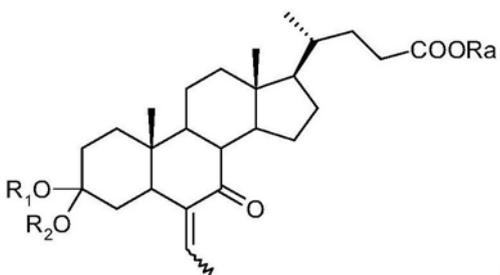
(XI)

[0116] 其中符号  和 R_a 如上文所定义; 和

[0117] i) 式 (XI) 化合物的氢化, 得到式 (I) 化合物; 或

[0118] j) 式 (VII) 化合物 C-7 位的烯丙型氧化, 得到式 (XII) 化合物:

[0119]

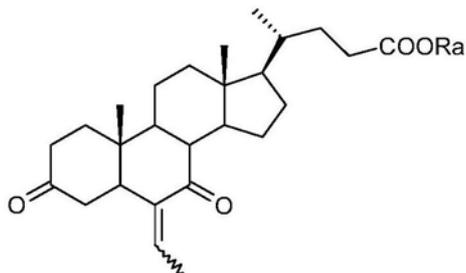


(XII)

[0120] 其中符号 、 R_a 、 R_1 和 R_2 如上文所定义；

[0121] k) 除去式 (XII) 化合物 C-3 位的保护, 得到式 (XIII) 化合物:

[0122]

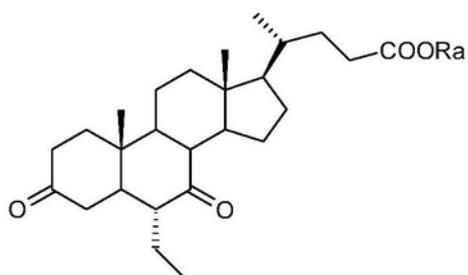


(XIII)

[0123] 其中符号  和 R_a 如上文所定义, 并且任选皂化;

[0124] l) 式 (XIII) 化合物的氢化, 得到式 (XIV) 化合物:

[0125]



(XIV)

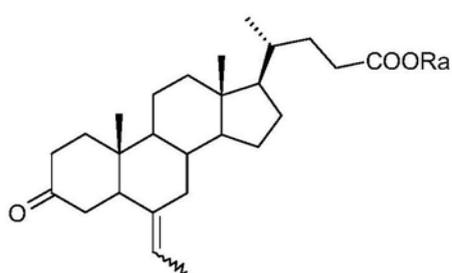
[0126] 其中R_a如上文所定义;和

[0127] m) 式 (XIV) 化合物的还原,得到式 (I) 化合物。

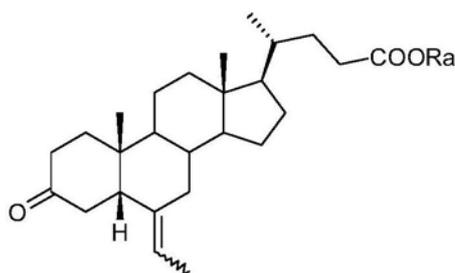
[0128] 特别地,如上文定义的,式 (VII) 化合物并且优选 (VIIa) 化合物可以转化为式 (I) 化合物并且优选式 (Ia) 化合物,通过还包括以下步骤的方法进行:

[0129] n) 除去式 (VII) 或 (VIIa) 化合物C-3位的保护,分别得到式 (XV) 或 (XVa) 化合物,

[0130]



(XV)

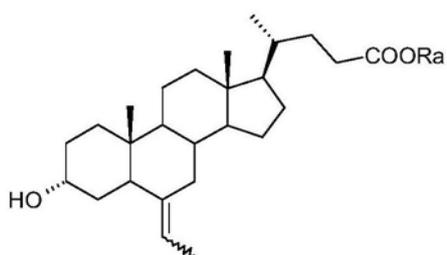


(XVa)

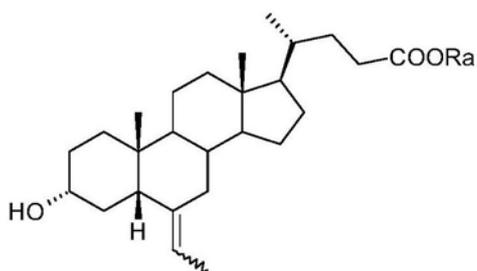
[0131] 其中符号  和R_a如上文所定义;

[0132] o) 式 (XV) 或 (XVa) 化合物C-3位的酮基的立体选择性还原,分别得到式 (XVI) 或 (XVIa) 化合物,并且任选皂化酯官能团:

[0133]



(XVI)

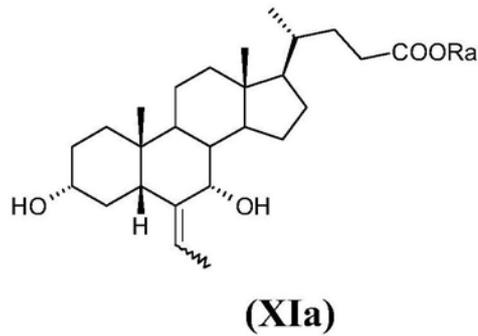
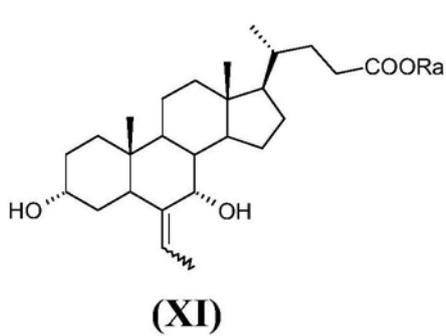


(XVIa)

[0134] 其中符号  和R_a如上文所定义;和

[0135] p) 式 (XVI) 或 (XVIa) 化合物C-7位的烯丙型氧化和任选皂化酯官能团,分别得到式 (XI) 或 (XIa) 化合物:

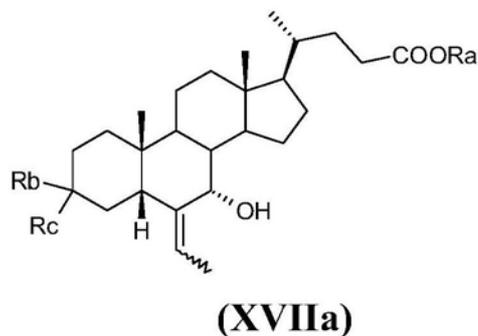
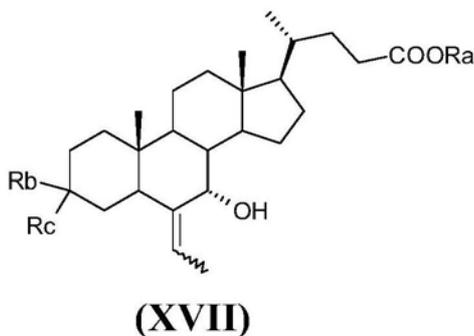
[0136]

[0137] 其中符号 和 R_a 如上文所定义；

[0138] q) 式 (XI) 或 (XIa) 化合物的氢化, 得到如上文定义的式 (I) 化合物或式 (Ia) 的奥贝胆酸; 或

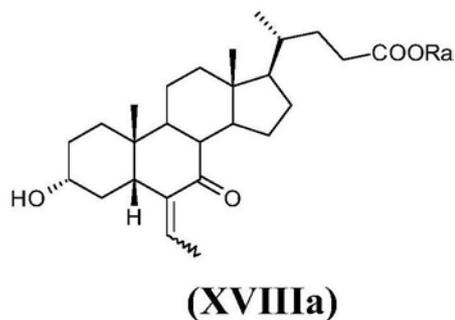
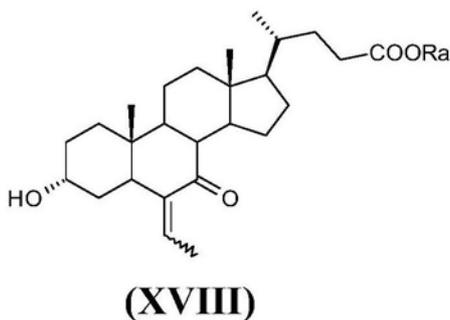
[0139] r) 式 (XVI) 或 (XVIa) 化合物 C-3 位的羟基的保护和 C-7 位的烯丙型氧化, 或者式 (VII) 或 (VIIa) 化合物 C-7 位的烯丙型氧化和任选皂化酯官能团, 得到式 (XVII) 或 (XVIIa) 化合物

[0140]

[0141] 其中符号 和 R_a 、 R_b 和 R_c 如上文所定义；

[0142] s) 将式 (XVII) 或 (XVIIa) 化合物 C-7 位的羟基氧化成酮基, 并且除去 C-3 的保护, 得到式 (XVIII) 或 (XVIIIa) 化合物:

[0143]

[0144] 其中符号 和 R_a 如上文所定义；

[0145] t) 氢化和还原式 (XVIII) 或 (XVIIIa) 化合物, 得到式 (I) 或 (Ia) 化合物。

[0146] 在本发明的优选方面, 式 (VIIa) 化合物是制备式 (Ia) 的奥贝胆酸的方法中的关键化合物, 其可以优选根据 n) 至 q) 或者 r) 至 t) 的合成顺序获得。

[0147] 根据步骤 f) 的式 (VII) 化合物, 或者根据步骤 p) 的式 (XVI) 或 (XVIa) 化合物, 或者根据步骤 r) 的式 (VII)、(VIIa)、(XVII) 或 (XVIIa) 化合物的立体选择性烯丙型氧化可以在溶剂中使用氧化剂进行。

[0148] 氧化剂可以是例如 SeO_2 、 MnO_2 或过氧化酯, 例如叔丁基过苯甲酸, 存在 Cu(I) 盐或者

Pd、Ru或Rh络合物或氢过氧化物,例如叔丁基过氧化氢,由Cu/Al氧化物催化。

[0149] 烯丙型氧化可以在约-10°C至溶剂的回流温度,优选在约20°C至80°C进行。

[0150] 溶剂可以是极性非质子溶剂,例如二甲基甲酰胺、二甲亚砜或乙腈;醚溶剂,例如甲基叔丁基醚、四氢呋喃或二噁烷;酮,例如甲基乙基酮、甲基异丁基酮或丙酮;非极性非质子溶剂,例如己烷、庚烷、甲苯或二甲苯;酯,例如直链或支链的C₁-C₅醇的乙酸酯,优选乙酸乙酯;氯化溶剂,例如二氯甲烷(CH₂Cl₂)、氯仿或氯苯;或水;或两种或更多种,通常是两种或三种上述溶剂的混合物。

[0151] 根据步骤g)、k)或n),可以除去式(IX)、式(XII)、式(VII)或式(VIIa)化合物的缩醛保护,分别提供式(X)、式(XIII)、式(XV)或式(XVa)化合物,其中R_a如上文所定义。

[0152] 根据本领域技术人员已知的方法,该反应可以在用于缩醛的水解的酸性水溶液中进行。

[0153] 式(IX)、(X)、(XII)、(XIII)、(XV)、(XVa)、(XVI)、(XVIa)、(XVII)或式(XVIIa)化合物是新的并且是本发明的另外的实施方案。

[0154] 本发明的另外的实施方案是式(IX)、(X)、(XII)、(XIII)、(XV)、(XVa)、(XVI)、(XVIa)、(XVII)或式(XVIIa)化合物,特别是选自以下的化合物:

[0155] 3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-7 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

[0156] 3-氧代-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

[0157] 3 α -羟基-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯;

[0158] 3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-7 α -羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯。

[0159] 本发明的另外的实施方案是式(IX)、(X)、(XII)、(XIII)、(XV)、(XVI)或(XVII)化合物在制备式(I)化合物中的用途,和用于制备式(I)化合物的方法中的相同化合物。

[0160] 本发明的另外的实施方案是式(XVa)、(XVIa)或(XVIIa)化合物在制备式(Ia)的奥贝胆酸中的用途,和用于制备式(Ia)的奥贝胆酸的方法中的相同化合物。

[0161] 根据步骤h)或o)的式(X)、式(XV)或式(XVa)化合物,或根据步骤t)的式(XVIII)或(XVIIIa)化合物的C-3位的酮基的立体选择性还原可以用氢化物还原剂(例如NaBH₄或LiAlH₄) 在溶剂(例如醚)中进行。根据步骤m),式(XIV)化合物可以通过类似于Chemistry Letters,1996,5,335-336或Steroids,2006,71(6),469-475中报道的还原步骤用如上所示的氢化物还原剂(例如NaBH₄或LiAlH₄) 在溶剂(例如醚)中还原。

[0162] 优选地,步骤h)、m)或o)中的还原可以使用NaBH₄在四氢呋喃(THF)中进行。

[0163] 根据步骤i)和q)氢化式(XI)或式(XIa)化合物以得到式(I)化合物、特别是式(Ia)的奥贝胆酸,或根据步骤l)氢化式(XIII)化合物,或根据步骤t)氢化式(XVIII)或(XVIIIa)化合物,可以根据已知的方法,特别是如J.Med.Chem 2012,55,84-93中所述,在THF/甲醇的混合物中,使用Pd/C作为催化剂进行。任选地,氢化后得到的式(XIa)的粗产物可以通过结晶纯化,以得到纯的式(Ia)的奥贝胆酸。例如,如上文定义的,步骤l)中氢化式(XIII)化合物以得到式(XIV)化合物,可以如EP 1 888 614中所报道的进行。

[0164] 式(XI)、(XIa)或(XIII)化合物的氢化可以在均相或非均相金属催化剂(例如Pd、Pt、Ni、Rh或Ru催化剂,优选Pd催化剂)的存在下通过催化氢化进行。

[0165] 在非均相金属催化剂的情况下,将催化剂优选置于惰性支持物上,例如碳、氢氧化钡、氧化铝、碳酸钙;优选炭。支持物上金属的浓度可以在约1%至30%之间变化,优选在约

5%至20%之间变化。

[0166] 所用的氢气压力可以在约1atm至40atm,优选约1atm至10atm之间变化。

[0167] 对于式(XIII)化合物,所用催化剂的摩尔量为约0.1至10%,优选约0.5至5%。

[0168] 反应可以在有机溶剂的存在下进行,所述有机溶剂选自例如极性非质子溶剂,例如二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺、乙腈或二甲亚砜;无环或环状醚溶剂,通常为四氢呋喃或甲基叔丁基醚;氯化溶剂,通常是二氯甲烷;非极性非质子溶剂,例如甲苯或己烷;极性质子溶剂,例如直链或支链C₁-C₆醇,特别是甲醇、乙醇、异丙醇或丁醇;酯,例如乙酸乙酯、乙酸异丙酯或乙酸丁酯;直链或支链的C₃-C₇酮,例如丙酮、甲基乙基酮、甲基异丁基酮;羧酸,例如乙酸或丙酸;或水;或者两种或更多种,通常是两种或三种上述溶剂的混合物。

[0169] 可选择的是,氢化反应可以在无机酸或碱的溶液中进行,例如盐酸或硫酸,或氢氧化钠或氢氧化钾;或者它们与上述一种、两种或三种有机溶剂的混合物。

[0170] 所述氢化反应可以在约0°C至溶剂的回流温度、优选约25°C至回流温度进行。

[0171] 式(XI)、(XIa)或(XIII)化合物的氢化反应可以通过氢转移反应,使用均相或非均相金属催化剂(例如上面定义的那些)和氢供体进行。后者可以选自例如环己烯;环己二烯;甲基环己烯;苧烯;双戊烯;薄荷烯;肼;次磷酸或其衍生物,例如次磷酸钠;二氢吡啶;抗坏血酸;甲酸或其钠或铵盐;和仲醇,例如异丙醇。优选的氢供体是甲酸铵。

[0172] 氢供体和式(XIII)化合物之间的摩尔比可以为约1.5至50,优选约1.5至10。

[0173] 通过氢转移反应的还原可以在有机溶剂的存在下进行,所述有机溶剂选自例如上述溶剂之一。

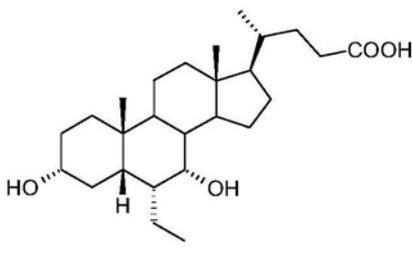
[0174] 如上文定义的,根据步骤j)的式(VII)化合物在C-7位的烯丙型氧化得到式(XII)化合物,可以在前述对烯丙型氧化所述的条件下进行,其立即从烯烃生成烯酮而不是烯丙醇,如例如Synthesis 2013,45,2201-2221中所述。优选地,氧化可以使用基于Cr、Cu、Se、Rh、Co、Ru、Pd的金属氧化体系进行,并且不存在在NaClO、NaClO₂、NaIO₄、O₂或有机过氧化物(例如叔丁基过氧化氢)存在下的金属氧化剂。

[0175] 步骤r)中C-3位羟基的保护和步骤s)中保护基的除去可以根据已知方法进行。例如,羟基可以通过在碱(例如吡啶或三甲胺(TEA))的存在下与酰氯或酸酐反应而被保护为酯。酯的裂解可以例如通过用碱(例如氢氧化钠)处理来进行。可选择的是,羟基可以通过与二氢吡喃、未取代或取代的苄基卤化物或甲硅烷基卤化物反应而被保护为醚,其中卤化物可以是氯化物或溴化物。四氢吡喃或甲硅烷基醚的裂解可以例如通过用酸处理来进行,并且苄基保护基通过氢化进行。

[0176] 可以根据已知方法进行步骤s)的C-7位羟基氧化为其酮衍生物。例如,羟基可以用IBX或IBX加合物氧化,例如如Mendeleev Comm.2012,22,129-131或PCT/EP2016/070883中所述。

[0177] 本发明的另外的实施方案涉及药物组合物,其包含式(Ia)化合物,因此是6 α -乙基-3 α ,7 α -二羟基-5 β -胆烷-24-酸,也称为6 α -乙基-鹅去氧胆酸、奥贝胆酸或6-ECDCA,

[0178]



(Ia)

[0179] 和药学上可接受的载体,其中式 (Ia) 的奥贝胆酸不包含式2的鹅去氧胆酸。药物组合物可以根据已知方法制备。

[0180] 式2的鹅去氧胆酸和式 (Ia) 的奥贝胆酸具有相似的物理化学性质,并且在2015年9月25日签署的美国专利US 9,238,673的起诉期间MelissaRewolinski博士在C.F.R. §1.132下声称,即使通过HPLC进行色谱分离也是不切实际的。

[0181] 因此,根据本发明制备式 (Ia) 的奥贝胆酸的方法是特别有利的,因为它不使用式2的鹅去氧胆酸。因此,通过本发明的方法获得的式 (Ia) 的奥贝胆酸不含鹅去氧胆酸2。因此,不需要分离所述产品。

[0182] 以下实施例进一步说明了本发明。

[0183] 实施例1:式 (IV) (R=Me) 的3 α -氧代-6 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0184] 在250mL包含温度计和磁力搅拌器的三颈烧瓶中将式 (III) 的猪去氧胆酸甲酯 (16.0g, 39.4mmol) 溶于160mL丙酮和80mL水的溶液中。将得到的溶液冷却至0至5 $^{\circ}$ C的温度,并且分批加入固体N-溴琥珀酰亚胺 (11.9g, 67.0mmol)。将反应混合物在0至5 $^{\circ}$ C搅拌3小时,然后用5%NaOH溶液 (70mL) 处理,并且再搅拌1小时。然后将混合物减压浓缩,并且用甲苯萃取。将得到的有机层首先用5%NaOH溶液洗涤,然后用饱和的NaCl溶液洗涤。将得到的有机相原样用于后续反应。将等份的溶液浓缩至干燥,并且分析。

[0185] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 400MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : 0.65 (3H, s); 0.89 (3H, d, J=6.4Hz); 0.97 (3H, s); 2.36-1.07 (27H, m); 3.62 (3H, s); 4.04 (1H, m).

[0186] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 100MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : 213.20, 174.71, 67.36, 56.08, 55.89, 51.49, 50.21, 42.80, 40.19, 39.80, 37.10, 37.05, 36.13, 36.10, 35.28, 34.50, 34.19, 30.99, 30.90, 28.07, 24.15, 22.82, 21.07, 18.24, 12.03.

[0187] 实施例2:式 (V) (R=Me; R₁和R₂一起形成-(CH₂)_n-链,其中n是2) 的3-螺[1,3]二氧戊环-6 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0188] 在包含温度计、磁力搅拌器和Dean-Stark装置的250mL三颈烧瓶中将实施例1中得到的溶液用乙二醇 (10.9g, 175mmol) 和对甲苯磺酸 (0.0750g, 0.395mmol) 处理。将溶液加热至回流以除去水/甲苯共沸物,并且搅拌2小时。在反应结束时,将混合物冷却至约20 $^{\circ}$ C,并且再搅拌至少1小时以使产物沉淀。将混合物过滤掉,并且将固体用水和预冷的乙醚洗涤。然后,将固体减压干燥,得到式 (V) 的3-螺[1,3]二氧戊环-6 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (14.9g, 33.2mmol),由式 (III) 的猪去氧胆酸甲酯计算产率为85%。通过 ^1H 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 分析产物,结果足够纯,无需任何进一步纯化即可用于下一步骤。

[0189] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 400MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : 0.63 (3H, s); 0.90 (3H, d, J=6.4Hz); 0.92 (3H, s); 1.04-2.49 (26H, m); 3.70 (3H, s); 3.94 (4H, m); 4.05 (1H, m).

[0190] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 100MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : 174.79, 109.71, 67.83, 64.20, 64.09, 56.13,

55.86, 51.49, 47.26, 42.82, 39.91, 39.15, 35.88, 35.31, 34.63, 34.58, 34.38, 31.02, 30.93, 30.13, 28.68, 28.09, 24.15, 23.25, 20.97, 18.23, 12.02.

[0191] 实施例3:式(VI) ($R=Me$; R_1 和 R_2 一起形成 $-(CH_2)_n-$ 链,其中 n 是2)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-氧代-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成。

[0192] 在包含机械搅拌器、温度计和滴液漏斗的500mL三颈烧瓶中,将如实施例2中制备的式(V)的3-螺[1,3]二氧戊环-6 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(14.9g, 33.2mmol)、KBr(1.97g, 16.6mmol)、 Bu_4NBr (0.640g, 1.99mmol)、 $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (0.71g, 4.0mmol)和 $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ (0.79g, 0.57mmol)溶于 CH_2Cl_2 (150mL)和水(40mL)的混合物中。将获得的两相混合物冷却至 $0^\circ C$,并且用TEMPO(0.16mg, 0.99mmol)和1.9%NaOCl溶液(143.0mL, 36.49mmol)处理,保持温度低于 $5^\circ C$ 。一旦添加完成,将反应混合物搅拌30分钟,然后用MeOH处理。15分钟后,将有机相分离,并且用5%HCl溶液($2 \times 50mL$)、5%NaOH溶液($2 \times 50mL$)和饱和的NaCl溶液(50mL)洗涤,最后经无水 Na_2SO_4 干燥。过滤后,将溶液减压浓缩,提供式(VI)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-氧代-5 β -胆烷-24-酸甲酯(14.5g, 32.4mmol),产率97%。

[0193] 通过 1H 和 ^{13}C -NMR分析产物,并且结果足够纯,无需进一步纯化即可用于下一步骤。

[0194] 1H -NMR($CDCl_3$, 200MHz, $24^\circ C$) δ : 0.71 (3H, s); 0.91 (3H, s); 0.97 (3H, d, $J=6.2Hz$); 1.04-2.49 (26H, m); 3.71 (3H, s); 3.97 (4H, m)。

[0195] ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 50MHz, $24^\circ C$) δ : 213.60, 174.77, 108.23, 64.68 (2C), 58.73, 57.17, 56.12, 51.82, 43.44, 43.09, 39.97, 39.67, 38.23, 37.26, 35.62, 34.76, 33.69, 31.38, 31.27, 30.55, 28.35, 24.30, 23.34, 21.49, 18.61, 12.36。

[0196] 实施例4:式(VII) ($R_a=Me$; R_1 和 R_2 一起形成 $-(CH_2)_n-$ 链,其中 n 是2)的3-螺[1,3]二氧戊环-(6E/Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0197] 在包含滴液漏斗、温度计和磁力搅拌器的250mL三颈烧瓶中,在惰性气氛下将乙基三苯基溴化磷(10.80g, 29.14mmol)混悬于70mL无水THF中。将混合物冷却至 $0^\circ C$,分批加入固体 $t-BuOK$ (3.20g, 28.6mmol),并且将混合物搅拌40分钟。然后,加入如实施例3中所述制备的式(VI)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-氧代-5 β -胆烷-24-酸甲酯(5g, 11.2mmol)在30mLTHF中的溶液。将反应混合物搅拌18小时,并且将温度在同一时间内升至室温。在反应结束时,将混合物用水(1.0g, 55mmol)处理,并且减压浓缩。将得到的残余物经硅胶色谱纯化(甲苯/丙酮90/10),提供式(VII)的3-螺[1,3]二氧戊环-(6E/Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(2.82g, 6.16mmol),为固体无定形非对映异构体混合物(E)/(Z)。

[0198] 1H -NMR($CDCl_3$, 200MHz, $24^\circ C$) δ : (特征信号,混合物E/Z) 0.61-0.63 (9H, m); 0.80 (3H, m), 0.90 (6H, d, $J=6.4Hz$); 1.59-1.53 (6H, m); 3.64 (6H, s); 3.92 (8H, m); 4.87 (1H, q, $J=6.8Hz$), 5.18 (1H, q, $J=6.6Hz$)。

[0199] ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 50MHz, $24^\circ C$) δ : (混合物E/Z) 174.14, 139.13, 117.00, 112.99, 109.53, 109.00, 63.87, 63.79, 56.12, 55.52, 54.42, 51.13, 48.36, 43.14, 42.49, 39.94, 39.62, 37.42, 36.80, 36.53, 35.43, 35.35, 35.03, 34.76, 33.90, 33.52, 33.11, 30.68, 29.76, 27.83, 23.88, 22.41, 21.22, 20.83, 17.97, 12.55, 12.13, 11.83, 11.78, 11.40。

[0200] 实施例5:式(VI) ($R_a=H$; R_1 和 R_2 一起形成 $-(CH_2)_n-$ 链,其中 n 是2)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-氧代-胆烷-24-酸的合成

[0201] 在包含滴液漏斗、温度计和磁力搅拌器的100mL三颈烧瓶中将如实施例3中制备的

式(VI)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-氧代-5 β -胆烷-24-酸甲酯(11.0g, 24.6mmol)溶于22mL MeOH中。将混合物冷却至0 $^{\circ}$ C,并且用30%NaOH溶液(11mL)处理。将反应混合物在室温搅拌18小时,然后冷却至0 $^{\circ}$ C,并且用HCl 37%处理直至达到pH 2。减压蒸发甲醇,将水相用CH₂Cl₂萃取,并且将有机相经无水Na₂SO₄干燥,并且浓缩至残余物。以定量产率得到式(VI)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-氧代-胆烷-24-酸(10.9g, 24.0mmol)。

[0202] ¹H-NMR (CDCl₃, 200MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : 0.65 (3H, s); 0.74 (3H, s); 0.91 (3H, d, J=6.2Hz); 1.04-2.57 (26H, m); 3.97 (4H, m)。

[0203] ¹³C-NMR (CDCl₃, 50MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : 211.71, 180.11, 109.36, 64.56, 64.48, 57.02, 56.33, 56.05, 53.84, 46.93, 43.37, 41.22, 39.82, 38.19, 36.03, 35.58, 31.35, 31.22, 31.04, 30.14, 28.26, 24.29, 21.80, 18.57, 12.84, 12.40。

[0204] 实施例6:式(VII) (R_a=H; R₁和R₂一起形成-(CH₂)_n-链,其中n是2)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-胆烷-24-酸的合成

[0205] 在包含滴液漏斗、温度计和机械搅拌器的250mL三颈烧瓶中,在惰性气氛下将乙基三苯基溴化磷(42.70g, 115.1mmol)混悬于无水THF(340mL)中。将混合物冷却至0 $^{\circ}$ C,并且分批加入固体t-BuOK(12.64g, 113.9mmol),并且搅拌40分钟,然后用如实施例5中所述制备的式(VI)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-氧代-胆烷-24-酸(10.9g, 25.3mmol)在85mL THF中的溶液处理。将反应混合物在室温搅拌18小时,然后用乙酸(8.30g, 139mmol)处理。再搅拌30分钟后,将混合物过滤,并且将得到的溶液减压浓缩。然后通过将残余物从甲醇:水2:1的溶液中结晶来纯化。过滤并且干燥后,得到式(VII)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-胆烷-24-酸(7.50g, 16.9mmol),产率67%。

[0206] ¹H-NMR (CDCl₃, 200MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : (特征信号) 0.64 (6H, s); 0.92 (3H, d, J=6.4Hz); 1.59 (3H, d, J=6.8Hz); 3.93 (4H, s); 4.89 (1H, q, J=6.8Hz)。

[0207] ¹³C-NMR (CDCl₃, 50MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : 180.49, 139.80, 113.69, 110.32, 64.50, 64.42, 56.77, 56.16, 55.07, 49.03, 43.18, 40.28, 38.09, 37.19, 35.99, 35.66, 34.55, 33.73, 31.40, 31.25, 31.12, 28.45, 24.53, 21.86, 18.59, 13.17, 12.50, 12.04。

[0208] 实施例7:式(IX) (R=Me; R₁和R₂一起形成-(CH₂)_n-链,其中n是2)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-7 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0209] 在包含温度计和磁力搅拌器的50mL双颈烧瓶中,将如实施例4中制备的式(VII)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(2.50g, 5.46mmol)溶于15mL二噁烷中,并且将得到的溶液用SeO₂(1.51g, 13.6mmol)处理。将反应混合物搅拌20小时,然后用5mL 5% HCl溶液稀释,并且再搅拌1小时,然后在硅藻土上过滤。将溶液减压浓缩,并且用20mL CH₂Cl₂稀释。将有机相用饱和的NaCl溶液洗涤,并且减压浓缩。然后,将残余物经硅胶色谱纯化(CH₂Cl₂:丙酮95:5),提供式(IX)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-7 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(1.20g, 2.53mmol),非对映异构体混合物(E)/(Z),为无定形固体,产率47%。

[0210] ¹H-NMR (CDCl₃, 200MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : (混合物E/Z的特征信号) 0.62 (3H, s); 0.63 (3H, s); 0.64 (3H, s); 0.77 (3H, s); 0.91 (6H, d, 6, 2Hz); 1.61 (3H, d, J=6.8Hz), 1.65 (3H, dd, J₁=7.0Hz, J₂=1.4Hz), 3.65 (6H, s); 3.92 (8H, m); 4.55 (2H, d, J=2.0Hz); 5.05 (1H, q, J=6.8Hz), 5.50 (1H, q, J=6.6Hz)。

[0211] ¹³C-NMR (CDCl₃, 50MHz, 24 $^{\circ}$ C) δ : (混合物E/Z) 174.91, 142.30 (E), 141.58 (Z),

123.97 (E), 117.29 (Z), 110.11 (Z), 109.39, 64.55, 64.46, 56.02, 51.78, 50.58, 50.45, 46.31, 43.11, 42.61, 40.83, 40.37, 39.80, 35.71, 33.62, 31.34, 28.45, 23.92, 22.77, 21.65, 18.60, 12.74, 12.18, 12.05, 10.97.

[0212] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200MHz, 24°C) δ : (异构体Z的特征信号) 0.63 (3H, s); 0.77 (3H, s); 0.91 (3H, d, 6, 2Hz); 1.65 (3H, dd, $J_1=7.0\text{Hz}$, $J_2=1.4\text{Hz}$), 3.65 (3H, s); 3.92 (4H, m); 4.55 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$); 5.05 (1H, q, $J=6.8\text{Hz}$).

[0213] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 50MHz, 24°C) δ : (异构体Z) 174.89, 141.63, 117.16, 110.10 (C-3), 66.29 (C-7), 64.52 (2C), 56.02, 51.77, 50.56, 46.27, 43.09, 42.58, 40.83, 39.77, 38.02, 35.71 (2C), 33.61, 31.33 (3C), 28.44, 23.90, 21.65, 18.58, 12.94, 12.18, 10.96.

[0214] 实施例8: 式(XI) ($R_a=\text{Me}$) 的3 α , 7 α -二羟基-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0215] 在包含温度计、回流冷凝器和磁力搅拌器的100mL双颈烧瓶中将如实施例7中所述获得的式(IX)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-7 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(1.10g, 2.32mmol)和对甲苯磺酸(110mg, 0.580mmol)溶于25mL 99:1的丙酮:水混合物中。将反应混合物在约25°C搅拌9小时,然后用5mL 5% NaHCO_3 水溶液处理,并且浓缩至残余物。

[0216] 将粗混合物用 CH_2Cl_2 (10mL)萃取,并且将有机相用饱和的 NaCl 溶液($2\times 5\text{mL}$)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,并且过滤。减压蒸发溶剂后得到构型(Z)的3-氧代-6-亚乙基-7 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(X) (900mg)。在包含温度计和回流冷凝器的10mL双颈烧瓶中,在惰性气氛下在0°C将 NaBH_4 (53.0mg, 1.39mmol)混悬于2mL THF:MeOH 9:1的混合物中,一旦氢的形成终止,加入式(X)的3-氧代-6-亚乙基-7 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(400mg)。将反应混合物再搅拌3小时,然后用1mL 10% HCl 溶液处理,并且用10mL CH_2Cl_2 稀释。将有机相用饱和的 NaCl 溶液(5mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,并且减压浓缩。将得到的残余物经硅胶色谱纯化(甲苯:丙酮90:10),提供130mg (0.30mmol)式(XI)的3 α , 7 α -二羟基-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯,产率30%。

[0217] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200MHz, 24°C) δ : (特征信号) 0.61 (3H, s); 0.64 (3H, s); 0.90 (3H, d, $J=6.0\text{Hz}$); 1.65 (3H, dd, $J_1=7.0\text{Hz}$, $J_2=1.4\text{Hz}$); 3.61 (1H, m); 3.64 (3H, s); 4.55 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$); 5.05 (1H, q, $J=6.8\text{Hz}$).

[0218] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 50MHz, 24°C) δ : 174.98, 141.48, 117.53, 71.96 (C-3), 66.40 (C-7), 56.09, 51.82, 50.63, 46.66, 43.51, 43.15, 40.87, 39.79, 38.09, 36.82, 35.74, 33.86, 31.54, 31.37 (2C), 28.47, 23.92, 21.73, 18.60, 12.97, 12.20, 11.82.

[0219] 实施例9: 式(XI) ($R_a=\text{H}$) 的3 α , 7 α -二羟基-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸的合成

[0220] 在10mL单颈烧瓶中,将实施例8中得到的式(XI) ($R_a=\text{Me}$) 的3 α , 7 α -二羟基-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(80mg, 0.19mmol)溶于3mL MeOH:NaOH的混合物(30%, 2:1)中。将混合物搅拌18小时,然后用 HCl 水溶液酸化至达到 $\text{pH}=1$,并且用 CH_2Cl_2 萃取几次。将得到的有机相经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,并且减压浓缩。得到式(XI) (其中 R_a 是H)的3 α , 7 α -二羟基-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸(75mg, 0.18mmol),为白色结晶固体,产率96%。

[0221] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200MHz, 24°C) δ : (特征信号) 0.65 (3H, s); 0.69 (3H, s); 0.95 (3H, d, $J=6.2\text{Hz}$); 1.67 (3H, dd, $J_1=6.8\text{Hz}$, $J_2=1.4\text{Hz}$); 3.58 (1H, m); 4.55 (1H, d, $J=0.6\text{Hz}$); 5.05 (1H, q, $J=6.8\text{Hz}$).

[0222] $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 50MHz, 24°C) δ : 176.92, 142.15, 116.07, 71.33, 65.58, 56.27,

50.44, 46.57, 43.30, 42.82, 41.01, 39.86, 37.79, 36.79, 35.70, 33.25, 31.30, 30.97, 30.90, 28.16, 23.49, 21.53, 17.84, 11.67, 11.34, 11.02.

[0223] 实施例10:式(VIIa)的3-螺[1,3]二氧戊环-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0224] 在装有回流冷凝器、温度计和机械搅拌器的1升三颈反应器中,在惰性气氛下将乙基三苯基溴化磷(98.0g, 0.264mol)混悬于THF(650mL)中。将混合物冷却至0 $^{\circ}$ C,并且分批加入固体t-BuOK(29.0g, 0.258mol)处理。将混悬液搅拌60分钟,然后用如实施例3所述得到的式(VI)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-氧代-5 β -胆烷-24-酸甲酯(25g, 0.056mol)在150mL THF中的溶液处理。在反应结束时,将混合物用水(120mL)稀释,并且将有机相分离,并且减压浓缩。将残余物用庚烷(2 \times 100mL)萃取,将合并的有机相用水(100mL)洗涤,并且减压浓缩。将如此获得的原料从异丙醇中结晶。过滤并且干燥后,得到式(VIIa)的3-螺[1,3]二氧戊环-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(4.6g, 0.010mol),产率18%。

[0225] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ : 5.20 (1H, q, $J=6.6\text{Hz}$), 3.98-3.88 (4H, m), 3.66 (3H, s), 2.62-2.54 (1H, m), 1.04-2.4 (26H, m), 1.56 (3H, d, $J=6.9\text{Hz}$), 0.91 (3H, d, $J=6.0\text{Hz}$), 0.81 (3H, s), 0.62 (3H, s) .

[0226] 实施例11:式(XVa)的3-氧代-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0227] 在包含温度计、回流冷凝器的50mL三颈烧瓶中,将如实施例10中所述得到的式(VIIa)的3-螺[1,3]二氧戊环-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(1.30g, 2.83mmol)在氮气下混悬于丙酮(15mL)和HCl 5%(5mL)的混合物中。将反应混合物用磁力搅拌器在室温搅拌6小时,然后蒸馏出丙酮,并且将剩余的混悬液用H₂O(10mL)稀释。将得到的固体过滤,用H₂O(3 \times 10mL)洗涤,并且在50 $^{\circ}$ C真空干燥4小时。以定量产率得到1.18g式(XVa)的3-氧代-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯。

[0228] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ : 5.25 (1H, q, $J=6.6\text{Hz}$), 3.66 (3H, s), 2.78-1.04 (26H, m), 1.53 (3H, d, $J=6.6\text{Hz}$), 0.92 (3H, d, $J=6.3\text{Hz}$), 0.88 (3H, s), 0.66 (3H, s) .

[0229] 实施例12:式(XVIa)的3 α -羟基-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0230] 在装备有温度计和回流冷凝器的50mL三颈烧瓶中,将如实施例11中所述获得的式(XVa)的3-氧代-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(1.18g, 2.85mmol)在室温和氮气下溶于甲醇(6mL)和THF(6mL)的混合物中。将得到的溶液冷却至0 $^{\circ}$ C,并且分批加入固体NaBH₄(0.108g, 2.85mmol)。将溶液在0 $^{\circ}$ C搅拌30分钟,然后在0 $^{\circ}$ C倾入1M HCl的溶液(10mL)中。将得到的混合物搅拌15分钟,然后用CH₂Cl₂(2 \times 10mL)萃取。将合并的有机相减压浓缩,并且将得到的残余物经硅胶色谱纯化(甲苯:丙酮=95:5),提供900的式(XVIa)的3 α -羟基-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯,产率76%。

[0231] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ : 5.20 (1H, q, $J=6.9\text{Hz}$), 3.54-3.72 (4H, m), 2.40-1.00 (26H, m), 1.54 (3H, d, $J=6.6\text{Hz}$), 0.91 (3H, d, $J=6.3\text{Hz}$), 0.78 (3H, s), 0.63 (3H, s) .

[0232] 实施例13:式(XIa)的3 α ,7 α -二羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0233] 在装备有温度计和回流冷凝器的50mL三颈烧瓶中,在室温和氮气下,将实施例12中得到的式(XVIa)的3 α -羟基-6-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(0.9g, 2.17mmol)溶于二噁烷(15mL)中。加入水(60 μ L)和SeO₂(289mg, 2.60mmol),并且将反应混合物加热至60 $^{\circ}$ C。搅拌1小时后,将溶液减压浓缩。然后,将残余物在CH₂Cl₂(10mL)和H₂O(10mL)之间分配,分离各

相,并且将有机相减压浓缩。将如此获得的原料经硅胶色谱纯化(CH_2Cl_2 :丙酮=80:20),得到500mg式(XIa)的3 α ,7 α -二羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯,产率50%。

[0234] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ : 5.49 (1H, q, J=6.9Hz), 3.96-3.86 (1H, m), 3.65 (3H, s), 3.56-3.44 (1H, m), 2.40-1.00 (24H, m), 1.59 (3H, d, J=6.9Hz), 0.91 (3H, d, J=6.0Hz), 0.73 (3H, s), 0.62 (3H, s)。

[0235] 实施例14:式(XIa)的3 α ,7 α -二羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸的合成

[0236] 在装备有温度计和回流冷凝器的50mL三颈烧瓶中,在室温和氮气下将实施例13中得到的式(XIa)的3 α ,7 α -二羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(500mg, 1.16mmol)溶于甲醇(5mL)中。加入NaOH 30% (687mg, 5.15mmol),并且将反应在室温在搅拌下进行16小时。然后将溶液用HCl37%酸化至pH 1,用水(10mL)稀释,并且用 CH_2Cl_2 (2 \times 5mL)萃取。将合并的有机相减压浓缩,并且将得到的残余物经硅胶色谱纯化(CH_2Cl_2 :MeOH=90:10),得到300mg式(XIa)的3 α ,7 α -二羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸,产率62%。

[0237] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ : 5.49 (1H, q, J=6.9Hz), 3.92-3.96 (1H, m), 3.46-3.56 (1H, m), 2.40-1.00 (24H, m), 1.59 (3H, d, 6.6J=Hz), 0.92 (3H, d, 6.0J=Hz), 0.73 (3H, s), 0.63 (3H, s)。

[0238] 实施例15:式(VIIa)的3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0239] 在装备有温度计和回流冷凝器的50mL三颈烧瓶中,在室温和氮气气氛下将3.38g (8.11mmol)如实施例12中得到的式(XVIa)的3 α -羟基-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯溶于THF(20mL)中。加入TEA(3.4mL; 24.3mmol)和新戊酰氯(2mL, 16.2mmol),并且将反应混合物加热至回流。搅拌16小时后,将溶液减压浓缩。然后,将残余物用EtOAc(30mL)稀释,并且用HCl 5% (20mL)、 NaHCO_3 饱和溶液(20mL)和 H_2O (20mL)洗涤。将有机相减压浓缩,得到3.17g式(VIIa)的3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯,产率78%。

[0240] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ : 5.20 (1H, q, J=6.9Hz), 4.80-4.66 (1H, m), 3.66 (3H, s), 2.40-1.00 (38H, m), 0.91 (3H, d, J=6.3Hz), 0.79 (3H, s), 0.63 (3H, s)。

[0241] 实施例16:式(XVIIa)的3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-7 α -羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯的合成

[0242] 在装备有温度计和回流冷凝器的50mL三颈烧瓶中,在室温和氮气气氛下,将0.5g (1mmol)如实施例15中得到的式(VIIa)的3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-(6Z)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯溶于二噁烷(7.5mL)中。加入水(20 μL)和 SeO_2 (133mg, 1.2mmol),并且将反应混合物加热至60 $^\circ\text{C}$,并且搅拌2小时,然后减压浓缩。将如此获得的原料经硅胶色谱纯化(甲苯:丙酮=97.5:2.5),得到100mg式(XVIIa)的3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-7 α -羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯,产率20%。

[0243] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ : 5.49 (1H, q, J=6.9Hz), 4.66-4.54 (1H, m), 3.94 (1H, s), 3.64 (3H, s), 2.40-1.00 (37H, m), 0.91 (3H, d, J=6.30Hz), 0.75 (3H, s), 0.63 (3H, s)。

[0244] 实施例17:式(XVIIIa)的3 α -羟基-7-氧代-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸的合成及其转化为式(Ia)的奥贝胆酸

[0245] 在20mL双颈烧瓶中,在室温和氮气气氛下,将0.1g (0.19mmol)实施例16中得到的式(XVIIa)的3 α -(2,2-二甲基丙酰基)-7 α -羟基-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯溶于THF

(1mL)中。加入如PCT/EP2016/070883中公开制备的2-碘酰苯甲酸 (IBX) 与喹啉的加合物 (80mg, 0.20mmol), 并且将反应混合物加热至50℃, 并且搅拌2小时, 然后过滤, 并且减压浓缩。然后, 将残余物用CH₂Cl₂ (2mL) 稀释, 并且用HCl 5% (2mL)、NaHCO₃饱和溶液 (2mL) 和H₂O (2mL) 洗涤。将有机相减压浓缩, 得到105mg原料, 将其溶于甲醇 (2mL) 中, 并且用NaOH 30% (0.5mL) 处理。将溶液搅拌48小时, 然后用HCl 37%酸化直至达到pH 1, 并且减压浓缩。将得到的残余物经硅胶色谱纯化 (CH₂Cl₂:丙酮=95:5), 得到43mg式 (XVIIIa) 的3 α -羟基-7-氧代-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸, 产率53%。

[0246] ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 6.18 (1H, q, J=6.9Hz), 3.70-3.58 (1H, m), 2.60-1.10 (29H, m), 1.00 (3H, s), 0.94 (3H, d, J=6.3Hz), 0.64 (3H, s) .

[0247] 根据已知方法, 可以将式 (XVIIIa) 的3 α -羟基-7-氧代-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸转化为式 (Ia) 的奥贝胆酸。例如, 可以用Pd/C和氢气将式 (XVIIIa) 的3 α -羟基-7-氧代-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸氢化 (例如根据EP 1 888 614或US 9,238,673的教导), 并且如本发明实施例12中所述用NaBH₄还原。

[0248] 可选择的是, 可以根据上面公开的方法将式 (XVIIIa) 的3 α -羟基-7-氧代-(6E)-亚乙基-5 β -胆烷-24-酸转化为其C₁-C₆烷基酯, 然后根据已知方法通过(6E)-亚乙基的氢化、7-氧代基的还原和酯的脱保护将其转化为式 (Ia) 的奥贝胆酸。