



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107771180 B

(45) 授权公告日 2021.03.23

(21) 申请号 201680035575.4

(22) 申请日 2016.06.16

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107771180 A

(43) 申请公布日 2018.03.06

(30) 优先权数据
15305976.1 2015.06.24 EP
62/182,081 2015.06.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.12.18

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/037812 2016.06.16

(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/205475 EN 2016.12.22

(73) 专利权人 英特塞普特医药品公司
地址 美国纽约州

(72) 发明人 R·佩里恰里 A·焦伊洛
安东尼奥·迈克其鲁洛
F·佩龙-斯尔拉 克劳斯·塞多夫

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 高瑜 郑霞

(51) Int. Cl.
C07J 9/00 (2006.01)
C07J 41/00 (2006.01)

C07J 51/00 (2006.01)
C07J 71/00 (2006.01)
C07J 31/00 (2006.01)
C07J 43/00 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 107531743 A, 2018.01.02
CN 102325784 A, 2012.01.18
CN 102325784 A, 2012.01.18
Pellicciari Roberto等. Bile Acid Derivatives as Ligands of the Farnesoid X Receptor. Synthesis, Evaluation, and Structure-Activity Relationship of a Series of Body and Side Chain Modified Analogues of Chenodeoxycholic Acid. 《Journal of Medicinal Chemistry》. 2004, 第47卷 (第18期), 第4559-4569页.

审查员 王俊

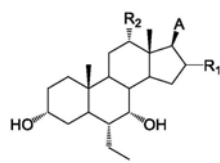
权利要求书3页 说明书77页

(54) 发明名称
TGR5调节剂及其使用方法

述疾病包括代谢疾病、炎症疾病、自身免疫性疾病、心脏病、肾脏疾病、癌症、以及胃肠疾病。

(57) 摘要

本申请涉及具有化学式(A)的化合物:

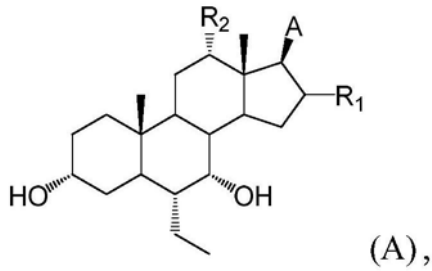


或其盐、溶剂化物、酯、互变

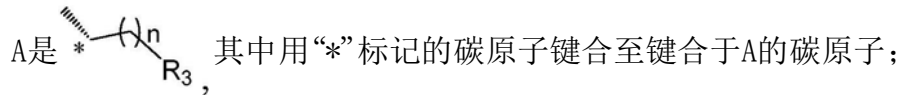
(A)

异构体、氨基酸缀合物或代谢物。具有化学式A的化合物是可用于治疗各种疾病的TGR5调节剂,所

1. 一种具有化学式A的化合物:



或其药学上可接受的盐,其中:



n是1或2;

R₁是H或OH;

R₂是H或OH;

R₃是任选地经NHS(O)₂-(C₁-C₃)烷基取代的噁二唑基;或当R₁或R₂是OH时,R₃是四唑基;或当n是1时,R₃是C(O)NHR₃₁;

R₃₁是(CH₂)_pOH或(CH₂)_pOSO₃H;并且

p是1或2。

2. 如权利要求1所述的化合物,其中R₁和R₂各自是H。

3. 如权利要求1所述的化合物,其中R₁是H,并且R₂是OH。

4. 如权利要求1所述的化合物,其中R₂是H,并且R₁是OH。

5. 如权利要求1所述的化合物,其中R₁和R₂各自是OH。

6. 如权利要求1所述的化合物,其中n是1。

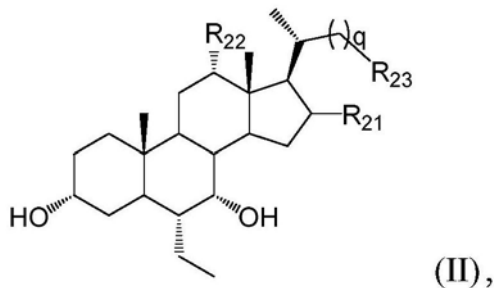
7. 如权利要求1所述的化合物,其中R₃是四唑基、或任选地经NHS(O)₂-(C₁-C₃)烷基取代的噁二唑基。

8. 如权利要求1所述的化合物,其中R₃是C(O)NHR₃₁。

9. 如权利要求8所述的化合物,其中R₃₁是(CH₂)_pOH。

10. 如权利要求8所述的化合物,其中R₃₁是(CH₂)_pOSO₃H。

11. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物具有化学式II:



或其药学上可接受的盐,其中:

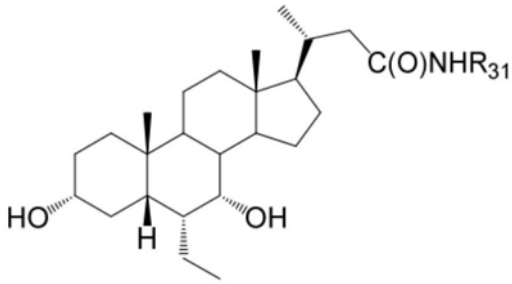
q是1或2;

R₂₁和R₂₂各自独立地是H或OH;并且

R₂₃是任选地经NHS(O)₂-(C₁-C₃)烷基取代的噁二唑基,或当R₂₁或R₂₂为OH时,R₂₃是四唑

基。

12. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物具有化学式III:

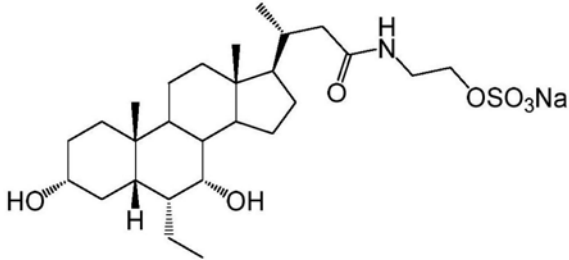
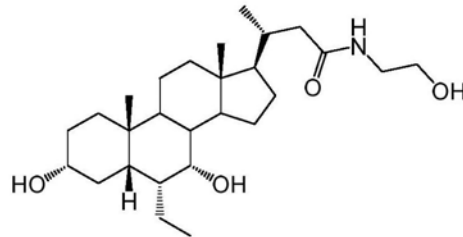
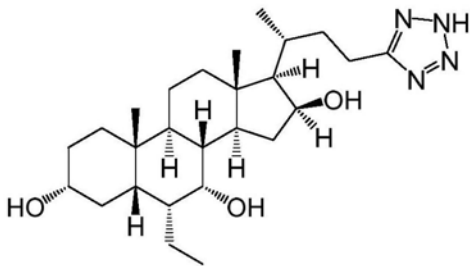
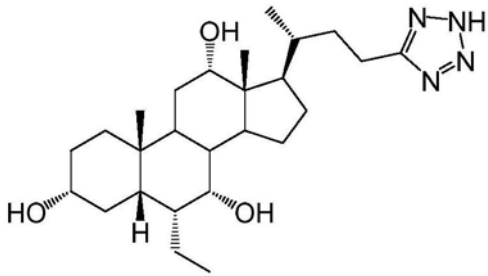


或其药学上可接受的盐,其中:

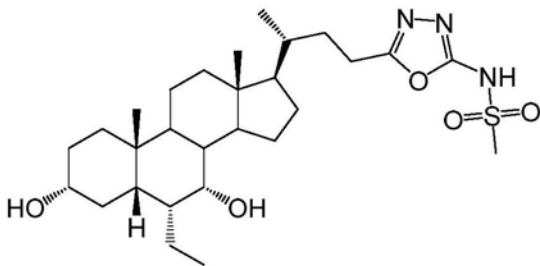
R_{31} 是 $(CH_2)_pOH$ 或 $(CH_2)_pOSO_3H$;并且

p 是1或2。

13. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自由如下组成的组:



和



14. 一种药用组合物,包括如权利要求1至13中任一项所述的化合物、以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

15. 如权利要求1至13中任一项所述的化合物在制造药物方面的用途,所述药物用于治疗或预防TGR5介导的疾病。

16. 如权利要求1至13中任一项所述的化合物在制造药物方面的用途,所述药物用于治疗或预防代谢疾病。

17. 如权利要求1至13中任一项所述的化合物在制造药物方面的用途,所述药物用于治疗或预防II型糖尿病。

TGR5调节剂及其使用方法

技术领域

[0001] 本申请涉及调节TGR5的化合物和用于治疗和/或预防各种疾病的方法中的组合。

背景技术

[0002] TGR5是响应于胆汁酸(BA)的G蛋白偶联的细胞表面受体。已发现TGR5的一级结构及其对于胆汁酸的响应在人、牛、兔、大鼠和小鼠中高度保守,并且因此表明TGR5具有重要的生理功能。TGR5不仅在淋巴组织中而且在其他组织中都广泛分布。已在胎盘、脾和单核细胞/巨噬细胞中检测到高水平的TGR5mRNA。已显示胆汁酸诱导TGR5融合蛋白从细胞膜向细胞质的内化(Kawamata等人,2003,J.Bio.Chem.[生物化学杂志]278,9435)。已发现TGR5与hGPCR19相同(Takeda等人,2002,FEBS Lett.[欧洲生化学会联合会快报]520,97)。

[0003] TGR5与广泛表达于不同细胞类型中的cAMP的细胞内积累有关。而其在巨噬细胞中的活化减少了促炎细胞因子的产生(Kawamata等人,2003,J.Bio.Chem.[生物化学杂志]278,9435),在脂肪细胞和肌细胞中TGR5通过BA的刺激增强了能量消耗(Watanabe等人,2006,Nature[自然]439,484)。后一种作用涉及2型碘化甲腺氨酸脱碘酶(D2)的cAMP依赖性诱导,其通过将T4局部地转化为T3而引起甲状腺激素活性增加。与TGR5在能量代谢中的作用一致,当挑战高脂肪饮食时,雌性TGR5基因敲除小鼠显示出显著的伴随体重增加的脂肪积累,表明TGR5的缺乏减少能量消耗并引起肥胖症(Maruyama等人,2006,J.Endocrinol.[内分泌学杂志]191,197)。另外并且与TGR5参与能量稳态相一致,已报道膜受体的胆汁酸活化促进鼠肠内分泌细胞系中胰高血糖素样肽1(GLP-1)的产生I(Katsuma,2005,Biochem.Biophys.Res.Comm.[生物化学与生物物理研究通讯]329,386)。因此,TGR5是治疗疾病(例如,肥胖症、糖尿病以及代谢性综合征)的引人注目的靶标。

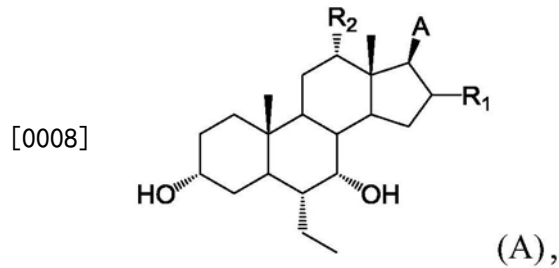
[0004] 除了TGR5激动剂用于治疗 and 预防代谢疾病之外,调节TGR5的化合物还可用于治疗其他疾病,例如,中枢神经疾病以及炎症疾病(WO 01/77325和WO02/84286)。此外,TGR5的调节剂可用于调节胆汁酸与胆固醇平衡、脂肪酸吸收以及蛋白质与碳水化合物消化的方法中。

[0005] 最近,鹅去氧胆酸(CDCA)的23-烷基取代的衍生物与6,23-二烷基取代的衍生物,例如6 α -乙基-23(S)-甲基-鹅去氧胆酸,已被报道作为TGR5的强效且选择性的激动剂(Pellicciari等人,2007,J.Med.Chem.[生物化学杂志]50,4265)。TGR5激动剂也首次提供了BA的基因组效应与非基因组效应的药理学区分,并且使得能够进行信息性结构-活性关系的研究。在这种背景下,更加强效且选择性的TGR5调节剂的可用性对于进一步鉴定影响受体激活的其他特征以及表征所述受体的生理学和药理学作用以更好地理解其与疾病预防和治理的关系而言是必需的。

[0006] 因此,需要开发用于治疗 and 预防各种疾病的TGR5调节剂。本申请已经鉴定了调节TGR5的化合物以及使用这些化合物以治疗或预防其中涉及TGR5的疾病的方法。

发明内容

[0007] 本申请涉及TGR5调节剂及其治疗和/或预防各种疾病的用途。在一个方面,本申请涉及一种具有化学式A的化合物:



[0009] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物,其中n、R₁、R₂和R₃可选自稍后在详细描述中定义的化学部分的相应基团。

[0010] 在另一个方面,本申请涉及一种药物组合物,所述药物组合物包括本申请的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0011] 在又另一方面,本申请涉及治疗或预防受试者的疾病或障碍的方法,所述方法包括向受试者给予有效量的本申请化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物。

[0012] 在又另一方面,本申请涉及本申请的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物,用于治疗或预防受试者的疾病或障碍的方法中。

[0013] 在又另一方面,本申请涉及本申请的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物用于制造用于治疗或预防受试者的疾病或障碍的用途。

[0014] 在一个方面,TGR5涉及所述疾病或障碍。在一个方面,TGR5在导致所述疾病或障碍的细胞通路的活化/上调中发挥作用。在另一个方面,TGR5在导致所述疾病或障碍的细胞通路的去活化/下调中发挥作用。在另一个实施例中,所述疾病或障碍选自代谢疾病、炎症性疾病、自身免疫性疾病、心脏病、肾脏疾病、胃肠疾病、肺病、以及癌症。

[0015] 除非另外定义,否则所有在此使用的技术和科学术语具有与本申请所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的意思。在本说明书中,除非上下文另外明确规定,否则单数形式也包括复数。虽然类似或等同于在此所述的那些方法和材料可以用于本申请的实践或测试,但适合的方法和材料描述如下。在此提及的所有出版物、专利申请、专利以及其他参考文献均通过引用结合在此。不承认在此所引用的参考文献是本申请的现有技术。在发生冲突的情况下,以包括定义的本说明书为准。另外,这些材料、方法和实例仅具有说明性并且不旨在具有限制性。

[0016] 根据以下详细说明和权利要求书,本申请的其他特征和优点将是清楚的。

具体实施方式

[0017] 定义

[0018] 为了方便起见,在此集中了本说明书、实例和权利要求书中所用的某些术语。

[0019] 如本文所使用的,“BA”意指胆汁酸和胆汁酸衍生物。胆汁酸是衍生自胆固醇的类

固醇羧酸。初级胆汁酸是胆酸和鹅去氧胆酸。在体内,这些酸在分泌于胆汁中之前与甘氨酸或牛磺酸缀合。

[0020] “烷基”是指饱和的脂肪族基团,包括直链烷基基团(例如,甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基),支链烷基基团(例如,异丙基、叔丁基、异丁基)。在某些实施例中,直链或支链烷基在其主链中具有六个或更少的碳原子,被称为“低级烷基”(例如,直链的C₁-C₆意为1、2、3、4、5或6个碳原子,支链的C₃-C₆意为3、4、5或6个碳原子)。在一些实例中,直链或支链烷基在其主链中具有四个或更少的碳原子。在另一个实例中,直链或支链烷基在其主链中具有三个或更少的碳原子。

[0021] 术语“取代的烷基”是指具有取代基的烷基部分,所述取代基替代烃主链的至少一个碳上的一个或多个氢原子。此类取代基可包括,例如,卤素、羟基、烷氧基、烷基羰基、烷氧基羰基、羧酸酯、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、氰基、氨基、硝基和酰基。

[0022] 术语“烷氧基”(“alkoxy”或“alkoxyl”)包括与氧原子共价连接的烷基、烯基和炔基基团。烷氧基基团(或烷氧基)的实例包括甲氧基、乙氧基、异丙氧基、丙氧基、丁氧基和戊氧基基团。

[0023] 术语“酯”是指含有键合于氧原子的碳或杂原子的部分,所述氧原子键合于羰基基团的碳。术语“酯”包括烷氧基羰基基团,如甲氧基羰基、乙氧基羰基、丙氧基羰基、丁氧基羰基、戊氧基羰基等。

[0024] 术语“羟基”(“hydroxy”或“hydroxyl”)包括具有-OH或-O⁻的基团。

[0025] 术语“卤素”包括氟、溴、氯、碘等。术语“全卤化的”通常是指其中所有氢均被卤素原子替代的部分。

[0026] 当任何变量(例如R₁) 在化合物的任何组分或化学式中出现不止一次,那么在每次出现时其定义是独立于在每一次其他出现时的定义。因此,例如,如果一个基团显示为被0-2个R₁部分取代,则所述基团可任选地被高达两个R₁部分取代,并且在每次出现时的R₁独立地选自R₁的定义。并且,取代基和/或变量的组合是允许的,但是仅在此类组合形成稳定化合物的条件下。

[0027] 术语“不稳定官能团”是指含有不稳定连键的取代模式,例如,易于在生理条件下(例如,中性pH范围内的水溶液)水解或裂解的官能团或键。不稳定官能团的实例包括缩醛和缩酮。

[0028] 此外,本申请的化合物或其盐能以水合或非水合(无水的)形式存在或与其他溶剂分子一起作为溶剂化物存在。水合物的非限制性实例包括一水合物、二水合物等。溶剂化物的非限制性实例包括乙醇溶剂化物、丙酮溶剂化物等。

[0029] “溶剂化物”意指含有化学计量或非化学计量的溶剂的溶剂添加剂形式。一些化合物具有在结晶固体状态下捕获固定摩尔比的溶剂分子,从而形成溶剂化物的倾向。如果所述溶剂是水,那么所形成的溶剂化物是水化物,当所述溶剂是醇时,所形成的溶剂化物是醇化物。通过将个或多个水分子与物质之一组合形成水合物,其中水保持其作为H₂O的分子状态,这种组合能够形成一种或多种水合物。

[0030] 应当注意到,本申请的一些化合物的结构包括不对称碳原子。因此,应当理解的是,除非另外说明,否则本申请范围内包括由此类不对称性产生的异构体(例如,所有的对映异构体和非对映异构体)。此类异构体可以通过经典分离技术并且通过立体化学控制合

成以基本上纯的形式获得。对映异构体(R-构型与S-构型)是根据由R.S.Cahn、C.Ingold和V.Prelog开发的系统来命名。

[0031] 此外,本申请中讨论的结构和其他化合物包括其所有阻转异构体。阻转异构体是这样一类立体异构体,其中两种异构体的原子在空间排列不同。阻转异构体将其存在归因于由于大基团围绕中心键旋转受阻而引起的旋转受限。此类阻转异构体典型地作为混合物存在。然而,由于最近在色谱技术方面的进展,已经可在所选情况下分离两种阻转异构体的混合物。

[0032] “互变异构体”是平衡地存在并且易于从一种异构体形式转化成另一种形式的两种或更多种结构异构体之一。这种转化导致氢原子的形式迁移,伴随着相邻共轭双键的转换。互变异构体在溶液中作为互变异构体组的混合物存在。在固体形式下,通常以一种互变异构体为主。在可能进行互变异构化的溶液中,互变异构体将达到化学平衡。互变异构体的精确比率取决于几个因素,包括温度、溶剂和pH。可通过互变异构作用相互转化的互变异构体的概念被称为互变异构现象。

[0033] 在可能存在的各种类型的互变异构现象中,通常观察到两种。在酮-烯醇互变异构现象中,电子和氢原子发生同时转移。环-链互变异构现象是由于糖链分子中的醛基(-CHO)与同一分子中的羟基(-OH)之一反应以给出环状(环形)形式而产生,如由葡萄糖所展现的。常见的互变异构体对为:酮-烯醇、酰胺-腈、内酰胺-内酰亚胺、杂环中(例如,在核碱基中,诸如鸟嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶中)的酰胺-亚胺酸互变异构现象、胺-烯胺和烯胺-烯胺。

[0034] 应理解的是,本申请的这些化合物可以被描绘为不同的互变异构体。还应理解的是,当化合物具有互变异构体形式时,所有互变异构体形式均旨在包括于本申请的范围内,并且化合物的命名不排除任何互变异构体形式。

[0035] “稳定的化合物”和“稳定的结构”意为表明一个化合物从反应混合物中分离时能够足够稳定的存在,达到有用的纯度,并配制成有效的治疗剂。

[0036] 如本文所使用的,术语“类似物”是指结构彼此类似但组成略有不同(如以不同元素的原子替换一个原子或存在特定官能团,或以另一个官能团替换一个官能团)的化合物。因此,类似物是在功能和外观上与参考化合物类似或相当的化合物。

[0037] 如本文所定义的,术语“衍生物”(例如,在术语“胆汁酸衍生物”中)是指具有共同的核心4元环结构,并被如本文所描述的各种基团所取代的化合物。

[0038] 如本文所定义的,术语“代谢物”,例如,在术语“胆汁酸代谢物”中,是指本文所描述化合物的葡糖醛酸化衍生物和硫化衍生物,其中一个或多个葡糖醛酸或硫酸盐部分连接至本文所描述的胆汁酸化合物。葡糖醛酸部分可通过糖苷键与胆汁酸化合物的羟基基团(例如,3-羟基、7-羟基、12-羟基和/或15-羟基)相连至胆汁酸化合物。胆汁酸化合物的硫化衍生物可通过羟基基团(例如,3-羟基、7-羟基、12-羟基和/或15-羟基)的硫酸化形成。胆汁酸代谢物的实例包括但不限于本文所描述的胆汁酸化合物的3-O-葡糖苷酸、7-O-葡糖苷酸、12-O-葡糖苷酸、15-O-葡糖苷酸、3-O-7-O-葡糖苷酸、3-O-12-O-葡糖苷酸、3-O-15-O-葡糖苷酸、7-O-12-O-葡糖苷酸、7-O-15-O-葡糖苷酸、12-O-15-O-葡糖苷酸、3-O-7-O-12-O-葡糖苷酸、3-O-7-O-15-O-葡糖苷酸和7-O-12-O-15-O-葡糖苷酸,以及本文所描述的胆汁酸化合物的3-硫酸盐、7-硫酸盐、12-硫酸盐、15-硫酸盐、3,7-二硫酸盐、3,12-二硫酸盐、3,15-二硫酸盐、7,12-二硫酸盐、7,15-二硫酸盐、3,7,12-三硫酸盐、3,7,15-三硫酸盐、7,12,15-

三硫酸盐。

[0039] 术语“生物电子等排体”是指通过以另一种大体上类似的原子或原子团交换原子或原子团所产生的化合物。物电子等排替换可以基于物理化学或拓扑学。羧酸生物电子等排体的实例包括酰基磺酰亚胺、四唑、磺酸酯和膦酸酯。参见,例如,Patani和LaVoie, Chem. Rev. [化学评论], 96, 3147-3176 (1996)。

[0040] 如本文所使用的,“药学上可接受的盐”是指本申请的化合物的衍生物,其中母体化合物是通过制备其酸盐或碱盐来进行修饰。药学上可接受的盐的实例包括但不限于:碱性残基(如胺)的矿物盐或有机酸盐、酸性残基(如羧酸)的碱盐或有机盐,以及类似盐。药学上可接受的盐包括常规的无毒盐或例如由无毒的无机酸或有机酸形成的母体化合物的季铵盐。例如,此类传统的无毒盐包括但不限于来源于无机酸与有机酸的那些盐,所述无机酸与有机酸选自2-乙酰氧基苯甲酸、2-羟乙基磺酸、乙酸、抗坏血酸、苯磺酸、苯甲酸、碳酸氢酸、碳酸、柠檬酸、依地酸、乙二磺酸、乙磺酸、反丁烯二酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、乙二醇对氨基苯肿酸、己基间苯二酚酸、海巴明酸、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、羟基马来酸、羟萘甲酸、羟乙磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酰硫酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、萘磺酸、硝酸、草酸、扑酸、泛酸、苯乙酸、磷酸、多聚半乳糖醛酸、丙酸、水杨酸、硬脂酸、碱式乙酸、琥珀酸、氨基磺酸、磺胺酸、硫酸、鞣酸、酒石酸以及甲苯磺酸。

[0041] 本申请的药学上可接受的盐可以从含有碱性或酸性部分的母体化合物通过常规的化学方法进行合成。通常,此类盐可以通过使得游离酸或碱形式的这些化合物与化学计算量的适当的碱或酸在水中或在有机溶剂中或者在这两者的混合物中进行反应而制备;通常优选非水性介质,如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。合适的盐的列表发现于Remington's Pharmaceutical Sciences [雷明顿的药物科学],第18版, Mack Publishing Company [马克出版公司], Easton [伊斯顿], 宾夕法尼亚州, 美国, 第1445页 (1990)。

[0042] 如本文所使用的,术语“氨基酸缀合物”是指本申请的化合物与任何合适的氨基酸的缀合物。牛磺酸($\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{SO}_3\text{H}$)、甘氨酸($\text{NHCH}_2\text{CO}_2\text{H}$)和肌氨酸($\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$)是氨基酸缀合物的实例。化合物的合适的氨基酸缀合物具有在胆汁或肠液中完整性增强的附加优点。合适的氨基酸不限于牛磺酸、甘氨酸和肌氨酸。本申请包括本申请的化合物的氨基酸缀合物。

[0043] 本申请的化合物还包括前药或生理学上等同的衍生物。“前药”或“生理学上等同的衍生物”包括药物的前体形式,其在体内经代谢转化以产生活性药物。本申请进一步考虑前药的使用,所述前药在体内转化成用于本申请方法中的TGR5调节化合物(参见,例如, R.B.Silverman, 1992, The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action [药物设计和药物作用的有机化学], 学术出版社, 第8章)。此类前药可以用于改变TGR5调节化合物的生物学分布(例如,使得不能典型地穿越血脑屏障的化合物能够穿越血脑屏障)或药物代谢动力学。例如,阴离子基团(例如,羧酸盐、硫酸盐或磺酸盐)可用例如,烷基基团(例如,甲基)或苯基进行酯化以产生酯。当将所述酯给予受试者时,所述酯以酶促或非酶促、还原或水解的方式裂解开,以显出阴离子基团。这样的酯可以是环状的,例如,环状的硫酸盐或砒,或者两个或更多个阴离子部分可通过连接基团得以酯化。阴离子基团可以用裂解的部分(例如,酰氧基甲基酯)进行酯化以显出中间体TGR5调节化合物,所述中间体化合物随后分解以产生活性TGR5调节化合物。在一个实施例中,前药是羧酸盐、硫酸盐或磺酸盐的还原

形式,例如乙醇或硫醇,其在体内被氧化为TGR5调节化合物。此外,阴离子部分可被酯化为能在体内主动运输或被靶器官选择性吸收的基团。

[0044] 术语“本申请的化合物”是指具有本文所描述的化学式的化合物。

[0045] 术语“TGR5调节剂”意指与TGR5受体相互作用的任何化合物。这种相互作用不限于作为TGR5受体的拮抗剂、激动剂、部分激动剂或反向激动剂的化合物。在一个方面,本申请的化合物充当TGR5受体的拮抗剂。在另一个方面,本申请的化合物充当TGR5受体的激动剂。在另一个方面,本申请的化合物充当TGR5受体的部分激动剂。在另一个方面,本申请的化合物充当TGR5受体的反向激动剂。

[0046] 传统的内源性或合成性配体的特征是由其内在功效‘e’来表征的,这种内在功效最初是于1966年由Furchgott进行了描述。它被用来表示不同的配体在占据相同数量的受体时产生不同生物响应的程度。通常,术语“激动剂”意指增强另一个分子或受体位点的活性的化合物。根据经典定义,正构的、变构的、反向的激动剂或者共激动剂都具有与受体结合、改变其受体状态并引起生物学作用的特性。因此,将激动作用定义为激动剂或配体产生生物学作用的特性。相比之下,“拮抗剂”本质上是对相同的受体大分子具有高亲和力的激动剂,但具有非常小的或可忽略的内在功效,并且因此在空间上妨碍激动剂的生物学作用。作为一种特性,拮抗作用可以是功能性或生理性的,其中激动剂在前者中具有对于受体位点的直接竞争性,并且在后者中具有通过不同的受体-信使系统的相反作用。更具体地说,TGR5激动剂是结合至TGR5并且在表达所述受体的细胞中将环一磷酸腺苷(cAMP)的浓度提高至少20%的受体配体或化合物。相反,TGR5拮抗剂将是拮抗或阻断激动剂活性从而在cAMP的浓度方面影响其降低的化合物。

[0047] 本申请涉及具有TGR5受体调节活性的化合物及其在治疗和/或预防各种疾病的用途,所述疾病包括代谢疾病、炎性疾病、自身免疫性疾病、心脏病、肾脏疾病、癌症、以及胃肠疾病。此外,本申请涉及具有本文所描述的化学式的化合物。

[0048] 短语“药学上可接受的”是本领域认可的。在某些实施例中,所述术语包括在合理医学判断的范围内适用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的效益/风险比相称的组合物、聚合物以及其他材料和/或剂型。

[0049] 短语“药学上可接受的载体”是本领域认可的,并且包括,例如,药学上可接受的材料、组合物或运载体,如涉及从身体的一个器官或部分携带或转运主题组合物到身体的另一个器官或部分的液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包囊材料。每种载体必须在与主题组合物的其他成分相容并且对患者无害的意义上是“可接受的”。在某些实施例中,药学上可接受的载体是非热原性的。可充当药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:(1)糖类,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉类,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;(4)黄芪胶粉;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石粉;(8)赋形剂,如可可脂和栓剂蜡类;(9)油类,如花生油、棉籽油、葵花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10)二醇类,如丙二醇;(11)多元醇类,如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇;(12)酯类,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原的水;(17)等渗盐水;(18)林格氏溶液;(19)乙醇;(20)磷酸盐缓冲溶液;以及(21)药物配制品中所用的其他无毒的可相容的物质。

[0050] “组合物”或“药学上可接受的组合物”是含有本申请的化合物或其盐、溶剂化物、

酯、互变异构体、氨基酸缀合物、或代谢物的配制品。在一个实施例中,所述药物组合物处于散装形式或单位剂型。所述单位剂型是任何各种形式,包括例如胶囊、IV包、片剂、上气溶胶吸入器的单个泵、或小瓶。单位剂量组合物中的活性成分(例如,本申请的化合物或其盐的配制品)的量是有效量,且根据所涉及的具体治疗而变化。本领域的技术人员将理解,有时有必要依据患者的年龄和病症对剂量进行常规改变。所述剂量也将取决于给药途径。考虑了各种途径,包括口服、经眼、眼部、肺部、直肠、肠胃外、透皮、皮下、静脉内、肌内、腹膜内、鼻内等。用于局部或透皮给予本申请的化合物的剂型包括粉剂、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、溶液、贴剂、以及吸入剂。在另一个实施例中,在无菌条件下将活性化合物与药学上可接受的载体以及需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂进行混合。

[0051] 如本文所使用的术语“治疗”意指缓解、减轻、减少、消除、调节或改善,即引起疾病状态或病症的消退。

[0052] 如本文所使用的术语“预防”意指完全或几乎完全地阻止疾病状态或病症在患者或受试者中发生,尤其是当患者或受试者易感于此类疾病状态或病症或者处于接触疾病状态或病症的风险中。预防还可以包括抑制疾病状态或病症,即阻止其发展,以及缓解或改善(即引起疾病状态或病症的消退),例如当疾病状态或病症可能已经存在时。

[0053] 如本文所使用的术语“降低……的风险”意指降低中枢神经系统疾病、炎性疾病和/或代谢疾病在患者中发生的可能性或概率,尤其是当患者或受试者易感于这种情况的发生时。

[0054] “组合疗法”(或“协同疗法”)包括给予本申请的化合物和至少第二种试剂作为特定治疗方案的一部分,以提供来自这些治疗剂(即,本申请的化合物和至少第二种试剂)的共同作用的有益效果。所述组合的有益作用包括但不限于由治疗剂的所述组合引起的药代动力学和药效学共同作用。典型地在限定的时间段内(通常是数分钟、数小时、数天或数周,取决于选择的组合)以组合方式给予这些治疗剂。“组合疗法”可能(但通常并非)旨在包括将这些治疗剂中的两种或更多种作为分离的单一治疗方案的一部分进行给予,这些方案偶然地并任意地产生本申请的组合。“组合疗法”旨在包括以顺序方式给予这些治疗剂,也即,其中在不同时间给予各治疗剂,以及以基本上同时的方式给予这些治疗剂或这些治疗剂中的至少两种。可以例如通过向受试者给予具有固定比例的各治疗剂的单一胶囊或以针对各治疗剂的多个单一胶囊来实现基本上同时的给药。依次或基本上同时给予各治疗剂可受到任何适当途径的影响,包括(但不限于)口服途径、静脉途径、肌内途径、以及通过粘膜组织的直接吸收。可以通过相同途径或通过不同途径给予这些治疗剂。例如,可以通过静脉注射给予选定组合的第一个治疗剂,同时可以口服地给予所述组合的其他治疗剂。可替代地,例如,可以口服地给予所有治疗剂或可以通过静脉注射给予所有治疗剂。治疗剂的给予顺序不是极其关键的。

[0055] “组合疗法”还包括将如上文所述的治疗剂的给药进一步与其他生物活性成分和非药物治疗法(例如,手术或机械治疗)进行组合。当组合疗法进一步包括非药物治疗时,非药物治疗可在任何合适时间进行,只要实现治疗剂与非药物治疗的共同的有益效果即可。例如,在适当情况下,从治疗剂的给药中暂时去除非药物治疗(可能数天或甚至数周)时,仍能实现有益效果。

[0056] 本申请化合物或化合物组合的“治疗有效量”是一种或多种化合物的量(数量或浓

度)。在一个实施例中,当治疗有效量的化合物给予于需要治疗的受试者时,由所述疾病引起的症状立即或在给予所述化合物一次或多次后得以改善。有待给予至受试者的化合物的量将取决于具体的障碍、给药方式、共给予的化合物、以及(如果有的话)受试者的特征,例如总体健康状况、其他疾病、年龄、性别、基因型、体重以及对药物的耐受性。本领域技术人员将能够根据这些以及其他因素确定适当的剂量。

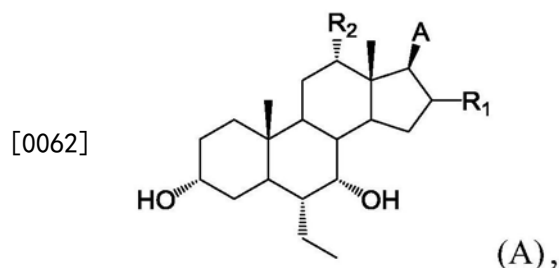
[0057] 术语“预防有效量”意指被给予以预防或减少疾病风险的本申请的化合物或化合物组合的量(数量或浓度)-换言之,提供预防或预防性效果所需的量。有待给予至受试者的本文化化合物的量将取决于具体的障碍、给药方式、共给予的化合物、以及(如果有的话)受试者的特征,例如总体健康状况、其他疾病、年龄、性别、基因型、体重以及对药物的耐受性。本领域技术人员将能够根据这些以及其他因素确定适当的剂量。

[0058] 术语“闪释剂量”是指快速分散剂型的化合物配制品。

[0059] “受试者”包括哺乳动物,例如人类、伴侣动物(例如,狗、猫、鸟类以及类似动物)、农场动物(例如,牛、羊、猪、马、家禽以及类似动物)以及实验室动物(例如,大鼠、小鼠、豚鼠、鸟类以及类似动物)。典型地,受试者是人。

[0060] 化合物与组合物

[0061] 在一个方面,本申请涉及具有化学式A的化合物:



[0063] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物,其中:

[0064] A是 噁二唑酮基、或异噁唑酮基,其中用“*”标记的碳原子键合至键合于A的碳原子;

[0065] n是0、1或2;

[0066] R₁是H或OH;

[0067] R₂是H或OH;

[0068] R₃是CR₁₁R₁₂C(O)OH、C(O)NHR₃₁、四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基,任选地经NHS(O)₂-(C₁-C₃)烷基取代;

[0069] R₁₁和R₁₂各自独立地是H、F、OH、CH₂OH、或CH₂F,前提是R₁₁和R₁₂不都是H;

[0070] R₃₁是OH、(CH₂)_pOH、或(CH₂)_pOSO₃H;并且

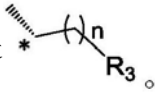
[0071] p是1或2。

[0072] (1) 例如,n是0。

[0073] (2) 例如,n是1或2。例如,n是1。例如,n是2。

[0074] (3) 例如,R₁和R₂各自是H。

[0075] (4) 例如,R₁是H,并且R₂是OH。

- [0076] (5) 例如, R_2 是 H, 并且 R_1 是 OH。
- [0077] (6) 例如, R_2 是 H, 并且 R_1 是 α -OH。
- [0078] (7) 例如, R_2 是 H, 并且 R_1 是 β -OH。
- [0079] (8) 例如, R_1 和 R_2 各自是 OH。
- [0080] (9) 例如, R_1 是 α -OH, 并且 R_2 是 OH。
- [0081] (10) 例如, R_1 是 β -OH, 并且 R_2 是 OH。
- [0082] (11) 例如, R_3 是 $CR_{11}R_{12}C(O)OH$ 。
- [0083] (I1) 例如, R_{11} 是 H, 并且 R_{12} 是 F、OH、 CH_2OH 、或 CH_2F 。
- [0084] (I2) 例如, R_{11} 是 H, 并且 R_{12} 是 α -F、 α -OH、 α - CH_2OH 、或 α - CH_2F 。
- [0085] (I3) 例如, R_{11} 是 H, 并且 R_{12} 是 β -F、 β -OH、 β - CH_2OH 、或 β - CH_2F 。
- [0086] (I4) 例如, R_{11} 是 F, 并且 R_{12} 是 F、 CH_2OH 、或 CH_2F 。
- [0087] (I5) 例如, R_{11} 是 F, 并且 R_{12} 是 F。
- [0088] (I6) 例如, R_{11} 是 F, 并且 R_{12} 是 CH_2OH 或 CH_2F 。
- [0089] (I7) 例如, R_{11} 是 F, 并且 R_{12} 是 α - CH_2OH 或 α - CH_2F 。
- [0090] (I8) 例如, R_{11} 是 F, 并且 R_{12} 是 β - CH_2OH 或 β - CH_2F 。
- [0091] (I9) 例如, R_{11} 是 OH, 并且 R_{12} 是 CH_2OH 或 CH_2F 。
- [0092] (I10) 例如, R_{11} 是 OH, 并且 R_{12} 是 α - CH_2OH 或 α - CH_2F 。
- [0093] (I11) 例如, R_{11} 是 OH, 并且 R_{12} 是 β - CH_2OH 或 β - CH_2F 。
- [0094] (I12) 例如, R_{11} 是 CH_2OH , 并且 R_{12} 是 CH_2OH 或 CH_2F 。
- [0095] (I13) 例如, R_{11} 是 CH_2OH , 并且 R_{12} 是 CH_2OH 。
- [0096] (I14) 例如, R_{11} 是 CH_2OH , 并且 R_{12} 是 CH_2F 。
- [0097] (I15) 例如, R_{11} 是 CH_2OH , 并且 R_{12} 是 α - CH_2F 。
- [0098] (I16) 例如, R_{11} 是 CH_2OH , 并且 R_{12} 是 β - CH_2F 。
- [0099] (I17) 例如, R_{11} 是 CH_2F , 并且 R_{12} 是 CH_2F 。
- [0100] (12) 例如, R_3 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。例如, R_3 是经 NHS (O)₂CH₃ 取代的四唑基、1,3,4-噁二唑基、1,2,4-噁二唑酮基、或噻唑烷-2,4-二酮基。
- [0101] (13) 例如, R_3 是 C(O)NHR₃₁。
- [0102] (III1) 例如, R_{31} 是 OH。
- [0103] (III2) 例如, R_{31} 是 (CH₂)_pOH。
- [0104] (III3) 例如, R_{31} 是 (CH₂)₂OH。
- [0105] (III4) 例如, R_{31} 是 (CH₂)_pOSO₃H。
- [0106] (III5) 例如, R_{31} 是 (CH₂)₂OSO₃H。
- [0107] (III6) 例如, p 是 1。
- [0108] (III7) 例如, p 是 2。
- [0109] (14) 例如, A 是 。
- [0110] (15) 例如, A 是噁二唑酮基或异噁二唑酮基。例如, A 是 1,2,4-噁二唑酮基或异噁二唑酮基。

[0111] 例如,对A、n、p、R₁、R₂、R₃、R₁₁、R₁₂和R₃₁之一所定义的取代基中的每一个可与对A、n、p、R₁、R₂、R₃、R₁₁、R₁₂和R₃₁中的其他所定义的取代基中任一个相组合。

[0112] (16) 例如,n是0,R₃是CR₁₁R₁₂C(O)OH,并且R₁₁和R₁₂各自如(I1)-(I17)中任一项所定义。

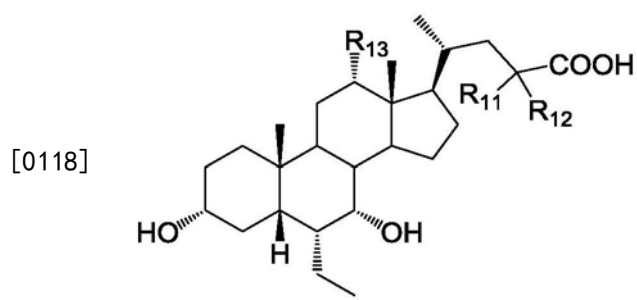
[0113] (17) 例如,n是1,R₃是CR₁₁R₁₂C(O)OH,并且R₁₁和R₁₂各自如(I1)-(I17)中任一项所定义。

[0114] (18) 例如,n是1或2,并且R₃是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基,任选地经NHS(O)₂-(C₁-C₃)烷基取代。

[0115] (19) 例如,n是0,并且R₃是噁二唑酮基。

[0116] (20) 例如,n是1,R₃是C(O)NHR₃₁,并且R₃₁如(III1)-(III5)中任一项所定义。

[0117] 例如,具有化学式A的化合物是具有化学式I的化合物:



[0119] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物,其中:

[0120] R₁₁和R₁₂各自独立地是H、F、OH、CH₂OH、或CH₂F,前提是R₁₁和R₁₂不都是H;并且

[0121] R₁₃是H或OH。

[0122] (I1) 例如,R₁₁是H,并且R₁₂是F、OH、CH₂OH、或CH₂F。

[0123] (I2) 例如,R₁₁是H,并且R₁₂是 α -F、 α -OH、 α -CH₂OH、或 α -CH₂F。

[0124] (I3) 例如,R₁₁是H,并且R₁₂是 β -F、 β -OH、 β -CH₂OH、或 β -CH₂F。

[0125] (I4) 例如,R₁₁是F,并且R₁₂是F、CH₂OH、或CH₂F。

[0126] (I5) 例如,R₁₁是F,并且R₁₂是F。

[0127] (I6) 例如,R₁₁是F,并且R₁₂是CH₂OH或CH₂F。

[0128] (I7) 例如,R₁₁是F,并且R₁₂是 α -CH₂OH或 α -CH₂F。

[0129] (I8) 例如,R₁₁是F,并且R₁₂是 β -CH₂OH或 β -CH₂F。

[0130] (I9) 例如,R₁₁是OH,并且R₁₂是CH₂OH或CH₂F。

[0131] (I10) 例如,R₁₁是OH,并且R₁₂是 α -CH₂OH或 α -CH₂F。

[0132] (I11) 例如,R₁₁是OH,并且R₁₂是 β -CH₂OH或 β -CH₂F。

[0133] (I12) 例如,R₁₁是CH₂OH,并且R₁₂是CH₂OH或CH₂F。

[0134] (I13) 例如,R₁₁是CH₂OH,并且R₁₂是CH₂OH。

[0135] (I14) 例如,R₁₁是CH₂OH,并且R₁₂是CH₂F。

[0136] (I15) 例如,R₁₁是CH₂OH,并且R₁₂是 α -CH₂F。

[0137] (I16) 例如,R₁₁是CH₂OH,并且R₁₂是 β -CH₂F。

[0138] (I17) 例如,R₁₁是CH₂F,并且R₁₂是CH₂F。

[0139] (I18) 例如, R_{13} 是 H。

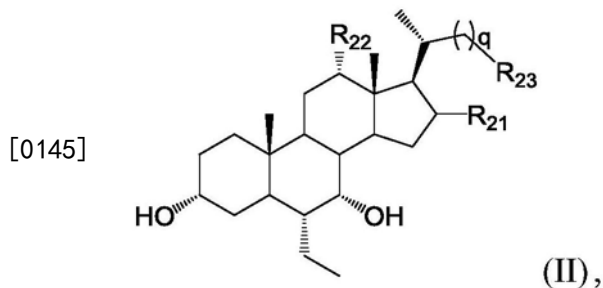
[0140] (I19) 例如, R_{13} 是 OH。

[0141] 例如, 对 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{31} 之一所定义的取代基中的每一个可与对 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{31} 中的其他二者所定义的取代基中的任一个相组合。

[0142] (I20) 例如, R_{13} 是 H, 并且 R_{11} 和 R_{12} 各自如 (I1) - (I17) 中任一项所定义。

[0143] (I21) 例如, R_{13} 是 OH, 并且 R_{11} 和 R_{12} 各自如 (I1) - (I17) 中任一项所定义。

[0144] 例如, 具有化学式 A 的化合物是具有化学式 II 的化合物:



[0146] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物, 其中:

[0147] q 是 0、1、或 2;

[0148] R_{21} 和 R_{22} 各自独立地是 H 或 OH; 并且

[0149] R_{23} 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。

[0150] (II1) 例如, q 是 0。

[0151] (II2) 例如, q 是 1。

[0152] (II3) 例如, q 是 2。

[0153] (II4) 例如, R_{21} 和 R_{22} 各自是 H。

[0154] (II5) 例如, R_{21} 是 H, 并且 R_{22} 是 OH。

[0155] (II6) 例如, R_{22} 是 H, 并且 R_{21} 是 OH。

[0156] (II7) 例如, R_{22} 是 H, 并且 R_{21} 是 α -OH。

[0157] (II8) 例如, R_{22} 是 H, 并且 R_{21} 是 β -OH。

[0158] (II9) 例如, R_{21} 和 R_{22} 各自是 OH。

[0159] (II10) 例如, R_{22} 是 OH, 并且 R_{21} 是 α -OH。

[0160] (II11) 例如, R_{22} 是 OH, 并且 R_{21} 是 β -OH。

[0161] (II12) 例如, R_{23} 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。例如, R_{23} 是经 NHS (O)₂CH₃ 取代的四唑基、1,3,4-噁二唑基、1,2,4-噁二唑酮基、或噻唑烷-2,4-二酮基。

[0162] 例如, 对 q 、 R_{21} 、 R_{22} 和 R_{23} 之一所定义各取代基可与对 q 、 R_{21} 、 R_{22} 和 R_{23} 中的其他三者所定义的取代基中的任一个相组合。

[0163] (II13) 例如, q 是 0, 并且 R_{21} 和 R_{22} 各自如 (II4) - (II11) 中任一项所定义, 并且 R_{23} 如 (II12) 所定义。

[0164] (II14) 例如, q 是 0, R_{21} 是 H, R_{22} 是 H, 并且 R_{23} 是噁二唑酮基。

[0165] (II15) 例如, q 是 0, R_{21} 是 H, R_{22} 是 OH, 并且 R_{23} 是噁二唑酮基。

[0166] (II16) 例如, q 是 1, 并且 R_{21} 和 R_{22} 各自如 (II4) - (II11) 中任一项所定义, 并且 R_{23} 如 (II12) 所定义。

[0167] (II17) 例如, q 是 1, R_{21} 是 H, R_{22} 是 H, 并且 R_{23} 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。

[0168] (II18) 例如, q 是 1, R_{21} 是 H, R_{22} 是 OH, 并且 R_{23} 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。

[0169] (II19) 例如, q 是 2, 并且 R_{21} 和 R_{22} 各自如 (II4) - (II11) 中任一项所定义, 并且 R_{23} 如 (II12) 所定义。

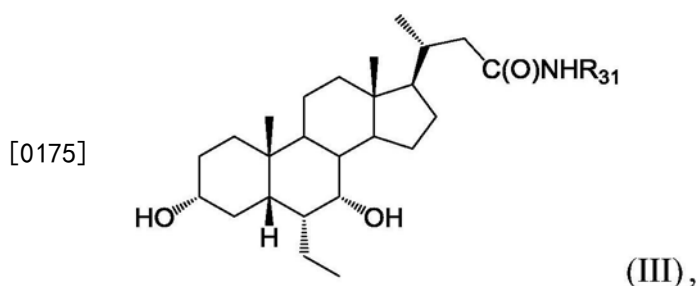
[0170] (II20) 例如, q 是 2, R_{21} 是 H, R_{22} 是 H, 并且 R_{23} 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。

[0171] (II21) 例如, q 是 2, R_{21} 是 OH, R_{22} 是 H, 并且 R_{23} 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。

[0172] (II22) 例如, q 是 2, R_{21} 是 H, R_{22} 是 OH, 并且 R_{23} 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。

[0173] (II23) 例如, q 是 2, R_{21} 是 OH, R_{22} 是 OH, 并且 R_{23} 是四唑基、噁二唑基、噁二唑酮基、或噻唑烷-二酮基, 任选地经 NHS (O)₂-(C₁-C₃) 烷基取代。

[0174] 例如, 具有化学式 A 的化合物是具有化学式 III 的化合物:



[0176] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物, 其中:

[0177] R_{31} 是 OH、(CH₂)_pOH、或 (CH₂)_pOSO₃H; 并且

[0178] p 是 1 或 2。

[0179] (III1) 例如, p 是 1。

[0180] (III2) 例如, p 是 2。

[0181] (III3) 例如, R_{31} 是 OH。

[0182] (III4) 例如, R_{31} 是 (CH₂)_pOH。

[0183] (III5) 例如, R_{31} 是 (CH₂)₂OH

[0184] (III6) 例如, R_{31} 是 (CH₂)_pOSO₃H。

[0185] (III7) 例如, R_{31} 是 (CH₂)₂OSO₃H。

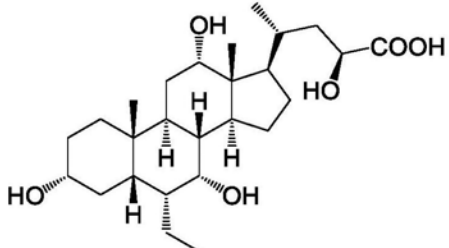
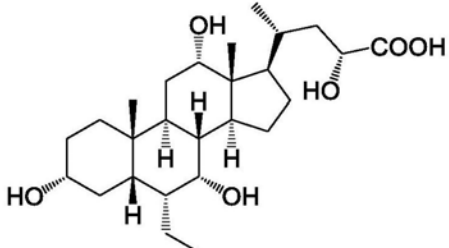
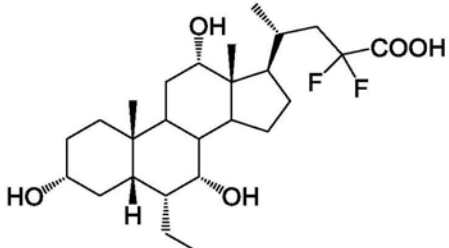
[0186] 例如, 对 p 和 R_{31} 之一所定义的各取代基可与对 p 和 R_{31} 中的另一个所定义的取代基中的任一个相组合。

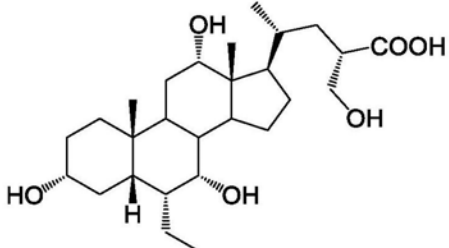
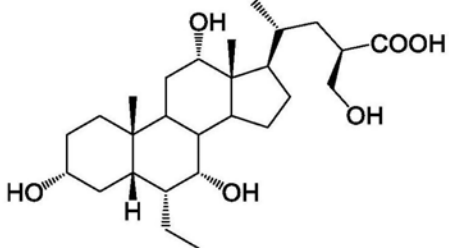
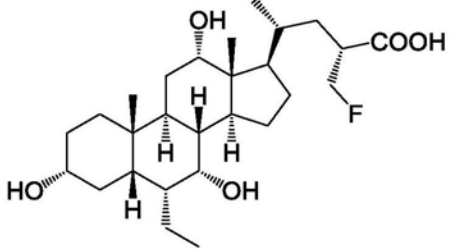
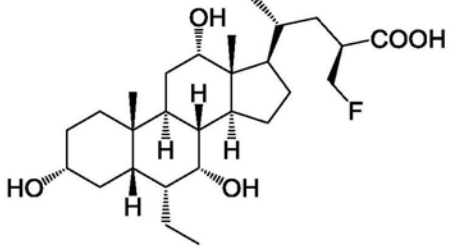
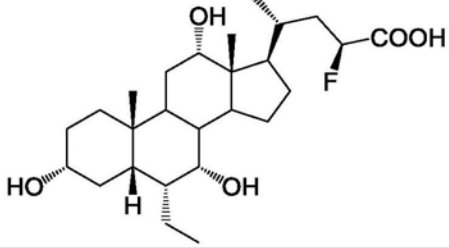
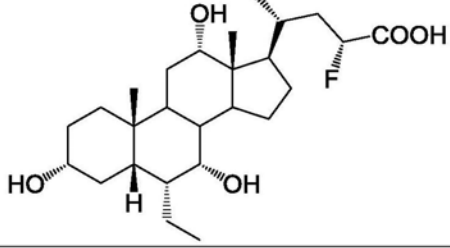
[0187] (III17) 例如, p 是 1, 并且 R_{31} 如 (III3) - (III7) 所定义。

[0188] (III18) 例如, p 是 2, 并且 R_{31} 如 (III3) - (III7) 所定义。

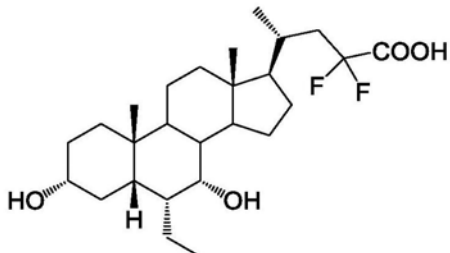
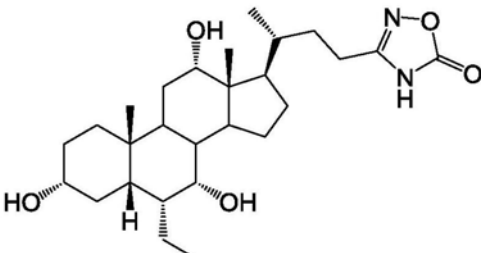
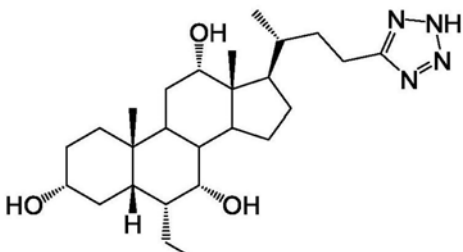
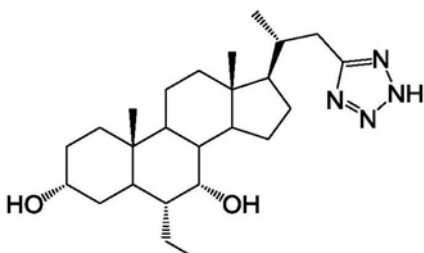
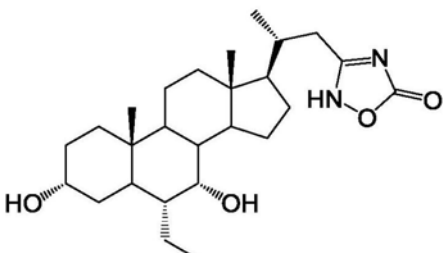
[0189] 本申请的代表性化合物列于表 1 中。

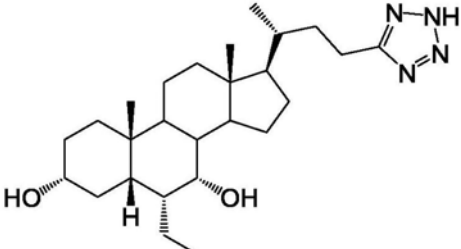
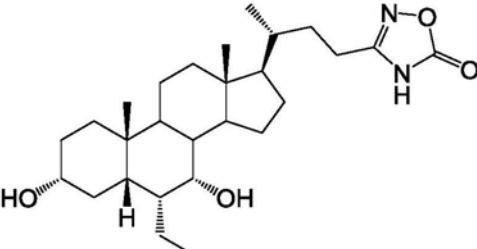
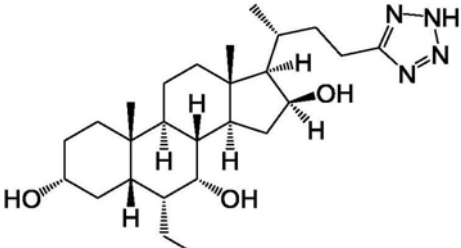
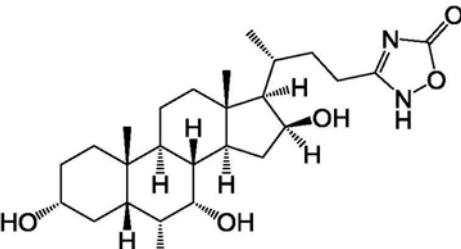
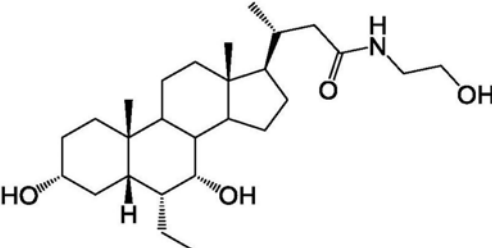
[0190] 表1

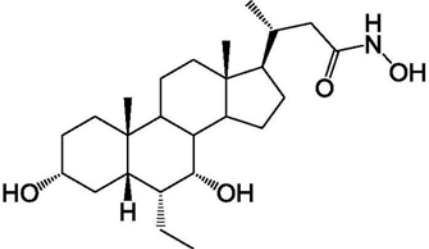
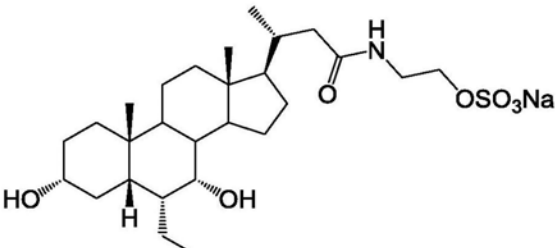
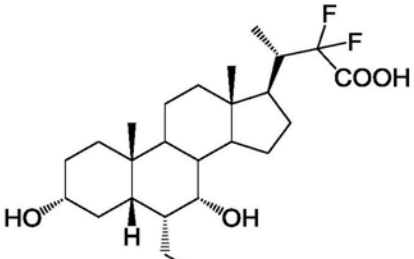
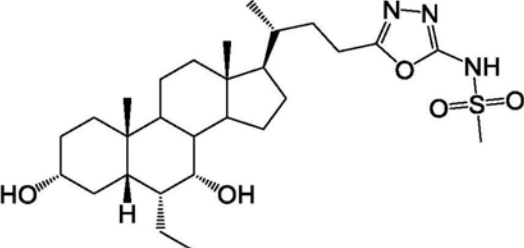
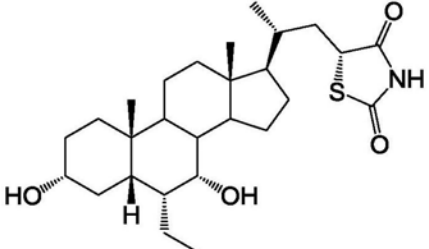
化合物编号	化学结构
1	
[0191] 2	
3	

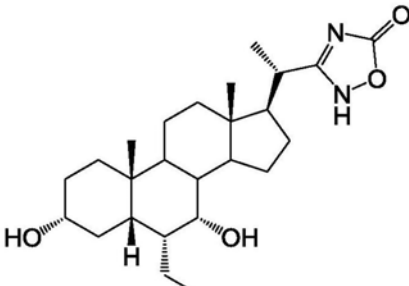
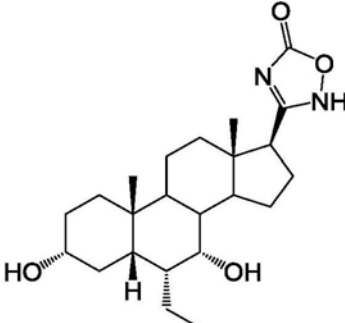
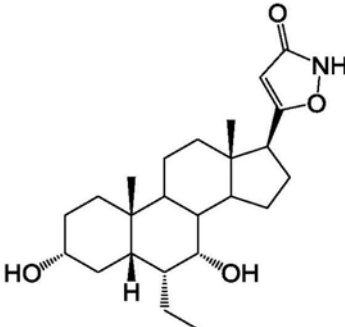
化合物编号	化学结构
4	
5	
6	
7	
8	
9	

[0192]

化合物编号	化学结构
10	 <chem>CC12CCC3[C@@]1(O)CC[C@H]4[C@@]2(O)CC[C@H]3C[C@@]4(C)CC(F)(F)C(=O)O</chem>
11	 <chem>CC12CCC3[C@@]1(O)CC[C@H]4[C@@]2(O)CC[C@H]3C[C@@]4(C)CCCN1C=NC=O</chem>
[0193] 12	 <chem>CC12CCC3[C@@]1(O)CC[C@H]4[C@@]2(O)CC[C@H]3C[C@@]4(C)CCCN1=NN=N</chem>
13	 <chem>CC12CCC3[C@@]1(O)CC[C@H]4[C@@]2(O)CC[C@H]3C[C@@]4(C)CCCN1=NN=N</chem>
14	 <chem>CC12CCC3[C@@]1(O)CC[C@H]4[C@@]2(O)CC[C@H]3C[C@@]4(C)CCCN1C=NC=O</chem>

化合物编号	化学结构
15	
16	
[0194] 17	
18	
19	

化合物编号	化学结构
20	
21	
[0195] 22	
23	
24	

化合物编号	化学结构
25	
[0196] 26	
27	

[0197] 在一个方面,本申请包括本申请的化合物,其中所述化合物是药学上可接受的盐。

[0198] 本申请的一个方面包括一种组合物,所述组合物包含本申请的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0199] 本申请的化合物的合成

[0200] 本申请提供了合成具有本文所描述的各化学式的化合物的方法。本申请还提供根据下文如实例中所示的方案合成本申请所披露的多种化合物的详细方法。

[0201] 在通篇说明中,如果组合物被描述为具有、包括或包括特定组分,那么预期组合物也基本上由所列举组分组成,或由所列举组分组成。类似地,如果方法或工艺被描述为具有、包含或包括特定工艺步骤,那么这些工艺也基本上由所列举工艺步骤组成,或由所列举工艺步骤组成。另外,应理解,只要本申请保持可操作,步骤的顺序或进行某些动作的顺序是不重要的。此外,两个或更多个步骤或动作可同时进行。

[0202] 本申请的合成工艺可容忍众多官能团,因此可使用多种经取代的起始物质。所述工艺通常在整体工艺结束时或接近结束时提供所需最终化合物,但在某些情况下可能需要将所述化合物进一步转化为其药学上可接受的盐、酯或前药。

[0203] 本申请的化合物可以多种方式使用可商购的起始物质、文献中已知的化合物或来自易于制备的中间体的化合物,通过采用本领域技术人员已知的或熟练技术人员可根据本文中的传授内容了解的标准合成方法和程序来制备。用于有机分子制备和官能团转换和作的标准合成方法和程序可从本领域的相关科学文献或从标准教材中获得。尽管不限于任何一个或几个来源,通过引用并入本文的经典文本,例如Smith, M.B., March, J., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure [马奇的高级有机化学: 反应、机制与结构], 第5版, 约翰威利父子出版公司: 纽约, 2001; 和Greene, T.W., Wuts, P.G.M., Protective Groups in Organic Synthesis [有机合成中的保护基团], 第3版, 约翰威利父子出版公司: 纽约, 1999, 是本领域技术人员已知的有用且被认可的有机合成参考教科书。下文关于合成方法的说明设计为阐释但不限制制备本申请的化合物的一般程序。

[0204] 本申请的化合物可方便地通过本领域技术人员熟悉的多种方法来制备。本文所描述的具有各化学式的化合物可根据以下程序由可商购起始材料或可使用文献程序制备的起始材料制备。这些程序示出本申请的代表性化合物的制备。

[0205] 本申请中使用的所有缩写均可在约翰威利父子出版有限公司的Protective Groups in Organic Synthesis [有机合成中的保护基团] 或默克公司的MERCCK INDEX [默克索引], 或者化学供应商 (例如奥德里奇 (Aldrich) 公司) 的其他化学书籍或化学索引中找到, 或者根据本领域已知的用法。

[0206] 用途及方法

[0207] 本申请包括一种化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物用于制造用于治疗或预防受试者的疾病的药物的用途。本申请还包括通过向受试者给予本申请的化合物或者药学上可接受的盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物、或代谢物来治疗或预防受试者的疾病的方法。

[0208] 本申请的一个方面包括用途或方法, 其中所述疾病是涉及TGR5的疾病, 即, 一种“TGR5介导的疾病”。在一个实施例中, TGR5介导的疾病选自其中涉及TGR5的代谢疾病、炎症疾病、自身免疫性疾病、心脏病、肾脏疾病、癌症、以及胃肠疾病。

[0209] 在一个方面, 所述代谢疾病选自肥胖症、糖尿病 (以及由糖尿病引起的并发症, 如糖尿病性肾病、糖尿病性神经病变、糖尿病性视网膜病等)、糖胖病、代谢性综合症、胰岛素抗性 (包括糖尿病前期的胰岛素抗性)、高血压、以及血脂异常。在一个方面, 所述代谢疾病是肥胖症。在另一个方面, 所述代谢疾病是糖尿病。在一个方面, 所述糖尿病选自糖尿病前期和II型糖尿病。在一个方面, 所述代谢疾病是一种代谢综合症。在一个方面, 所述代谢疾病是胰岛素抗性。在一个方面, 所述代谢疾病是血脂异常。在一个方面, 所述代谢疾病是糖胖病。术语“糖胖病”是指其中受试者既患有糖尿病又有体重过重的病症。

[0210] 在一个方面, 所述炎症疾病选自过敏症、骨关节炎 (OA)、慢性阻塞性肺病 (COPD)、阑尾炎、支气管哮喘、胰腺炎、过敏性皮疹、以及银屑病。

[0211] 在一个方面, 所述自身免疫性疾病选自类风湿关节炎、多发性硬化症、以及I型糖尿病。在一个方面, 所述自身免疫性疾病是红斑病 (erythematosus)。

[0212] 在一个方面, 所述心脏病选自充血性心力衰竭、心肌梗塞、动脉粥样硬化、心绞痛、动脉硬化以及脑血管疾病 (出血、中风、脑血管梗塞)。

[0213] 在一个方面,所述肾脏疾病选自糖尿病性肾病、慢性肾衰竭、肾小球肾炎、高血压性肾硬化、慢性肾小球肾炎、慢性移植性肾小球病、慢性间质性肾炎、以及多囊性肾病。

[0214] 在一个方面,所述胃肠疾病选自炎症肠病(克罗恩病、溃疡性结肠炎)、短肠综合症(放疗后结肠炎)、显微镜下结肠炎、肠易激综合症(吸收不良)、以及细菌的过度生长。

[0215] 在一个方面,所述癌症选自结肠直肠癌、肝癌、肝细胞癌、胆管癌、肾癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌、以及胰岛瘤。

[0216] 在一个方面,本申请包括一种用途或方法,其中本申请的化合物是TGR5激动剂。

[0217] 在一个方面,本申请包括一种用途或方法,其中所述化合物或组合物经口服、经眼、眼部、肠胃外、静脉内、或局部给予受试者。在一方面,所述受试者是人类。

[0218] 本申请包括一种用途或方法,所述用途或方法包括向受试者给予治疗有效量的本申请的化合物。本申请还包括一种用途或方法,所述用途或方法包括向受试者给予预防有效量的本申请的化合物。

[0219] 本申请的化合物和组合物可以通过各种途径进行给药,例如,经口服、皮下、肌肉、静脉内、或腹膜内。优选的给药途径是口服、皮下和静脉内,每日剂量为70kg的成人每天给予本申请的化合物约0.01mg-5000mg,优选5mg-500mg。适当的剂量可以按每日单次剂量或以适当间隔呈递的分开剂量进行给药,例如以每天两次、三次、四次或更多次亚剂量。

[0220] 为了制备含有本申请的化合物的药物组合物,使用惰性的并且药学上可接受的载体。所述药物载体可以是固体或液体。固体形式的制剂包括,例如,粉剂、片剂、可分散的颗粒剂、胶囊、扁囊剂、以及栓剂。固体载体可以是一种或多种以下物质,这些物质还可充当稀释剂、调味剂、增溶剂、滑润剂、助悬剂、粘合剂、或片剂崩解剂的物质;其还可以是包囊材料。

[0221] 在粉剂中,所述载体通常为精细分散的固体,其为具有精细分散的活性组分(例如,本申请的化合物)的混合物。在片剂中,所述活性成分被与处于适合的比例的具有必需的结合特性的载体混合并且被压实为所希望的形状和尺寸。

[0222] 为了制备栓剂形式的药物组合物,首先将一种低熔点的蜡(如脂肪酸甘油酯与可可脂的混合物)融化,并且将所述活性成分通过例如搅拌分散于其中。然后将所述熔化的均匀混合物注入合适大小的模具,并且使其冷却和凝固。

[0223] 粉剂和片剂优选含有以重量计约5%至约70%之间的本申请的化合物的活性成分。合适的载体包括,例如碳酸镁、硬脂酸镁、滑石、乳糖、糖、果胶、糊精、淀粉、黄芪胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、低熔点的蜡、可可脂、以及类似物。

[0224] 药物组合物可以包括具有包囊材料的活性化合物的配制品,所述包囊材料作为提供胶囊的载体,其中本申请的化合物(具有或不具有其他载体)被载体所包围,使得所述载体与所述化合物相结合。还可以按类似的方式将扁囊剂包括在内。可以使用片剂、粉剂、扁囊剂、以及胶囊作为适合于口服给药的固体剂型。

[0225] 液体药物组合物包括,例如,适合于口服、经眼、眼部、或肠胃外给药的溶液,悬浮液,以及适合于口服给药的乳液。包括水、缓冲水、盐水、PBS、乙醇或丙二醇在内的活性组分的无菌水溶液或活性组分在溶剂中的无菌溶液是适用于肠胃外给药的液体组合物的实例。这些组合物可以包含如接近生理条件所需要的药学上可接受的辅助物质,如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂、润湿剂、洗涤剂等等。

[0226] 可以通过以下方式制备无菌溶液：将活性组分（例如，本申请的化合物）溶解于希望的溶剂系统，并且然后将所得溶液通过膜过滤器进行灭菌，或者（可替代地）将无菌化合物在无菌条件下溶解于预先灭菌的溶剂中。所得的水溶液可以经过包装就此使用，或者进行冻干，在给药前将冻干的制剂与无菌水性载体组合。所述制剂的pH典型地在3与11之间，更优选从5至9，并且最优选从7至8。

[0227] 可以给予含有本申请的化合物的药物组合物以用于预防性和/或治疗性处理。在治疗性应用中，将组合物以足以治愈、逆转或至少部分地减缓或阻止疾病及其并发症的症状的量进行给药。适于治愈、逆转或至少部分地减缓或阻止疾病及其并发症的症状的量被定义为“治疗有效剂量”。在预防性应用中，将组合物以足以预防疾病及其并发症的症状的量进行给药。适于预防疾病及其并发症的症状的量被定义为“预防有效剂量”。

[0228] 用于治疗用途的有效量将取决于疾病或病症的严重性以及患者的体重和总体状况，而对于70kg的患者而言，通常范围为每天约0.1mg至约2,000mg的化合物，更常用的剂量为对于70kg的患者每天约5mg至约500mg的化合物。

[0229] 在预防性应用中，将含有本申请的化合物的药物组合物以足以延迟或预防疾病症状发作的量给予易患或以其他方式处于疾病发展风险的患者。在所述用途中，化合物的精确量仍然取决于患者的健康状态和体重，但对于70kg的患者通常为每天约0.1mg至约2,000mg，更常用的剂量为对于70kg的患者每天约5mg至约500mg。

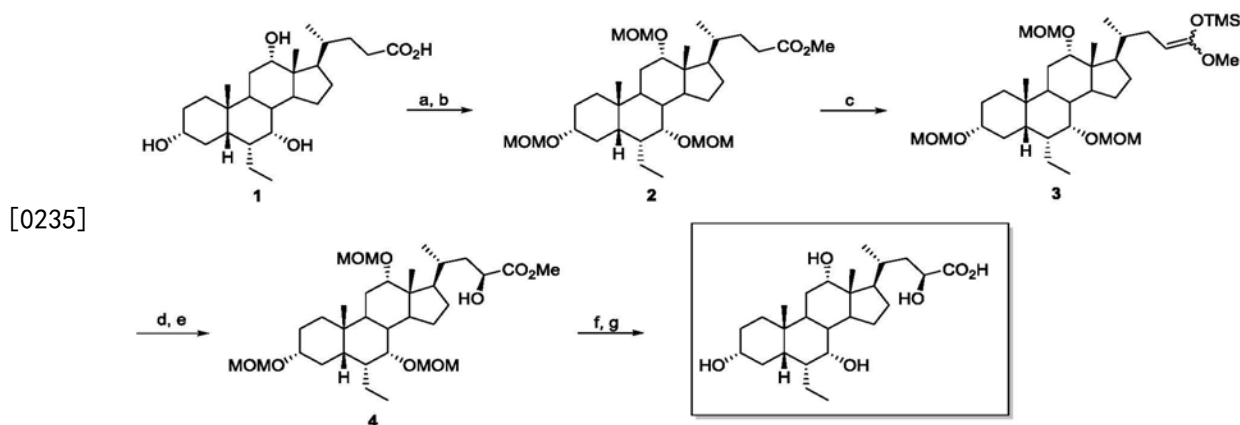
[0230] 由治疗医生选择的剂量水平和方式来进行组合物的单次或多次给药。在任何情况下，药物配制品应提供足以有效治疗或预防患者疾病的量的本申请的化合物。

[0231] 本申请还根据本申请的用途和方法提供了用于预防或治疗疾病的试剂盒。在一个方面，本申请包括用于在受试者中治疗或预防疾病的试剂盒，其中所述试剂盒包含本申请的化合物或其盐、溶剂化物、酯、互变异构体、氨基酸缀合物或代谢物。所述试剂盒典型地包括含有有效量的本申请的化合物的药物组合物，以及含有如何分配药物组合物的说明的信息材料，所述说明包括可被治疗的患者类型的描述、时间表（例如，剂量和频率）和给药途径、以及类似内容。

[0232] 在此引用的全部出版物和专利文献通过引用结合在此，如同每一份这样的出版物或者文献都被具体地且分别地指出已通过引用结合在此。公开和专利文件的引用不旨在承认任何这些是相关的现有技术，其也不构成对关于相同内容或日期的任何承认。本申请现在已经通过书面描述方式予以描述，本领域技术人员将认识到，本申请可以在多种实施方案中实现，并且前面的描述和以下实例用于举例说明目的，而不限限制随后的权利要求书。

[0233] 实例

[0234] 实例1：化合物1的合成



[0236] 试剂与条件: a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) LDA, TMSCl, THF, -78°C; d) Pb(OAc)₄, CH₂Cl₂; e) K₂CO₃, MeOH; f) HCl, MeOH, 45°C; g) NaOH, MeOH, 45°C。

[0237] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0238] 向3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸 (6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在 MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将 MeOH 在减压下去除, 并且将残余物溶解于 AcOEt (200mL) 中, 并用饱和的 NaHCO₃ (200mL)、H₂O (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于 CH₂Cl₂ (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺 (94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用 H₂O (100mL)、HCl 3N (100mL)、H₂O (100mL)、饱和 NaHCO₃ (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩以提供 26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的 2 (定量产量)。

[0239] (E+Z)-3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-24, 24-三甲基甲硅烷基氧基-甲氧基-5 β -胆-23-烯 (3)

[0240] 向在 N₂ 气氛下且于 -40°C 冷却的在蒸馏 THF (40mL) 中的二异丙胺 (11.7mL, 82.5mmol) 的搅拌溶液中, 逐滴添加在己烷 (32.0mL, 79.3mmol) 中的 2.5M nBuLi。15 分钟后, 将该溶液冷却低至 -78°C, 并逐滴添加三甲基氯硅烷 (12.7mL, 84.5mmol)。再过 15 分钟后, 在约 20 分钟内分批添加蒸馏的 THF (20mL) 中的 3 (6.0g, 10.30mmol) 的溶液, 保持内部温度不超过 -70°C。一旦完成添加, 将该反应混合物在 -78°C 搅拌 1 小时, 并且然后在室温下升温。将挥发物在减压下去除, 并且将残余物悬浮于石油醚 (80mL) 中并在真空下过滤。将液体在减压下浓缩以给出 10.12g 油状残余物, 将残余物不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0241] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (S)-羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (4)

[0242] 在 N₂ 气氛下, 向在蒸馏的 CH₂Cl₂ (50mL) 中的新鲜结晶的且无乙酸的四乙酸铅 (IV) (6.85g, 15.46mmol) 的悬浮液中逐滴添加在 CH₂Cl₂ (30mL) 中的 3 (10.12g) 的溶液。30 分钟后将反应混合物在真空下通过硅藻土垫进行过滤。将滤液在减压下进行浓缩, 并且将残余物通过硅胶垫 (h: 6cm, ϕ : 2 cm) 进行过滤, 用石油醚/AcOEt (8:2, v/v) 收集粗反应混合物。溶剂蒸发后, 将残余物 (6.50g) 溶解于 MeOH (50mL) 中, 并用碳酸钾 (2.13g, 15.5mmol) 在室温下处理 15 分钟。然后将混合物用 CH₂Cl₂ (50mL) 稀释并在真空下过滤。将滤液用 CH₂Cl₂ (70mL) 进一步稀释并用盐水 (70mL) 洗涤。将水相用 CH₂Cl₂ (3x 40mL) 萃取, 并且将收集的有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥, 并在减压下浓缩。通过中压液相色谱对残余物进行纯化, 并用由石油醚/

AcOEt (65:35, v/v) 构成的等度洗脱来收集希望的化合物, 产率为19%。

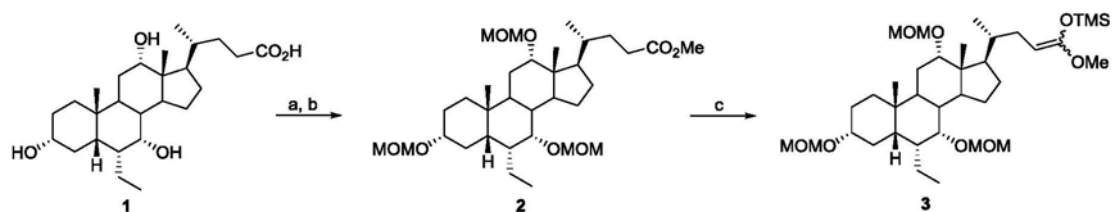
[0243] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200MHz) δ 0.65 (3H, s, 18- CH_3), 0.81-0.88 (6H, m, 19- CH_3 + CH_2CH_3), 0.99 (3H, d, $J=6.4\text{Hz}$, 21- CH_3), 3.32-3.36 (1H, m, 3-CH), 3.33 (6H, m, 2x OCH_2OCH_3), 3.39 (3H, s, OCH_2OCH_3), 3.46 (1H, s, 7-CH), 3.74 (3H, s, CO_2CH_3), 3.76 (1H, s, 12-CH), 4.18 (1H, t, $J=6.6\text{Hz}$, 23-CH), 4.51-4.72 (6H, m, 3x OCH_2OCH_3)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 50.3MHz) δ 11.7, 12.4, 18.7, 22.8, 23.0, 23.8, 24.9, 27.3, 27.6, 27.9, 30.3, 33.5, 35.5 (x 2), 40.7, 41.2, 41.8, 42.2, 45.8, 46.3, 46.7, 52.2, 54.9, 55.7, 55.9, 69.9, 77.4, 79.9, 80.0, 94.3, 95.8, 98.4, 176.0。

[0244] 3 α , 7 α , 12 α , 23 (S)-四羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸 (化合物1)

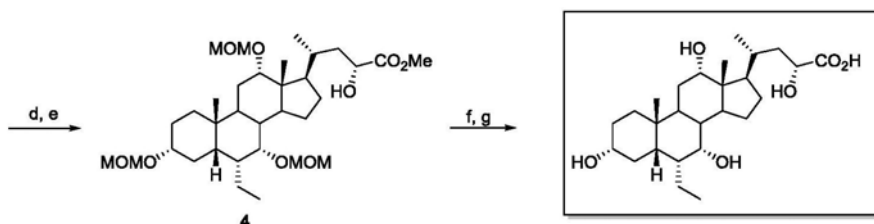
[0245] 向在MeOH (7mL) 中的4 (0.10g, 0.17mmol) 的溶液添加HCl 3N (0.60mL, 1.80mmol), 并且将混合物在45 $^\circ\text{C}$ 搅拌18小时。添加氢氧化钠 (0.10g, 2.50mmol), 并将混合物在45 $^\circ\text{C}$ 再搅拌5小时。将MeOH在减压下去除, 将残余物用多达10mL的 H_2O 进行稀释并用 Et_2O (2x 5mL) 洗涤。将水相用HCl 3N酸化, 用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (85:15, v/v) (5x 10mL) 萃取, 并在减压下浓缩。通过RP-18中压液相色谱, 通过使用 $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (9:1 \rightarrow 1:1, v/v) 作为洗脱液对所得残余物进行纯化, 从而以78%的产率获得希望的化合物化合物1。

[0246] rf: 0.11 (TLC: 硅胶60RP-8F₂₅₄S; 洗脱液: $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ 60:40)。 $^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 400MHz) δ 0.58 (3H, s, 18- CH_3), 0.72-0.75 (6H, m, 19- CH_3 + CH_2CH_3), 0.90 (3H, d, $J=6.0\text{Hz}$, 21- CH_3), 3.25-3.34 (1H, m, 3-CH), 3.62 (1H, s, 7-CH), 3.89 (1H, t, $J=8.0\text{Hz}$, 23-CH), 3.93 (1H, s, 12-CH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , 100.6MHz) δ 11.0, 11.9, 17.8, 21.8, 22.4, 22.8, 26.7, 27.4, 27.7, 29.1, 32.4, 33.3, 34.7, 39.7, 41.0, 41.1, 41.6, 44.8, 46.2, 47.3, 48.8, 70.4, 71.9 (x 2), 73.1, 182.0。

[0247] 实例2: 化合物2的合成



[0248]



[0249] 试剂与条件: a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH_2Cl_2 , 回流; c) LDA, TMSCl, THF, -78 $^\circ\text{C}$; d) $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, CH_2Cl_2 ; e) K_2CO_3 , MeOH; f) HCl, MeOH, 45 $^\circ\text{C}$; g) NaOH, MeOH, 45 $^\circ\text{C}$ 。

[0250] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0251] 向3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸 (6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将MeOH在减压下去除, 并且将残余物溶解于AcOEt (200mL) 中, 并用 NaHCO_3 的饱和溶液 (200mL)、 H_2O (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并且在减

压下浓缩。然后将残余物溶解于 CH_2Cl_2 (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺 (94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用 H_2O (100mL)、 HCl 3N (100mL)、 H_2O (100mL)、饱和 NaHCO_3 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并且在减压下浓缩以提供26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的2 (定量产量)。

[0252] (E+Z)-3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-24, 24-三甲基甲硅烷基氧基-甲氧基-5 β -胆-23-烯 (3)

[0253] 向在 N_2 气氛下且于 -40°C 冷却的在蒸馏THF (40mL) 中的二异丙胺 (11.7mL, 82.5mmol) 的搅拌溶液中, 逐滴添加在己烷 (32.0mL, 79.3mmol) 中的2.5M nBuLi。15分钟后, 将该溶液冷却低至 -78°C , 并逐滴添加三甲基氯硅烷 (12.7mL, 84.5mmol)。再过15分钟后, 在约20分钟内分批添加蒸馏的THF (20mL) 中的3 (6.0g, 10.30mmol) 的溶液, 保持内部温度不超过 -70°C 。一旦完成添加, 将该反应混合物在 -78°C 搅拌1小时, 并且然后在室温下升温。将挥发物在减压下去除, 并且将残余物悬浮于石油醚 (80mL) 中并在真空下过滤。将液体在减压下浓缩以给出10.12g油状残余物, 将残余物不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0254] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (R)-羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (4)

[0255] 在 N_2 气氛下, 向在蒸馏的 CH_2Cl_2 (50mL) 中的新鲜结晶的且无乙酸的四乙酸铅 (IV) (6.85g, 15.46mmol) 的悬浮液中逐滴添加在 CH_2Cl_2 (30mL) 中的3 (10.12g) 的溶液。30分钟后将反应混合物在真空下通过硅藻土垫进行过滤。将滤液在减压下进行浓缩, 并且将残余物通过硅胶垫 (h: 6cm, ϕ : 2 cm) 进行过滤, 用石油醚/AcOEt (8:2, v/v) 收集粗反应混合物。溶剂蒸发后, 将残余物 (6.50g) 溶解于MeOH (50mL) 中, 并用碳酸钾 (2.13g, 15.5mmol) 在室温下处理15分钟。然后将混合物用 CH_2Cl_2 (50mL) 稀释并在真空下过滤。将滤液用 CH_2Cl_2 (70mL) 进一步稀释并用盐水 (70mL) 洗涤。将水相用 CH_2Cl_2 (3x 40mL) 萃取, 并且将收集的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥, 并在减压下浓缩。通过中压液相色谱对残余物进行纯化, 并用由石油醚/AcOEt (65:35, v/v) 构成的等度洗脱来收集希望的化合物, 从而获得4, 产率为20%。

[0256] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200MHz) δ 0.69 (3H, s, 18- CH_3), 0.83-0.90 (6H, m, 19- CH_3 + CH_2CH_3), 1.01 (3H, d, $J=6.3\text{Hz}$, 21- CH_3), 3.24-3.35 (1H, m, 3-CH), 3.34 (6H, m, 2x OCH_2OCH_3), 3.42 (3H, s, OCH_2OCH_3), 3.48 (1H, s, 7-CH), 3.76 (3H, s, CO_2CH_3), 3.81 (1H, s, 12-CH), 4.20 (1H, dd, $J_1=1.9\text{Hz}$, $J_2=6.0\text{Hz}$ 23-CH), 4.56-4.74 (6H, m, 3x OCH_2OCH_3)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 50.3MHz) δ 11.8, 12.5, 17.2, 28.8, 23.0, 23.8, 24.9, 27.4, 27.6, 27.8, 30.3, 32.4, 35.5 (x 2), 40.7, 41.0, 41.9, 42.3, 45.8, 46.4, 46.5, 52.4, 54.9, 55.7, 55.9, 68.0, 77.4, 80.0, 81.0, 94.3, 95.9, 98.4, 176.5。

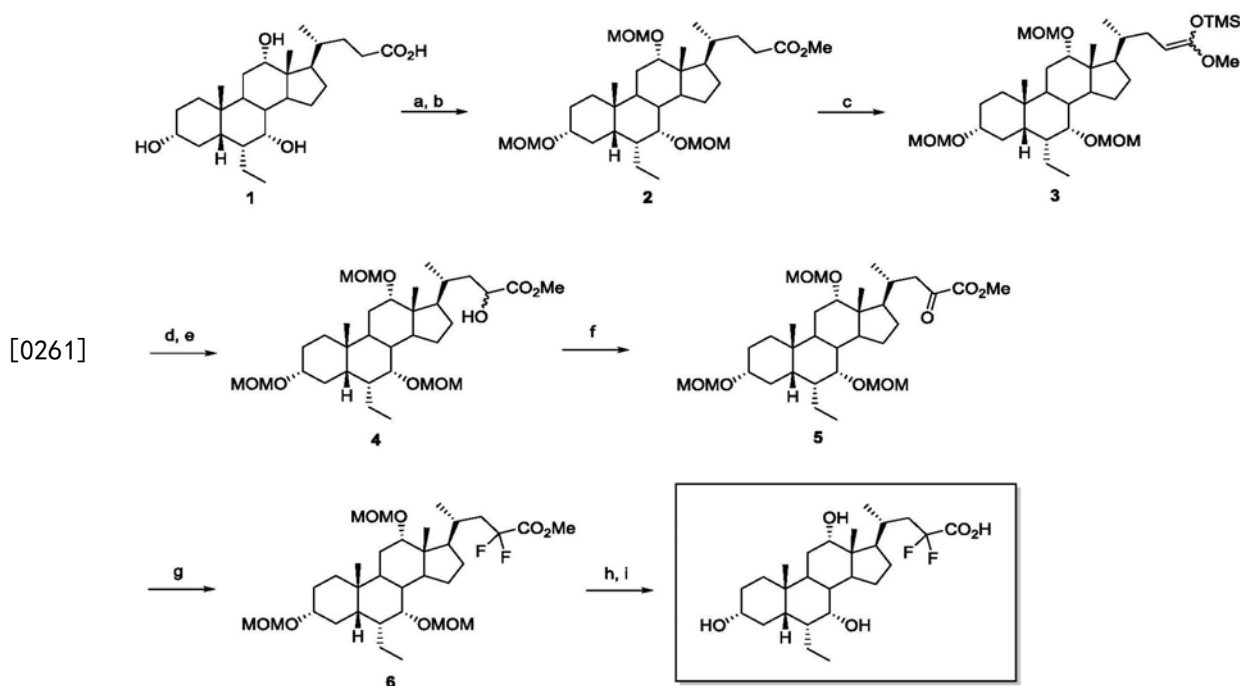
[0257] 3 α , 7 α , 12 α , 23 (R)-四羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸 (化合物2)

[0258] 向在MeOH (7mL) 中的4a或4b (0.10g, 0.17mmol) 的溶液添加 HCl 3N (0.60mL, 1.80mmol), 并且将混合物在 45°C 搅拌18小时。添加氢氧化钠 (0.10g, 2.50mmol), 并将混合物在 45°C 再搅拌5小时。将MeOH在减压下去除, 将残余物用多达10mL的 H_2O 进行稀释并用 Et_2O (2x 5mL) 洗涤。将水相用 HCl 3N酸化, 用 CH_2Cl_2 /MeOH (85:15, v/v) (5x 10mL) 萃取, 并在减压下浓缩。通过RP-18中压液相色谱, 通过使用 H_2O /MeOH (9:1 \rightarrow 1:1, v/v) 作为洗脱液对所得残余物进行纯化, 从而以71%的产率获得希望的化合物化合物2。

[0259] rf: 0.10 (TLC: 硅胶60RP-8F₂₅₄S; 洗脱液: H_2O /MeCN 60:40)。 $^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 400MHz) δ

0.66 (3H, s, 18-CH₃), 0.78-0.86 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 0.96 (3H, pss, 21-CH₃), 1.96-2.00 (1H, m, 22-CH₂), 3.30-3.37 (1H, m, 3-CH), 3.66 (1H, s, 7-CH), 3.95 (1H, m, 23-CH), 4.01 (1H, s, 12-CH)。¹³C-NMR (D₂O, 100.6MHz) δ11.2, 12.2, 16.1, 21.9, 22.6, 22.8, 26.8, 27.3, 27.9, 29.1, 32.4, 34.8, 35.2, 39.9, 40.8, 41.3, 41.7, 45.0, 46.3 (x 2), 47.3, 69.9, 70.4, 71.8, 73.0, 182.7。

[0260] 实例3:化合物3的合成



试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) LDA, TMSCl, THF, -78 °C; d) Pb(OAc)₄, CH₂Cl₂; e) K₂CO₃, MeOH; f) (COCl)₂, DMSO, Et₃N, CH₂Cl₂, -60 °C; g) DAST, CH₂Cl₂; h) HCl, MeOH, 45 °C; i) NaOH, MeOH, 45 °C。

[0262] 3α, 7α, 12α-三甲氧基甲基氧基-6α-乙基-5β-胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0263] 向3α, 7α, 12α-三羟基-6α-乙基-5β-胆烷-24-酸 (6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在 MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将 MeOH 在减压下去除, 并且将残余物溶解于 AcOEt (200mL) 中, 并用 NaHCO₃ 的饱和溶液 (200mL)、H₂O (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于 CH₂Cl₂ (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺 (94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用 H₂O (100mL)、HCl 3N (100mL)、H₂O (100mL)、饱和 NaHCO₃ (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩以提供 26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的 2 (定量产量)。

[0264] (E+Z)-3α, 7α, 12α-三甲氧基甲基氧基-6α-乙基-24, 24-三甲基甲硅烷基氧基-甲氧基-5β-胆-23-烯 (3)

[0265] 向在 N₂ 气氛下且于 -40 °C 冷却的在蒸馏 THF (40mL) 中的二异丙胺 (11.7mL, 82.5mmol) 的搅拌溶液中, 逐滴添加在己烷 (32.0mL, 79.3mmol) 中的 2.5M nBuLi。15 分钟后, 将该溶液冷却低至 -78 °C, 并逐滴添加三甲基氯硅烷 (12.7mL, 84.5mmol)。再过 15 分钟后, 在

约20分钟内分批添加蒸馏的THF (20mL) 中的3 (6.0g, 10.30mmol) 的溶液, 保持内部温度不超过-70℃。一旦完成添加, 将该反应混合物在-78℃搅拌1小时, 并且然后在室温下升温。将挥发物在减压下去除, 并且将残余物悬浮于石油醚 (80mL) 中并在真空下过滤。将液体在减压下浓缩以给出10.12g油状残余物, 将残余物不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0266] 23(R+S)-羟基-6 α -乙基-3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (4)

[0267] 在N₂气氛下, 向在蒸馏的CH₂Cl₂ (50mL) 中的新鲜结晶的且无乙酸的四乙酸铅 (IV) (6.85g, 15.46mmol) 的悬浮液中逐滴添加在CH₂Cl₂ (30mL) 中的3 (10.12g) 的溶液。30分钟后将反应混合物在真空下通过硅藻土垫进行过滤。将滤液在减压下进行浓缩, 并且将残余物通过硅胶垫 (h: 6cm, ϕ : 2 cm) 进行过滤, 用石油醚/AcOEt (8:2, v/v) 收集粗反应混合物。溶剂蒸发后, 将残余物 (6.50g) 溶解于MeOH (50mL) 中, 并用碳酸钾 (2.13g, 15.5mmol) 在室温下处理15分钟。然后将混合物用CH₂Cl₂ (50mL) 稀释并在真空下过滤。将滤液用CH₂Cl₂ (70mL) 进一步稀释并用盐水 (70mL) 洗涤。将水相用CH₂Cl₂ (3x 40mL) 萃取, 并且将收集的有机层经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱, 通过使用石油醚/AcOEt (9:1 \rightarrow 7:3, v/v) 作为洗脱液对残余物进行纯化, 以提供2.53g (4.26mmol, 41%) 的作为两种差向异构体的混合物的4。

[0268] 23-氧代-6 α -乙基-3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (5)

[0269] 向在N₂气氛下且于-60℃下冷却的在蒸馏CH₂Cl₂ (70mL) 中的草酰氯 (4.0mL, 46.7mmol) 的溶液中, 逐滴添加稀释于CH₂Cl₂ (10mL) 中的DMSO (6.60mL, 93.4mmol)。15分钟后, 逐滴添加在CH₂Cl₂ (70mL) 中的4 (11.2g, 18.7mmol) 的溶液, 并将所得混合物在-60℃下搅拌1小时。逐滴添加三乙胺 (26.2mL, 186.8mmol), 并且将混合物在室温下缓慢升温。将反应混合物用KOH 1M (100mL) 处理5分钟, 并且分离水相和有机相。然后用CH₂Cl₂ (2x 50mL) 对水相进行萃取。将收集的有机层经无水Na₂SO₄干燥, 并且在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱对残余物进行纯化, 使用石油醚/AcOEt (85:15, v/v) 的溶液得到纯的中间体5 (6.82g, 11.4mmol, 61%)。

[0270] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基--6 α -乙基-23, 23-偕二氟-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (6)

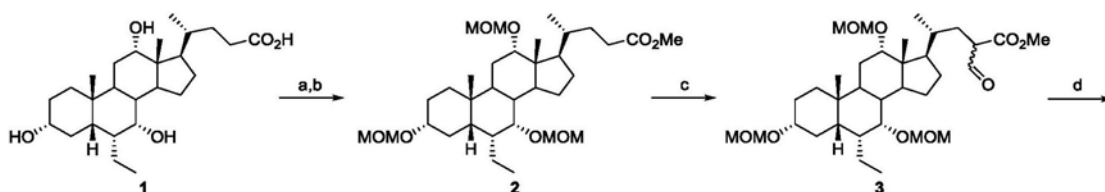
[0271] 在N₂气氛下, 向在蒸馏的CH₂Cl₂ (100mL) 中的5 (6.82g, 11.4mmol) 的溶液添加二乙基氨基三氟化硫 (15.1mL, 114.4mmol), 并将反应在室温下搅拌8小时。将混合物小心地倒入置于水冰浴中且在磁力搅拌下的NaHCO₃饱和溶液 (250mL) 中。一旦CO₂释放完成, 将两相分离, 并将有机相用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱 (用石油醚/AcOEt (9:1, v/v) 的溶液洗脱) 对残余物进行纯化以收集希望的化合物6 (5.17g, 8.4mmol, 73%)。

[0272] 3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-23, 23-偕二氟-5 β -胆烷-24-酸 (化合物3)

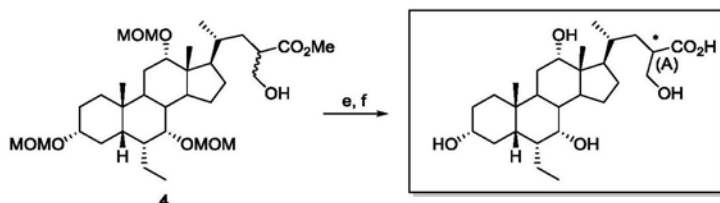
[0273] 向在MeOH (50mL) 中的6 (5.17g, 8.4mmol) 的溶液添加HCl 3N (25.1mL, 75.4mmol), 并且将混合物在45℃搅拌18小时。添加氢氧化钠 (5.0g, 125.6mmol), 并将混合物在45℃再反应5小时。然后将MeOH在减压下去除, 并将残余物用多达70mL的H₂O进行稀释并用Et₂O (2x 30mL) 洗涤。将水相用HCl 3N酸化, 并将所得的发白的悬浮液在真空下通过RP-18硅胶垫 (h: 4cm, ϕ : 2 cm) 过滤, 用H₂O (250mL) 洗涤并用H₂O/MeCN (1:1, v/v) 收集粗化合物。一旦溶剂在减压下得以去除, 通过RP-18中压液相色谱, 通过使用H₂O/MeCN作为洗脱液 (8:2 \rightarrow 6:4, v/v) 对残余物进行纯化, 以提供3.59g的纯化合物3 (91%)。

[0274] rf:0.65 (TLC:硅胶60RP-8F₂₅₄S;洗脱液:H₂O/MeCN 50:50)。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ0.61 (3H, s, 18-CH₃), 0.80-0.86 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 0.93 (3H, d, J=6.3Hz, 21-CH₃), 3.30-3.36 (1H, m, 3-CH), 3.48 (1H, s, 7-CH), 3.78 (1H, s, 12-CH), 3.78 (1H, s, OH), 3.97 (1H, s, OH), 4.17-4.21 (1H, bs, OH)。¹³C-NMR (DMSO-d₆, 100.6MHz) δ11.7, 12.1, 18.4, 22.18, 22.6, 22.9, 26.5, 27.4, 28.6, 30.2, 30.6, 30.8, 33.4, 34.8, 35.5, 41.2, 41.6, 45.4, 45.9, 46.4, 68.3, 70.6, 70.8, 117.2 (t, J_{C-F}=248.7Hz), 165.5 (t, J_{C-F}=31.9Hz)。¹⁹F-NMR (DMSO-d₆, 376.5MHz) δ-102.2 (2F, m)。MS-TIC (-) m/z: 471.3。

[0275] 实例4:化合物4的合成



[0276]



[0277] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) LDA, HCO₂Et, THF, -78°C; d) NaBH₄, THF, H₂O, 0°C; e) HCl, MeOH, 45°C; f) NaOH, MeOH, 45°C。

[0278] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0279] 向3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸 (6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在 MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将 MeOH 在减压下去除, 并且将残余物溶解于 AcOEt (200mL) 中, 并用 NaHCO₃ 的饱和溶液 (200mL)、H₂O (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于 CH₂Cl₂ (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺 (94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用 H₂O (100mL)、HCl 3N (100mL)、H₂O (100mL)、饱和 NaHCO₃ (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩以提供 26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的 2 (定量产量)。

[0280] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (A+B)-羟甲基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (4)

[0281] 在 -78°C 下, 向在无水 THF (25mL) 中的二异丙胺 (0.87g, 8.59mmol) 的溶液中逐滴添加在己烷 (3.1mL, 7.73mmol) 中的 2.5M nBuLi。15 分钟后, 逐滴添加在无水 THF (10mL) 中的化合物 2 的溶液 (0.50g, 0.86mmol), 并将混合物在 -78°C 反应 15 分钟。然后添加甲酸乙酯 (1.27g, 17.18mmol) 并反应 1 小时, 之后使反应加热至室温。将反应混合物倒入 H₂O (50mL) 中并用 EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (100mL) 洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下蒸发。将由此获得的中间体 3 溶解于 MeOH (20mL) 中并在 0°C 下用 NaBH₄ 处理 30 分钟。将反应应用 H₂O (50mL) 淬灭并用 CH₂Cl₂ (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层用 H₂O (100mL)、盐水

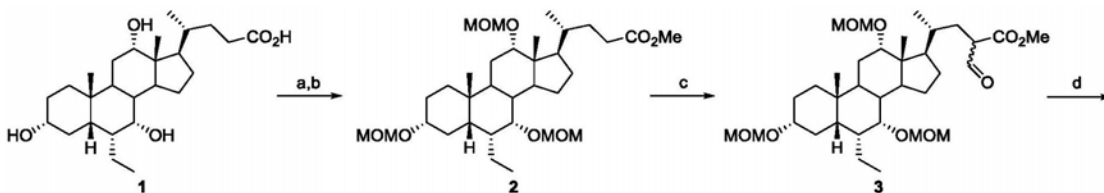
(100mL) 洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下蒸发。通过硅胶快速色谱(用2%至7% (v/v) 的于 CHCl_3 中的异丙醇洗脱) 对粗品进行纯化, 获得0.29g的作为差向异构体混合物的化合物4 (0.48mmol, 56%)。

[0282] 3 α , 7 α , 1 α , 2-三羟基-6 α -乙基-23(A)-羟甲基-5 β -胆烷-24-酸(化合物4)

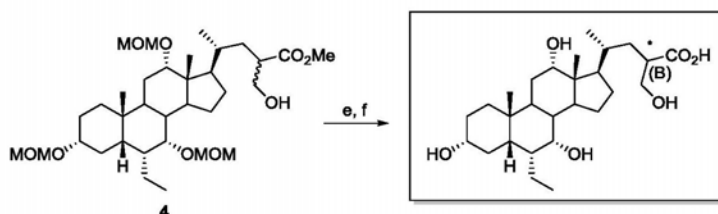
[0283] 向在MeOH(15mL)中的化合物4(0.29g, 0.48mmol)的溶液添加HCl 3N(5mL), 并且将所得混合物在50 $^\circ\text{C}$ 搅拌48小时。使混合物在室温下冷却, 并在45 $^\circ\text{C}$ 用高达pH 14的NaOH(在MeOH中为5%)处理24小时。将溶剂在减压下蒸发, 将粗品悬浮于 H_2O (30mL)中, 并用 Et_2O (2x 10mL)萃取。将水相用HCl 3N酸化, 并通过过滤收集沉淀。使用 $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 的溶液(从10%至40%的MeOH)通过中压液相色谱对粗化合物进行纯化。差向异构体化合物4是以29%的产率获得(0.065g, 0.14mmol)。

[0284] rf: 0.39 (TLC: 硅胶60RP-8F₂₅₄S; 洗脱液: $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 20:80)。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400MHz) δ : 0.71 (3H, s, 18- CH_3), 0.89-0.92 (6H, m, 19- CH_3 + CH_2CH_3), 1.06 (3H, d, $J=5.7\text{Hz}$, 21- CH_3), 2.55-2.62 (1H, bs, 23-CH), 3.29-3.34 (1H, m, 3-CH), 3.55-3.64 (1H, s, 7-CH), 3.64-3.67 (2H, bs, CH_2OH), 3.97 (1H, s, 12-CH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100.6MHz) δ : 12.6, 13.8, 18.6, 24.0 (x2), 24.8, 28.8, 29.4, 30.2, 31.6, 34.9, 36.3, 36.8, 37.6, 37.8, 42.3, 43.7 (x2), 47.4, 48.2, 66.6, 71.7, 73.7, 74.6, 176.3。

[0285] 实例5: 化合物5的合成



[0286]



[0287] 试剂与条件: a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH_2Cl_2 , 回流; c) LDA, HCO_2Et , THF, -78°C ; d) NaBH_4 , THF, H_2O , 0°C ; e) HCl, MeOH, 45°C ; f) NaOH, MeOH, 45°C 。

[0288] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(2)

[0289] 向3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸(6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在MeOH(150mL)中的溶液中添加对甲苯磺酸(0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将MeOH在减压下去除, 并且将残余物溶解于AcOEt(200mL)中, 并用 NaHCO_3 的饱和溶液(200mL)、 H_2O (200mL)和盐水(200mL)洗涤。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于 CH_2Cl_2 (180mL)中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺(94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶(0.56g, 4.6mmol)和甲氧基甲基氯化物(31.2mL, 412.8mmol)处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用 H_2O (100mL)、HCl 3N(100mL)、 H_2O (100mL)、饱和 NaHCO_3 (100mL)和盐水(100mL)洗涤。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并且在减压下浓缩以提供26.61g(45.65mmol)呈淡黄色油状物的2(定量产量)。

[0290] 3 α ,7 α ,12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23(A+B)-羟甲基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(4)

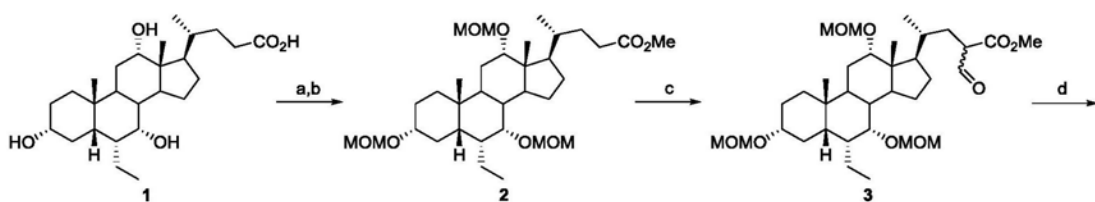
[0291] 在-78 $^{\circ}$ C下,向在无水THF(25mL)中的二异丙胺(0.87g,8.59mmol)的溶液中逐滴添加在己烷(3.1mL,7.73mmol)中的2.5M nBuLi。15分钟后,逐滴添加在无水THF(10mL)中的化合物2的溶液(0.50g,0.86mmol),并将混合物在-78 $^{\circ}$ C反应15分钟。然后添加甲酸乙酯(1.27g,17.18mmol)并反应1小时,之后使反应加热至室温。将反应混合物倒入H₂O(50mL)中并用EtOAc(3x 50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将由此获得的中间体3溶解于MeOH(20mL)中并在0 $^{\circ}$ C下用NaBH₄处理30分钟。将反应用H₂O(50mL)淬灭并用CH₂Cl₂(3x 50mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。通过硅胶快速色谱(用2%至7%(v/v)的于CHCl₃中的异丙醇洗脱)对粗品进行纯化,获得0.29g的作为差向异构体混合物的化合物4(0.48mmol,56%)。

[0292] 3 α ,7 α ,12 α -三羟基-6 α -乙基-23(B)-羟甲基-5 β -胆烷-24-酸(化合物5)

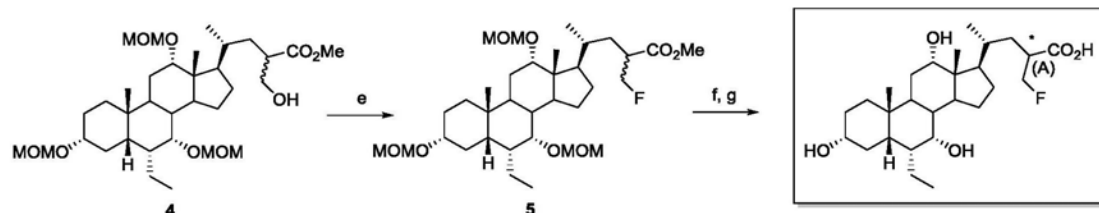
[0293] 向在MeOH(15mL)中的化合物4(0.29g,0.48mmol)的溶液添加HCl 3N(5mL),并且将所得混合物在50 $^{\circ}$ C搅拌48小时。使混合物在室温下冷却,并在45 $^{\circ}$ C用高达pH 14的NaOH(在MeOH中为5%)处理24小时。将溶剂在减压下蒸发,将粗品悬浮于H₂O(30mL)中,并用Et₂O(2x 10mL)萃取。将水相用HCl 3N酸化,并通过过滤收集沉淀。使用H₂O/MeOH的溶液(从10%至40%的MeOH)通过中压液相色谱对粗化合物进行纯化。差向异构体化合物5是以40%的产率获得(0.09g,0.19mmol)。

[0294] rf:0.36(TLC:硅胶60RP-8F₂₅₄S;洗脱液:H₂O/MeCN 20:80)。¹H-NMR(CD₃OD,400MHz) δ :0.72(3H,s,18-CH₃),0.89-0.92(6H,m,19-CH₃+CH₂CH₃),1.065(3H,d,J=6.0Hz,21-CH₃),2.39-2.46(1H,bs,23-CH),3.28-3.33(1H,m,3-CH),3.61(2H,m,CH₂OH),3.66(1H,s,7-CH),3.98(1H,s,12-CH)。¹³C-NMR(CD₃OD,100.6MHz) δ :12.0,13.0,18.0,23.5(x 2),24.2,28.2,29.0,29.6,30.7,31.1,34.4,35.8,36.3,36.7,37.0,41.8,43.1(x 2),47.0,47.7,64.4,71.2,73.2,74.1,184.5。

[0295] 实例6:化合物6的合成



[0296]



[0297] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) LDA, HCO₂Et, THF, -78 $^{\circ}$ C; d) NaBH₄, THF, H₂O, 0 $^{\circ}$ C; e) DAST, CH₂Cl₂; f) HCl, MeOH, 45 $^{\circ}$ C; g) NaOH, MeOH, 45 $^{\circ}$ C。

[0298] 3 α ,7 α ,12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(2)

[0299] 向3 α ,7 α ,12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸(6-ECA,1) (20.0g,45.9mmol) 在MeOH(150mL)中的溶液中添加对甲苯磺酸(0.44g,2.29mmol),并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将MeOH在减压下去除,并且将残余物溶解于AcOEt(200mL)中,并用NaHCO₃的饱和溶液(200mL)、H₂O(200mL)和盐水(200mL)洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于CH₂Cl₂(180mL)中,并且将所得溶液用二异丙基乙胺(94mL,550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶(0.56g,4.6mmol)和甲氧基甲基氯化物(31.2mL,412.8mmol)处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用H₂O(100mL)、HCl 3N(100mL)、H₂O(100mL)、饱和NaHCO₃(100mL)和盐水(100mL)洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩以提供26.61g(45.65mmol)呈淡黄色油状物的2(定量产量)。

[0300] 3 α ,7 α ,12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23(A+B)-羟甲基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(4)

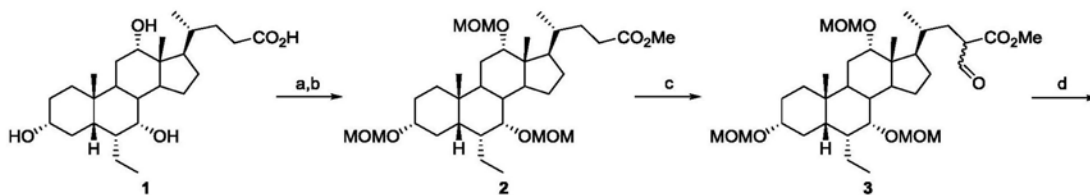
[0301] 在-78 $^{\circ}$ C下,向在无水THF(25mL)中的二异丙胺(0.87g,8.59mmol)的溶液中逐滴添加在己烷(3.1mL,7.73mmol)中的2.5M nBuLi。15分钟后,逐滴添加在无水THF(10mL)中的化合物2的溶液(0.50g,0.86mmol),并将混合物在-78 $^{\circ}$ C反应15分钟。然后添加甲酸乙酯(1.27g,17.18mmol)并反应1小时,之后使反应加热至室温。将反应混合物倒入H₂O(50ml)中并用EtOAc(3x 50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将由此获得的中间体3溶解于MeOH(20mL)中并在0 $^{\circ}$ C下用NaBH₄处理30分钟。将反应用H₂O(50mL)淬灭并用CH₂Cl₂(3x 50mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。通过硅胶快速色谱对粗品进行纯化(用2%至7%(v/v)的于CHCl₃中的异丙醇洗脱),获得0.29g的作为差向异构体混合物的化合物4(0.48mmol,56%)。

[0302] 3 α ,7 α ,12 α -三羟基-6 α -乙基-23(A)-氟甲基-氟甲基-5 β -胆烷-24-酸(化合物6)

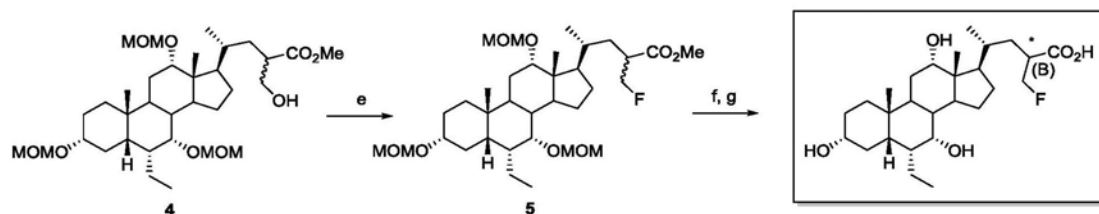
[0303] 向化合物4(0.09g,0.16mmol)在无水CH₂Cl₂(3mL)中的溶液中添加DAST(0.04g,0.23mmol)在无水CH₂Cl₂(2mL)中的溶液。使混合物在-78 $^{\circ}$ C下反应2小时,并且随后倒入NaHCO₃的饱和溶液(10mL)中,并用CH₂Cl₂(2x 15mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(10mL)、盐水(10mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。然后将中间体5溶解于MeOH(10mL)中,并在室温下用37% HCl(0.3mL)处理12小时。将溶剂在减压下蒸发。将残余物悬浮于H₂O(10mL)中并用CH₂Cl₂(2x 10mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(10mL)、盐水(10mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将粗品溶解于2mL NaOH(3%,在THF中),并在室温下反应4小时。将溶剂在减压下蒸发,悬浮于H₂O(10mL)中并用CH₂Cl₂(2x 10mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(10mL)、盐水(10mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将粗品通过硅胶快速色谱(用MeOH/CHCl₃(98:2 \rightarrow 9:1,v/v+0.1% AcOH)溶液洗脱)纯化,获得12mg纯化合物6(0.026mmol,16%)。

[0304] rf:0.29(TLC:硅胶60RP-8F₂₅₄S;洗脱液:H₂O/MeOH 20:80)。¹H-NMR(CD₃OD,400MHz) δ 0.73(3H,s,18-CH₃),0.91-0.97(6H,m,19-CH₃+CH₂CH₃),1.05(1H,d,J=6.0,21-CH₃),2.10-2.19(2H,m,22-CH₂),2.51-2.54(1H,m,23-CH),3.41-3.45(1H m,3-CH),3.53-3.57(2H,m,CH₂F),3.66(1H,s,7-CH),3.97(1H,s,7-CH)。¹³C-NMR(CD₃OD,100.6MHz) δ 12.0,13.0,18.1,23.4,24.0,28.2,29.1,29.7,30.7(x 2),31.0,34.4,36.0,36.3,36.7,37.3,41.7,43.1(x 2),46.9,47.6,58.9,71.1,73.2,74.0,78.4(J_{C-F}=392.3Hz),181.5。

[0305] 实例7:化合物7的合成



[0306]



[0307] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) LDA, HCO₂Et, THF, -78°C; d) NaBH₄, THF, H₂O, 0°C; e) DAST, CH₂Cl₂; f) HCl, MeOH, 45°C; g) NaOH, MeOH, 45°C。

[0308] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(2)

[0309] 向3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸(6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在 MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸(0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将MeOH在减压下去除, 并且将残余物溶解于AcOEt (200mL) 中, 并用NaHCO₃的饱和溶液(200mL)、H₂O (200mL) 和盐水(200mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于CH₂Cl₂ (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺(94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶(0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物(31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用H₂O (100mL)、HCl 3N (100mL)、H₂O (100mL)、饱和NaHCO₃ (100mL) 和盐水(100mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩以提供26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的2(定量产量)。

[0310] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23(A+B)-羟甲基-5 β -胆烷-24-酸甲酯(4)

[0311] 在-78°C下, 向在无水THF (25mL) 中的二异丙胺(0.87g, 8.59mmol) 的溶液中逐滴添加在己烷(3.1mL, 7.73mmol) 中的2.5M nBuLi。15分钟后, 逐滴添加在无水THF (10mL) 中的化合物2的溶液(0.50g, 0.86mmol), 并将混合物在-78°C反应15分钟。然后添加甲酸乙酯(1.27g, 17.18mmol) 并反应1小时, 之后使反应加热至室温。将反应混合物倒入H₂O (50mL) 中并用EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层用盐水(100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将由此获得的中间体3溶解于MeOH (20mL) 中并在0°C下用NaBH₄处理30分钟。将反应用H₂O (50mL) 淬灭并用CH₂Cl₂ (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水(100mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。通过硅胶快速色谱对粗品进行纯化(用2%至7% (v/v) 的于CHCl₃中的异丙醇洗脱), 获得0.29g的作为差向异构体混合物的化合物4(0.48mmol, 56%)。

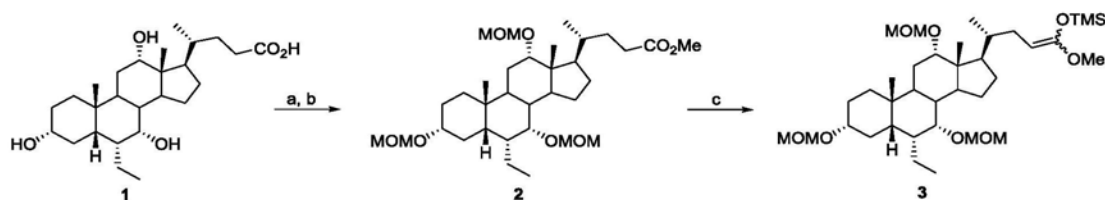
[0312] 3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-23(A)-氟甲基-氟甲基-5 β -胆烷-24-酸(化合物7)

[0313] 向化合物4(0.09g, 0.16mmol) 在无水CH₂Cl₂ (3mL) 中的溶液中添加DAST(0.04g, 0.23mmol) 在无水CH₂Cl₂ (2mL) 中的溶液。使混合物在-78°C下反应2小时, 并且随后倒入NaHCO₃的饱和溶液(10mL) 中, 并用CH₂Cl₂ (2x 15mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (10mL)、盐

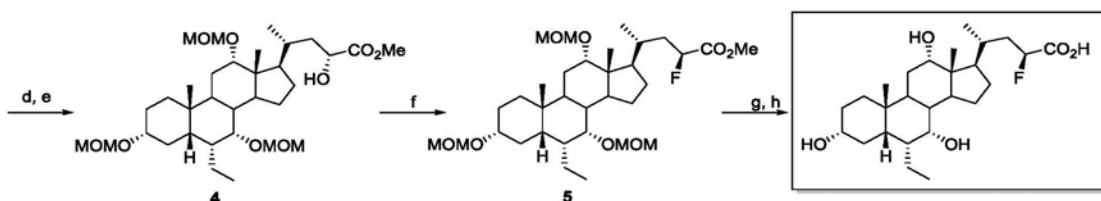
水 (10mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下蒸发。然后将中间体5溶解于 MeOH (10mL) 中, 并在室温下用37% HCl (0.3mL) 处理12小时。将溶剂在减压下蒸发。将残余物悬浮于 H_2O (10mL) 中并用 CH_2Cl_2 (2x 10mL) 萃取。将合并的有机层用 H_2O (10mL)、盐水 (10mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下蒸发。将粗品溶解于2mL NaOH (3%, 在 THF 中), 并在室温下反应4小时。将溶剂在减压下蒸发, 悬浮于 H_2O (10mL) 中并用 CH_2Cl_2 (2x 10mL) 萃取。将合并的有机层用 H_2O (10mL)、盐水 (10mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下蒸发。将粗品通过硅胶快速色谱 (用 $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (98:2 \rightarrow 9:1, v/v+0.1% AcOH) 溶液洗脱) 纯化, 获得16mg纯化化合物7 (0.034mmol, 21%)。

[0314] rf:0.27 (TLC:硅胶60RP-8F₂₅₄S;洗脱液: $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 20:80)。¹H-NMR (CD_3OD , 400MHz) δ 0.72 (3H, s, 18- CH_3), 0.90-0.96 (6H, m, 19- CH_3 + CH_2CH_3), 1.06 (1H, d, J=6.3Hz, 21- CH_3), 2.17-2.22 (1H, m, 22- CH_2), 2.54-2.58 (1H, m, 23-CH), 3.28-3.33 (1H m, 3-CH), 3.38-3.58 (2H, m, CH_2F), 3.66 (1H, s, 7-CH), 3.97 (1H, s, 7-CH)。¹³C-NMR (CD_3OD , 100.6MHz) δ 12.0, 13.0, 18.1, 23.5, 24.2, 28.2, 29.1, 29.7, 30.8, 31.0, 34.4, 36.0, 36.3, 36.7, 37.3, 41.7, 43.1, 46.9, 47.4, 47.6, 58.9, 71.1, 73.2, 74.0, 75.3 ($J_{\text{C-F}}=452.7\text{Hz}$), 181.5。

[0315] 实例8:化合物8的合成



[0316]



[0317] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH , us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH_2Cl_2 , 回流; c) LDA, TMSCl, THF , -78°C ; d) $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, CH_2Cl_2 ; e) K_2CO_3 , MeOH ; f) DAST, CH_2Cl_2 ; g) HCl , MeOH , 45°C ; h) NaOH , MeOH , 45°C 。

[0318] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0319] 向3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸 (6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在 MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将 MeOH 在减压下去除, 并且将残余物溶解于 AcOEt (200mL) 中, 并用 NaHCO_3 的饱和溶液 (200mL)、 H_2O (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于 CH_2Cl_2 (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺 (94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用 H_2O (100mL)、 HCl 3N (100mL)、 H_2O (100mL)、饱和 NaHCO_3 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并且在减压下浓缩以提供26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的2 (定量产量)。

[0320] (E+Z)-3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-24, 24-三甲基甲硅烷基氧基-甲氧基-5 β -胆-23-烯 (3)

[0321] 向在N₂气氛下且于-40℃冷却的在蒸馏THF (40mL) 中的二异丙胺 (11.7mL, 82.5mmol) 的搅拌溶液中, 逐滴添加在己烷 (32.0mL, 79.3mmol) 中的2.5M nBuLi。15分钟后, 将该溶液冷却低至-78℃, 并逐滴添加三甲基氯硅烷 (12.7mL, 84.5mmol)。再过15分钟后, 在约20分钟内分批添加蒸馏的THF (20mL) 中的3 (6.0g, 10.30mmol) 的溶液, 保持内部温度不超过-70℃。一旦完成添加, 将该反应混合物在-78℃搅拌1小时, 并且然后于室温加热。将挥发物在减压下去除, 并且将残余物悬浮于石油醚 (80mL) 中并在真空下过滤。将液体在减压下浓缩以给出10.12g油状残余物, 将残余物不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0322] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (R)-羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (4)

[0323] 在N₂气氛下, 向在蒸馏的CH₂Cl₂ (50mL) 中的新鲜结晶的且无乙酸的四乙酸铅 (IV) (6.85g, 15.46mmol) 的悬浮液中逐滴添加在CH₂Cl₂ (30mL) 中的3 (10.12g) 的溶液。30分钟后将反应混合物在真空下通过硅藻土垫进行过滤。将滤液在减压下进行浓缩, 并且将残余物通过硅胶垫 (h: 6cm, ϕ : 2 cm) 进行过滤, 用石油醚/AcOEt (8:2, v/v) 收集粗反应混合物。溶剂蒸发后, 将残余物 (6.50g) 溶解于MeOH (50mL) 中, 并用碳酸钾 (2.13g, 15.5mmol) 在室温下处理15分钟。然后将混合物用CH₂Cl₂ (50mL) 稀释并在真空下过滤。将滤液用CH₂Cl₂ (70mL) 进一步稀释并用盐水 (70mL) 洗涤。将水相用CH₂Cl₂ (3x 40mL) 萃取, 并且将收集的有机层经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。通过中压液相色谱并用由石油醚/AcOEt (65:35, v/v) 构成的等度洗脱来收集希望的化合物来对残余物进行纯化, 从而获得4, 产率为20%。

[0324] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (S)-氟-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (5)

[0325] 在N₂气氛下, 向在蒸馏的CH₂Cl₂ (40mL) 中的4 (0.92g, 1.53mmol) 的溶液添加二乙基氨基三氟化硫 (1.0mL, 7.7mmol), 并将反应在室温下搅拌10分钟。在磁力搅拌下, 将混合物小心地倒入NaHCO₃的饱和溶液 (30mL) 中并置于水-冰浴中。一旦CO₂释放完成, 将两相分离, 并将有机相用H₂O (20mL)、盐水 (20mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱, 通过使用石油醚/AcOEt (85:15, v/v) 对残余物进行纯化, 以几乎定量的产率给出希望的化合物5。

[0326] ¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz) δ 0.70 (3H, s, 18-CH₃), 0.87-0.92 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.07 (3H, d, J=5.7Hz, 21-CH₃), 3.30-3.37 (1H, m, 3-CH), 3.35 (3H, s, OCH₂OCH₃), 3.36 (3H, s, OCH₂OCH₃), 3.43 (3H, s, OCH₂OCH₃), 3.49 (1H, s, 7-CH), 3.79 (3H, s, CO₂CH₃), 3.81 (1H, s, 12-CH), 4.59-4.74 (6H, m, 3x OCH₂OCH₃), 5.01 (1H, dd, J₁=10.1Hz, J₂=52.0Hz, 23-CHF)。

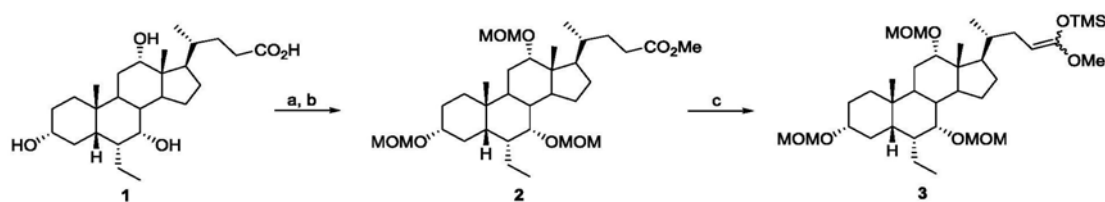
[0327] 3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-23 (S)-氟-5 β -胆烷-24-酸酯 (化合物8)

[0328] 向5 (0.92g, 1.53mmol) 在MeOH (20mL) 中的溶液中添加HCl 3N (4.6mL, 13.8mmol), 并将混合物在45℃下搅拌18小时。添加氢氧化钠 (0.90g, 22.95mmol), 并将混合物在45℃再搅拌5小时。将MeOH在减压下去除, 并将残余物用多达30mL的H₂O进行稀释并用Et₂O (2x 15mL) 洗涤。将水相用HCl 3N酸化, 用CH₂Cl₂/MeOH (85:15, v/v) (5x 30mL) 萃取, 并在减压下浓缩。通过RP-18中压液相色谱, 通过使用H₂O/MeOH (6:4→3:7) 作为洗脱液对残余物进行纯化, 从而以87%的产率获得希望的化合物8。

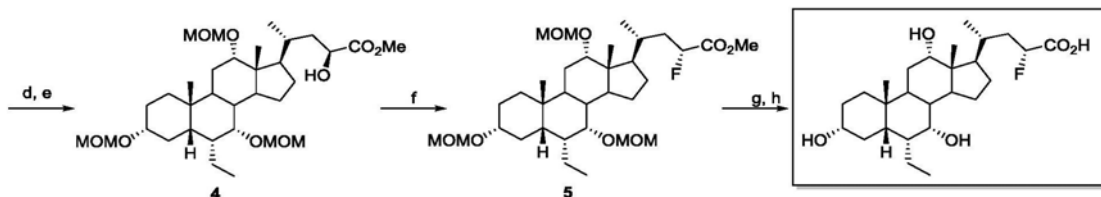
[0329] rf: 0.44 (TLC: 硅胶60RP-8F₂₅₄S; 洗脱液: H₂O/MeCN 50:50)。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ : 0.74 (3H, s, 18-CH₃), 0.89-0.92 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.13 (3H, d, J=6.3Hz, 21-CH₃), 2.17-2.23 (1H, m, 22-CH₂), 3.34-3.34 (1H, m, 3-CH), 3.67 (1H, s, 7-CH), 3.97 (1H, s, 12-CH), 4.99 (1H, psd, J_{(H-F)}}=48Hz, 23-CHF)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100.6MHz) δ 12.9, 13.8, 19.7, 24.3 (x

2), 25.0, 29.1, 29.7, 31.9, 35.3, 36.2, 37.2 (x 2), 37.6, 41.2 (d, $J_{C-F}=19.8\text{Hz}$) 42.6, 44.0 (x 2), 47.8, 48.5, 72.0, 74.1, 74.9, 91.7 (d, $J_{C-F}=180.4\text{Hz}$), 176.7 (d, $J_{C-F}=22.0\text{Hz}$)。 ^{19}F -NMR (DMSO- d_6 , 376.5MHz) δ -184.7 (1F, m)。

[0330] 实例9:化合物9的合成



[0331]



[0332] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH_2Cl_2 , 回流; c) LDA, TMSCl, THF, -78°C ; d) $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, CH_2Cl_2 ; e) K_2CO_3 , MeOH; f) DAST, CH_2Cl_2 ; g) HCl, MeOH, 45°C ; h) NaOH, MeOH, 45°C 。

[0333] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0334] 向3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸 (6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在 MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将 MeOH 在减压下去除, 并且将残余物溶解于 AcOEt (200mL) 中, 并用 NaHCO_3 的饱和溶液 (200mL)、 H_2O (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于 CH_2Cl_2 (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺 (94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用 H_2O (100mL)、HCl 3N (100mL)、 H_2O (100mL)、饱和 NaHCO_3 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并且在减压下浓缩以提供 26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的 2 (定量产量)。

[0335] (E+Z)-3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-24, 24-三甲基甲硅烷基氧基-甲氧基-5 β -胆-23-烯 (3)

[0336] 向在 N_2 气氛下且于 -40°C 冷却的在蒸馏 THF (40mL) 中的二异丙胺 (11.7mL, 82.5mmol) 的搅拌溶液中, 逐滴添加在己烷 (32.0mL, 79.3mmol) 中的 2.5M nBuLi。15分钟后, 将该溶液冷却低至 -78°C , 并逐滴添加三甲基氯硅烷 (12.7mL, 84.5mmol)。再过15分钟后, 在约20分钟内分批添加蒸馏的 THF (20mL) 中的 3 (6.0g, 10.30mmol) 的溶液, 保持内部温度不超过 -70°C 。一旦完成添加, 将该反应混合物在 -78°C 搅拌1小时, 并且然后于室温加热。将挥发物在减压下去除, 并且将残余物悬浮于石油醚 (80mL) 中并在真空下过滤。将液体在减压下浓缩以给出 10.12g 油状残余物, 将残余物不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0337] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23(S)-羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (4)

[0338] 在 N_2 气氛下, 向在蒸馏的 CH_2Cl_2 (50mL) 中的新鲜结晶的且无乙酸的四乙酸铅 (IV) (6.85g, 15.46mmol) 的悬浮液中逐滴添加在 CH_2Cl_2 (30mL) 中的 3 (10.12g) 的溶液。30分钟后将反应混合物在真空下通过硅藻土垫进行过滤。将滤液在减压下进行浓缩, 并且将残余物

通过硅胶垫 (h:6cm, ϕ : 2 cm) 进行过滤, 用石油醚/AcOEt (8:2, v/v) 收集粗反应混合物。溶剂蒸发后, 将残余物 (6.50g) 溶解于 MeOH (50mL) 中, 并用碳酸钾 (2.13g, 15.5mmol) 在室温下处理 15 分钟。然后将混合物用 CH₂Cl₂ (50mL) 稀释并在真空下过滤。将滤液用 CH₂Cl₂ (70mL) 进一步稀释并用盐水 (70mL) 洗涤。将水相用 CH₂Cl₂ (3x 40mL) 萃取, 并且将收集的有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥, 并在减压下浓缩。通过中压液相色谱对残余物进行纯化, 并用由石油醚/AcOEt (65:35, v/v) 构成的等度洗脱来收集希望的化合物, 产率为 19%。

[0339] ¹H-NMR (CDCl₃, 200MHz) δ 0.65 (3H, s, 18-CH₃), 0.81-0.88 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 0.99 (3H, d, J=6.4Hz, 21-CH₃), 3.32-3.36 (1H, m, 3-CH), 3.33 (6H, m, 2x OCH₂OCH₃), 3.39 (3H, s, OCH₂OCH₃), 3.46 (1H, s, 7-CH), 3.74 (3H, s, CO₂CH₃), 3.76 (1H, s, 12-CH), 4.18 (1H, t, J=6.6Hz, 23-CH), 4.51-4.72 (6H, m, 3x OCH₂OCH₃)。 ¹³C-NMR (CDCl₃, 50.3MHz) δ 11.7, 12.4, 18.7, 22.8, 23.0, 23.8, 24.9, 27.3, 27.6, 27.9, 30.3, 33.5, 35.5 (x 2), 40.7, 41.2, 41.8, 42.2, 45.8, 46.3, 46.7, 52.2, 54.9, 55.7, 55.9, 69.9, 77.4, 79.9, 80.0, 94.3, 95.8, 98.4, 176.0。

[0340] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23(R)-氟-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (5)

[0341] 在 N₂ 气氛下, 向在蒸馏的 CH₂Cl₂ (40mL) 中的 4 (0.92g, 1.53mmol) 的溶液添加二乙氨基三氟化硫 (1.0mL, 7.7mmol), 并将反应在室温下搅拌 10 分钟。在磁力搅拌下, 将混合物小心地倒入 NaHCO₃ 的饱和溶液 (30mL) 中并置于水-冰浴中。一旦 CO₂ 释放完成, 将两相分离, 并将有机相用 H₂O (20mL)、盐水 (20mL) 洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱, 通过使用石油醚/AcOEt (85:15, v/v) 对残余物进行纯化, 以几乎定量的产率给出希望的化合物 5。

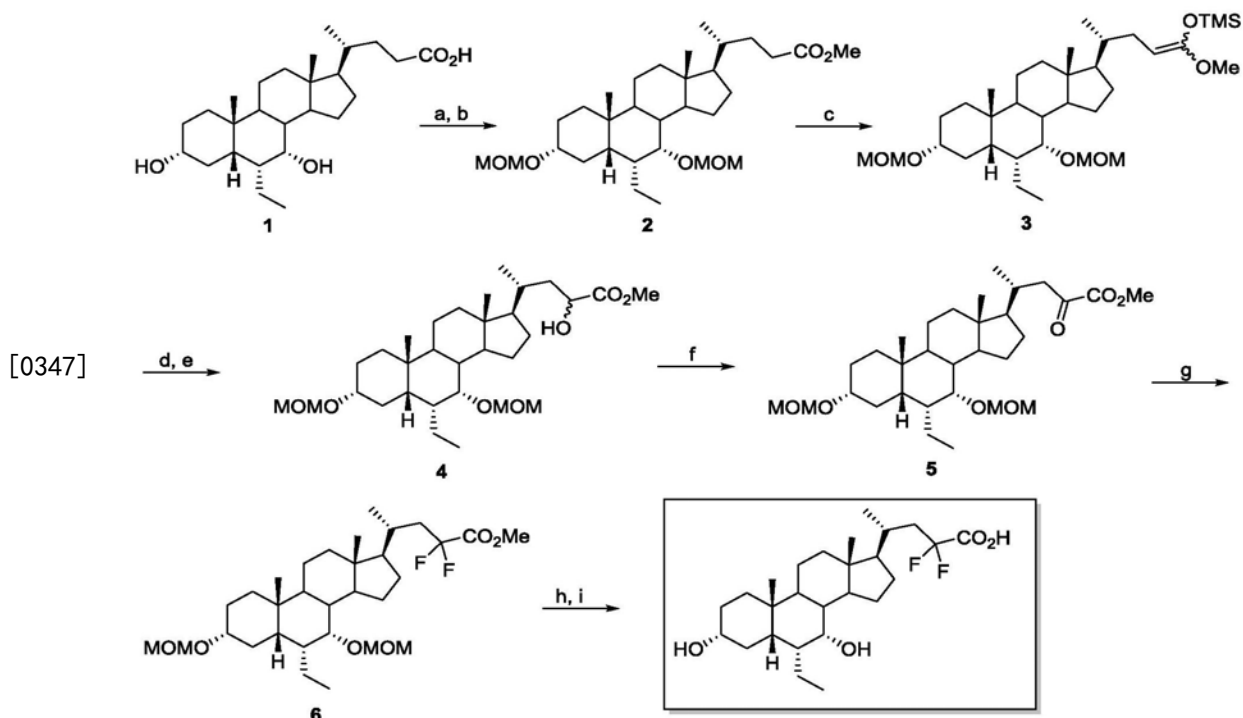
[0342] ¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz) δ 0.69 (3H, s, 18-CH₃), 0.87-0.91 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.05 (3H, d, J=5.7Hz, 21-CH₃), 3.30-3.37 (1H, m, 3-CH), 3.35 (3H, s, OCH₂OCH₃), 3.37 (3H, s, OCH₂OCH₃), 3.43 (3H, s, OCH₂OCH₃), 3.49 (1H, s, 7-CH), 3.76 (1H, s, 12-CH), 3.79 (3H, s, CO₂CH₃), 4.59-4.75 (6H, m, 3x OCH₂OCH₃), 4.97 (1H, dt, J₁=4.9Hz, J₂=48.0Hz, 23-CHF)。

[0343] 3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-23(R)-氟-5 β -胆烷-24-酸酯 (化合物 9)

[0344] 向 5 (0.92g, 1.53mmol) 在 MeOH (20mL) 中的溶液中添加 HCl 3N (4.6mL, 13.8mmol), 并将混合物在 45°C 下搅拌 18 小时。添加氢氧化钠 (0.90g, 22.95mmol), 并将混合物在 45°C 再搅拌 5 小时。将 MeOH 在减压下去除, 并将残余物用多达 30mL 的 H₂O 进行稀释并用 Et₂O (2x 15mL) 洗涤。将水相用 HCl 3N 酸化, 用 CH₂Cl₂/MeOH (85:15, v/v) (5x 30mL) 萃取, 并在减压下浓缩。通过 RP-18 中压液相色谱, 通过使用 H₂O/MeOH (6:4 \rightarrow 3:7) 作为洗脱液对残余物进行纯化, 从而以 82% 的产率获得希望的化合物 9。

[0345] rf: 0.42 (TLC: 硅胶 60RP-8F₂₅₄S; 洗脱液: H₂O/MeCN 50:50)。 ¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ : 0.74 (3H, s, 18-CH₃), 0.89-0.91 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.11 (3H, d, J=5.0Hz, 21-CH₃), 2.17-2.21 (1H, m, 22-CH₂), 3.31-3.35 (1H, m, 3-CH), 3.66 (1H, s, 7-CH), 3.98 (1H, s, 12-CH), 5.01 (1H, dd, J_{1(H-F)}}=10.0Hz, J_{2(H-F)}}=51.3Hz, 23-CHF)。 ¹³C-NMR (CD₃OD, 100.6MHz) δ : 12.94, 13.87, 18.40, 24.40 (x2), 25.04, 29.17, 29.69, 30.63, 31.95, 34.63, 35.29, 37.20 (x2), 37.58, 40.90 (d, J_{C-F}}=20.5Hz), 42.62, 44.02, 44.10, 47.85, 48.55, 72.00, 74.07, 74.86, 89.01 (d, J_{C-F}}=180.4Hz), 175.43 (d, J_{C-F}}=24.1Hz)。 ¹⁹F-NMR (DMSO-d₆, 376.5MHz) δ -184.0 (1F, bs)。

[0346] 实例10:化合物10的合成



[0348] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) LDA, TMSCl, THF, -78 °C; d) Pb(OAc)₄, CH₂Cl₂; e) K₂CO₃, MeOH; f) (COCl)₂, DMSO, Et₃N, CH₂Cl₂, -60 °C; g) DAST, CH₂Cl₂; h) HCl, MeOH, 45 °C; i) NaOH, MeOH, 45 °C。

[0349] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0350] 向OCA (1) (1.93g, 4.59mmol) 在MeOH (30mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.09g, 0.46mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将MeOH在减压下去除, 并且将残余物溶解于AcOEt (30mL) 中, 并用NaHCO₃的饱和溶液 (30mL)、H₂O (30mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于CH₂Cl₂ (60mL) 中, 并用二异丙基乙胺 (7.1mL, 41.4mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.05g, 0.46mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (2.1mL, 27.6mmol) 处理。然后将混合物回流36小时。将反应在室温下冷却并用H₂O (30mL)、HCl 3N (30mL)、H₂O (30mL)、饱和NaHCO₃ (300mL) 和盐水 (30mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩以提供2.38g (4.55mmol) 呈浅黄色油状物的2 (定量产率)。

[0351] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (R+S)-羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (4)

[0352] 向在N₂气氛下且于-40 °C冷却的在蒸馏THF (30mL) 中的二异丙胺 (7.6mL, 82.5mmol) 的搅拌溶液中, 逐滴添加在己烷 (20.6mL, 51.6mmol) 中的2.5M nBuLi。15分钟后, 将该溶液冷却至-78 °C, 并逐滴添加三甲基氯硅烷 (8.5mL, 67.0mmol)。再过15分钟后, 在约20分钟内分批添加蒸馏的THF (20mL) 中的2 (3.50g, 6.70mmol) 的溶液, 保持内部温度在-70 °C。一旦结束添加, 将该反应混合物在-78 °C搅拌1小时, 并且然后在室温下升温。将挥发物在减压下去除。将残余物悬浮在石油醚 (80mL) 中并且在真空下过滤。将液体在减压下浓缩并溶解于蒸馏的CH₂Cl₂ (30mL) 中。在N₂气氛下, 将所得溶液逐滴添加到新鲜结晶和不含乙酸的四乙酸铅 (IV) (4.45g, 10.50mmol) 在蒸馏CH₂Cl₂ (50mL) 中的悬浮液中。30分钟后将反应混合物在真空下通过硅藻土垫进行过滤。将滤液在减压下进行浓缩, 并且将残余物通过硅胶

垫 (h:4cm, ϕ : 2 cm) 进行过滤, 用石油醚/AcOEt (8:2, v/v) 收集粗品。溶剂蒸发后, 将残余物溶解于MeOH (30mL) 中, 并用碳酸钾 (1.38g, 10.05mmol) 处理。将所得悬浮液在室温剧烈搅拌15分钟。然后将混合物用CH₂Cl₂ (40mL) 稀释并在真空下过滤。将滤液用另外的CH₂Cl₂ (70mL) 稀释并用盐水 (70mL) 洗涤。将水相用CH₂Cl₂ (3x 40mL) 萃取, 并且将所有收集的有机层经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱, 通过使用石油醚/AcOEt (8:2→1:1, v/v) 对残余物进行纯化, 以提供1.73g (3.21mmol, 48%) 的4 (作为差向异构体混合物)。

[0353] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-氧代-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (5)

[0354] 向在N₂气氛下且于-60℃下冷却的在蒸馏CH₂Cl₂ (12mL) 中的草酰氯 (40.2mL, 2.10mmol) 的溶液中, 逐滴添加稀释于CH₂Cl₂ (2mL) 中的DMSO (0.30mL, 4.18mmol)。15分钟后, 逐滴添加在CH₂Cl₂ (12mL) 中的4 (0.45g, 0.84mmol) 的溶液, 并将所得混合物在-60℃下搅拌1小时。逐滴添加三乙胺 (1.2mL, 8.40mmol), 并且将混合物在室温下缓慢升温。将反应混合物用1M KOH (20mL) 处理5分钟, 分离两相并将水相用CH₂Cl₂ (2x 20mL) 萃取。将收集的有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (使用石油醚/AcOEt (9:1→8:2, v/v) 作为洗脱液) 纯化, 以给出5 (0.43g, 0.80mmol, 96%)。

[0355] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23, 23-偕二氟-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (6)

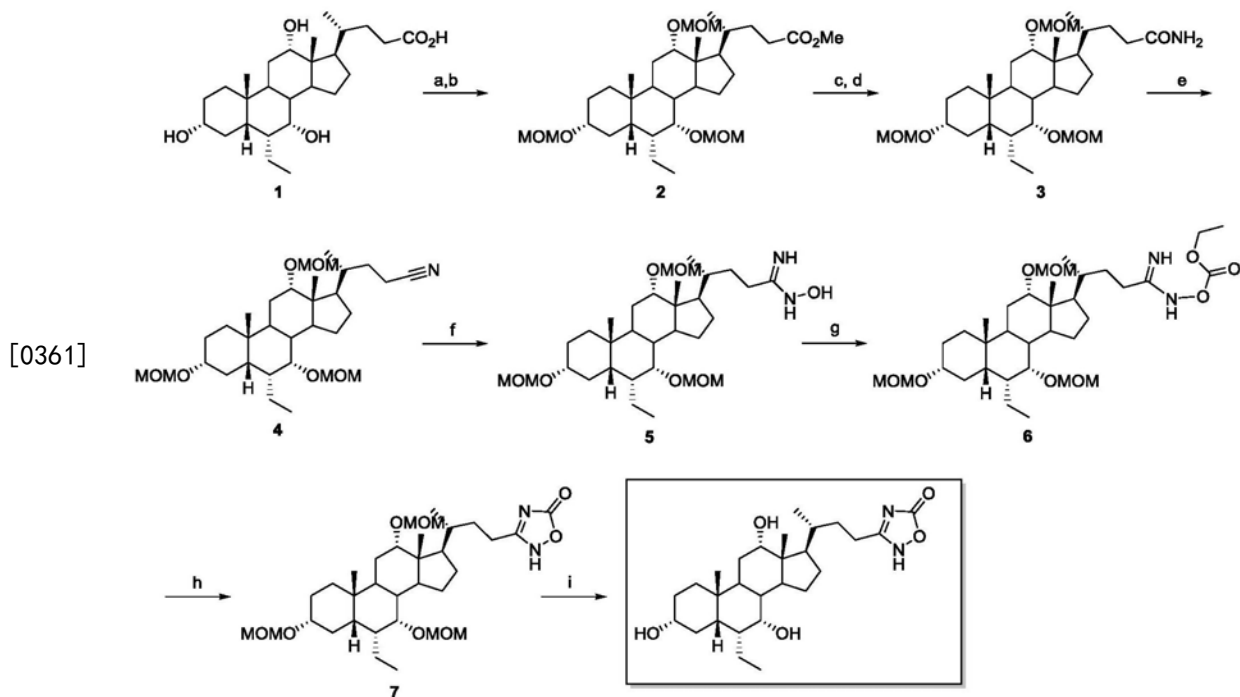
[0356] 在N₂气氛下, 向在蒸馏的CH₂Cl₂ (20mL) 中的5 (0.43g, 0.80mmol) 的溶液添加二乙基氨基三氟化硫 (1.06mL, 8.02mmol), 并将反应在室温下搅拌12小时。将混合物小心倒入饱和的NaHCO₃ (50mL) 中并在水-冰浴中搅拌直至CO₂释放完成。将两相分离, 并将有机层用H₂O (20mL)、盐水 (20mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱, 通过使用石油醚/AcOEt (95:5→8:2, v/v) 溶液对残余物进行纯化, 以产生0.31g (0.56mmol, 71%) 纯6。

[0357] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-23, 23-偕二氟-5 β -胆烷-24-酸 (化合物10)

[0358] 向在MeOH (15mL) 中的6 (0.31g, 0.56mmol) 的溶液添加HCl 3N (1.7mL, 5.04mmol), 并且将混合物在45℃搅拌12小时。添加氢氧化钠 (0.33g, 8.40mmol), 并将混合物在45℃再搅拌4小时。将MeOH在减压下去除, 并将残余物用多达15mL的H₂O进行稀释并用Et₂O (2x 10mL) 洗涤。将水相通过添加HCl 3N酸化, 并将所得发白的悬浮液在真空下通过RP-18硅胶垫 (h:3cm, ϕ : 1 cm) 过滤, 用H₂O (50mL) 洗涤并使用H₂O/MeCN 40:60 (v/v) 的溶液收集粗物质。一旦溶剂在减压下得以去除, 通过RP-18中压液相色谱 (用H₂O/MeCN (8:2→4:6, v/v)) 对残余物进行纯化。获得0.22g (0.48mmol, 86%) 纯二氟衍生物化合物10。

[0359] rf:0.31 (TLC:硅胶60RP-8F₂₅₄S; 洗脱液:H₂O/MeCN 60:40)。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ :0.62 (3H, s, 18-CH₃), 0.82-0.91 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.01 (3H, d, J=6.1Hz, 21-CH₃), 2.09-2.13 (1H, m, 22-CH₂), 3.17-3.21 (1H, m, 3-CH), 3.49 (1H, s, 7-CH), 4.07 (1H, bs, OH)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100.6MHz) δ 11.4, 11.6, 19.6, 20.3, 22.1, 22.9, 23.0, 28.0, 30.4, 30.9, 32.6, 33.5, 35.1, 35.5, 41.2, 42.0, 45.3, 48.5, 50.2, 55.6, 68.3, 70.5, 117.3 (J_{C-F}=248.7Hz), 165.6 (J_{C-F}=31.6Hz)。¹⁹F-NMR (DMSO-d₆, 376.5MHz) δ -100.9 (2F, m)。MS-TIC (-) m/z:455.4。

[0360] 实例11:化合物11的合成



[0362] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) NaOH, MeOH; d) EtCO₂Cl, Et₃N, THF, 水性NH₃; e) CNC₂, DMF; f) NH₂OH · HCl, Na₂CO₃, EtOH, 回流; g) EtCO₂Cl, Pyr, CH₂Cl₂; h) Pyr, PhMe, 回流; i) HCl, AcMe, 50°C。

[0363] 3α, 7α, 12α-三甲氧基甲基氧基-6α-乙基-5β-胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0364] 向3α, 7α, 12α-三羟基-6α-乙基-5β-胆烷-24-酸 (6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在 MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将MeOH在减压下去除, 并且将残余物溶解于AcOEt (200mL) 中, 并用NaHCO₃ 的饱和溶液 (200mL)、H₂O (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于CH₂Cl₂ (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺 (94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用H₂O (100mL)、HCl 3N (100mL)、H₂O (100mL)、饱和NaHCO₃ (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩以提供26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的2 (定量产量)。

[0365] 3α, 7α, 12α-三甲氧基甲基氧基-6α-乙基-5β-胆烷-24-酰胺 (3)

[0366] 将2 (1.55g, 3.44mmol) 在磁力搅拌下在回流下用MeOH (30mL) 中的NaOH 5%处理2小时。除去MeOH, 并将残余物溶解于AcOEt (50mL) 中, 并用H₂O (50mL) 和盐水 (50mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。将油状残余物溶解于THF (30mL) 中, 并用氯甲酸乙酯 (0.45mL, 4.82mmol) 和三乙胺 (0.72mL, 5.16mmol) 处理。将混合物剧烈搅拌1小时。将反应用AcOEt (50mL) 稀释, 用H₂O (30mL)、水性HCl 1N (30mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩, 从而以定量产率获得希望的酰胺中间体3。将粗品不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0367] 3α, 7α, 12α-三甲氧基甲基氧基-6α-乙基-23-氧基-24-降-5β-胆烷 (4)

[0368] 向3 (1.95g, 3.44mmol) 在DMF (20mL) 中的溶液中添加氰尿酸氯 (0.42g, 6.88mmol), 并将反应在室温下搅拌18小时。将混合物倒入AcOEt (100mL) 中, 并用H₂O (5x 50mL)、盐水

(30mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(使用石油醚/AcOEt (9:1→7:3, v/v)) 纯化, 得到1.15g (2.10mmol, 61%) 氰基衍生物4。

[0369] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -24-N-羟基-胆烷脒 (5)

[0370] 向4 (0.60g, 1.11mmol) 在EtOH (30mL) 中的溶液中添加水合氯羟胺 (0.77g, 11.16mmol) 和十水碳酸钠 (3.20g, 11.16mmol), 并将混合物回流36小时。在减压下除去挥发物, 并将所得残余物溶解于EtOAc (30mL) 中, 用H₂O (3x30mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱, 通过使用CHCl₃/MeOH (98:2→95:5, v/v) 对粗品进行纯化, 由此获得0.42g (0.72mmol, 65%) 纯5。

[0371] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -24-N[(乙氧基羰基)氧基]亚氨基胆烷酰胺 (6)

[0372] 向在0℃冷却并在N₂气氛下的5 (0.42g, 0.72mmol) 在蒸馏CH₂Cl₂ (30mL) 中的溶液中, 逐滴添加氯甲酸乙酯 (0.07mL, 0.94mmol) 和吡啶 (0.09mL, 1.08mmol), 并将反应混合物在室温下搅拌1小时。将反应用H₂O (15mL) 淬灭, 分离两相, 并且将有机层用H₂O (3x 15mL)、盐水 (15mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以提供作为粗物质的6 (0.44g), 将其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0373] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -23 ([1, 2, 4]-噁二唑-3-酮-5-基)-胆烷 (7)

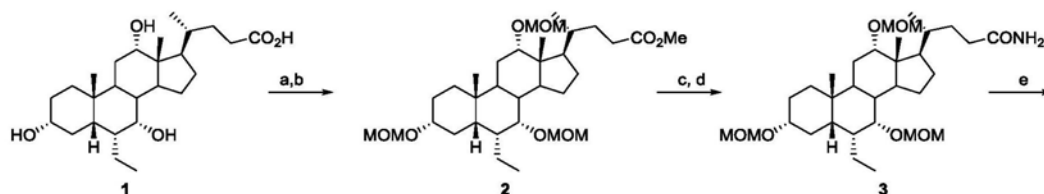
[0374] 将6 (0.44g) 在甲苯 (20mL) 和吡啶 (5mL) 中的溶液回流48小时。然后将混合物用AcOEt (50mL) 稀释, 用H₂O (3x 50mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以获得0.43g的7, 将其照这样用于下个步骤。

[0375] 3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -23 ([1, 2, 4]-噁二唑-3-酮-5-基)-胆烷 (化合物11)

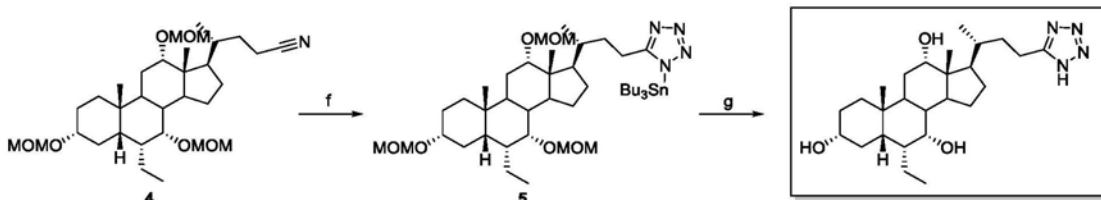
[0376] 向粗8 (0.43g) 在丙酮 (15mL) 中的溶液中添加HCl 3N (5mL), 并将混合物在50℃下搅拌6小时。在减压下除去有机溶剂, 将残余物溶解于CHCl₃ (30mL) 中并用H₂O (3x 20mL)、盐水 (20mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱, 通过使用CHCl₃/MeOH/AcOH (98:2:0.1→93:7:0.1, v/v/v) 对残余物进行纯化, 以给出0.14g (0.29mmol, 41%来自中间体6) 纯化合物11。

[0377] rf: 0.37 (TLC: 硅胶60RP-8F₂₅₄S; 洗脱液: H₂O/MeCN 50:50)。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz) δ : 0.70 (3H, s, 18-CH₃), 0.89-0.92 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.03 (3H, d, J=5.4Hz, 21-CH₃), 2.18-2.59 (2H, m, 23-CH₂), 3.42-3.45 (1H, m, 3-CH), 3.71 (1H, s, 7-CH), 3.99 (1H, s, 12-CH)。¹³C-NMR (CDCl₃, 100.6MHz) δ : 11.6, 12.4, 17.2, 21.8, 22.1, 22.7, 23.2, 26.7, 27.5, 28.2, 30.0, 31.8, 33.4, 35.1, 35.4 (x2), 39.9, 41.3, 41.8, 45.0, 46.2, 46.4, 71.0, 72.2, 73.3, 160.4, 160.9。

[0378] 实例12: 化合物12的合成



[0379]



[0380] 试剂与条件: a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) NaOH, MeOH; d) EtCO₂Cl, Et₃N, THF, 水性NH₃; e) CNCl, DMF; f) Bu₃SnN₃, PhMe, 回流; g) MeOH, HCl, 45°C。

[0381] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0382] 向3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸 (6-ECA, 1) (20.0g, 45.9mmol) 在 MeOH (150mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.44g, 2.29mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将 MeOH 在减压下去除, 并且将残余物溶解于 AcOEt (200mL) 中, 并用 NaHCO₃ 的饱和溶液 (200mL)、H₂O (200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于 CH₂Cl₂ (180mL) 中, 并且将所得溶液用二异丙基乙胺 (94mL, 550.5mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.56g, 4.6mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (31.2mL, 412.8mmol) 处理。将该混合物搅拌并且回流48小时。将反应在室温下冷却并用 H₂O (100mL)、HCl 3N (100mL)、H₂O (100mL)、饱和 NaHCO₃ (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩以提供 26.61g (45.65mmol) 呈淡黄色油状物的 2 (定量产量)。

[0383] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酰胺 (3)

[0384] 将 2 (1.55g, 3.44mmol) 在磁力搅拌下在回流下用 MeOH (30mL) 中的 NaOH 5% 处理 2 小时。除去 MeOH, 并将残余物溶解于 AcOEt (50mL) 中, 并用 H₂O (50mL) 和盐水 (50mL) 洗涤。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并且在减压下浓缩。将油状残余物溶解于 THF (30mL) 中, 并用氯甲酸乙酯 (0.45mL, 4.82mmol) 和三乙胺 (0.72mL, 5.16mmol) 处理。将混合物剧烈搅拌 1 小时。将反应用 AcOEt (50mL) 稀释, 用 H₂O (30mL)、水性 HCl 1N (30mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥, 并在减压下浓缩, 从而以定量产率获得希望的酰胺中间体 3。将粗品不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0385] 3 α , 7 α , 12 α -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-氰基-24-降-5 β -胆烷 (4)

[0386] 向 3 (1.95g, 3.44mmol) 在 DMF (20mL) 中的溶液中添加氰尿酸氯 (0.42g, 6.88mmol), 并将反应在室温下搅拌 18 小时。将混合物倒入 AcOEt (100mL) 中, 并用 H₂O (5x 50mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (使用石油醚/AcOEt (9:1 \rightarrow 7:3, v/v)) 纯化, 得到 1.15g (2.10mmol, 61%) 氰基衍生物 4。

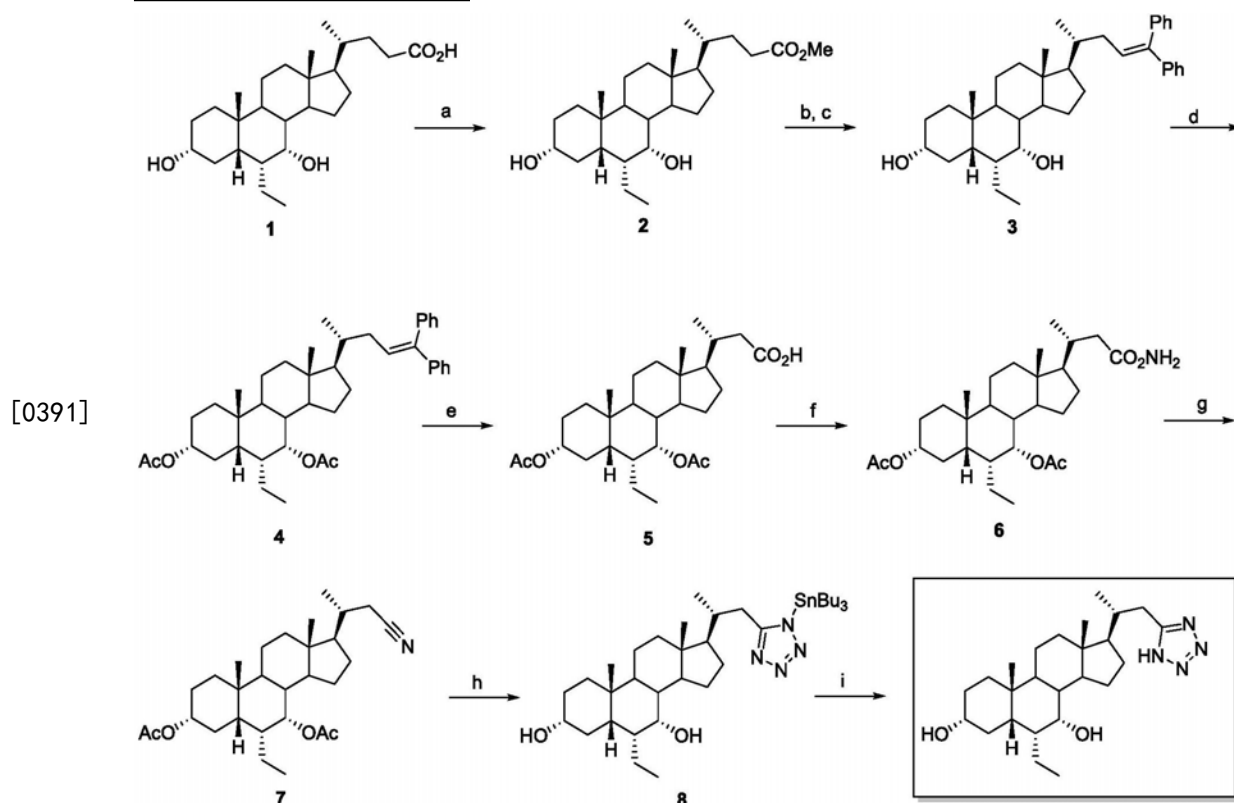
[0387] 3 α , 7 α , 12 α -三羟基-6 α -乙基-23-(四唑-5-基)-24-降-5 β -胆烷 (化合物 12)

[0388] 向 4 (0.20g, 0.36mmol) 在蒸馏 PhMe (10mL) 中且在 N₂ 气氛下的溶液中添加三丁基锡叠氮化物 (0.50mL, 1.80mmol), 并将所得混合物回流 72 小时。完成后, 将反应混合物用 EtOAc (50mL) 稀释, 用 H₂O (3x 15mL)、盐水 (15mL) 洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并在减压下浓缩。将粗品 5 (0.24g) 溶解于丙酮 (15mL) 中, 并在 50°C 下用 HCl 3N (5mL) 处理 6 小时。在减压下除

去丙酮,将残余物用H₂O (20mL) 稀释并通过添加NaOH 3N碱化至pH值为14。将混合物用Et₂O (3x 20mL) 洗涤,用HCl 3N酸化,用CHCl₃/MeOH (9:1, v/v) 萃取,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(使用CHCl₃/MeOH/AcOH (96:4:0.1→90:10:0.1, v/v/v)) 纯化,得到0.11g (0.24mmol, 66%) 纯化合物12。

[0389] rf:0.39 (TLC:硅胶60RP-8F₂₅₄S;洗脱液:H₂O/MeCN 50:50)。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ:0.70 (3H, s, 18-CH₃), 0.88-0.91 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.13 (3H, d, J=6.1Hz, 21-CH₃), 2.18-2.22 (1H, m, 22-CH₂), 2.83-2.91 (1H, m, 23-CH₂), 2.97-3.04 (1H, m, 23-CH₂), 3.29-3.34 (1H, m, 3-CH), 3.66 (1H, s, 7-CH), 3.96 (1H, s, 12-CH)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100.6MHz) δ:12.0, 12.9, 17.5, 21.1, 23.4, 23.5, 24.1, 28.2, 28.7, 29.7, 31.0, 34.3, 35.2, 36.3, 36.6, 36.7, 41.7, 43.1, 43.1, 46.9, 47.5, 47.8, 71.1, 73.1, 74.0, 158.8。

[0390] 实例13:化合物13的合成



[0392] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) PhMgBr, THF, 回流; c) EtOH, HCl, 80 $^{\circ}$ C; d) Ac₂O, Bi(OTf)₃, CH₂Cl₂; e) NaIO₄, H₂SO₄, RuCl₃·H₂O, H₂O, AcOEt, MeCN; f) EtCO₂Cl, Et₃N, THF, 水性NH₃; g) CNCI, DMF; h) Bu₃SnN₃, PhMe, 回流; i) KOH, MeOH, H₂O, 回流。

[0393] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷酸甲酯 (2)

[0394] 向OCA (1) (5.0g, 11.9mmol) 在MeOH (100mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (0.23g, 1.19mmol), 并将混合物在室温下超声处理90分钟。在减压下除去溶剂,将残余物溶解于CHCl₃ (100mL) 中,用饱和NaHCO₃ (100mL)、H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下蒸发。将由此获得的白色固体 (5.17g, 11.89mmol) 不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0395] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-24, 24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (3)

[0396] 向6 α -乙基-3 α , 7 α -二羟基-5 β -胆烷酸甲酯 (2) (5.17g, 11.89mmol) 在无水THF

(125mL) 中的溶液中逐滴添加Et₂O (39.6mL, 118.9mmol) 中的苯基溴化镁3M。将混合物回流12小时。在室温冷却后, 将混合物用H₂O (100mL) 和HCl 3M (100mL) 处理。将混合物用EtOAc (3x 80mL) 萃取, 将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将粗品溶解于MeOH (100mL) 中并在HCl 37% (10mL) 的存在下回流1小时。蒸发MeOH, 将获得的残余物溶解于EtOAc (120mL) 中, 用H₂O (2x 100mL)、饱和NaHCO₃ (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将联苯基衍生物3不经纯化用于下一步骤。

[0397] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24, 24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (4)

[0398] 向3 (6.42g, 11.89mmol) 在CH₂Cl₂ (70mL) 中的溶液中添加乙酸酐 (6.06g, 59.45mmol) 和三氟甲磺酸铋 (0.39g, 0.59mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。然后小心添加NaHCO₃饱和水溶液 (50mL), 并分离各相。将水层用CH₂Cl₂ (2x 50mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (使用由石油醚/EtOAc (95:5 \rightarrow 7:3, v/v) 构成的洗脱液) 纯化, 获得5.56g (8.91mmol, 75%) 希望的中间体4。

[0399] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸 (5)

[0400] 向高碘酸钠 (21.13g, 98.73mmol) 在H₂O (20mL) 中的悬浮液中添加H₂O (3.22mL) 中的H₂SO₄ 2N, 并将混合物在室温下搅拌1小时。将混合物冷却至0 $^{\circ}$ C, 并用一次添加的三氯化钨水合物 (0.11g, 0.55mmol) 处理。1小时后, 将乙腈 (31mL) 添加到溶液中, 并在又5分钟后, 添加联苯衍生物4 (6.85g, 10.97mmol) 在EtOAc (43mL) 中的溶液。将混合物在室温下搅拌1小时。将由此形成的白色固体滤出, 然后将液体倒入H₂O (100mL) 中并用EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层通过硅藻土垫过滤, 用H₂O (100mL) 中的Na₂S₂O₃的饱和溶液、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (用石油醚中10%至50%的EtOAc洗脱) 纯化。获得希望的呈白色固体状的酸5 (5.27g, 10.75mmol, 98%)。

[0401] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酰胺 (6)

[0402] 在0 $^{\circ}$ C向酸5 (2.12g, 4.31mmol) 在无水THF (40mL) 中的溶液中添加三乙胺 (0.65g, 6.47mmol) 和氯甲酸乙酯 (0.65g, 6.04mmol)。将所得悬浮液在室温下搅拌1小时。将NH₃ (H₂O中28%, 0.73g, 2.94mL) 逐滴添加到混合物中并在室温下搅拌12小时。将混合物倒入H₂O (50mL) 中并且用EtOAc (2x 50mL) 萃取。将合并的有机层用HCl 1N (50mL)、H₂O (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且在减压下浓缩。将化合物6不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0403] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-22-氰基-23, 24-双降-5 β -胆烷 (7)

[0404] 向酰胺6 (1.50g, 3.06mmol) 在DMF (30mL) 中的溶液中添加氯化氰 (0.37g, 6.013mmol), 并将反应混合物在室温下搅拌12小时。将混合物用EtOAc (30mL) 稀释, 用H₂O (3x 30mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将油状残余物通过硅胶快速色谱 (用石油醚中10%至50% (v/v) 的EtOAc洗脱) 纯化, 得到0.98g (2.08mmol, 68%) 希望的腈衍生物7。

[0405] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-22-[1-(三丁基甲锡烷基)-四唑-5-基]-23, 24-双降-5 β -胆烷 (8)

[0406] 向腈7 (0.81g, 1.72mmol) 在甲苯 (25mL) 中的溶液中添加三丁基锡叠氮化物 (2.87g, 8.58mmol), 并且然后将反应物回流36小时。然后将混合物在室温下冷却, 用EtOAc

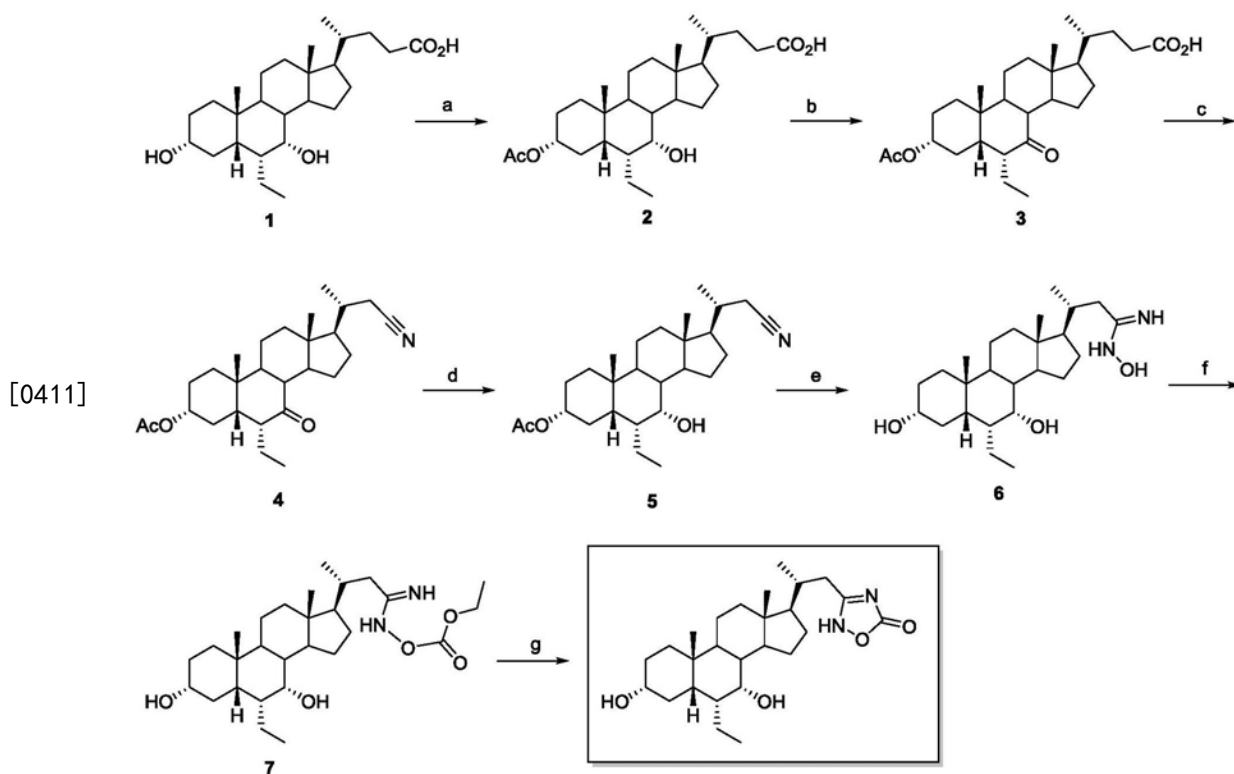
(25mL) 稀释,用HCl 3N (3x 20mL)、H₂O (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩,经Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(用二氯甲烷中2%至5% (v/v) 的甲醇洗脱) 纯化,获得0.31g (0.61mmol, 61%) 希望的受保护的四唑8。

[0407] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-23-(四唑-5-基)-24-降-5 β -胆烷(化合物13)

[0408] 向四唑8 (0.27g, 0.53mmol) 在H₂O (1mL) 和MeOH (7mL) 中的悬浮液中添加KOH (0.444g, 7.87mmol)。将混合物进行微波照射 (T=135 $^{\circ}$ C, P_{最大}=250psi, 功率_{最大}=200W) 16小时。在减压下除去有机溶剂,将残余物溶解于H₂O (50mL) 中并用Et₂O (2x 15mL) 萃取。将水相用HCl 3N酸化并用CH₂Cl₂ (3x 15mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下蒸发。将粗品通过硅胶快速色谱(用CHCl₃中的MeOH (0至10%, v/v) 洗脱) 纯化,以提供希望的呈白色固体状的衍生物化合物13 (0.19g, 0.44mmol, 84%)。

[0409] rf: 0.31 (TLC: 硅胶60F₂₅₄S; 洗脱液: CHCl₃/MeOH/AcOH 96:4:1)。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 0.75 (3H, s, 18-CH₃), 0.89-0.892 (9H, m, 19-CH₃+21-CH₃+CH₂CH₃), 2.66 (1H, dd, J₁=9.7Hz, J₂=14.5Hz, 22-CH₂), 3.04 (1H, dd, J₁=3.2Hz, J₂=14.5Hz, 22-CH₂), 3.29-3.35 (1H, m, 3-CH), 3.67 (1H, s, 7-CH)。¹³C-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 12.9, 13.1, 20.1, 22.8, 24.4, 24.6, 25.5, 30.4, 31.9, 32.1, 35.2, 35.4, 37.5, 37.6, 38.4, 41.7, 42.1, 44.0, 44.7, 47.8, 52.9, 58.3, 72.0, 74.0, 158.1。

[0410] 实例14: 化合物14的合成



[0412] 试剂与条件: a) Ac₂O, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂; b) PCC, CH₂Cl₂; c) TFA, TFAA, NaNO₂, 0 $^{\circ}$ C; d) NaBH₄, THF, H₂O, 0 $^{\circ}$ C; e) NH₂OH \cdot HCl, Na₂CO₃, EtOH, 回流; f) EtCO₂Cl, Pyr, CH₂Cl₂; g) Pyr, PhMe, 回流。

[0413] 3 α -乙酰氧基-6 α -乙基-7 α -羟基-5 β -胆烷-24-酸 (2)

[0414] 向OCA (1) (5.00g, 11.87mmol) 在CH₂Cl₂ (50mL) 中的溶液中添加Ac₂O (8.4mL, 89.22mmol)、二异丙基乙胺 (15.5mL, 89.22mmol) 和4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.54g, 4.46mmol), 并将所得悬浮液在回流下搅拌10分钟。将混合物在室温下冷却, 用CH₂Cl₂ (50mL) 稀释并用H₂O (3x 50mL) 和HCl 3N (50mL) 洗涤。将有机层用HCl 37% (5mL) 处理2分钟。添加H₂O (50mL), 分离两相, 并将有机相用饱和NaHCO₃ (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩, 以提供5.49g呈浅黄色固体状的2 (定量产率)。

[0415] 3 α -乙酰氧基-6 α -乙基-7 α -氧代-5 β -胆烷-24-酸 (3)

[0416] 向2 (5.49g, 11.87mmol) 在CH₂Cl₂ (60mL) 中的溶液中添加氯铬酸吡啶 (7.67g, 35.69mmol), 并将所得深色混合物在室温下搅拌2小时。将由此得到的悬浮液在真空下通过硅藻土垫过滤, 并将滤液用饱和NaHCO₃ (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱, 通过使用石油醚/AcOEt (8:2 \rightarrow 6:4, v/v) 对残余物进行纯化, 由此获得4.43g (9.61mmol, 80%) 纯3。

[0417] 3 α -乙酰氧基-6 α -乙基-7 α -氧代-22-氰基-23, 24-双降-5 β -胆烷 (4)

[0418] 向在0 $^{\circ}$ C下冷却的、3 (4.43g, 9.55mmol) 在三氟乙酸 (30mL) 中的溶液中添加三氟乙酸酐 (10.1mL, 71.61mmol), 并将所得混合物在相同温度下搅拌45分钟。将温度保持在0 $^{\circ}$ C, 分批添加亚硝酸钠 (1.98g, 28.64mmol), 并将由此获得的红色溶液在0 $^{\circ}$ C下搅拌1小时, 并且然后在45 $^{\circ}$ C下再搅拌50分钟。将混合物在室温下冷却并缓慢倒入H₂O/冰浴 (约150mL) 中并用AcOEt (3x 50mL) 萃取。将收集的有机层用NaOH 5M (3x 50mL) 洗涤至中性pH, 用H₂O (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩, 以获得3.51g的4, 将其照这样用于下个步骤。

[0419] 3 α -乙酰氧基-6 α -乙基-7 α -羟基-22-氰基-23, 24-双降-5 β -胆烷 (5)

[0420] 在0 $^{\circ}$ C下向4 (3.51g, 8.18mmol) 在THF (80mL) 和H₂O (20mL) 中的溶液中分批添加NaBH₄ (1.25g, 32.88mmol)。30分钟后, 将反应通过添加AcOEt (100mL) 和HCl 3N (30mL) 淬灭。分离两相, 并将水相用AcOEt (2x 50mL) 萃取。将收集的有机层用H₂O (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩, 以定量产率通过希望的5 (3.52g)。

[0421] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -23-N-羟基-胆烷脒 (6)

[0422] 向5 (3.52g, 8.18mmol) 在EtOH (120mL) 中的溶液中添加水合氯羟胺 (17.55g, 109.35mmol) 和十水碳酸钠 (31.28g, 109.35mmol), 并将混合物搅拌且回流48小时。在减压下除去挥发物, 并将所得残余物溶解于EtOAc (150mL) 中, 用H₂O (3x 100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以获得3.45g的6, 将其不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0423] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -23-N[(乙氧基羰基) 氧基] 亚氨基胆烷酰胺 (7)

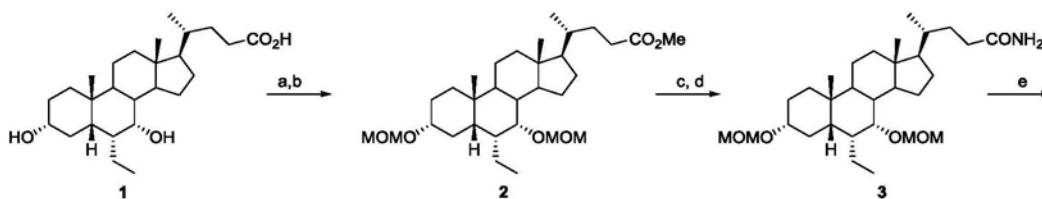
[0424] 向在0 $^{\circ}$ C冷却并在N₂气氛下的6 (3.45g, 8.18mmol) 在蒸馏CH₂Cl₂ (100mL) 中的溶液中逐滴添加吡啶 (0.99mL, 12.27mmol) 和氯甲酸乙酯 (0.70mL, 7.36mmol), 并将反应混合物在室温下搅拌1小时。将反应用H₂O (50mL) 淬灭, 分离两相, 并且将有机层用H₂O (3x 50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以提供7 (3.50g), 将其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0425] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-23, 24-双降-5 β -22 ([1, 2, 4]-噁二唑-3-酮-5-基)-胆烷 (化合物14)

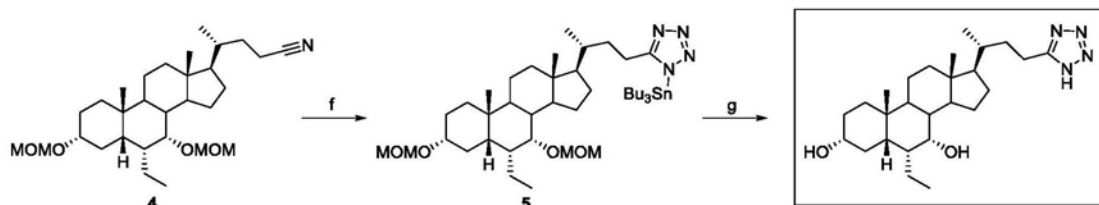
[0426] 将粗7 (3.50g) 在甲苯 (100mL) 和吡啶 (20mL) 中的溶液回流72小时。然后将混合物在室温下冷却,用AcOEt (200mL) 稀释,用H₂O (100mL)、HCl 3N (100mL)、H₂O (100mL)、盐水 (30mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱,通过使用CH₂Cl₂/MeOH/AcOH (98:2:0.1→95:5:0.1, v/v/v) 的溶液对残余物进行纯化,以获得1.23g纯化化合物14, 34%来自中间体5。

[0427] rf:0.18 (TLC:硅胶60RP-8F₂₅₄S;洗脱液:H₂O/MeOH 20:80)。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 0.75 (3H, s, 18-CH₃), 0.92-0.96 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 0.99 (3H, d, J=5.8, 21-CH₃), 2.19 (1H, m, 22-CH₂), 2.67 (1H, m, 22-CH₂), 3.28-3.35 (1H, m, 3-CH), 3.66 (1H, s, 7-CH)。¹³C-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 12.0, 12.4, 19.1, 21.9, 23.4, 23.7, 24.5, 29.3, 31.2, 32.8, 34.3, 34.5, 35.6, 36.6, 36.7, 40.8, 41.5, 43.1, 43.9, 46.9, 51.6, 57.5, 71.1, 73.1, 160.7, 162.3。

[0428] 实例15:化合物15的合成



[0429]



[0430] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流;c) NaOH, MeOH; d) EtCO₂Cl, Et₃N, THF, 水性NH₃; e) CNC1, DMF; f) Bu₃SnN₃, PhMe, 回流; g) MeOH, HCl, 45°C。

[0431] 3α, 7α-二甲氧基甲基氧基-6α-乙基-5β-胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0432] 向OCA (1) (1.93g, 4.59mmol) 在MeOH (30mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.09g, 0.46mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将MeOH在减压下去除,并且将残余物溶解于AcOEt (30mL) 中,并用NaHCO₃的饱和溶液 (30mL)、H₂O (30mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于CH₂Cl₂ (60mL) 中,并用二异丙基乙胺 (7.1mL, 41.4mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.05g, 0.46mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (2.1mL, 27.6mmol) 处理。然后将混合物回流36小时。将反应在室温下冷却并用H₂O (30mL)、HCl 3N (30mL)、H₂O (30mL)、饱和NaHCO₃ (300mL) 和盐水 (30mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩以提供2.38g (4.55mmol) 呈浅黄色油状物的2 (定量产率)。

[0433] 3α, 7α-二甲氧基甲基氧基-6α-乙基-5β-胆烷-24-酰胺 (3)

[0434] 将2 (2.24g, 4.31mmol) 在磁力搅拌下在回流下用NaOH 5%的40mL甲醇溶液处理2小时。然后除去MeOH,将残余物溶解于AcOEt (60mL) 中并用H₂O (60mL) 和盐水 (60mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。将油状残余物溶解于THF (40mL) 中,并用氯甲酸乙酯 (0.57mL, 6.04mmol) 和三乙胺 (0.90mL, 6.47mmol) 处理。将混合物剧烈搅拌1小时。一旦完成反应,将混合物用AcOEt (60mL) 稀释,用H₂O (30mL)、HCl 1N (30mL)、盐水 (30mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩,从而以定量产率获得希望的中间体3。将粗品不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0435] 3 α ,7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-氰基-24-降-5 β -胆烷(4)

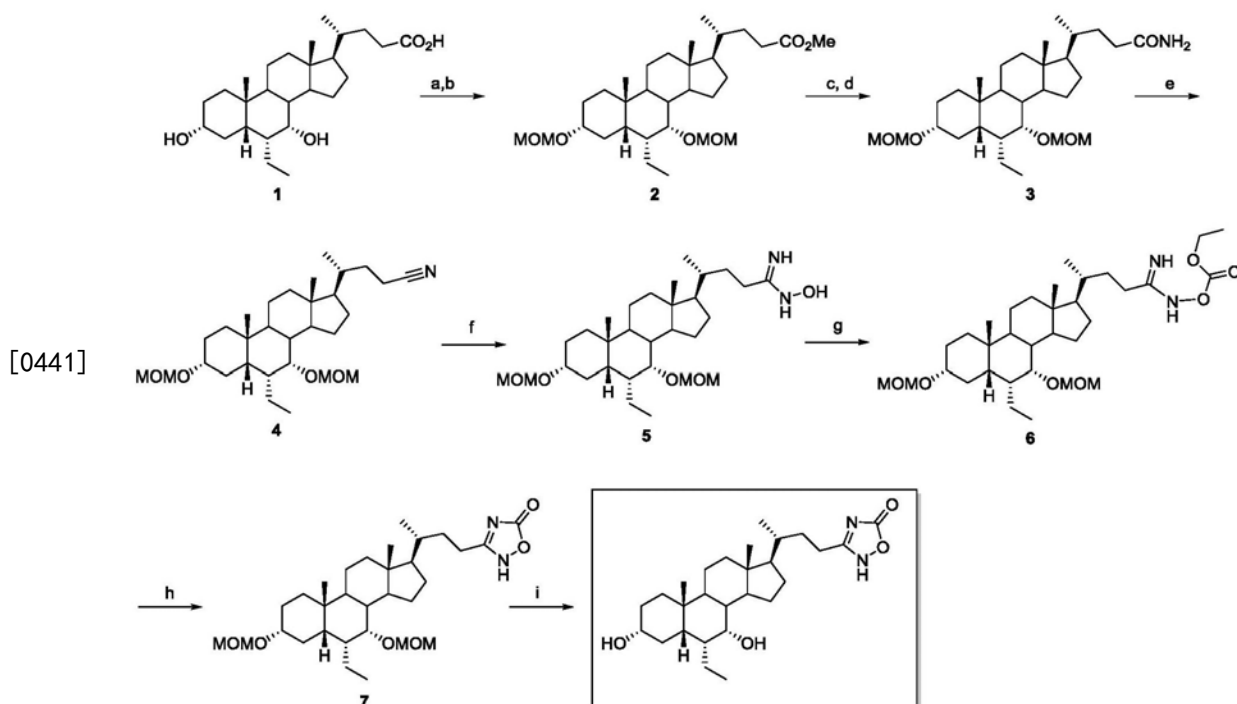
[0436] 向3(2.01g,3.96mmol)在DMF(40mL)中的溶液中添加氰尿酸氯(0.48g,7.92mmol),并将反应在室温下搅拌16小时。将混合物倒入AcOEt(100mL)中,用H₂O(5x 50mL)和盐水(30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(用石油醚/AcOEt(9:1→65:35,v/v)作为洗脱液)纯化,以获得1.43g(2.93mmol,74%)4。

[0437] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-23-(四唑-5-基)-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷(化合物15)

[0438] 向4(0.70g,1.43mmol)在蒸馏PhMe(15mL)中的且在N₂气氛下的溶液中添加三丁基锡叠氮化物(1.97mL,7.45mmol),并将所得混合物回流48小时。完成后,将反应混合物用EtOAc(40mL)稀释,用H₂O(3x 20mL)、盐水(20mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩。将粗品5(0.80g)溶解于丙酮(30mL)和HCl 3N(10mL)中,并将所得混合物在50℃搅拌6小时。在减压下除去丙酮,将残余物用H₂O(20mL)稀释并通过添加无水NaOH 3N碱化至pH值为14。将混合物用Et₂O(3x 20mL)洗涤,用HCl 3N酸化,用CHCl₃/MeOH(95:15,v/v)的溶液萃取,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。通过硅胶快速色谱,通过使用由CHCl₃/MeOH/AcOH(98:2:0.1→94:17:0.1,v/v/v)构成的洗脱液对残余物进行纯化,以给出0.36g(0.81mmol,57%来自中间体4)纯化合物15。

[0439] rf:0.38(TLC:硅胶F₂₅₄S;洗脱液:CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 90:10:1)。¹H-NMR(CD₃OD,400MHz) δ :0.68(3H,s,18-CH₃),0.89-0.93(6H,m,19-CH₃+CH₂CH₃),1.03(3H,d,J=5.5Hz,21-CH₃),2.87-2.92(1H,m,23-CH₂),2.97-3.00(1H,m,23-CH₂),3.33-3.37(1H,m,3-CH),3.65(1H,s,7-CH)。¹³C-NMR(CDCl₃,100.6MHz) δ :12.9,13.1,19.6,21.9,22.9,24.4,24.6,25.4,30.2,32.1,35.3,35.4,36.0,37.5,37.6,41.9,42.4,44.0,44.7,47.8,52.5,58.0,72.0,74.1,159.2。

[0440] 实例16:化合物16的合成



[0442] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) NaOH, MeOH; d) EtCO₂Cl, Et₃N, THF, 水性NH₃; e) CNCI, DMF; f) NH₂OH · HCl, Na₂CO₃, EtOH, 回流; g) EtCO₂Cl,

Pyr, CH₂Cl₂; h) Pyr, PhMe, 回流; i) HCl, MeOH, 50°C。

[0443] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0444] 向OCA (1) (1.93g, 4.59mmol) 在MeOH (30mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸 (0.09g, 0.46mmol), 并且将所得混合物在超声辐射下反应2小时。将MeOH在减压下去除, 并且将残余物溶解于AcOEt (30mL) 中, 并用NaHCO₃的饱和溶液 (30mL)、H₂O (30mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于CH₂Cl₂ (60mL) 中, 并用二异丙基乙胺 (7.1mL, 41.4mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.05g, 0.46mmol) 和甲氧基甲基氯化物 (2.1mL, 27.6mmol) 处理。然后将混合物回流36小时。将反应在室温下冷却并用H₂O (30mL)、HCl 3N (30mL)、H₂O (30mL)、饱和NaHCO₃ (300mL) 和盐水 (30mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩以提供2.38g (4.55mmol) 呈浅黄色油状物的2 (定量产率)。

[0445] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酰胺 (3)

[0446] 将2 (2.24g, 4.31mmol) 在磁力搅拌下在回流下用NaOH 5%的40mL甲醇溶液处理2小时。然后除去MeOH, 将残余物溶解于AcOEt (60mL) 中并用H₂O (60mL) 和盐水 (60mL) 洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。将油状残余物溶解于THF (40mL) 中, 并用氯甲酸乙酯 (0.57mL, 6.04mmol) 和三乙胺 (0.90mL, 6.47mmol) 处理。将混合物剧烈搅拌1小时。一旦完成反应, 将混合物用AcOEt (60mL) 稀释, 用H₂O (30mL)、HCl 1N (30mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩, 从而以定量产率获得希望的中间体3。将粗品不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0447] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-氰基-24-降-5 β -胆烷 (4)

[0448] 向3 (2.01g, 3.96mmol) 在DMF (40mL) 中的溶液中添加氰尿酸氯 (0.48g, 7.92mmol), 并将反应在室温下搅拌16小时。将混合物倒入AcOEt (100mL) 中, 用H₂O (5x 50mL) 和盐水 (30mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (用石油醚/AcOEt (9:1→65:35, v/v) 作为洗脱液) 纯化, 以获得1.43g (2.93mmol, 74%) 4。

[0449] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -24-N-羟基-胆烷脒 (5)

[0450] 向4 (0.79g, 1.61mmol) 在EtOH (45mL) 中的溶液中添加水合氯羟胺 (1.68g, 24.20mmol) 和十水碳酸钠 (6.92g, 24.20mmol), 并将混合物回流24小时。在减压下除去挥发物, 并将所得残余物溶解于EtOAc (50mL) 中, 用H₂O (3x50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以几乎定量的产率获得5 (0.81g)。将粗品照这样用于下个步骤。

[0451] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -24-N[(乙氧基羰基)氧基]亚氨基胆烷酰胺 (6)

[0452] 向在0°C冷却并在N₂气氛下的5 (0.81g, 1.61mmol) 在蒸馏CH₂Cl₂ (30mL) 中的溶液中, 逐滴添加氯甲酸乙酯 (0.20mL, 2.10mmol) 和吡啶 (0.19mL, 2.42mmol), 并将反应混合物在室温下搅拌1小时。将反应用H₂O (15mL) 淬灭, 并分离两相。由此将有机层用H₂O (3x 15mL)、盐水 (15mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到作为粗品的6 (0.83g), 将其不经进一步纯化用于下一步骤。

[0453] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -23 ([1, 2, 4]-噁二唑-3-酮-5-基)-胆烷 (7)

[0454] 将粗6 (0.83g) 在甲苯 (15mL) 和吡啶 (3mL) 中的溶液回流48小时。将混合物用AcOEt

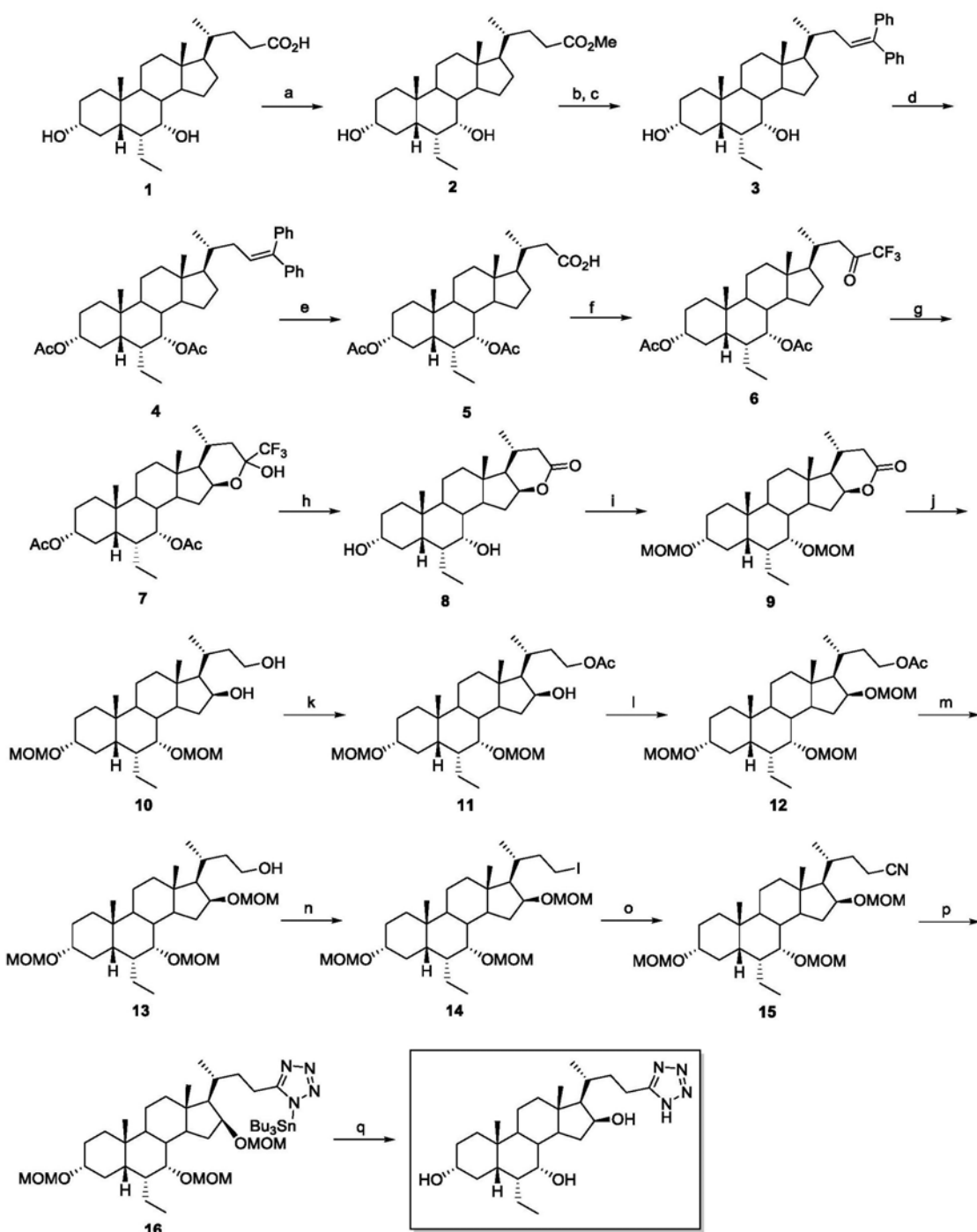
(30mL) 稀释,用H₂O (3x 50mL)、盐水 (30mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,以产生0.81g的7,将其照这样用于下个步骤。

[0455] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -23 ([1,2,4]-噁二唑-3-酮-5-基)-胆烷(化合物16)

[0456] 向粗7 (0.81g) 在丙酮 (15mL) 中的溶液中添加HCl 3N (5mL),并将混合物在50°C下搅拌6小时。在减压下除去有机溶剂,将残余物溶解于CH₂Cl₂ (30mL) 中并用H₂O (3x 30mL)、盐水 (30mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(使用CH₂Cl₂/MeOH/AcOH (97:3:0.1→93:7:0.1, v/v/v) 的溶液作为洗脱液) 纯化,以提供0.27g (0.59mmol, 36%来自中间体4) 纯化合物16。

[0457] rf: 0.49 (TLC: 硅胶F₂₅₄S; 洗脱液: CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 90:10:1)。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ : 0.70 (3H, s, 18-CH₃), 0.90-0.96 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.02 (3H, d, J=6.1Hz, 21-CH₃), 2.43-2.43 (1H, m, 23-CH₂), 2.57-2.64 (1H, m, 23-CH₂), 3.29-3.33 (1H, m, 3-CH), 3.66 (1H, s, 7-CH)。¹³C-NMR (CDCl₃, 100.6MHz) δ : 12.9, 13.1, 19.6, 22.9, 23.8, 24.4, 24.6, 25.5, 30.2, 32.1, 33.9, 35.3, 35.4, 37.5, 37.6, 37.7, 41.9, 42.5, 44.0, 44.7, 47.8, 52.6, 58.0, 72.0, 74.1, 162.7, 163.2。

[0458] 实例17: 化合物17的合成



[0459]

[0460] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) PhMgBr, THF, 回流; c) EtOH, HCl, 80 °C; d) Ac₂O, Bi(OTf)₃, CH₂Cl₂; e) NaIO₄, H₂SO₄, RuCl₃ · H₂O, H₂O, AcOEt, MeCN; f) TFAA, Pyr, PhMe, 回流; g) 过硫酸氢钾制剂 (Oxone), NaHCO₃, EDTA, tBuOH, H₂O, MeCN; h) KOH, MeOH, H₂O, 回流; i) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; j) LiAlH₄, THF, 0 °C; k) Ac₂O, Et₃N, CH₂Cl₂; l) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; m) NaOH, MeOH, 回流; n) I₂, 咪唑, PPh₃, CH₂Cl₂; o) NaCN, PPh₃, DMSO, 80 °C; p) Bu₃SnN₃, PhMe, 回流; q) HCl, MeOH, 45 °C。

[0461] 3α, 7α-二羟基-6α-乙基-5β-胆烷酸甲酯 (2)

[0462] 向OCA (1) (5.0g, 11.9mmol) 在MeOH (100mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (0.23g, 1.19mmol), 并将混合物在室温下超声处理90分钟。在减压下除去溶剂, 将残余物溶

解于CHCl₃ (100mL) 中,用NaHCO₃的饱和溶液 (100mL)、H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下蒸发。将由此获得的白色固体 (5.17g, 11.89mmol) 不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0463] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24,24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (3)

[0464] 向6 α -乙基-3 α ,7 α -二羟基-5 β -胆烷酸甲酯 (2) (5.17g, 11.89mmol) 在无水THF (125mL) 中的溶液中逐滴添加Et₂O (39.6mL, 118.9mmol) 中的苯基溴化镁3M。将混合物回流12小时。在室温冷却后,将混合物用H₂O (100mL) 和HCl 3M (100mL) 处理。将混合物用EtOAc (3x 80mL) 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下蒸发。将粗品溶解于MeOH (100mL) 中并在HCl 37% (10mL) 的存在下回流1小时。蒸发MeOH,将获得的残余物溶解于EtOAc (120mL) 中,用H₂O (2x 100mL)、饱和NaHCO₃ (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将联苯基衍生物3不经纯化用于下一步骤。

[0465] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24,24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (4)

[0466] 向3 (6.42g, 11.89mmol) 在CH₂Cl₂ (70mL) 中的溶液中添加乙酸酐 (6.06g, 59.45mmol) 和三氟甲磺酸铯 (0.39g, 0.59mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。然后小心添加NaHCO₃饱和水溶液 (50mL),并分离各相。将水层用CH₂Cl₂ (2x 50mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (使用由石油醚/EtOAc (95:5 \rightarrow 7:3, v/v) 构成的洗脱液) 纯化,获得5.56g (8.91mmol, 75%) 希望的中间体4。

[0467] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸 (5)

[0468] 向高碘酸钠 (21.13g, 98.73mmol) 在H₂O (20mL) 中的悬浮液中添加H₂O (3.22mL) 中的H₂SO₄ 2N,并将混合物在室温下搅拌1小时。将混合物冷却至0 $^{\circ}$ C,并用一次添加的三氯化钨水合物 (0.11g, 0.55mmol) 处理。1小时后,将乙腈 (31mL) 添加到溶液中,并在又5分钟后,添加联苯衍生物4 (6.85g, 10.97mmol) 在EtOAc (43mL) 中的溶液。将混合物在室温下搅拌1小时。将由此形成的白色固体滤出,然后将液体倒入H₂O (100mL) 中并用EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层通过硅藻土垫过滤,用H₂O (100mL) 中的Na₂S₂O₃的饱和溶液、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (用石油醚中10%至50%的EtOAc洗脱) 纯化。获得希望的呈白色固体状的酸5 (5.27g, 10.75mmol, 98%)。

[0469] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-23-氧代-24,24,24-三氟甲基-5 β -胆烷 (6)

[0470] 向在0 $^{\circ}$ C冷却的5 (14.20g, 28.98mmol) 在甲苯 (125mL) 的溶液中添加吡啶 (11.44g, 144.90mmol) 和三氟乙酸酐 (30.43g, 144.90mmol)。将混合物回流18小时。在室温下冷却后,将深色混合物在45 $^{\circ}$ C下用H₂O (120mL) 处理1小时,在室温下冷却并通过小心添加HCl 1N (100mL) 酸化。然后将混合物用AcOEt (3x 80mL) 萃取,将收集的有机层用盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空下过滤并在减压下浓缩。将棕色油状残余物通过硅胶垫 (h:10cm, ϕ : 4 cm) 过滤,用石油醚/AcOEt (8:2, v/v) 收集粗品,并获得希望的呈黄色固体状的三氟甲基酮6 (15.7g),将其不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0471] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-23-内半缩醛衍生物 (7)

[0472] 向装备有机械搅拌和光修复的烧瓶中的粗6 (15.7g) 在乙腈 (415mL) 中的溶液中添加^tBuOH (135mL) 和溶解于H₂O (395mL) 中的EDTA (170mg, 0.584mmol)。分批添加NaHCO₃ (36.79g, 438.00mmol) 和过硫酸氢钾制剂 (89.64g, 146.00mmol),并将所得悬浮液剧烈搅拌

18小时。将混合物过滤以除去固体,用盐水(100mL)稀释并用Et₂O(3x 150mL)萃取。将合并的有机层用盐水(150mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶垫(h:12cm, φ: 5 cm)过滤,用石油醚/AcOEt(9:1, v/v)收集粗品。获得9.60g希望的内半缩醛7。将粗物质照这样用于下个步骤。

[0473] 3α,7α-二乙酰氧基-6α-乙基-23-内酯衍生物(8)

[0474] 向7(9.60g, 17.20mmol)在MeOH(50mL)中的溶液中添加水性KOH 10M的溶液(25.8mL, 258.0mmol),并将混合物在回流下搅拌18小时。在减压下除去MeOH,添加H₂O(25mL)并将所得混合物再回流24小时。在室温下冷却后,将混合物用Et₂O(3x 50mL)洗涤,用HCl 3N酸化并用CHCl₃(3x 150mL)萃取。将收集的有机层经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱纯化,用CHCl₃/MeOH/AcOH(97:3:0.1, v/v)的等度溶液洗脱。除去溶剂后,获得5.70g(mmol, 48%来自中间体5)希望的中间体8。

[0475] 3α,7α-二甲氧基甲基氧基-6α-乙基-23-内酯衍生物(9)

[0476] 向内酯8(1.75g, 4.33mmol)在CH₂Cl₂(30mL)中的溶液中依次添加二异丙基乙胺(5.03g, 38.98mmol)、二甲基氨基吡啶(0.05g, 0.43mmol)和氯甲基甲基醚(2.08g, 25.99mmol),并将混合物回流48小时。将反应通过添加H₂O(30mL)淬灭,并分离两相。将有机相用HCl 1N(30mL)、NaHCO₃的饱和溶液(30mL)、盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空下过滤并在减压下浓缩。将受保护的衍生物9不经进一步纯化用于下个步骤。

[0477] 3α,7α-二甲氧基甲基氧基-6α-乙基-16β,23-二羟基-24-降-5β-胆烷(10)

[0478] 向在0℃冷却的LiAlH₄(0.49g, 12.99mmol)在THF(30mL)中的悬浮液中逐滴添加9(2.13g, 4.33mmol)在THF(20mL)中的溶液。将反应搅拌30分钟。缓慢且小心地分批添加十水Na₂SO₄,直到氢释放消失。将混合物在真空下过滤,用AcOEt(5x 5mL)洗涤固体残余物;将收集的有机相在减压下浓缩,以提供1.91g(3.86mmol, 89%)希望的四羟基胆汁酸衍生物10,将其不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0479] 3α,7α-二甲氧基甲基氧基-6α-乙基-16β-羟基-23-乙酰氧基-24-降-5β-胆烷(11)

[0480] 向10(1.42g, 2.86mmol)在CH₂Cl₂(120mL)中的溶液中添加Ac₂O(0.81mL, 8.59mmol)和Et₃N(1.81mL, 12.88mmol),并将所得溶液在室温下搅拌12小时。将混合物倒入NaHCO₃的饱和溶液(100mL)中,并用CH₂Cl₂(2x 60mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下浓缩。将粗品11(1.46g)照这样用于下个步骤。

[0481] 3α,7α,16β-三甲氧基甲基氧基6α-乙基-23-乙酰氧基-24-降-5β-胆烷(12)

[0482] 向11(1.46g, 约2.86mmol)在CH₂Cl₂(50mL)中的溶液中依次添加二异丙基乙胺(1.97mL, 11.45mmol)、二甲基氨基吡啶(0.03g, 0.27mmol)和氯甲基甲基醚(0.65mL, 8.59mmol)。将混合物回流5小时。将反应通过添加H₂O(30mL)淬灭,并分离两相。将有机相用HCl 1N(30mL)、NaHCO₃饱和溶液(30mL)、盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将衍生物12(1.51g)不经进一步纯化而用于下个步骤。

[0483] 3α,7α,16β-三甲氧基甲基氧基-6α-乙基-23-羟基-24-降-5β-胆烷(13)

[0484] 向12(1.51g, 约2.86mmol)在MeOH(50mL)中的溶液中添加NaOH(0.57g, 14.31mmol),并将混合物回流3小时。将反应在室温下冷却,并将溶剂在减压下除去。将粗品溶解于CH₂Cl₂(50mL)中,用H₂O(50mL)、盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将残余物通过硅胶快速色谱(用石油醚中的乙酸乙酯(5%至30%)洗脱)纯化,获得希望的

呈浅黄色油状物的化合物13 (1.35g, 2.49mmol, 87%来自中间体10)。

[0485] 3 α , 7 α , 16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-碘-24-降-5 β -胆烷 (14)

[0486] 向三苯基膦 (4.6g, 17.56mmol) 在CH₂Cl₂ (50mL) 中的溶液中添加碘 (2.05g, 16.18mmol)。在10分钟后, 将咪唑 (1.16g, 17.10mmol) 添加到溶液中。再15分钟后, 添加醇13 (1.25g, 2.31mmol) 在CH₂Cl₂ (50mL) 中的溶液, 并将所得混合物在室温下搅拌48小时。然后将反应倒入H₂O (100mL) 中, 分离各相, 并将水相用CH₂Cl₂ (2x 60mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下蒸发。将粗品通过硅胶快速色谱纯化, 用石油醚溶液中的乙酸乙酯 (5%至20%) 洗脱, 产生1.05g (1.65mmol, 71%) 希望的纯碘衍生物14。

[0487] 3 α , 7 α , 16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-氰基-24-降-5 β -胆烷 (15)

[0488] 向碘代衍生物14 (1.03g, 1.58mmol) 在DMSO (15mL) 中的溶液中添加氰化钠 (0.09g, 1.90mmol) 并将混合物在80°C下搅拌3小时。然后使混合物冷却至室温, 用CH₂Cl₂ (100mL) 稀释, 用NaHCO₃的饱和溶液 (50mL)、H₂O (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将混合物通过硅胶快速色谱纯化, 用石油醚中的乙酸乙酯 (10%至30%) 洗脱, 以给出0.80g (1.45mmol, 92%) 纯15。

[0489] 3 α , 7 α , 16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-[1-(三丁基甲锡烷基)-四唑-5-基]-24-降-5 β -胆烷 (16)

[0490] 将腈15 (0.68g, 1.14mmol) 在甲苯 (12mL) 中的溶液与叠氮基三丁基锡 (IV) (1.91g, 5.72mmol) 回流36小时。将混合物在室温下冷却, 用EtOAc (15mL) 稀释, 用H₂O (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将残余物 (0.82g) 不经进一步纯化用于下个步骤。

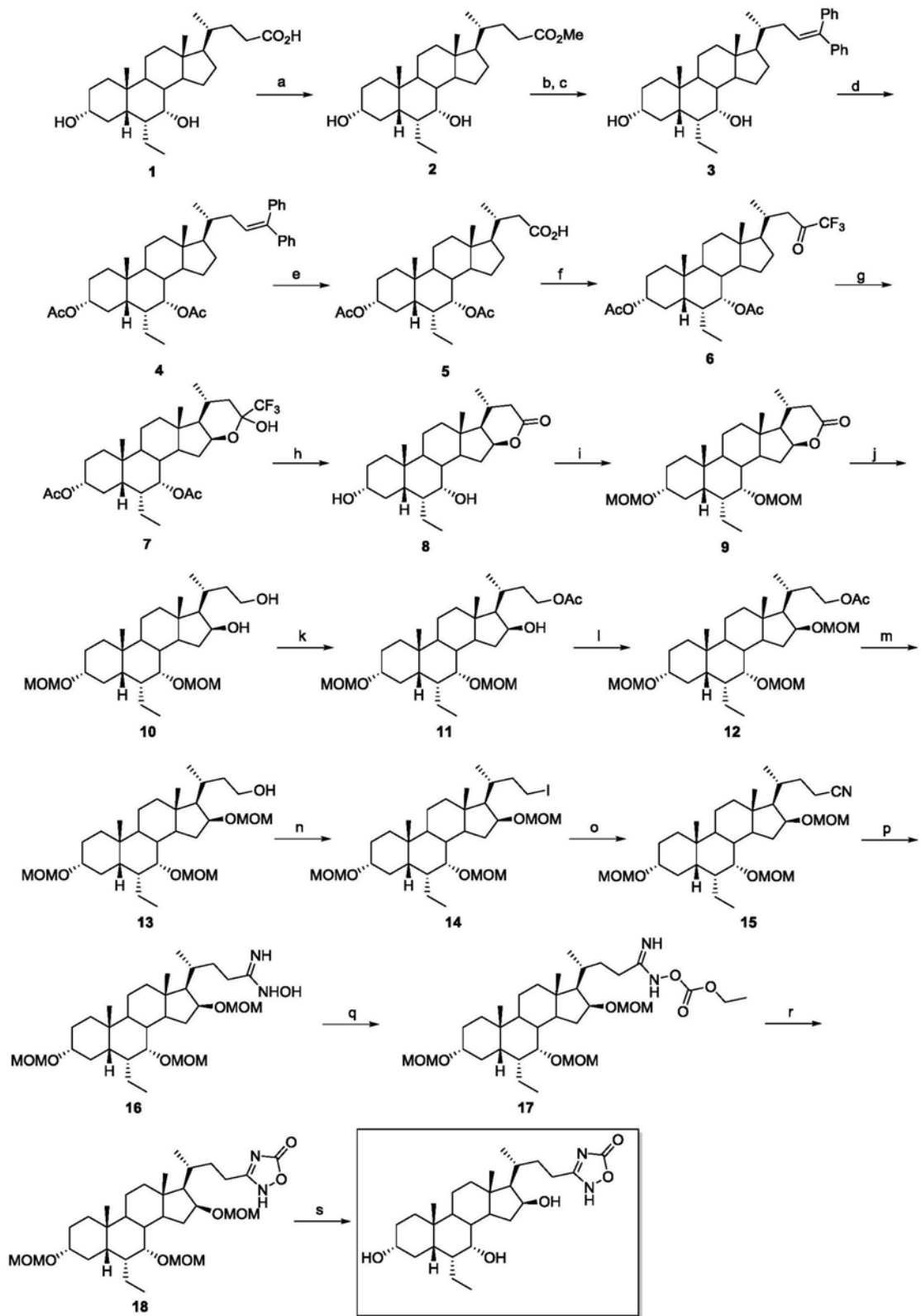
[0491] 3 α , 7 α , 16 β -三羟基-6 α -乙基-23-(四唑-5-基)-24-降-5 β -胆烷 (化合物17)

[0492] 向粗16 (0.80g) 在MeOH (20mL) 中的溶液中添加HCl 3N (5mL) 并将混合物在50°C下搅拌48小时。将混合物在室温冷却, 并且然后用NaOH 3N (7mL) 处理。蒸发溶剂后, 将粗残余物溶解于H₂O (50mL) 中并用Et₂O (3x 40mL) 洗涤。然后将水相用HCl 3N酸化至pH=1, 并用EtOAc/MeOH的混合物 (9:1, v/v, 3x 50mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将混合物通过硅胶快速色谱纯化, 在0.1% AcOH的存在下用氯仿中的甲醇 (1%至10%) 洗脱。获得0.28g呈白色固体状的最终化合物17 (54%来自中间体15)。

[0493] rf: 0.53 (TLC: 硅胶60F₂₅₄S; 洗脱液: CHCl₃/MeOH/AcOH 90:10:1)。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ : 0.87-0.93 (9H, m, 18-CH₃+19-CH₃+CH₂CH₃), 1.07 (3H, d, J=6.2Hz, 21-CH₃), 2.12-2.17 (1H, m, 22-CH₂), 2.37-2.41 (1H, m, 22-CH₂), 2.91-3.08 (2H, m, 23-CH₂), 3.31-3.35 (1H, m, 3-CH), 3.66 (1H, s, 7-CH), 4.40-4.44 (1H, m, 16-CH)。¹³C-NMR (CDCl₃, 100.6MHz) δ : 10.5, 11.8, 16.9, 19.9, 20.1, 22.0, 22.2, 29.5, 29.7, 32.7, 32.8, 33.0, 35.1 (x 2), 35.4, 39.5, 39.6, 41.6, 42.0, 45.4, 48.0, 61.1, 69.5, 71.6 (x 2), 157.1。

[0494] 实例18: 化合物18的合成

[0495]



[0496] 试剂与条件: a) pTSA, MeOH, us; b) PhMgBr, THF, 回流; c) EtOH, HCl, 80 °C; d) Ac₂O, Bi(OTf)₃, CH₂Cl₂; e) NaIO₄, H₂SO₄, RuCl₃ · H₂O, H₂O, AcOEt, MeCN; f) TFAA, Pyr, PhMe, 回流; g) 过硫酸氢钾制剂 (Oxone), NaHCO₃, EDTA, tBuOH, H₂O, MeCN; h) KOH, MeOH, H₂O, 回流; i) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; j) LiAlH₄, THF, 0 °C; k) Ac₂O, Et₃N, CH₂Cl₂; l) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; m) NaOH, MeOH, 回流; n) I₂, 咪唑, PPh₃, CH₂Cl₂; o) NaCN, PPh₃, DMSO, 80 °C; p)

$\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, Na_2CO_3 , EtOH , 回流; q) EtCO_2Cl , Pyr , CH_2Cl_2 ; r) Pyr , PhMe , 回流; s) HCl , MeOH , 45°C 。

[0497] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷酸甲酯 (2)

[0498] 向OCA (1) (5.0g, 11.9mmol) 在 MeOH (100mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (0.23g, 1.19mmol), 并将混合物在室温下超声处理90分钟。在减压下除去溶剂, 将残余物溶解于 CHCl_3 (100mL) 中, 用 NaHCO_3 的饱和溶液 (100mL)、 H_2O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 并在减压下蒸发。将由此获得的白色固体 (5.17g, 11.89mmol) 不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0499] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-24, 24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (3)

[0500] 向6 α -乙基-3 α , 7 α -二羟基-5 β -胆烷酸甲酯 (2) (5.17g, 11.89mmol) 在无水 THF (125mL) 中的溶液中逐滴添加 Et_2O (39.6mL, 118.9mmol) 中的苯基溴化镁3M。将混合物回流12小时。在室温冷却后, 将混合物用 H_2O (100mL) 和 HCl 3M (100mL) 处理。将混合物用 EtOAc (3x 80mL) 萃取, 将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下蒸发。将粗品溶解于 MeOH (100mL) 中并在 HCl 37% (10mL) 的存在下回流1小时。蒸发 MeOH , 将获得的残余物溶解于 EtOAc (120mL) 中, 用 H_2O (2x 100mL)、饱和 NaHCO_3 (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下蒸发。将联苯基衍生物3不经纯化用于下一步骤。

[0501] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24, 24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (4)

[0502] 向3 (6.42g, 11.89mmol) 在 CH_2Cl_2 (70mL) 中的溶液中添加乙酸酐 (6.06g, 59.45mmol) 和三氟甲磺酸铋 (0.39g, 0.59mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。然后小心添加 NaHCO_3 饱和水溶液 (50mL), 并分离各相。将水层用 CH_2Cl_2 (2x 50mL) 萃取。将合并的有机层用 H_2O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (使用由石油醚/ EtOAc (95:5 \rightarrow 7:3, v/v) 构成的洗脱液) 纯化, 获得5.56g (8.91mmol, 75%) 希望的中间体4。

[0503] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸 (5)

[0504] 向高碘酸钠 (21.13g, 98.73mmol) 在 H_2O (20mL) 中的悬浮液中添加 H_2O (3.22mL) 中的 H_2SO_4 2N, 并将混合物在室温下搅拌1小时。将混合物冷却至 0°C , 并用一次添加的三氯化钨水合物 (0.11g, 0.55mmol) 处理。1小时后, 将乙腈 (31mL) 添加到溶液中, 并在又5分钟后, 添加联苯衍生物4 (6.85g, 10.97mmol) 在 EtOAc (43mL) 中的溶液。将混合物在室温下搅拌1小时。将由此形成的白色固体滤出, 然后将液体倒入 H_2O (100mL) 中并用 EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层通过硅藻土垫过滤, 用 H_2O (100mL) 中的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的饱和溶液、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (用石油醚中10%至50%的 EtOAc 洗脱) 纯化。获得希望的呈白色固体状的酸5 (5.27g, 10.75mmol, 98%)。

[0505] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-23-氧代-24, 24, 24-三氟甲基-5 β -胆烷 (6)

[0506] 向在 0°C 冷却的5 (14.20g, 28.98mmol) 在甲苯 (125mL) 的溶液中添加吡啶 (11.44g, 144.90mmol) 和三氟乙酸酐 (30.43g, 144.90mmol)。将混合物回流18小时。在室温下冷却后, 将深色混合物在 45°C 下用 H_2O (120mL) 处理1小时, 在室温下冷却并通过小心添加 HCl 1N (100mL) 酸化。然后将混合物用 AcOEt (3x 80mL) 萃取, 将收集的有机层用盐水 (100mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 在真空下过滤并在减压下浓缩。将棕色油状残余物通过硅胶垫 (h: 10cm, ϕ : 4 cm) 过滤, 用石油醚/ AcOEt (8:2, v/v) 收集粗品, 并获得希望的呈黄色固体状的三氟

甲基酮6 (15.7g), 将其不经进一步纯化而用于下一步骤。3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-23-内半缩醛衍生物 (7)

[0507] 向装备有机械搅拌和光修复的烧瓶中的粗6 (15.7g) 在乙腈 (415mL) 的溶液中添加^tBuOH (135mL) 和溶解于H₂O (395mL) 中的EDTA (170mg, 0.584mmol)。分批添加NaHCO₃ (36.79g, 438.00mmol) 和过硫酸氢钾制剂 (89.64g, 146.00mmol), 并将所得悬浮液剧烈搅拌18小时。将混合物过滤以除去固体, 用盐水 (100mL) 稀释并用Et₂O (3x 150mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (150mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶垫 (h:12cm, ϕ : 5 cm) 过滤, 用石油醚/AcOEt (9:1, v/v) 收集粗品。获得9.60g希望的内半缩醛7。将粗物质照这样用于下个步骤。

[0508] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-23-内酯衍生物 (8)

[0509] 向7 (9.60g, 17.20mmol) 在MeOH (50mL) 中的溶液中添加水性KOH 10M的溶液 (25.8mL, 258.0mmol), 并将混合物在回流下搅拌18小时。在减压下除去MeOH, 添加H₂O (25mL) 并将所得混合物再回流24小时。在室温下冷却后, 将混合物用Et₂O (3x 50mL) 洗涤, 用HCl 3N酸化并用CHCl₃ (3x 150mL) 萃取。将收集的有机层经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱纯化, 用CHCl₃/MeOH/AcOH (97:3:0.1, v/v) 的等度溶液洗脱。除去溶剂后, 获得5.70g (mmol, 48%来自中间体5) 希望的中间体8。

[0510] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-内酯衍生物 (9)

[0511] 向内酯8 (1.75g, 4.33mmol) 在CH₂Cl₂ (30mL) 中的溶液中依次添加二异丙基乙胺 (5.03g, 38.98mmol)、二甲基氨基吡啶 (0.05g, 0.43mmol) 和氯甲基甲基醚 (2.08g, 25.99mmol), 并将混合物回流48小时。将反应通过添加H₂O (30mL) 淬灭, 并分离两相。将有机相用HCl 1N (30mL)、NaHCO₃的饱和溶液 (30mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 在真空下过滤并在减压下浓缩。将受保护的衍生物9不经进一步纯化用于下个步骤。

[0512] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-16 β , 23-二羟基-24-降-5 β -胆烷 (10)

[0513] 向在0°C冷却的LiAlH₄ (0.49g, 12.99mmol) 在THF (30mL) 中的悬浮液中逐滴添加9 (2.13g, 4.33mmol) 在THF (20mL) 中的溶液。将反应搅拌30分钟。缓慢且小心地分批添加十水Na₂SO₄, 直到氢释放消失。将混合物在真空下过滤, 用AcOEt (5x 5mL) 洗涤固体残余物; 将收集的有机相在减压下浓缩, 以提供1.91g (3.86mmol, 89%) 希望的四羟基胆汁酸衍生物10, 将其不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0514] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-16 β -羟基-23-乙酰氧基-24-降-5 β -胆烷 (11)

[0515] 向10 (1.42g, 2.86mmol) 在CH₂Cl₂ (120mL) 中的溶液中添加Ac₂O (0.81mL, 8.59mmol) 和Et₃N (1.81mL, 12.88mmol), 并将所得溶液在室温下搅拌12小时。将混合物倒入NaHCO₃的饱和溶液 (100mL) 中, 并用CH₂Cl₂ (2x 60mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且在减压下浓缩。将粗品11 (1.46g) 照这样用于下个步骤。

[0516] 3 α , 7 α , 16 β -三甲氧基甲基氧基6 α -乙基-23-乙酰氧基-24-降-5 β -胆烷 (12)

[0517] 向11 (1.46g, 约2.86mmol) 在CH₂Cl₂ (50mL) 中的溶液中依次添加二异丙基乙胺 (1.97mL, 11.45mmol)、二甲基氨基吡啶 (0.03g, 0.27mmol) 和氯甲基甲基醚 (0.65mL, 8.59mmol)。将混合物回流5小时。将反应通过添加H₂O (30mL) 淬灭, 并分离两相。将有机相用HCl 1N (30mL)、NaHCO₃饱和溶液 (30mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将衍生物12 (1.51g) 不经进一步纯化而用于下个步骤。

[0518] 3 α ,7 α ,16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-羟基-24-降-5 β -胆烷(13)

[0519] 向12(1.51g,约2.86mmol)在MeOH(50mL)中的溶液中添加NaOH(0.57g,14.31mmol),并将混合物回流3小时。将反应在室温下冷却,并将溶剂在减压下除去。将粗品溶解于CH₂Cl₂(50mL)中,用H₂O(50mL)、盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将残余物通过硅胶快速色谱(用石油醚中的乙酸乙酯(5%至30%)洗脱)纯化,获得希望的呈浅黄色油状物的化合物64(1.35g,2.49mmol,87%来自中间体10)。

[0520] 3 α ,7 α ,16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-碘-24-降-5 β -胆烷(14)

[0521] 向三苯基膦(4.6g,17.56mmol)在CH₂Cl₂(50mL)中的溶液中添加碘(2.05g,16.18mmol)。在10分钟后,将咪唑(1.16g,17.10mmol)添加到溶液中。再15分钟后,添加醇13(1.25g,2.31mmol)在CH₂Cl₂(50mL)中的溶液,并将所得混合物在室温下搅拌48小时。然后将反应物倒入H₂O(100mL)中,分离各相,并将水相用CH₂Cl₂(2x 60mL)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下蒸发。将粗品通过硅胶快速色谱纯化,用石油醚溶液中的乙酸乙酯(5%至20%)洗脱,产生1.05g(1.65mmol,71%)希望的纯碘衍生物14。

[0522] 3 α ,7 α ,16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23-氰基-24-降-5 β -胆烷(15)

[0523] 向碘代衍生物14(1.03g,1.58mmol)在DMSO(15mL)中的溶液中添加氰化钠(0.09g,1.90mmol)并将混合物在80℃下搅拌3小时。然后使混合物冷却至室温,用CH₂Cl₂(100mL)稀释,用NaHCO₃的饱和溶液(50mL)、H₂O(50mL)、盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将混合物通过硅胶快速色谱纯化,用石油醚中的乙酸乙酯(10%至30%)洗脱,以给出0.80g(1.45mmol,92%)纯15。

[0524] 3 α ,7 α ,16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -24-N-羟基-胆烷脒(16)

[0525] 向15(0.16g,0.29mmol)在乙醇(15mL)中的溶液中添加十水碳酸钠(1.25g,4.36mmol)和盐酸羟胺(0.30g,4.36mmol)。将所得混合物回流18小时。在减压下除去溶剂,将粗品溶解于CH₂Cl₂(30mL)中并用H₂O(30mL)、盐水(30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下蒸发。将残余物(0.17g)照这样用于下一步骤。

[0526] 3 α ,7 α ,16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -24-N[(乙氧基羰基)氧基]亚氨基胆烷酰胺(17)

[0527] 在0℃向粗羟基脒16(0.17g,0.29mmol)在CH₂Cl₂(10mL)中的溶液中添加氯甲酸乙酯(0.04g,0.38mmol)和吡啶(0.03g,0.44mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时。将反应通过添加H₂O(15mL)淬灭。分离各相,并将水相用CH₂Cl₂(2x 15mL)萃取。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下蒸发。将粗残余物(0.18g)不经进一步纯化而用于下个步骤。

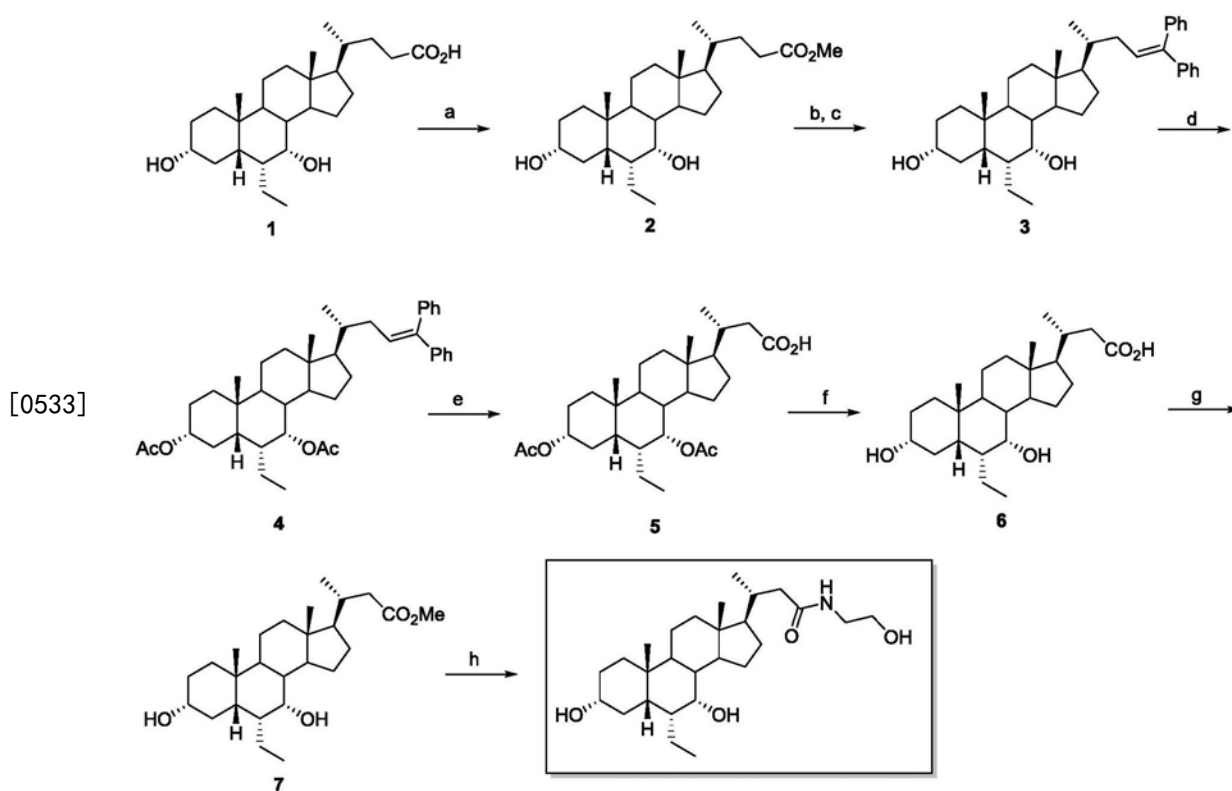
[0528] 3 α ,7 α ,16 β -三甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -23-([1,2,4]-噁二唑-3-酮-5基)-胆烷(18)

[0529] 在吡啶(1mL)的存在下,将粗17(0.18g,0.29mmol)在甲苯(5mL)中的溶液回流48小时。将反应用EtOAc(20mL)稀释,用H₂O(30mL)和HCl13N(30mL)与NaHCO₃饱和溶液(30mL)、盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将衍生物18(0.17g)不经进一步纯化而用于下个步骤。3 α ,7 α ,16 β -三羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -23-([1,2,4]-噁二唑-3-酮-5基)-胆烷(化合物18)

[0530] 向粗化合物18 (0.19g) 在丙酮 (5mL) 中的溶液中添加HCl 3N (1mL), 并将混合物在35°C下搅拌48小时。将溶剂在减压下蒸发, 悬浮于H₂O (10mL) 中并用CH₂Cl₂ (2x 10mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (10mL)、盐水 (10mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且在减压下蒸发。将混合物通过硅胶快速色谱纯化, 在0.1% AcOH的存在下使用氯仿中的甲醇溶液 (1%至10%)。蒸发溶剂, 提供11mg呈白色固体状的化合物18 (8%产率来自自13)。

[0531] rf: 0.51 (TLC: 硅胶60F₂₅₄S; 洗脱液: CHCl₃/MeOH/AcOH 90:10:1)。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ: 0.87-0.93 (9H, m, 18-CH₃+19-CH₃+CH₂CH₃), 1.03 (3H, d, J=6.4Hz, 21-CH₃), 2.36-2.32 (1H, m, 22-CH₂), 2.50-2.57 (1H, m, 23-CH₂), 2.63-2.67 (1H, m, 23-CH₂), 3.25-3.33 (1H, m, 3-CH), 3.65 (1H, s, 7-CH), 4.33-4.37 (1H, m, 16-CH)。¹³C-NMR (CDCl₃, 100.6MHz) δ: 10.9, 12.2, 17.2, 20.5, 22.1, 22.4, 22.6, 30.0, 30.1, 31.5, 33.2, 33.4, 35.5 (x 2), 36.0, 39.9, 40.0, 42.0, 42.5, 45.8, 61.3, 70.0, 71.8, 72.0, 160.8, 161.1。

[0532] 实例19: 化合物19的合成



[0534] 试剂与条件: a) pTSA, MeOH, us; b) PhMgBr, THF, 回流; c) EtOH, HCl, 80°C; d) Ac₂O, Bi(OTf)₃, CH₂Cl₂; e) NaIO₄, H₂SO₄, RuCl₃ · H₂O, H₂O, AcOEt, MeCN; f) KOH, MeOH, H₂O, 125°C, μW; g) pTSA, MeOH, us; h) 乙醇胺, MeOH, 130°C, μW。

[0535] 3α, 7α-二羟基-6α-乙基-5β-胆烷酸甲酯 (2)

[0536] 向OCA (1) (5.0g, 11.9mmol) 在MeOH (100mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (0.23g, 1.19mmol), 并将混合物在室温下超声处理90分钟。在减压下除去溶剂, 将残余物溶解于CHCl₃ (100mL) 中, 用NaHCO₃的饱和溶液 (100mL)、H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下蒸发。将由此获得的白色固体 (5.17g, 11.89mmol) 不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0537] 3α, 7α-二羟基-6α-乙基-24, 24-联苯基-5β-胆烷-23-烯 (3)

[0538] 向6 α -乙基-3 α ,7 α -二羟基-5 β -胆烷酸甲酯(2) (5.17g,11.89mmol) 在无水THF (125mL) 中的溶液中逐滴添加Et₂O (39.6mL,118.9mmol) 中的苯基溴化镁3M。将混合物回流12小时。在室温冷却后,将混合物用H₂O (100mL) 和HCl 3M (100mL) 处理。将混合物用EtOAc (3x 80mL) 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下蒸发。将粗品溶解于MeOH (100mL) 中并在HCl 37% (10mL) 的存在下回流1小时。蒸发MeOH,将获得的残余物溶解于EtOAc (120mL) 中,用H₂O (2x 100mL)、饱和NaHCO₃ (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将联苯基衍生物3不经纯化用于下一步骤。

[0539] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24,24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯(4)

[0540] 向3 (6.42g,11.89mmol) 在CH₂Cl₂ (70mL) 中的溶液中添加乙酸酐 (6.06g,59.45mmol) 和三氟甲磺酸铋 (0.39g,0.59mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。然后小心添加NaHCO₃饱和水溶液 (50mL),并分离各相。将水层用CH₂Cl₂ (2x 50mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(使用由石油醚/EtOAc (95:5 \rightarrow 7:3,v/v) 构成的洗脱液) 纯化,获得5.56g (8.91mmol,75%) 希望的中间体4。

[0541] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸(5)

[0542] 向高碘酸钠 (21.13g,98.73mmol) 在H₂O (20mL) 中的悬浮液中添加H₂O (3.22mL) 中的H₂SO₄ 2N,并将混合物在室温下搅拌1小时。将混合物冷却至0 $^{\circ}$ C,并用一次添加的三氯化钨水合物 (0.11g,0.55mmol) 处理。1小时后,将乙腈 (31mL) 添加到溶液中,并在又5分钟后,添加联苯衍生物4 (6.85g,10.97mmol) 在EtOAc (43mL) 中的溶液。将混合物在室温下搅拌1小时。将由此形成的白色固体滤出,然后将液体倒入H₂O (100mL) 中并用EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层通过硅藻土垫过滤,用H₂O (100mL) 中的Na₂S₂O₃的饱和溶液、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(用石油醚中10%至50%的EtOAc洗脱) 纯化。获得希望的呈白色固体状的酸5 (5.27g,10.75mmol,98%)。

[0543] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸(6)

[0544] 向3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷酸(5) (5.27g,10.75mmol) 在MeOH (70mL) 中的溶液中添加KOH水溶液 (6.02g,在10mL H₂O中107.5mmol)。将反应分成约15mL的6批。将每批进行微波照射 (T=120 $^{\circ}$ C,P_{最大}=270psi,功率_{最大}=200W) 2小时。收集不同批次,在减压下除去溶剂,将粗品溶解于H₂O (100mL) 中并用Et₂O (2x 50mL) 萃取。将水相用HCl 3N酸化并用CH₂Cl₂ (3x 80mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下蒸发。将粗品通过快速色谱(在0.1%AcOH的存在下用CHCl₃中的MeOH (0-10%) 洗脱) 纯化,以提供希望的呈白色固体状的酸6 (3.85g,9.46mmol,88%)。

[0545] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降5 β -胆烷-23-酸甲酯(7)

[0546] 向3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降5 β -胆烷-23-酸(6) (0.80g,1.72mmol) 在MeOH (20mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (0.04g,0.17mmol),并将混合物在25 $^{\circ}$ C下超声处理4小时。在减压下除去溶剂,将残余物溶解于CHCl₃ (80mL) 中,用NaHCO₃的饱和溶液 (80mL)、H₂O (80mL)、盐水 (80mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下蒸发。将由此获得的白色固体 (0.82g,1.72mmol) 不经进一步纯化而用于下个步骤。

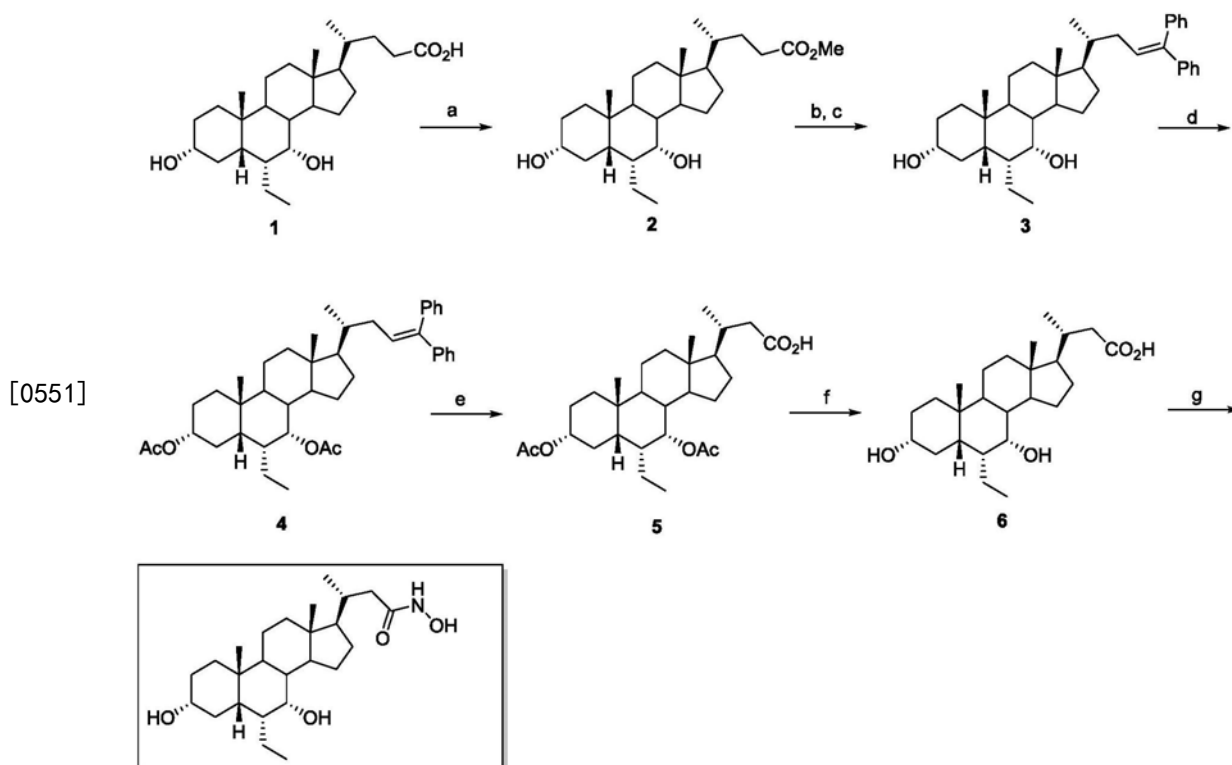
[0547] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-N-(2-羟乙基)-24-降-5 β -胆烷-23-酰胺(化合物19)

[0548] 将甲酯7 (0.82g,1.72mmol) 和乙醇胺 (8.08g,132.24mmol) 在MeOH (8mL) 中的混合

物进行微波照射 ($T=130^{\circ}\text{C}$, $P_{\text{最大}}=200\text{psi}$, 功率_{最大} $=200\text{W}$) 1小时。将混合物在减压下浓缩, 将残余物溶解于 CH_2Cl_2 (50mL) 中并用 HCl 3N (50mL)、 H_2O (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 并在减压下蒸发。将粗品通过硅胶快速色谱 (用 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (0 \rightarrow 10%+0.1%的 AcOH) 洗脱) 纯化, 以提供希望的呈白色固体状的衍生物化合物19 (0.60g, 1.34mmol, 78%)。

[0549] rf:0.42 (TLC:硅胶 F_{254}S ;洗脱液: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 90:10:0.1)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) δ 0.53 (3H, s, 18- CH_3), 0.71-0.77 (9H, m, 19- $\text{CH}_3+\text{CH}_2\text{CH}_3+21-\text{CH}_3$), 2.05 (1H, m, 22- CH_2), 2.98-3.04 (3H, m, 3- $\text{CH}+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.27 (2H, t, $J=6.0\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.39 (1H, s, 7- CH), 3.10-3.40 (1H, bs, OH), 3.96 (1H, s, OH), 4.05-4.37 (1H, bs, OH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 400MHz) δ 12.1 (x 2), 19.4, 20.7, 22.5, 23.4 (x 2), 28.2, 30.7, 32.9, 33.8, 33.9, 35.5, 35.8, 41.6, 41.7, 42.4, 43.2, 45.6, 50.5, 56.4, 60.3, 68.7, 70.9, 172.3。

[0550] 实例20:化合物20的合成



[0552] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) PhMgBr , THF, 回流; c) EtOH, HCl , 80°C ; d) Ac_2O , $\text{Bi}(\text{OTf})_3$, CH_2Cl_2 ; e) NaIO_4 , H_2SO_4 , $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, H_2O , AcOEt , MeCN ; f) KOH , MeOH , H_2O , 125°C , μW ; g) DMT-MM , Et_3N , NH_2OH , EtOH, 回流。

[0553] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷酸甲酯 (2)

[0554] 向OCA (1) (5.0g, 11.9mmol) 在 MeOH (100mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (0.23g, 1.19mmol), 并将混合物在室温下超声处理90分钟。在减压下除去溶剂, 将残余物溶解于 CHCl_3 (100mL) 中, 用 NaHCO_3 的饱和溶液 (100mL)、 H_2O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 并在减压下蒸发。将由此获得的白色固体 (5.17g, 11.89mmol) 不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0555] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-24, 24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (3)

[0556] 向6 α -乙基-3 α , 7 α -二羟基-5 β -胆烷酸甲酯 (2) (5.17g, 11.89mmol) 在无水THF

(125mL) 中的溶液中逐滴添加Et₂O (39.6mL, 118.9mmol) 中的苯基溴化镁3M。将混合物回流12小时。在室温冷却后, 将混合物用H₂O (100mL) 和HCl 3M (100mL) 处理。将混合物用EtOAc (3x 80mL) 萃取, 将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将粗品溶解于MeOH (100mL) 中并在HCl 37% (10mL) 的存在下回流1小时。蒸发MeOH, 将获得的残余物溶解于EtOAc (120mL) 中, 用H₂O (2x 100mL)、饱和NaHCO₃ (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将联苯基衍生物3不经纯化用于下一步骤。

[0557] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24, 24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (4)

[0558] 向3 (6.42g, 11.89mmol) 在CH₂Cl₂ (70mL) 中的溶液中添加乙酸酐 (6.06g, 59.45mmol) 和三氟甲磺酸铋 (0.39g, 0.59mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。然后小心添加NaHCO₃饱和水溶液 (50mL), 并分离各相。将水层用CH₂Cl₂ (2x 50mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (使用由石油醚/EtOAc (95:5 \rightarrow 7:3, v/v) 构成的洗脱液) 纯化, 获得5.56g (8.91mmol, 75%) 希望的中间体4。

[0559] 3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸 (5)

[0560] 向高碘酸钠 (21.13g, 98.73mmol) 在H₂O (20mL) 中的悬浮液中添加H₂O (3.22mL) 中的H₂SO₄ 2N, 并将混合物在室温下搅拌1小时。将混合物冷却至0 $^{\circ}$ C, 并用一次添加的三氯化钨水合物 (0.11g, 0.55mmol) 处理。1小时后, 将乙腈 (31mL) 添加到溶液中, 并在又5分钟后, 添加联苯衍生物4 (6.85g, 10.97mmol) 在EtOAc (43mL) 中的溶液。将混合物在室温下搅拌1小时。将由此形成的白色固体滤出, 然后将液体倒入H₂O (100mL) 中并用EtOAc (3x 50mL) 萃取。将合并的有机层通过硅藻土垫过滤, 用H₂O (100mL) 中的Na₂S₂O₃的饱和溶液、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱 (用石油醚中10%至50%的EtOAc洗脱) 纯化。获得希望的呈白色固体状的酸5 (5.27g, 10.75mmol, 98%)。

[0561] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸 (6)

[0562] 向3 α , 7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷酸 (5) (5.27g, 10.75mmol) 在MeOH (70mL) 中的溶液中添加KOH水溶液 (6.02g, 在10mL H₂O中107.5mmol)。将反应分成约15mL的6批。将每批进行微波照射 (T=120 $^{\circ}$ C, P_{最大}=270psi, 功率_{最大}=200W) 2小时。收集不同批次, 在减压下除去溶剂, 将粗品溶解于H₂O (100mL) 中并用Et₂O (2x 50mL) 萃取。将水相用HCl 3N酸化并用CH₂Cl₂ (3x 80mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且在减压下蒸发。将粗品通过快速色谱 (在0.1% AcOH的存在下用CHCl₃中的MeOH (0-10%) 洗脱) 纯化, 以提供希望的呈白色固体状的酸6 (3.85g, 9.46mmol, 88%)。

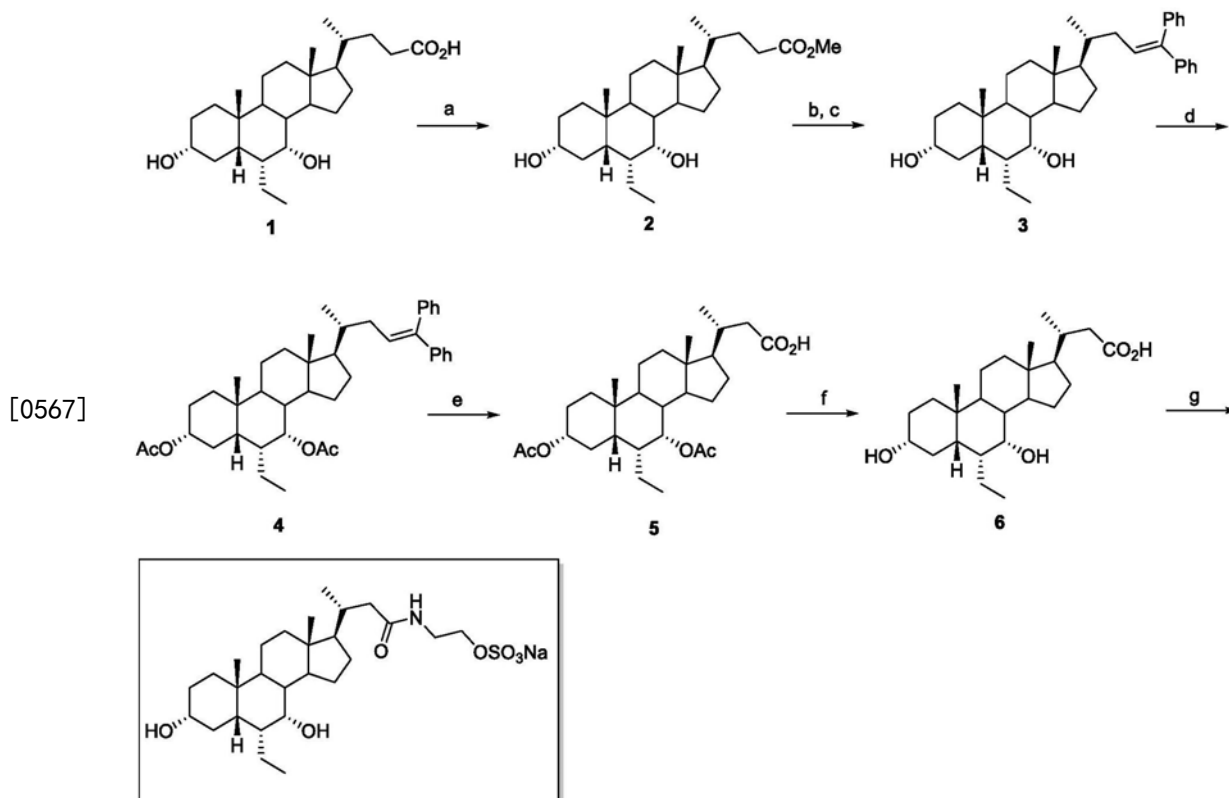
[0563] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-N-(2-羟乙基)-24-降-5 β -胆烷-23-羟基酰胺 (化合物20)

[0564] 向6 α -乙基-3 α , 7 α -二羟基-23-降-5 β -胆烷酸酯 (6) (0.50g, 1.23mmol) 在无水DMF (20mL) 中的溶液中添加DMT-MM (1.36g, 4.92mmol) 和三乙胺 (1.24g, 12.30mmol), 并将混合物在室温下搅拌1小时。添加新鲜制备的NH₂OH (0.06g, 1.84mmol) 在无水DMF中的溶液, 并将混合物回流4小时。将反应倒入H₂O (40mL) 中, 并且用CHCl₃ (3x 30mL) 萃取。将合并的有机层用HCl 1N (40mL) 与NaHCO₃的饱和溶液 (40mL)、H₂O (40mL)、盐水 (40mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且在减压下浓缩。将粗品使用CHCl₃/MeOH (0 \rightarrow 8%+0.1% AcOH) 的溶液通过硅胶快速色谱纯化。获得希望的呈白色固体状的化合物化合物20 (0.24g, 0.57mmol, 46%)。

[0565] rf: 0.24 (TLC: 硅胶60RP-8F₂₅₄S; 洗脱液: H₂O/MeCN 50:50)。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz)

δ 0.61 (3H, s, 18-CH₃), 0.77-0.88 (9H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃+21-CH₃), 2.13-2.16 (1H, m, 22-CH₂), 3.18-3.20 (1H, m, 3-CH), 3.53 (1H, s, 7-CH)。¹³C-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 10.59, 10.81, 17.9, 20.5, 22.0, 22.3, 23.0, 27.8, 29.9, 32.9, 33.0, 33.6, 35.1, 35.2, 39.5 (x 2), 40.0, 41.6, 42.1, 45.2, 50.2, 56.3, 69.5, 71.6, 170.9。

[0566] 实例21:化合物21的合成



[0568] 试剂与条件:a) pTSA, MeOH, us; b) PhMgBr, THF, 回流; c) EtOH, HCl, 80 °C; d) Ac₂O, Bi(OTf)₃, CH₂Cl₂; e) NaIO₄, H₂SO₄, RuCl₃ · H₂O, H₂O, AcOEt, MeCN; f) KOH, MeOH, H₂O, 125 °C, μ W; g) EEDQ, Et₃N, 2-氨基乙基硫酸钠, EtOH, 回流。

[0569] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷酸甲酯 (2)

[0570] 向OCA (1) (5.0g, 11.9mmol) 在MeOH (100mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (0.23g, 1.19mmol), 并将混合物在室温下超声处理90分钟。在减压下除去溶剂, 将残余物溶解于CHCl₃ (100mL) 中, 用NaHCO₃的饱和溶液 (100mL)、H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下蒸发。将由此获得的白色固体 (5.17g, 11.89mmol) 不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0571] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-24, 24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (3)

[0572] 向6 α -乙基-3 α , 7 α -二羟基-5 β -胆烷酸甲酯 (2) (5.17g, 11.89mmol) 在无水THF (125mL) 中的溶液中逐滴添加Et₂O (39.6mL, 118.9mmol) 中的苯基溴化镁3M。将混合物回流12小时。在室温冷却后, 将混合物用H₂O (100mL) 和HCl 3M (100mL) 处理。将混合物用EtOAc (3x 80mL) 萃取, 将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将粗品溶解于MeOH (100mL) 中并在HCl 37% (10mL) 的存在下回流1小时。蒸发MeOH, 将获得的残余物溶解于EtOAc (120mL) 中, 用H₂O (2x 100mL)、NaHCO₃的饱和溶液 (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将联苯基衍生物3不经纯化用于下一步骤。

[0573] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24,24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯(4)

[0574] 向3(6.42g,11.89mmol)在CH₂Cl₂(70mL)中的溶液中添加乙酸酐(6.06g,59.45mmol)和三氟甲磺酸铍(0.39g,0.59mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。然后小心添加NaHCO₃饱和水溶液(50mL),并分离各相。将水层用CH₂Cl₂(2x 50mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(使用由石油醚/EtOAc(95:5→7:3,v/v)构成的洗脱液)纯化,获得5.56g(8.91mmol,75%)希望的中间体4。

[0575] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸(5)

[0576] 向高碘酸钠(21.13g,98.73mmol)在H₂O(20mL)中的悬浮液中添加H₂O(3.22mL)中的H₂SO₄ 2N,并将混合物在室温下搅拌1小时。将混合物冷却至0℃,并用一次添加的三氯化钨水合物(0.11g,0.55mmol)处理。1小时后,将乙腈(31mL)添加到溶液中,并在又5分钟后,添加联苯衍生物4(6.85g,10.97mmol)在EtOAc(43mL)中的溶液。将混合物在室温下搅拌1小时。将由此形成的白色固体滤出,然后将液体倒入H₂O(100mL)中并用EtOAc(3x 50mL)萃取。将合并的有机层通过硅藻土垫过滤,用H₂O(100mL)中的Na₂S₂O₃的饱和溶液、盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(用石油醚中10%至50%的EtOAc洗脱)纯化。获得希望的呈白色固体状的酸5(5.27g,10.75mmol,98%)。

[0577] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸(6)

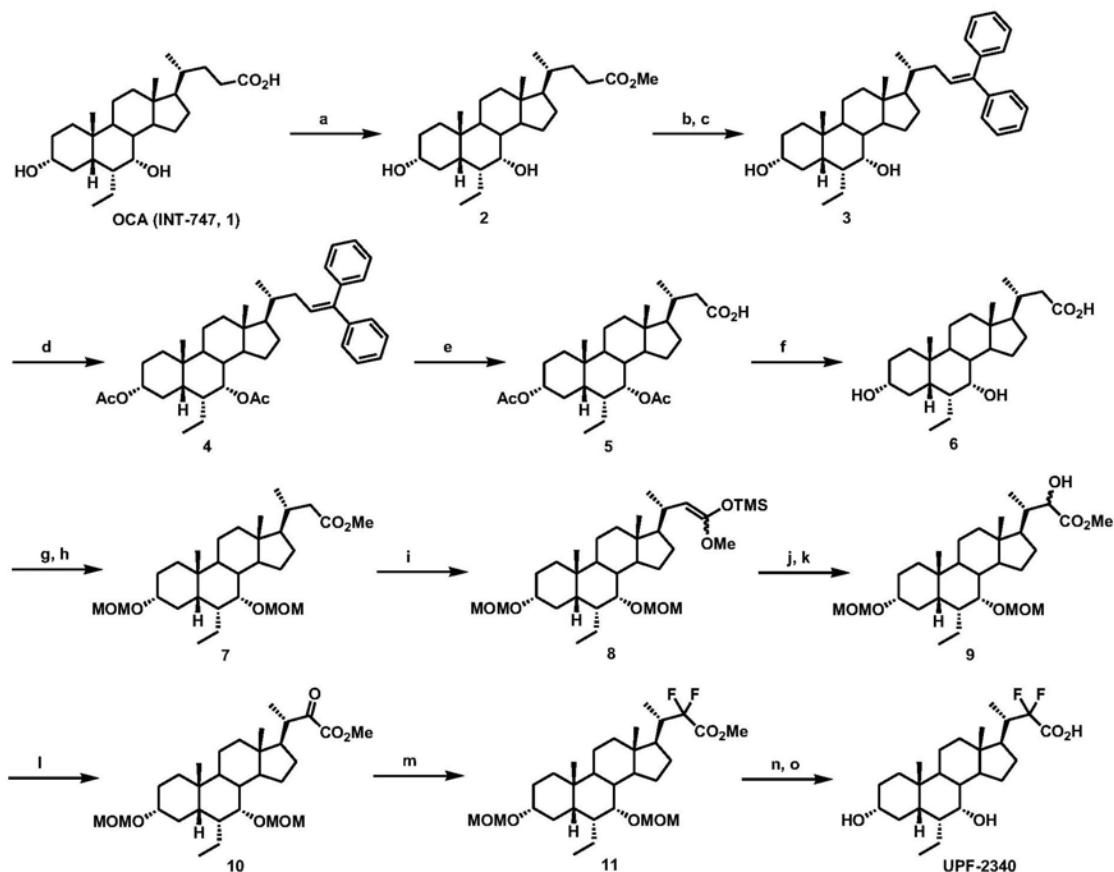
[0578] 向3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷酸(5)(5.27g,10.75mmol)在MeOH(70mL)中的溶液中添加KOH水溶液(6.02g,在10mL H₂O中107.5mmol)。将反应分成约15mL的6批。将每批进行微波照射(T=120℃,P_{最大}=270psi,功率_{最大}=200W)2小时。收集不同批次,在减压下除去溶剂,将粗品溶解于H₂O(100mL)中并用Et₂O(2x 50mL)萃取。将水相用HCl 3N酸化并用CH₂Cl₂(3x 80mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下蒸发。将粗品通过快速色谱(在0.1%AcOH的存在下用CHCl₃中的MeOH(0-10%)洗脱)纯化,以提供希望的呈白色固体状的酸6(3.85g,9.46mmol,88%)。

[0579] 2-(3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酰胺基)-乙基硫酸钠(化合物21)

[0580] 向6 α -乙基-3 α ,7 α -二羟基-23-降-5 β -胆烷酸酯(6)(0.90g,2.21mmol)在乙醇(25mL)中的溶液中添加三乙胺(2.24g,22.13mmol)和2-乙氧基-1-乙氧基羰基-1,2-二氢喹啉(1.37g,5.53mmol),并将所得混合物在室温下搅拌30分钟,在50℃下搅拌1小时。将硫酸乙醇胺钠(通过乙醇胺和吡啶三硫氧化物复合物在乙腈中的反应制备,产率87%)(0.72g,4.43mmol)添加到混合物中,使其在90℃反应6小时。将混合物在减压下浓缩,将残余物溶解于水性NaOH(5%于H₂O中,30mL)中并搅拌30分钟。将水相用EtOAc(3x 50mL)萃取并在减压下浓缩。将粗品通过反相快速色谱(用水中的乙腈(5%至30%)洗脱)纯化,得到0.78g(1.41mmol,64%)化合物21。

[0581] rf:0.44(TLC:硅胶60RP-8F₂₅₄S;洗脱液:H₂O/MeCN 65:35)。¹H-NMR(CD₃OD,400MHz) δ 0.65(3H,s,18-CH₃),0.80-0.84(6H,m,19-CH₃+CH₂CH₃),0.89(3H,d,J=6.1Hz,21-CH₃),3.28(1H,dd,J₁=2.4Hz,J₂=12.4Hz,22-CH₂),3.20-3.25(1H,m,3-CH),3.37(2H,t,J=5.2Hz,CH₂CH₂O),3.57(1H,s,7-CH),3.96(2H,t,J=5.2Hz,CH₂CH₂O)。¹³C-NMR(CD₃OD,400MHz) δ 10.5,10.8,18.3,20.4,22.0,22.2,23.0,27.8,29.7,33.0,33.9,35.1,35.2,38.6,39.5,40.0,41.6,42.3,43.0,45.4,50.2,56.4,65.5,69.9,71.7,174.7。

[0582] 实例22:化合物22的合成



[0583]

[0584] 试剂与条件:a) MeOH, pTSA, 超声; b) PhMgBr, THF, 回流; c) HCl, EtOH, 60 °C; d) Ac₂O, Bi(OTf)₃, CH₂Cl₂, r. t.; e) NaIO₄, RuCl₃ · H₂O, H₂SO₄, MeCN, H₂O, EtOAc, r. t. 至 0 °C; f) KOH, MeOH, H₂O, 微波, 120 °C; g) MeOH, pTSA, 超声; h) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; i) LDA, TMSCl, THF, -78 °C; j) Pb(OAc)₄, CH₂Cl₂, r. t.; k) K₂CO₃, MeOH, r. t.; l) (COCl)₂, DMSO, Et₃N, CH₂Cl₂, -60 °C; m) Deoxo-fluor®, THF, 回流; n) HCl 37%, MeOH, 45 °C; o) NaOH, MeOH, 45 °C。

[0585] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷酸甲酯 (2)

[0586] 向OCA (1) (5.0g, 11.9mmol) 在MeOH (100mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (0.23g, 1.19mmol), 并将混合物在室温下超声处理90分钟。在减压下除去溶剂, 将残余物溶解于CHCl₃ (100mL) 中, 用NaHCO₃的饱和溶液 (100mL)、H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下蒸发。将由此获得的白色固体 (5.17g, 11.89mmol) 不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0587] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-24, 24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯 (3)

[0588] 向6 α -乙基-3 α , 7 α -二羟基-5 β -胆烷酸甲酯 (2) (5.17g, 11.89mmol) 在无水THF (125mL) 中的溶液中逐滴添加Et₂O (39.6mL, 118.9mmol) 中的苯基溴化镁3M。将混合物回流12小时。在室温冷却后, 将混合物用H₂O (100mL) 和HCl 3M (100mL) 处理。将混合物用EtOAc (3x 80mL) 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并在减压下蒸发。将粗品溶解于MeOH (100mL) 中并在HCl 37% (10mL) 的存在下回流1小时。蒸发MeOH, 将获得的残余物溶解于EtOAc (120mL) 中, 用H₂O (2x 100mL)、饱和NaHCO₃ (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将联苯基衍生物3不经纯化用于下一步骤。

[0589] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24,24-联苯基-5 β -胆烷-23-烯(4)

[0590] 向3(6.42g,11.89mmol)在CH₂Cl₂(70mL)中的溶液中添加乙酸酐(6.06g,59.45mmol)和三氟甲磺酸铍(0.39g,0.59mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。然后小心添加NaHCO₃饱和水溶液(50mL),并分离各相。将水层用CH₂Cl₂(2x 50mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(使用由石油醚/EtOAc(95:5→7:3,v/v)构成的洗脱液)纯化,获得5.56g(8.91mmol,75%)希望的中间体4。

[0591] 3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸(5)

[0592] 向高碘酸钠(21.13g,98.73mmol)在H₂O(20mL)中的悬浮液中添加H₂O(3.22mL)中的H₂SO₄ 2N,并将混合物在室温下搅拌1小时。将混合物冷却至0℃,并用一次添加的三氯化钨水合物(0.11g,0.55mmol)处理。1小时后,将乙腈(31mL)添加到溶液中,并在又5分钟后,添加联苯衍生物4(6.85g,10.97mmol)在EtOAc(43mL)中的溶液。将混合物在室温下搅拌1小时。将由此形成的白色固体滤出,然后将液体倒入H₂O(100mL)中并用EtOAc(3x 50mL)萃取。将合并的有机层通过硅藻土垫过滤,用H₂O(100mL)中的Na₂S₂O₃的饱和溶液、盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱(用石油醚中10%至50%的EtOAc洗脱)纯化。获得希望的呈白色固体状的酸5(5.27g,10.75mmol,98%)。

[0593] 3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸(6)

[0594] 向3 α ,7 α -二乙酰氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷酸(5)(5.27g,10.75mmol)在MeOH(70mL)中的溶液中添加KOH水溶液(6.02g,在10mL H₂O中107.5mmol)。将反应分成约15mL的6批。将每批进行微波照射(T=120℃,P_{最大}=270psi,功率_{最大}=200W)2小时。收集不同批次,在减压下除去溶剂,并将粗品溶解于H₂O(100mL)中并用Et₂O(2x 50mL)萃取。将水相用HCl 3N酸化并用CH₂Cl₂(3x 80mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且在减压下蒸发。将粗品通过快速色谱(在0.1%AcOH的存在下用CHCl₃中的MeOH(0-10%)洗脱)纯化,以提供希望的呈白色固体状的酸6(3.85g,9.46mmol,88%)。

[0595] 3 α ,7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷-23-酸甲酯(7)

[0596] 向3 α ,7 α -二羟基-6 α -乙基-24-降-5 β -胆烷酸(6)(3.0g,7.39mmol)在MeOH(50mL)中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物(0.14g,0.74mmol),并将所得混合物在室温下超声处理4小时。在减压下除去溶剂,将残余物溶解于CHCl₃(80mL)中并用NaHCO₃的饱和溶液(50mL)、H₂O(50mL)和盐水(50mL)洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。将由此获得的酯溶解于CH₂Cl₂(30mL)中,并将二异丙基乙胺(10.17mL,59.11mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶(0.09g,0.74mmol)和甲氧基甲基氯化物(3.35mL,44.33mmol)依次添加到所得溶液中。将混合物搅拌且回流24小时。然后使反应冷却至室温,并用NH₄Cl(30mL)的饱和溶液、H₂O(30mL)和盐水(30mL)洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩,得到3.57g呈浅黄色油状物的7(3.57g,7.02mmol,95%),将其不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0597] 3 α ,7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-22(R+S)-羟基-24-降-5 β -胆烷-23-酸甲酯(9)

[0598] 向在N₂气氛下并在-40℃下冷却的在蒸馏THF(30mL)中的二异丙胺(7.92mL,55.91mmol)的搅拌溶液中逐滴添加nBuLi(在己烷中2.5M,21.52mL,53.81mmol)。15分钟后,将溶液在-78℃冷却,并且逐滴添加氯代三甲基硅烷(7.28mL,57.30mmol)。再过15分钟后,

在约20分钟内逐滴添加受保护的酯7 (3.55g, 6.99mmol) 在蒸馏THF (10mL) 中的溶液, 保持内部温度不超过 -70°C 。一旦结束添加, 将该反应混合物在 -78°C 再搅拌1小时, 并且然后在室温下升温。将挥发物在减压下去除, 并且将残余物悬浮于石油醚 (80mL) 中并在真空下过滤。将液体在减压下浓缩, 以提供希望的化合物9。将由此获得的中间体直接溶解于蒸馏 CH_2Cl_2 (20mL) 中, 并在 N_2 气氛下, 逐滴添加到新鲜结晶和不含乙酸的四乙酸铅 (IV) (6.64g, 10.484mmol) 在蒸馏 CH_2Cl_2 (30mL) 中的 0°C 冷却悬浮液中。将混合物在 0°C 下搅拌30分钟, 然后在真空下通过硅藻土垫过滤。将滤液在减压下浓缩并将残余物通过硅胶垫 (h: 8cm, ϕ : 4 cm) 快速过滤, 用石油醚/AcOEt (8:2, v/v) 收集粗品。溶剂蒸发后, 将残余物溶解于MeOH (30mL) 中, 并向所得溶液中添加固体碳酸钾 (1.93g, 13.98mmol)。将所得悬浮液在室温剧烈搅拌15分钟。然后将混合物用 CH_2Cl_2 (40mL) 稀释并在真空下过滤。将滤液用另外的 CH_2Cl_2 (50mL) 进一步稀释并用盐水 (50mL) 洗涤。分离各相, 将水相用 CH_2Cl_2 (3x 40mL) 萃取, 并且将所有收集的有机层合并, 经 Na_2SO_4 干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过快速色谱 (使用80:20 (v/v) 至50:50 (v/v) 的石油醚/AcOEt) 纯化残余物, 以提供作为两种C22-差向异构体的混合物的9 (1.17g, 2.24mmol, 32%)。

[0599] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-22-氧代-24-降-5 β -胆烷-23-酸甲酯 (10)

[0600] 向在 N_2 气氛下且于 -60°C 下冷却的在蒸馏 CH_2Cl_2 (15mL) 中的草酰氯 (0.47mL, 5.50mmol) 的溶液中逐滴添加在 CH_2Cl_2 (3mL) 中稀释的二甲基亚砷 (0.78mL, 10.99mmol)。15分钟后, 逐滴添加22-羟基衍生物9 (1.15g, 2.20mmol) 在 CH_2Cl_2 (15mL) 中的溶液, 并将所得混合物在 -60°C 下搅拌1小时。然后逐滴添加三乙胺 (3.08mL, 21.99mmol), 并且将混合物在室温下缓慢升温。将反应混合物用KOH 1M (20mL) 处理5分钟, 分离两相并将水相用 CH_2Cl_2 (2x 20mL) 萃取。将收集的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过快速色谱纯化, 通过使用90:10 (v/v) 至80:20 (v/v) 的石油醚/AcOEt收集希望的22-氧代衍生物10 (0.88g, 1.69mmol, 77%)。

[0601] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-22, 22-二氟-24-降-5 β -胆烷-23-酸甲酯 (11)

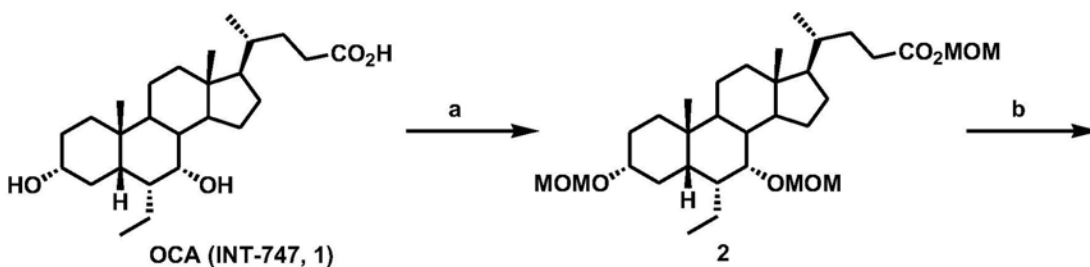
[0602] 在 N_2 气氛下, 向22-酮衍生物10 (0.50g, 0.96mmol) 在蒸馏THF (9mL) 中的溶液中添加双 (2-甲氧基乙基) 氨基三氟化硫 (Deoxo-fluor® 50% 于THF中, 3.29mL, 7.67mmol), 并将反应在 50°C 下搅拌16小时。添加补充的Deoxo-fluor® (2.27mL, 5.27mmol) 并将混合物再回流另外72小时。然后使反应冷却至室温, 并将混合物小心倒入置于水冰浴中并在磁力搅拌下的 NaHCO_3 饱和溶液 (40mL) 中。一旦 CO_2 释放结束, 将混合物用AcOEt (2x 40mL) 萃取, 将合并的有机层用 H_2O (60mL)、盐水 (60mL) 洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅垫过滤, 用石油醚/AcOEt 80:20 (v/v) 洗脱, 并将粗化合物11不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0603] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-22, 22-二氟-24-降-5 β -胆烷-23-酸 (化合物22)

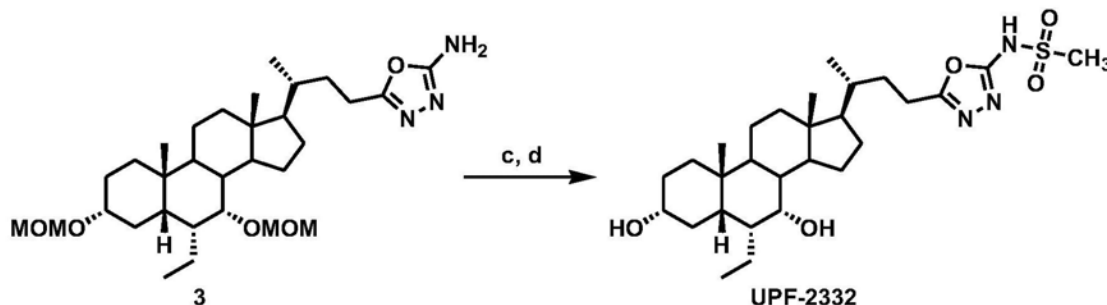
[0604] 向衍生物11 (0.96mmol) 在MeOH (12mL) 中的溶液中添加HCl 37% (0.80mL, 9.60mmol), 并将该混合物在 45°C 下搅拌12小时。然后添加氢氧化钠 (0.57g, 14.39mmol), 并将混合物在 45°C 再搅拌4小时。在减压下除去溶剂, 将残余物溶解于 H_2O (25mL) 中并用 Et_2O (2x 20mL) 洗涤。将水相通过添加HCl 3N酸化至 $\text{pH}=5$, 并用AcOEt (3x 30mL) 萃取。在减压下除去溶剂, 并将残余物通过RP-18中压液相色谱 (使用95:5 (v/v) 至40:60 (v/v) 的 $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) 纯化, 获得0.06g呈白色固体状的化合物22 (0.06g, 0.13mmol, 14%)

[0605] $R_f = 0.55$ (RP-C8SiO₂, F-254s, H₂O/MeCN 60:40)。M.p. = 254°C-256°C。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ : 0.60 (3H, s, 18-CH₃), 0.78-0.80 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 0.92 (3H, d, J=6.6Hz, 21-CH₃), 2.09-2.14 (1H, m, 20-CH), 3.08-3.12 (1H, m, 3-CH), 3.47 (1H, s, 7-CH)。¹³C-NMR (DMSO-d₆, 100.6MHz) δ 11.8, 12.1, 20.9, 22.6, 23.5, 23.9, 27.8, 30.8, 31.1, 33.0, 33.9, 35.6, 35.9, 41.6, 43.2, 45.7, 49.8, 50.8, 68.8, 71.0, 121.0 (J_{C-F}=277.6Hz), 167.2 (J_{C-F}=28.2Hz)。

[0606] 实例23: 化合物23的合成



[0607]



[0608] 试剂与条件: a) MOMCl, DIPEA, DMAP, 回流; b) NH₂NH₂, BrCN, EtOH, 回流然后 r.t.; c) CH₃SO₂Cl, Et₃N, CH₂Cl₂, 回流; d) HCl 3N, MeOH, 45°C。

[0609] 甲氧基甲基3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-酸酯 (2)

[0610] 向OCA (1) (1.0g, 2.38mmol) 在CH₂Cl₂ (40mL) 中的溶液中依次添加二异丙基乙胺 (4.94mL, 28.54mmol)、甲氧基甲基氯化物 (1.45mL, 19.03mmol) 和4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (0.06g, 0.47mmol)。将所得混合物搅拌且回流18小时。然后将反应用NH₄Cl的饱和溶液 (40mL)、H₂O (40mL) 和盐水 (40mL) 洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩, 得到1.18g 呈浅黄色油状物的2 (1.18g, 2.14mmol), 将其不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0611] 2-(3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-降-23-胆烷基)-5-氨基-1, 3, 4-噁二唑 (3)

[0612] 向酯2 (0.50g, 0.90mmol) 在EtOH (6mL) 中的溶液中添加胍一水合物 (65%于水中, 0.13mL, 1.81mmol), 并将混合物回流3小时。将反应物在室温下冷却, 并分批添加溴化氰 (0.29g, 2.71mmol)。将由此获得的悬浮液在室温下再搅拌5小时, 然后通过添加NaHCO₃的饱和溶液 (40mL) 淬灭。将混合物用AcOEt (3x 50mL) 萃取, 将合并的有机层用H₂O (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将粗品通过快速色谱纯化, 以提供希望的呈无色油状物的噁二唑胺衍生物3 (0.19g, 0.34mmol, 38%)。

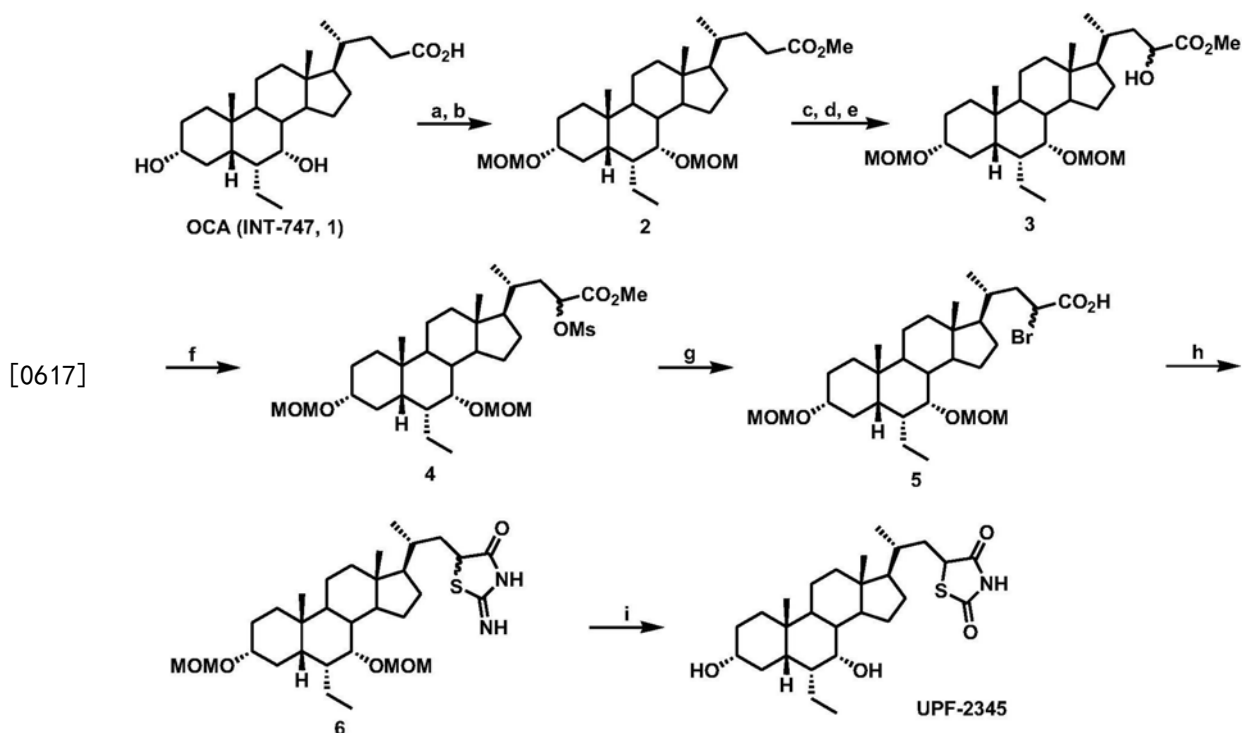
[0613] 2-(3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-5 β -胆烷-24-降-23-胆烷基)-5-甲基磺酰胺基-1, 3, 4-噁二唑 (化合物23)

[0614] 向噁二唑胺衍生物3 (0.10g, 0.18mmol) 在CH₂Cl₂ (10mL) 中的溶液中添加三乙胺

(0.16mL, 1.10mmol) 和甲磺酰氯 (0.04mL, 0.55mmol), 并将所得混合物回流4小时。然后将反应应用NH₄Cl的饱和溶液 (20mL) 淬灭, 并用CH₂Cl₂ (3x 10mL) 萃取。将合并的有机层用NaHCO₃的饱和溶液 (30mL)、H₂O (30mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。然后将残余物溶解于MeOH (3mL) 中并用HCl 3N (1mL) 处理。在减压下除去溶剂, 将残余物溶解于H₂O (15mL) 中并用Et₂O (3x 15mL) 萃取。将合并的有机层用H₂O (30mL)、盐水 (30mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥并在减压下蒸发。将粗品通过快速色谱洗脱纯化, 以给出呈白色固体状的化合物 23 (26mg, 0.05mmol, 27%)。

[0615] R_f=0.31 (SiO₂, F-254, CH₂Cl₂/MeOH 95:5)。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ: 0.57 (3H, s, 18-CH₃), 0.79-0.85 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 0.90 (3H, d, J=5.9Hz, 21-CH₃), 2.49-2.68 (2H, m, 23-CH₂), 2.93 (3H, s, SCH₃), 3.09-3.13 (1H, m, 3-CH), 3.47 (1H, s, 7-CH)。¹³C-NMR (DMSO-d₆, 100.6MHz) δ: 12.5 (2x), 18.8, 21.2, 22.5, 22.9, 23.9 (2x), 28.6, 31.1, 31.9, 33.5, 34.2, 35.5, 35.9, 36.3, 39.3, 42.1 (2x), 42.9, 46.1, 50.9, 56.6, 69.30, 71.5, 157.6, 160.6。

[0616] 实例24: 化合物24的合成



[0618] 试剂与条件: a) MeOH, pTSA, 超声; b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂, 回流; c) iPr₂NH, 在己烷中nBuLi 2.5N, TMSCl, THF, -78°C; d) Pb(OAc)₄, CH₂Cl₂, r. t.; e) K₂CO₃, MeOH, r. t.; f) MsCl, pyr, r. t.; g) LiBr, DMF, 40°C; h) (NH₂)₂CS, NaOAc, EtOH, 回流; i) 水性HCl 37%, EtOH, 回流。

[0619] 3α, 7α-二甲氧基甲基氧基-6α-乙基-5β-胆烷-24-酸甲酯 (2)

[0620] 向OCA (1) (250mg, 0.59mmol) 在MeOH (10mL) 中的溶液中添加对甲苯磺酸一水合物 (10mg, 0.06mmol), 并将所得混合物超声处理2小时。在减压下除去溶剂, 将残余物溶解于AcOEt (15mL) 中并依次用NaHCO₃的饱和溶液 (15mL)、H₂O (10mL) 和盐水 (10mL) 洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥并且在减压下浓缩。然后将残余物溶解于CH₂Cl₂ (15mL) 中, 并向所得溶液中依次添加二异丙基乙胺 (0.32mL, 4.23mmol)、4-(N,N-二甲基氨基)-吡啶 (7mg, 0.06mmol) 和甲

氧基甲基氯化物 (0.27mL, 3.55mmol)。然后将混合物回流至完全。将反应在室温下冷却并用 HCl 3N (10mL), H₂O (10mL)、NaHCO₃ 的饱和溶液 (20mL) 和盐水 (15mL) 洗涤。将有机层经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩, 得到 302mg 呈浅黄色油状物的 2 (0.3g, 0.58mmol), 将其不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0621] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (R+S)-羟基-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (3)

[0622] 向在 N₂ 气氛下并在 -40°C 下冷却的在蒸馏 THF (5mL) 中的二异丙胺 (0.65mL, 4.60mmol) 的搅拌溶液中逐滴添加 nBuLi (在己烷中 2.5M, 1.77mL, 4.43mmol)。15 分钟后, 将溶液冷却至 -78°C, 并且逐滴添加氯代三甲基硅烷 (0.59mL, 4.72mmol)。在 -70°C 分批添加 2 (0.30g, 0.58mmol) 在 THF (5mL) 中的溶液。一旦结束添加, 将反应混合物在 -78°C 下搅拌 1 小时, 并且然后使其在室温下反应。将挥发物在减压下去除。将残余物直接溶解于蒸馏的 CH₂Cl₂ (5mL) 中。在 N₂ 气氛下, 将所得溶液逐滴添加到新鲜结晶和不含乙酸的四乙酸铅 (IV) (0.38g, 0.56mmol) 在蒸馏 CH₂Cl₂ (7mL) 中的悬浮液中。30 分钟后, 将反应混合物通过硅藻土垫在真空下过滤。将滤液在减压下浓缩并将残余物通过硅胶垫过滤。将残余物溶解于 MeOH (6mL) 中, 并用碳酸钾 (0.16g, 1.15mmol) 处理。将所得悬浮液在室温剧烈搅拌 15 分钟。然后将混合物用 CH₂Cl₂ (15mL) 稀释并在真空下过滤。将滤液用另外的 CH₂Cl₂ (15mL) 进一步稀释并用盐水 (20mL) 洗涤。将水相用 CH₂Cl₂ (3x 10mL) 萃取, 并且将所有收集的有机层经 Na₂SO₄ 干燥, 并在减压下浓缩。将残余物通过快速色谱纯化, 以提供 0.13g 作为两种 C23-差向异构体的混合物的 3 (0.13g, 0.24mmol, 41%)。

[0623] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (R+S)-(甲磺酰基氧基)-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (4)

[0624] 向 3 (0.13g, 0.24mmol) 在吡啶 (5mL) 中的搅拌溶液中添加甲磺酰氯 (0.09mL, 1.18mmol), 并将所得混合物在室温下搅拌 12 小时。然后将混合物倒入 H₂O (10mL) 中并且用 CH₂Cl₂ (3x 10mL) 萃取。将收集的有机层用 HCl 0.5M (3x 5mL)、NaHCO₃ 的饱和溶液 (10mL)、盐水 (10mL) 洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩, 以给出 4 (作为两种 C23-差向异构体的混合物), 将其照这样用于下一步骤。

[0625] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23 (R+S)-溴-5 β -胆烷-24-酸甲酯 (5)

[0626] 向 4 (0.24mmol) 在 DMF (5mL) 中的溶液中添加溴化锂 (0.06g, 0.71mmol), 并将所得混合物在 40°C 下搅拌 6 小时。然后添加 AcOEt (10mL), 并将混合物用 H₂O (3x 10mL)、盐水 (10mL) 洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将残余物纯化, 得到 90mg 希望的作为两种 C23-差向异构体的混合物的溴代衍生物 5 (0.09g, 0.15mmol, 63% 来自 3)。

[0627] 3 α , 7 α -二甲氧基甲基氧基-6 α -乙基-23, 24-双降-22-(2-亚氨基-4-氧代-噻唑烷-5-基)-5 β -胆烷 (6)

[0628] 向溴代衍生物 5 (90mg, 0.15mmol) 在 EtOH (10mL) 中的溶液中添加硫脲 (91mg, 1.19mmol) 和乙酸钠 (98mg, 1.19mmol), 并将所得混合物搅拌且回流 24 小时。将反应在室温下冷却, 并将挥发物在减压下除去。将残余物溶解于 AcOEt (10mL) 中, 用 H₂O (2x 10mL)、盐水 (10mL) 洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩, 以提供作为差向异构体的混合物的 6。将粗品不经进一步纯化而用于下一步骤。

[0629] 3 α , 7 α -二羟基-6 α -乙基-23, 24-双降-22-(2, 4-二氧代-噻唑烷-5-基)-5 β -胆烷 (化合物 24)

[0630] 向亚氨基噻唑烷衍生物6 (0.15mmol) 在EtOH (4mL) 中的溶液中添加HCl 37% (0.7mL), 并将所得混合物搅拌且回流。然后将混合物用H₂O (8mL) 处理, 并在减压下除去有机挥发物。添加H₂O (3mL) 并将混合物用CH₂Cl₂ (3x 7mL) 萃取, 经Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。色谱法纯化后, 获得5mg希望的化合物24 (5mg, 0.01mmol, 7%来自5)。

[0631] R_f = 0.28 (SiO₂, F-254, CH₂Cl₂/MeOH 90:10)。M.p. = 136°C-138°C。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ: 0.71 (3H, s, 18-CH₃), 0.87-0.98 (6H, m, 19-CH₃+CH₂CH₃), 1.01 (3H, d, J=6.6Hz, 21-CH₃), 3.29-3.33 (1H, m, 3-CH), 3.63 (1H, s, 7-CH), 4.14 (1H, dd, J₁=3.9Hz, J₂=11.7Hz, 23-CH), 4.59 (1H, bs, NH)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100.6MHz) δ: 12.0, 12.2, 18.2, 21.9, 23.5, 23.8, 24.5, 29.4, 30.8, 31.2, 34.4, 34.5, 36.6, 36.7, 36.8, 40.9, 41.4, 41.5, 43.1, 43.9, 46.9, 51.7, 57.6, 71.1, 73.2, 174.4, 179.6。

[0632] 实例25: 物理化学性质

[0633] 临界胶束浓度

[0634] 通过用两种不同的方法: 表面张力 (ST) 和染料增溶 (Roda等人, 1983) 计算临界胶束浓度 (CMC) 来评价去污性。在第一种方法中, 使用Sensadyne 6000张力计 (化学染料研究公司 (Chem-Dyne Research Corp.), 密尔沃基 (Milwaukee), 威斯康辛州) 通过最大气泡压力法执行表面张力。在25°C下测量在0.1M NaCl中各种浓度 (范围0.1-100mm) BA钠盐的水溶液的表面张力。将表面张力值针对胆盐浓度的对数绘图; 使用最小二乘法计算对应于曲线两部分 (单体和胶束相) 的回归线。通过两条线的相交获得临界胶束浓度 (CMC) 值 (mM)。

[0635] 第二种方法基于如下的事实, 即一些染料, 特别是Orange OT (购自Intercept制药公司 (Intercept Pharmaceuticals S.p.a.), 圣地亚哥, 加利福尼亚州) 几乎不溶解于水, 但溶解于具有胶束聚集体 (掺入其中) 的溶液中; 因此, 溶液的颜色强度随着胆盐浓度 (CMC 达到后) 而增加。分光光度法测定与胆盐浓度相关的溶解的染料的数量。

[0636] 对于每种胆汁酸, 将具有适当稀释度的不同浓度 (在50mM和0.1mM之间) 的各种溶液在室温下在搅拌下与过量的Orange OT一起孵育3天。然后将所有溶液离心并通过0.22μm Millipore滤器 (密理博公司 (Millipore), 贝德福德, 马萨诸塞州) 过滤。

[0637] 用分光光度计 (Spectrofotometer) (Wellwarm, 实验室系统公司 (Labsystems), 英国剑桥) 在483nm (Orange OT吸收的典型波长) 下测量各溶液的吸光度。水溶性

[0638] 将BA悬浮在100ml 0.1M HCl (pH 1.00) 中, 并将饱和溶液转移到配备恒温器的保持在25°C的水浴中。孵育1周后, 将溶液在Millipore过滤器 (0.22mm) 上过滤, 并且如下所报道通过HPLC-ESMS/MS测量BA的浓度。

[0639] 亲脂性

[0640] 1-辛醇/水分配系数使用如前所述的 (Roda等人, 1990) 常规摇瓶程序进行评价。实验进行如下: 用0.1M磷酸钾缓冲液将1mM初始胆汁盐溶液缓冲在pH 8.0以确保BA完全电离。如下所报道, 通过HPLC-ESMS/MS测量在1-辛醇中分配之前和之后水相中的BA浓度。

[0641] 白蛋白结合

[0642] 白蛋白结合通过以固定的BA-白蛋白比平衡透析来评价 (Roda等人, 1982)。BA以100mM的浓度溶解于5%牛血清白蛋白盐水溶液中, 并在25°C放置24小时。将2毫升此溶液在纤维素囊中透析, 截断分子量针对25mL盐水溶液为12-14kDa (Spectra/Por; 光谱医药产业公司 (Spectrum Medical Industries Inc.), Rancho Dominguez, 加利福尼亚州)。将系统在

25°C下通过机械摇动平衡72小时。如下所报道,通过HPLC-ES-MS/MS确定起始溶液和透析溶液中的BA浓度。

[0643] 表2

BA	Ws (μM)	CMC (mM)	CMpH	ST _{CMC} 达因/cm	LogP _{A⁻}	白蛋白结合 (%)	pKa
CDCA	32	3.2	7	45.5	2.2	96	5
GCDCA	7	2	6.4	45.2	0.4	85	3.9
TCDCa	hs	3	-	47.1	0.9	70	<1
UDCA	7	10	8.2	50.5	2.2	94	5
CA	273	9	6.5	49	1.1	88	5
TCA	hs	4	-	51	-0.5	42	<1
GCA	32	8	6.3	48.8	-0.4	65	3.9
参考化合物 C	hs	1.3	-	47.9	2.0	85	<1
参考化合物 B	9	2.9	7.2	48.8	2.5	96	5
参考化合物 A	99	2	6.1	50.1	1.4	62	5
T-参考化合物 A	hs	1.4	-	47.8	-0.2	81	<1
G-参考化合物 A	1700	1.3	3.9	43.8	0.3	71	3.9
降-CDCA	23	20	7.9	-	0.5	95	5
化合物 3	225	10	2.7	-	1.0	99	1.10*
化合物 4	3201	5	4.5	-	-0.2	55	4.36*
化合物 8	971	6	3.6	-	0.01	84	2.82*
化合物 9	469	6	3.9	-	0.2	89	2.82*
化合物 10	16	8.5	3.7	-	1.4	66	1.10*

[0644]

[0645]

化合物 11	392	5	7.0	-	1.6	84	5.94*
化合物 12	517	5	6.6	-	1.5	83	5.59*
化合物 14	2025	10	5.0	-	1.9	99	5
化合物 15	132	n.d.	n.c.	-	1.2	76	5.59*
化合物 17	5	11	9.0	-	2.0	90	5.71*
化合物 19	2151**	5	1.3	-	1.0	51	14.3*
化合物 21	1814	4	14.6	-	0.9	86	<1 *

CDCA: 鹅去氧胆酸

GCDCA: CDCA 的甘氨酸缀合物

TCDCA: CDCA 的牛磺酸缀合物
降-CDCA: 24-降-CDCA

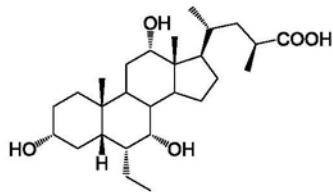
UDCA: 熊去氧胆酸

CA: 胆酸

GCA: CA 的甘氨酸缀合物

TCA: CA 的牛磺酸缀合物

[0646]

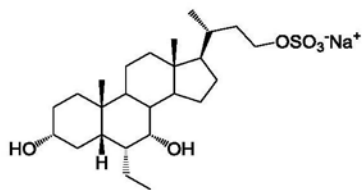


参考化合物 A

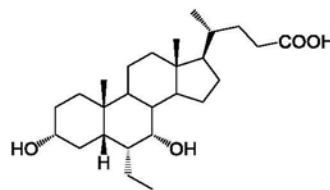
T-参考化合物 A: 参考化合物 A 的牛磺酸缀合物。

G-参考化合物 A: 参考化合物 A 的甘氨酸缀合物。

参考化合物 C



参考化合物 B



[0647] 实例26: 体外TGR5/FXR活性

[0648] 筛选测定

[0649] FXR活性: α Screen共激活剂募集测定。FXR受体的激活使用募集共激活剂测定(即 α Screen技术)来确定。这些测定使用人谷胱甘肽转移酶标记的FXR-LBD(生命技术公司(Life Technologies), USA)和小鼠谷胱甘肽转移酶标记的FXR-LBD(内部生成)进行。简而言之,测定是在白色低容量384孔OptiPlate中使用含10nM谷胱甘肽转移酶标记的FXR-LBD蛋白和30nM生物素化的Src-1肽的25 μ L终体积进行。在25 $^{\circ}$ C下用不同的BA浓度进行30分钟刺激。在

25℃于黑暗中与检测混合物(受体和供体珠粒)一起孵育4小时后,在EnVision 2103微板分析仪(珀金埃尔默公司(Perkin Elmer),USA)中读取发光。剂量反应曲线一式三份进行,并且使用Z'因子来验证该测定的稳健性。

[0650] TGR5活性:细胞内cAMP水平检测。通过使用HTR-FRET测定测量cAMP的水平来评估TGR5的激活。因此,在用基质胶(康宁公司(Corning),USA)(0.75mg/ml)涂覆的96孔板上在补充有10%FCS、100单位/ml青霉素和100µg/ml硫酸链霉素的DMEM中培养NCI-H716细胞。24小时后,在含有1mM 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤的OptiMEM(生命技术公司,加利福尼亚州,USA)中,在37℃下,用增加浓度的测试BA刺激细胞60分钟。用Lance试剂盒确定细胞内cAMP的水平。使用Z'因子来验证测定。

[0651] 将hTGR5CHO-k1和mTGR5CHO-Pi10克隆4保持在以下培养基中:具有10%FBS、10µg/mL嘌呤霉素(西格玛奥德里奇公司(Sigma Aldrich))的DMEMF12和具有10%FBS、600µg/mL遗传霉素(英杰公司(Invitrogen))、10µg/mL嘌呤霉素(西格玛奥德里奇公司)的F12Kaighn's培养基。

[0652] 在实验当天,根据先前的方案,在37℃下,用由HP D300数字分配器分配的不同浓度的测试化合物刺激细胞30分钟。

[0653] 细胞毒性测定

[0654] 根据制造商的说明,通过使用CellTiter-Glo(普洛麦格公司(Promega))测量ATP水平来评价细胞活力。LCA用作针对细胞毒性的胆汁酸比较组,而他莫昔芬(西格玛公司(Sigma))用作测定的对照。根据制造商的说明,使用CytoTox-ONE(一种均质膜完整性测定(普洛麦格公司)),通过测量来自坏死细胞的乳酸脱氢酶(LDH)的释放来评价细胞坏死。为了分析细胞活力(ATP水平)、凋亡和坏死(LDH释放),在37℃下,在白色96孔微孔板中,将 2×10^4 个HepG2细胞在具有2mM L-谷氨酰胺(EuroClone)、1%青霉素/链霉素(EuroClone)和10%FBS(EuroClone)的MEM(EuroClone)培养基中用浓度范围为100nM至350µM的测试化合物刺激4小时。

[0655] GLP1分泌

[0656] 将人NCI-H716细胞接种于用基质胶(BD生物科学公司(BD Biosciences))预涂覆的24孔培养板中的DMEM高葡萄糖(EuroClone)、2mM L-谷氨酰胺(EuroClone)、1%青霉素/链霉素(EuroClone)、10%FBS(EuroClone)中。二十四小时后,将上清液通过含有1mM CaCl₂和二肽基肽酶IV抑制剂抑二肽素-A(西格玛公司)的PBS替代,并在37℃用测试化合物刺激1小时。通过Bio-Plex(伯乐实验室公司(Bio-Rad Laboratories))测量GLP-1并归一化为蛋白质含量。

[0657] 本申请的代表性化合物的生物学活性列于表3中。

[0658] 表3

化合物	TGR5 (NCI-H716)		hTGR5 CHO (mTGR5 CHO)		hFXR (mFXR)		GLP-1 分泌
	EC ₅₀ (μ M)	功效 (%)	EC ₅₀ (μ M)	功效 (%)	EC ₅₀ (μ M)	功效 (%)	相对于 NT 的倍数 (%)
参考 LCA	3.2-8	在 10 μ M 时 100%	0.8 \pm 0.3	在 10 μ M 时 100%	-	-	-
参考 CDCA	-	-	-	-	10-20	在 50 μ M 时 100%	-
参考他 莫昔芬	-	-	-	-	-	-	-
1	19	40	3.5 \pm 1.5 (0.7 \pm 0.3)	103 \pm 1 (115 \pm 2)	32 \pm 8 (146 \pm 15)	52 (9 \pm 3)	-
2	12	55	17 \pm 2 (1.5 \pm 0.2)	47.5 \pm 2.5 (93.5 \pm 3)	20 \pm 9 (84 \pm 6)	200 (61 \pm 1)	-
3	9	65	1.5 \pm 0.5 (0.18 \pm 0.0 3)	110 \pm 7.3 (110 \pm 11)	4.3 \pm 1.7 (28.5 \pm 0.5)	115 \pm 40 (69 \pm 1)	140
4	7.5 \pm 5	77 \pm 10	4.65 \pm 0.5 (1.3 \pm 0.3)	99 \pm 1.4 (102.5 \pm 0.0 1)	80 \pm 30 ($>$ 150)	20 \pm 2	230 \pm 0.5
5	-	-	21 (3.4)	43.6 (84.6)	20	37	-
6	-	-	29.5 (3.8)	28 (81)	$>$ 100	-	-
7	-	-	7.9 (2)	27 (119)	13	83	-
8	7 \pm 3	97 \pm 1.7	0.5 \pm 0.1 (0.78 \pm 0.1)	103 \pm 2 (100 \pm 2)	5.6 \pm 1 (59.5 \pm 2)	113 \pm 3 (47 \pm 7)	340 \pm 0.8

[0659]

[0660]

9	22±3	75±6	1.4±0.3 (1.8±0.2)	98±2 (90±10)	2.9±0.9 (55±2)	147±20 (127±5)	270±0.7
10	1.6±0.2	125±1	0.34±0.04 (0.6±0.1)	103±1 (102±6)	0.2±0.04 (7.1±2)	128±4 (143±3)	260
11	2	105	2.7±1.8 (1.4±0.75)	96±19 (108±7.8)	1 (7.7±1)	140 (100±16)	900±2
12	4	104	0.71±0.08 (0.84±0.14)	101±1.4 (105±0.7)	1.7±0.6 (12.7±4)	125±15 (93±1)	420±1
13	6.4±1.1	84±14	1±0.1 (2.3±0.5)	102±3 (90±4)	0.43 (1.4±0.1)	138 (208±2)	-
14	1.6±0.3	110±2	0.48±0.3 (0.9±0.2)	107±1 (111±2)	0.075±0.01 (0.46±0.04)	165±15 (264±31)	290±0.8
15	5±1	97±7.6	0.72±0.05 (0.44±0.1)	99±3 (102±5)	0.15±0.05 (6±2)	173±22 (222±23)	-
16	3±0.3	116±9	1.2±0.1 (0.44±0.1)	99±4 (99±9)	0.15±0.05 (6.6±1)	165±19 (204±25)	-
17	1.2±0.1	119±2	0.1±0.04 (0.8±0.2)	103±2 (101±5)	0.45±0.05 (2.3±0.3)	138±9 (171±1)	-
18	1.8±0.2	115±4	0.11±0.03 (0.37±0.1)	104±1 (101±6)	0.55±0.03 (2.3±0.3)	132±8 (150±4)	-
23	12.5±1.5	75±1	1.3±0.1 (1.4±0.4)	111±2 (110±10)	0.1±0.02 (0.33±0.01)	175±22 (342±35)	-
19	0.16±0.0	128±1	0.02±0.0	105±2	3±1	137±2	500±1

		1		08 (0.08±0.01)	(106±4)	(10±1)	(122±2)	
[0661]	20	0.7±0.1	148±1	0.3±0.14 (0.5±0.15)	109±5 (101±4)	8.7±0.04 (16±4)	122±3 (85±4)	190±0.3
	21	0.19±0.05	127±1	0.02±0.01 (0.07±0.03)	105±2 (107±3)	1.5±0.5 (5.4±0.02)	136±7 (136±5)	450±0.5

[0662] 实例27:以30mg/kg口服给予ob/ob小鼠后的药代动力学性质

[0663] 在雄性ob/ob小鼠(9-10周龄, Janvier/查尔斯河实验室(Charles River Laboratories))中进行药代动力学研究。向小鼠口服给予化合物(在0.5%羟乙基纤维素中的30mg/kg悬浮液)。在给予锂-肝素管后10、30分钟和1、2、4、6和24小时对血液取样。离心后收集血浆并冷冻以进一步测量。在线萃取(Turboflow)后,使用HPLC-ESI-MS/MS方法测定化合物的血浆浓度。MS系统(Sciex API4000)在负模式下以优化的参数设置电喷雾离子化源(Turbospray)。使用质谱仪在多反应监测模式下采集色谱图。

[0664] 实例28:3天处理的ob/ob小鼠中的OGTT

[0665] 将雄性ob/ob小鼠(10周龄, Janvier, n=9只/组)以运载体(0.5%HEC)或正在研究的BA(100mg/kg)一天两次(BID)进行口服治疗。在最后一次给药之后立即将小鼠禁食4小时。然后进行口服葡萄糖耐量试验(葡萄糖1.5g/kg)。在T0(给予葡萄糖前)、10、25、60和120分钟收集血液样品以使用血糖计测定血糖水平并且在T0(给予葡萄糖前)、10、25和60分钟收集血液样品以进行血浆胰岛素水平测量(ALPCO ELISA试剂盒)。在实验结束时,在麻醉的小鼠中确定胆囊内的胆汁体积。

[0666] 实例29:正常小鼠中的体内GLP-1分泌

[0667] 将雄性C57B1/6小鼠(9周龄, Janvier)禁食过夜,并且然后用正在研究的BA(100mg/kg)随后西他列汀(1mg/kg)进行口服治疗。根据正在研究的BA的PK特征曲线,给予正在研究的BA和西他列汀之间的时间在0和3小时之间变化。在西格列汀治疗1小时后,口服葡萄糖(1.5g/kg)激发小鼠。在葡萄糖激发之前和激发后5分钟收集血液以使用血糖仪(AccuChek)测定血糖并使用含有DPP-IV抑制剂的K₃-EDTA试管回收血浆。根据制造商的说明(Linco-Millipore)通过ELISA测量活性GLP1的血浆水平。在实验结束时,在麻醉的小鼠中确定胆囊内的胆汁体积。

[0668] 实例30:“胆汁瘘大鼠”模型中的药代动力学研究

[0669] 在Roda等人,2014, J.Pharmacol Exp Ther[药理学与实验治疗学杂志], Supplemental Data IV[补充数据IV]中报道了胆汁瘘大鼠模型。简言之,在动物被麻醉后,将胆管插管,并且每次管饲经静脉内或十二指肠内递送BA。以1mmol/min/kg体重的剂量以2.5ml/小时在1小时内输注每种胆汁酸。在整个输注期间以15分钟的时间间隔和在输注结束后2小时内收集胆汁。在整个十二指肠内输注期间以30分钟的时间间隔和在输注结束后2小时内收集血浆,同时针对静脉内输注,在实验开始和结束时收集血浆样品。每次实验结束

时收集肝脏和肠内容物。

[0670] HPLC-ES-MS/MS方法

[0671] 如先前报道的 (Roda等人, 2014, J. Pharmacol Exp Ther [药理学与实验治疗学杂志]), 在使用15mM乙酸铵缓冲液 (pH 8.00) 作为流动相A且使用乙腈/甲醇 (75:25v/v) 作为流动相B的洗脱梯度模型中分离BA。MS系统在负模式下以优化的参数设置电喷雾离子化源 (ES)。使用质谱仪在多反应监测模式下采集色谱图。

[0672] 胆汁样品制备

[0673] 使大鼠胆汁样品达到25℃, 并用65:35 (v/v) 比率的乙酸铵缓冲液15mM (pH 8.00) 和乙腈/甲醇 (3:1v/v) 以1:100或1:10 (v/v) 稀释。将最终溶液转移到自动进样器小瓶中, 并将5mL注射到柱上。胆汁分泌流动结果以 $\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{min}$ 表示, 而胆汁流动结果以 $\mu\text{L}/\text{kg}/\text{min}$ 表示。

[0674] 血浆样品制备

[0675] 如先前报道的 (Roda等人, 2014, J. Pharmacol Exp Ther [药理学与实验治疗学杂志]), 用0.1N NaOH将血浆样品 (100mL) 以1:6 (v/v) 稀释并加热至64℃持续30分钟。将固相萃取 (SPE) C18柱体在加样前用5mL甲醇和5mL水调节。将血浆样品加载到调节后的柱体中, 并且然后用10mL水洗涤。然后用5mL甲醇洗脱柱体, 将洗脱液在真空下干燥, 并且然后用200mL流动相重构, 并将5 μL 注射到HPLC-ES-MS/MS仪器中。结果以 μM 表示。

[0676] 肝样品制备

[0677] 如先前报道的 (Roda等人, 2014, J. Pharmacol Exp Ther [药理学与实验治疗学杂志]), 从肝样品的不同点取各自重大约1g的等分试样。称取每个等分试样, 并且添加2mL磷酸盐缓冲液 (0.005M, pH 7.2)。使用陶器均化混合物, 然后将其用甲醇 (3x 1mL) 洗涤。将混合物超声处理5分钟, 涡旋2分钟, 加热至37℃持续20分钟, 离心 (2100g持续15分钟)。将1毫升上清液掺入10mL内标工作溶液并在真空下干燥。然后将残余物用2mL NaOH (0.1N) 重悬。将溶液超声处理10分钟, 加热至64℃持续30分钟, 并在C18萃取柱体上进行SPE (如上所示)。将洗脱液在真空下干燥, 并用200mL流动相重构并注射到HPLC-ES-MS系统。结果以 $\mu\text{mol}/\text{g}$ 表示, 其中g是肝总重量。

[0678] 肠内容物样品制备

[0679] 如先前报道的 (Roda等人, 2014, J. Pharmacol Exp Ther [药理学与实验治疗学杂志]), 收集肠内容物样品并使用混合器均化。从匀浆中取出重大约1g的等分试样。称取每个等分试样, 并且添加3mL异丙醇。将混合物涡旋2分钟并离心 (2100g持续10分钟)。然后将上清液用流动相以1:100v/v稀释, 并将190mL的这些最终溶液掺入10mL内标。结果以 $\mu\text{mol}/\text{g}$ 表示, 其中g是肠内容物总重量。

[0680] 校准曲线

[0681] 在流动相中进行胆汁、粪便和肝脏取样的校准曲线, 线性范围0.1-20nM。对于血浆样品, 使用无BA的大鼠血浆在0.1-20nM的线性范围内获得校准曲线。回收%

[0682] 评价回收%, 比较正在研究的BA和其在每个基质中的代谢物的量与给予的BA的总量。

[0683] 其他实施例

[0684] 虽然本申请已经结合其详尽说明进行了描述, 前述的说明旨在举例说明而不是限

制本发明的范围,本申请的范围是由所附的权利要求书的范围限定的。其他方面、优点以及修改都在以下权利要求书的范围之内。本领域的技术人员将会理解的是,在不脱离由所附权利要求书涵盖的本申请的范围的情况下,可以在其中做出不同的在形式和细节上的改变。