



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 23 939 T2** 2007.05.31

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 274 718 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 23 939.3**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US01/12004**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 926 924.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2001/079255**

(86) PCT-Anmeldetag: **12.04.2001**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **25.10.2001**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **15.01.2003**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **18.10.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **31.05.2007**

(51) Int Cl.⁸: **C07J 9/00 (2006.01)**

C07J 21/00 (2006.01)

C07J 41/00 (2006.01)

C07J 31/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

196646 P 12.04.2000 US

(73) Patentinhaber:

Genaera Corp., Plymouth Meeting, Pa., US

(74) Vertreter:

HOFFMANN & EITLE, 81925 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:

**KINNEY, A., William, Plymouth Meeting, PA 19462,
US; ZHANG, Xuehai, Plymouth Meeting, PA 19462,
US; MICHALAK, Ronald, Plymouth Meeting, PA
19462, US**

(54) Bezeichnung: **EIN VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON 7.ALPHA.-HYDROXY 3-AMINOSUBSTITUIERTEN
STEROL-VERBINDUNGEN, OHNE SCHUTZ DER 7.ALPHA.-HYDROXY-GRUPPE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Staatliche Unterstützung

[0001] Die in dieser Patentanmeldung beschriebene Forschung wurde teilweise durch den Small Business Innovative Research Grant #1 R43 CA 80473-01 vom National Cancer Institute der National Institutes of Health unterstützt.

Hintergrund der Erfindung

Erfindungsgebiet

[0002] Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren zum Herstellen fusionierter, auf Ringen basierender Verbindungen oder Aromate, die Aminosterolverbindungen einschließen. Ein Verfahren der Erfindung ermöglicht die regioselektive Oxidierung und regioselektive Sulfonierung fusionierter Ringsysteme mit wenigen Schutzgruppen. Die Aminosterolverbindungen, die durch ein erfindungsgemäßes Verfahren hergestellt werden, sind unter anderem nützlich als Antibiotika, antiangiogene Mittel und NHE3-Inhibitoren.

Beschreibung des Stands der Technik

[0003] Es sind mehrere Aminosterolzusammensetzungen aus der Leber des Dornhais *Squalus acanthias*, isoliert worden. Ein bedeutendes Aminosterol ist Squalamin (3 β -(N-[3-Aminopropyl]-1,4-butanedi-amin)-7 α ,24R-dihydroxy-5 α -cholestan-24-sulfat), das in [Fig. 1](#) dargestellt ist. Das Aminosterol-Squalamin, welches eine Sulfatgruppe an der Position C-24 einschließt, ist Gegenstand des U.S. Patents Nr. 5,192,756, das ebenfalls die antibiotischen Eigenschaften des Aminosterols beschreibt.

[0004] Seit der Entdeckung von Squalamin sind jedoch mehrere andere interessante Eigenschaften dieser Verbindung entdeckt worden. Wie beispielsweise in den U.S. Patenten Nr. 5,733,899 und 5,721,226 beschrieben ist, kann Squalamin auch als antiangiogenes Mittel dienen, das zur Behandlung von Krebs nützlich ist. Siehe U.S. Patent Nr. 6,147,060. Zusätzliche Verwendungen von Squalamin, z. B. als Mittel zur Inhibierung von NHE3 und als Mittel zur Inhibierung des Endothelzellwachstums sind offenbart im U.S. Patent Nr. 5,792,635.

[0005] Verfahren zum Synthetisieren von Squalamin sind beschrieben worden. Siehe WO 94/19366, welche ebenfalls mit der U.S. Patentanmeldung Nr. 08/023,347 in Verbindung steht. U.S. Patent Nr. 5,792,635 offenbart ebenfalls die Squalamin-Isolierung und Synthesetechniken dafür.

[0006] Aus der Entdeckung von Squalamin hervorgehend sind andere Aminosterole in der Leber des Dornhais entdeckt worden und untersucht worden. Ein bedeutendes Aminosterol, das isoliert und als „Verbindung 1436“ oder einfach als „1436“ identifiziert worden ist, hat die in [Fig. 2](#) gezeigte Struktur. Diese Verbindung hat die allgemeine Molekularformel C₃₇H₇₂N₄O₅S und ein berechnetes Molekulargewicht von 684,53017. Wie Squalamin hat dieses Aminosterol eine Sulfatgruppe an der Position C-24.

[0007] Die Verbindung 1436 ist kürzlich im U.S. Patent Nr. 5,795,885 beschrieben worden. Wie in diesem Patent weiter beschrieben wird, hat die Verbindung 1436 eine Vielzahl interessanter Eigenschaften. Beispielsweise inhibiert die Verbindung 1436 menschliche T-Lymphozytenproliferation, sowie auch die Proliferation einer großen Bandbreite anderer Zellen und Gewebe. Zusätzliche Verwendungen der Verbindung 1436 sind in U.S. Patent Nr. 6,143,738 offenbart. U.S. Patent Nr. 5,795,885 und 5,847,172 beschreiben ebenfalls die Struktur der Verbindung 1436, sowie Verfahren zum Synthetisieren und Isolieren der Verbindung. Beispielsweise kann die Verbindung 1436 aus einem Squalamin als Ausgangsmaterial hergestellt werden.

[0008] Schwierigkeiten sind jedoch angetroffen worden, wenn versucht wurde, ein Verfahren zum Synthetisieren von Squalamin oder der Verbindung 1436 aus kommerziell erhältlichen Ausgangsmaterialien (d. h. nicht aus Isolaten der Leber eines Hais) bereitzustellen. Diese Schwierigkeiten schließen niedrige Gesamtausbeuten des gewünschten Steroidprodukts, wie auch mehrere Syntheseschritte ein.

[0009] Zusätzliche Schwierigkeiten sind bei der Bereitstellung einer Sulfatgruppe an der Position C-24 angetroffen worden. Insbesondere ist es schwierig, die Sulfatgruppe an der Position C-24 in einer stark stereoselektiven Ausrichtung bereitzustellen. Siehe z. B. Pechulis, et al., „Synthesis of 24R-Squalamin, an Anti-Infective Steroidal Polyamine“, J. Org. Chem., 1995, Vol. 60, Seiten 5121–5126; und Moriarty et al., „Synthesis of Squalamine. A Steroidal Antibiotic from the Shark“, Tetrahedron Letters, Vol. 35, Nr. 44 (1994), Seiten

8103–8106.

[0010] Aufgrund der Bedeutung von Squalamin, der Verbindung 1436, anderer Aminosterole, 24R und 24S-hydroxylierte Steroide und Vitamin-D₃-Metabolite, gab es ein beträchtliches Interesse an der Herstellung stereospezifischer Verbindungen, insbesondere an der Position C-24. Wie oben erwähnt wurde, sind Verfahren zum Herstellen von Squalamin und der Verbindung 1436 beschrieben worden. Jedoch ermöglichen diese Verfahren keine Herstellung der gewünschten Aminosterolverbindungen in großem Maßstab, da durch diese Verfahren relativ geringe Ausbeuten erzielt werden.

[0011] Verfahren zum stereoselektiven Herstellen von Cerebrosterol, MC 903, und 1 α , 24(R)-Dihydroxyvitamin D₃ sind entwickelt worden. Koch, et al., „A Stereoselective Synthesis and a Convenient Synthesis of Optically Pure (24R)- and (24S)-24 hydroxycholesterols", Bulletin de la Société Chimique de France, 1983, (Nr. 7–8), Vol II, Seiten 189–194; Calverley, „Synthesis of MC 903, a Biologically Active Vitamin D Metabolit Analogue", Tetrahedron, 1987, Vol. 43, Nr. 20, Seiten 4609–4619; und Okamoto, et al., „Asymmetric Isopropylation of Steroidal 24-Aldehydes for the Synthesis of 24(R)-Hydroxycholesterol, Tetrahedron: Asymmetry, 1995, Vol. 6 Nr. 3, Seiten 767–778. Diese Verfahren versuchen, 22-en-24-on und 22-yn-24-on-Systeme in stereoselektiver Weise zu reduzieren. Unglücklicherweise waren diese Verfahren nicht besonders stereospezifisch und führten häufig zu Mischungen von 24R und 24S, die schwer zu trennen waren. Das bedeutet, dass diese Verfahren nicht für die Synthese im großen Maßstab förderlich waren.

[0012] Andere Versuche waren ebenfalls nicht hilfreich, um die Synthese im großen Maßstab zu erreichen. Diese Verfahren litten daran, dass sie zu langwierig und unpraktisch waren. Beispielsweise ist die erfolgreiche Reduzierung eines verwandten 25-en-24-on-Systems unter Verwendung von Noyori's 2,2'-Dihydroxy-1,1'-binaphthyllithiumaluminiumhydridreagenz bei –90°C erreicht worden, um 95:5 Selektivität für den 24R-Alkohol zu ergeben. Ishiguro, et al., „Stereoselective Introduction of Hydroxy-Groups into the 24-, 25-, and 26-Positions of the Cholesterol Side Chain", J. C. S. Chem. Comm., 1981, Seiten 115–117. Jedoch ist das 25-en-24-on-Zwischenmaterial (in vier Schritten herstellbar) weniger leicht verfügbar als das 22-en-24-on-System (herstellbar in einem Schritt). Außerdem schmälert die niedrige Temperatur, die für die chirale Reduktion benötigt wird, auch die kommerzielle Anwendbarkeit dieses Verfahrens.

[0013] Eine stereoselektive Synthese im großen Maßstab ist entwickelt worden, um die Anforderungen für eine schnelle Zulassung von klinischen Studien der Phase 1 zu erfüllen. Zhang, X., et al., J. Org. Chem., 63, 8599–8603 (1998). Jedoch hatte diese Synthese zwei Haupteinschränkungen. Zum Ersten war die Synthese sehr langwierig. Zweitens stellte sich die Einschleusung einer 7 α -Hydroxylgruppe als problematisch heraus.

[0014] Daher gibt es im Fachgebiet die Notwendigkeit für ein Verfahren zum Herstellen von Aminosterolverbindungen wie Squalamin, der Verbindung 1436 und zahlreicher Homologa, die die Nachteile der Syntheseverfahren des Stands der Technik überwinden.

Zusammenfassung der Erfindung

[0015] Die vorliegende Erfindung gibt eine Antwort auf solche eine Notwendigkeit, indem ein schnelles und regio- und stereoselektives Verfahren zur Herstellung von Aminosterolverbindungen bereitgestellt wird. Nach einem erfindungsgemäßen Verfahren kann eine regio- und stereoselektive Oxidierung und Sulfonierung mit weniger Schutzgruppen und daher weniger Schritten erreicht werden.

[0016] Die Erfindung stellt auch ein Verfahren zum regioselektiven und stereoselektiven Oxidieren eines primären Hydroxylsubstituenten in Gegenwart eines sekundären Hydroxylsubstituenten bereit, der an das gleiche fusionierte Ringsystem gebunden ist.

[0017] Die Erfindung stellt weiter ein Verfahren zum regioselektiven Sulfonieren eines sekundären Hydroxylsubstituenten gegenüber einem anderen sekundären Hydroxylsubstituenten bereit, der an das gleiche fusionierte Ringsystem gebunden ist.

[0018] Das erfindungsgemäße Verfahren stellt auch neue Zwischenprodukte bereit.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0019] Vorteilhafte Aspekte der Erfindung werden aus der folgenden detaillierten Beschreibung klar, die zusammen mit den angehängten Zeichnungen in Betracht gezogen werden sollte, worin

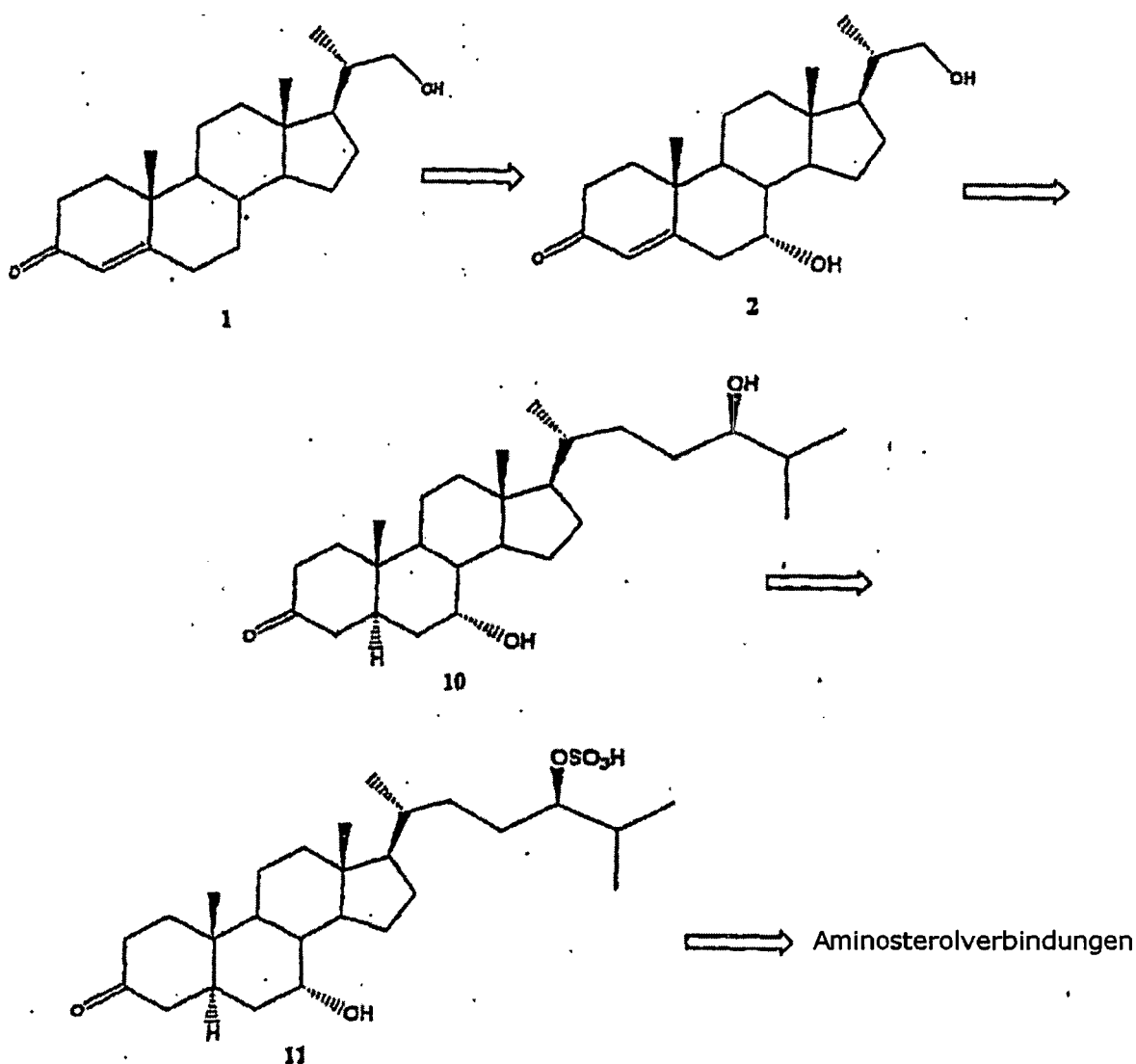
[0020] [Fig. 1](#) die chemische Struktur von Squalamin; und

[0021] [Fig. 2](#) die chemische Struktur der Verbindung 1436 darstellt.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0022] Microbielle Hydroxylierung ist in der Steroidchemie erreicht worden. Mahato, S. B., et al., Steroids, 62, 332–345 (1997). Despreaux hat die microbielle 7 α -Hydroxylierung von 3-Ketobisnorcholeol (1, Schema 1 unten) unter Verwendung der Spezies *Botryodiplodia theobromae* beschrieben. Despreaux, C. W., et al., Appl. Environ. Microbiol., 51, 946–949 (1986); Despreaux et al., Patent Nr. 4,230,625; und Despreaux et al., U.S. Patent Nr. 4,301,246. Diese Erfindung verwendet die Steroidverbindung 2 als Ausgangsmaterial für die Synthese von Squalamin, 1436 und homologer Aminosterole. Ein erfindungsgemäßes Verfahren schleust die 7- α -Hydroxylgruppe unter Verwendung der microbiellen Hydroxylierung ein und schreitet ohne Schutz der 7-Hydroxylgruppe voran. Eine generelle Darstellung des erfindungsgemäßen Verfahren ist im Schema 1 unten gezeigt:

Schema 1



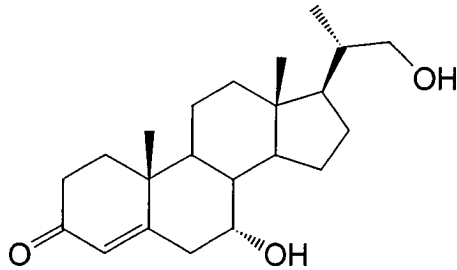
[0023] Gemäß einem erfindungsgemäßen Verfahren kann Steroid 2 in die Aminosterolverbindungen Squalamin oder Verbindung 1436 mit Hilfe zweier regioselectiver Reaktionen ohne die Verwendung von Schutzgruppen umgewandelt werden. Erfindungsgemäß kann der primäre Hydroxylrest der Verbindung 3 selektiv gegenüber einem sekundären Hydroxylrest oxidiert werden, und genauer gesagt, kann der primäre C-22 Hydroxylrest selektiv anstelle des sekundären Hydroxylrests an der C-7 Position oxidiert werden. Ebenfalls erfindungsgemäß kann der sekundäre Hydroxylrest an Position C-24 gegenüber dem C-7 sekundären Hydroxylrest selektiv sulfoniert werden. Erfindungsgemäß können relativ hohe Ausbeuten (z. B. 77%) wie auch eine Regio-

elektivität und Stereoselektivität erreicht werden. Geringe C-24-Selektivität ist bei der Sulfonierungsreaktion an einem Spermidinyl-steroidalldiol gezeigt worden.

[0024] Jedoch benötigte diese Reaktion nicht nur eine Erwärmung und einen Schutz der C7-OH-Gruppe, sondern die Ausbeute der Verbindung war ebenfalls gering (10%). Moriarty, R. M., et al., *Tetrahedron Lett.*, 35, 8103–8106 (1994).

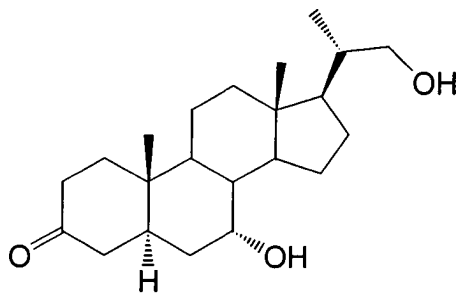
[0025] Ein erfindungsgemäßes Beispiel stellt ein kurzes und regioselectives Verfahren zum Herstellen von Squalamin oder der Verbindung 1436 bereit, welche erfindungsgemäß hergestellt werden durch:

(a) Umsetzen der Verbindung 2:



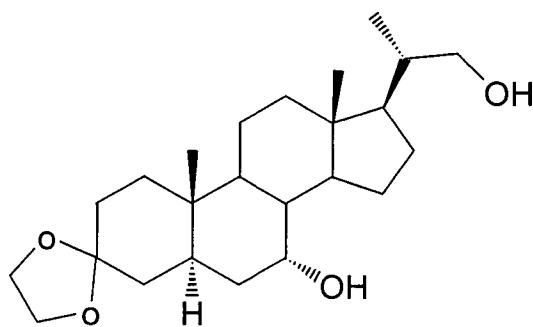
(2)

mit Li und NH_3 , um die Verbindung 3 zu bilden:



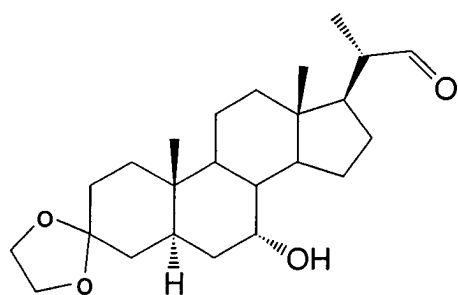
(3)

(b) Umsetzen der Verbindung 3 mit TMSCl und Ethylenglycol, um die Verbindung 4 zu bilden:



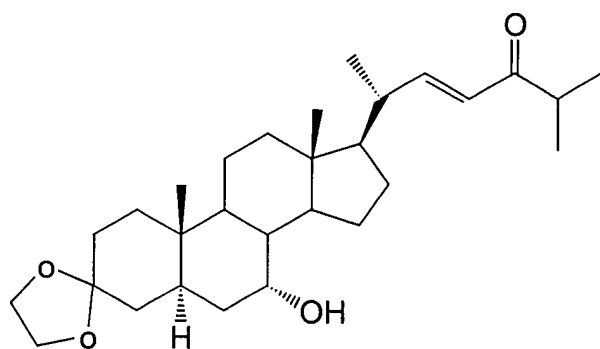
(4)

(c) Umsetzen der Verbindung 4 mit Bleiche und einem TEMPO-Katalysator, um die Verbindung 5 zu bilden:



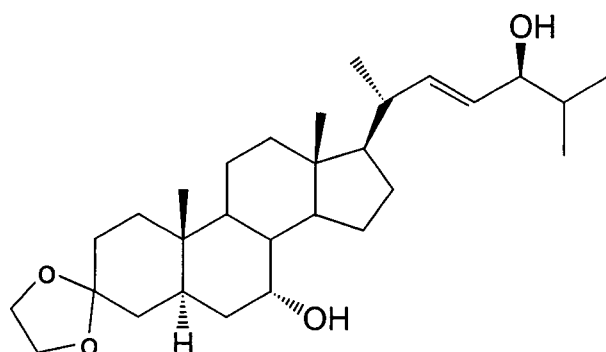
(5)

(d) Umsetzen der Verbindung 5 mit $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{-CH}_2\text{-C}(\text{O})\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ und Natrium t-butoxid, um die Verbindung 7 zu bilden:



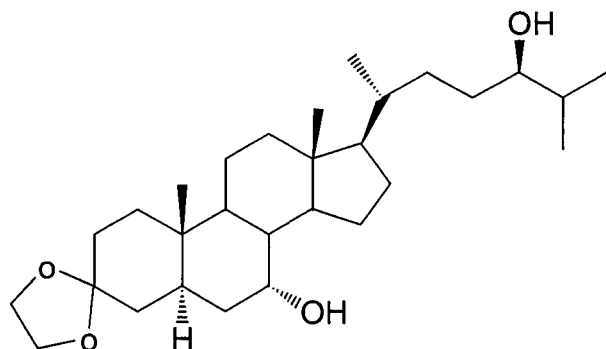
(7)

(e) Umsetzen der Verbindung 7 unter passenden Bedingungen, um die Formel 8 zu bilden:



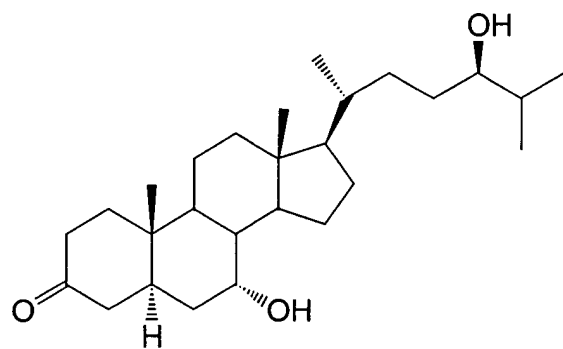
(8)

(f) Hydrogenieren der Verbindung 8, um die Verbindung 9 zu bilden:



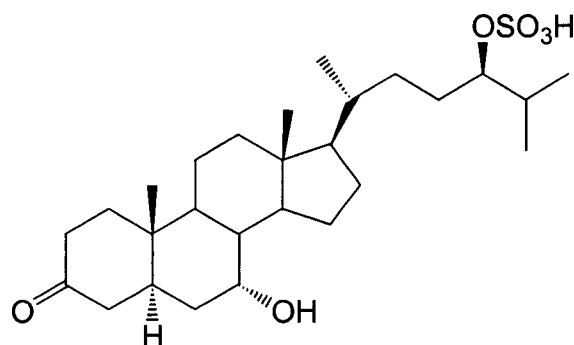
(9)

(g) Entschütten der Verbindung 9, um die Verbindung 10 zu ergeben:



(10)

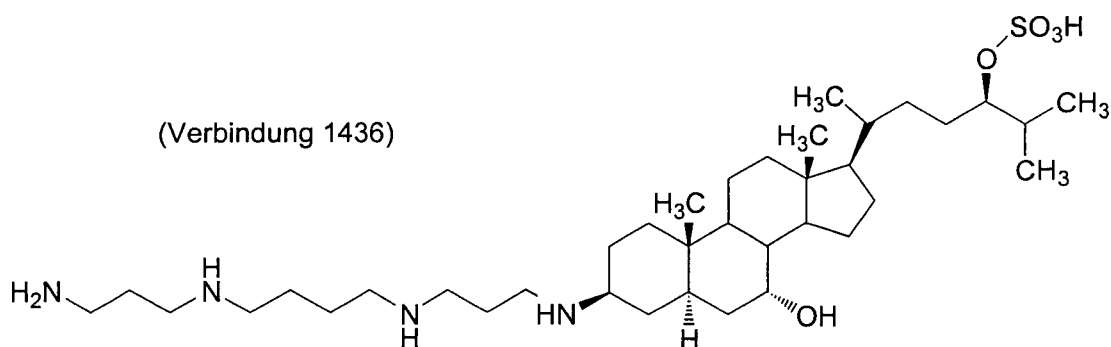
(h) Umsetzen der Verbindung 10 mit einem 5-%igen Überschuss SO_3 : Pyridin, um die Verbindung 11 zu ergeben:



(11)

und

(i) Umsetzen der Verbindung 11 mit einem geeigneten Amin, um Squalamin oder die Verbindung 1435 zu bilden,



(Verbindung 1436)

[0026] Jede durch ein erfindungsgemäßes Verfahren hergestellte Verbindung kann unter Verwendung von Techniken, die im Fachgebiet bekannt sind, isoliert und gereinigt werden, einschließlich, aber nicht beschränkt auf, Extraktion und Chromatographie. Jede der Verbindungen, die durch ein verbindungsgemäßes Verfahren hergestellt wird, kann unter Verwendung von Techniken charakterisiert werden, die im Fachgebiet bekannt sind, beispielsweise Massenspektrometrie, ^1H NMR und ^{13}C NMR.

[0027] Wie oben ausgeführt wurde, schließt ein erfindungsgemäßes Verfahren zum regelselektiven Oxidieren einer C-22-OH-Gruppe in Gegenwart einer C-7-OH-Gruppe ein, sowie die regioselektive Sulfonierung einer C-24-OH-Gruppe in Gegenwart einer C-7-OH-Gruppe.

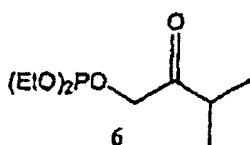
[0028] Bezüglich Schritt (a) kann die Verbindung 2 in die Verbindung 3 umgewandelt oder konvertiert werden, indem Lithium in Harnstoff verwendet wird, bevorzugt mit Ausbeuten von mindestens 76%.

[0029] Verbindung 3 kann in Verbindung 4, durch Ketalisierung des Carbonylrestes umgewandelt oder kon-

vertiert werden. Die Ketalisierung wird unter Verwendung von Ethylenglycol in Chlortrimethylsilan bei einer guten Ausbeute durchgeführt. Chan, T. H., et al., *Synthesis*, 203–205 (1983).

[0030] Die Verbindung 4 kann in Verbindung 5 umgewandelt oder konvertiert werden, indem eine regioselektive Oxidierung des primären Alkohols an der Position C-22 durchgeführt wird, durch eine Umsetzung mit Bleiche in Gegenwart eines Katalysators. Die Bleiche kann irgendeine Bleiche sein, bevorzugt Natriumhypochlorid (NaOCl). Der Katalysator ist ein TEMPO-Katalysator (2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinyloxy Freiradikal, kommerziell erhältlich von Aldrich Chemicals, Milwaukee, WI). Vorzugsweise werden Bedingungen ausgewählt, so dass Ausbeuten von ungefähr 98% erreicht werden. Anelli, P. L., et al., *Org. Syn.*, Vol. 69, Seite 212, "A General Synthetic Method for the Oxidation of Primary Alcohols to Aldehydes: (S)-(+)-2 Methylbutanal".

[0031] Verbindung 5 kann durch eine Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungsbildungsreaktion in Verbindung 7 umgewandelt oder konvertiert werden (Wadsworth-Emmons-Reaktion). Verbindung 5 wird mit dem Wadsworth-Emmons-Reagens 6 (Jones, S. R., et al., *J. Org. Chem.*, 63, 3786–3789 (1998)):



umgesetzt, um die Enon-Verbindung 7 wirksam hervorzubringen (82%).

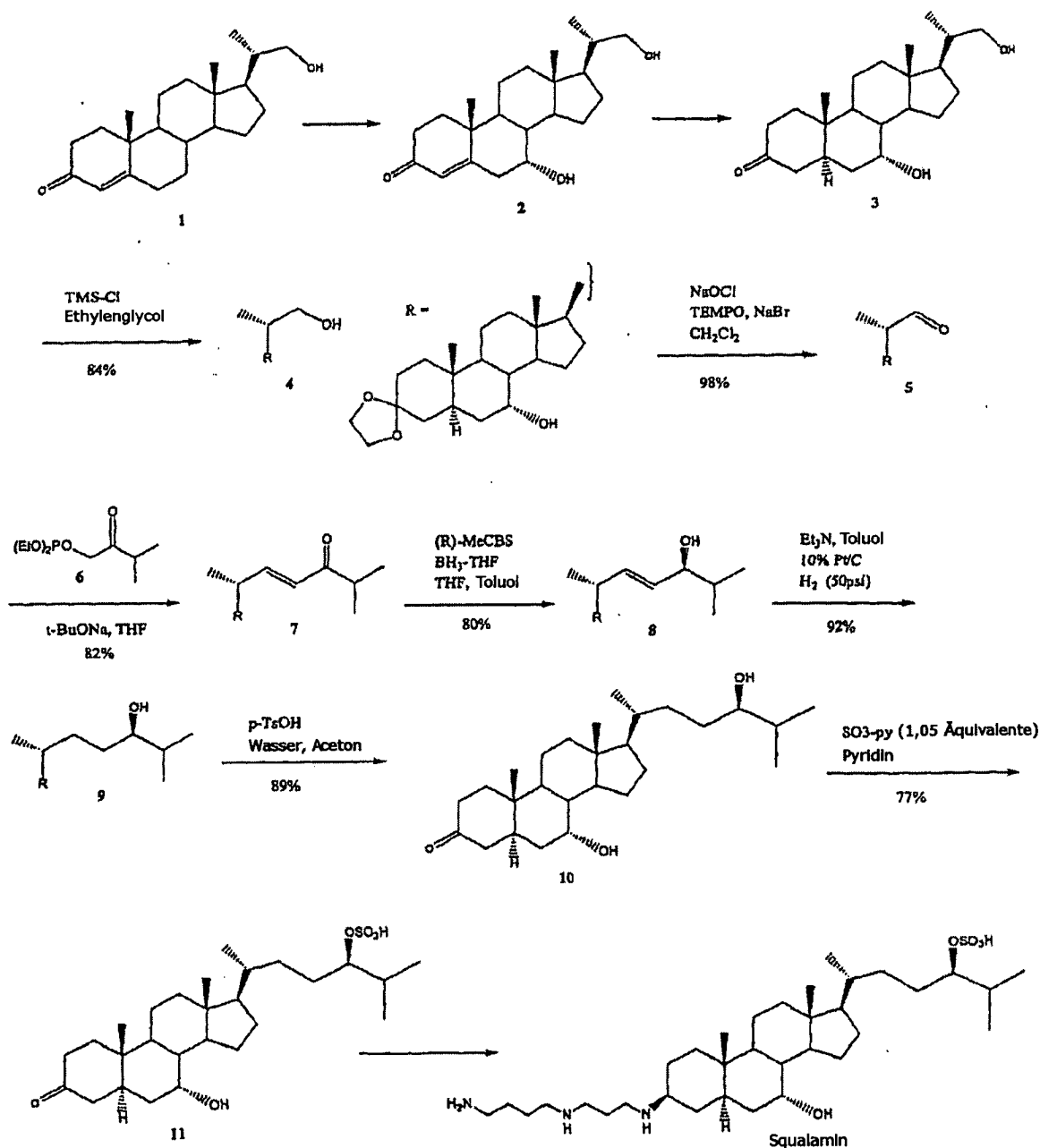
[0032] Verbindung 7 kann durch Reduzierung des C-24 Carbonylrestes mit guter Ausbeute in Verbindung 8 umgewandelt oder konvertiert werden. Die Verbindung 8 wird durch Reduzierung der C22-Doppelbindung in die Verbindung 9 umgewandelt oder konvertiert, indem eine Hydrogenierung ausgeführt wird. Verbindung 9 kann durch Entschützen des C3-Carbonyls in Verbindung 10 umgewandelt oder konvertiert werden.

[0033] Verbindung 10 kann durch regioselektive Sulfonierung der Hydroxylgruppe an C24 in Verbindung 11 umgewandelt oder konvertiert werden, indem die Verbindung 10 mit einem sehr geringen Überschuss (5%) an Schwefel-Trioxidkomplex umgesetzt wird. Vorzugsweise ist der diastereomere Überschuss an Sulfat ungefähr 95% nach dem HPCL-Verfahren.

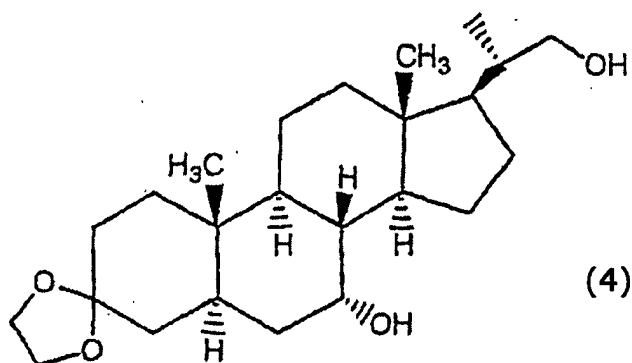
[0034] Als letztes kann die Verbindung 11 (z. B. in Squalamin, in Verbindung 1436 oder in homologe Verbindungen) durch reduktive Aminierungsbedingungen. Rao, M., et al., *J. Nat. Prod.* 63, Seiten 631–635 (2000); Zhang, X., et al., *J. Org. Chem.*, 63, 8599–8603 (1998); und Weis, A. L., et al., *Tetrahedron Lett.*, 40, 4863–4864 (1999) in die gewünschte Aminosterolverbindung transformiert oder umgewandelt werden.

[0035] Das bevorzugte Verfahren zum Herstellen einer Aminosterolverbindung Squalamin ist in Schema 2 unten dargestellt:

Schema 2

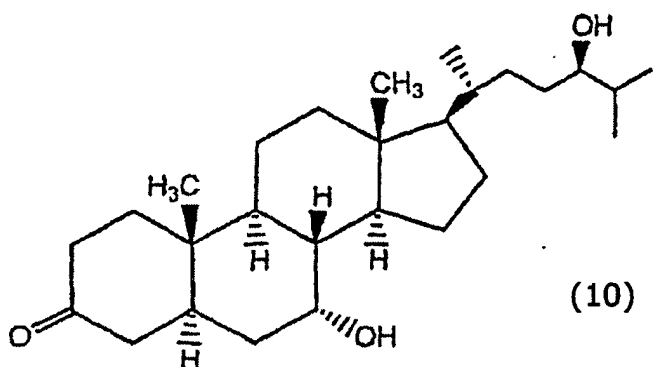


[0036] Die Erfindung stellt auch ein Verfahren zum regioselektiven Oxidieren des prim\u00e4ren Hydroxylsubstituenten der Verbindung 4 bereit, um die Verbindung 5 bereitzustellen. Nach dieser Ausführungsform der Erfindung wird die Verbindung 4 mit Bleiche in Gegenwart eines TEMPO-Katalysators umgesetzt, wobei nur der prim\u00e4re Hydroxylrest in ein Aldehyd oxidiert wird.

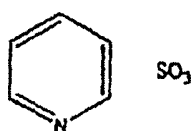


[0037] Die Bleiche und der TEMPO-Katalysator sind wie hier beschrieben.

[0038] Die Erfindung stellt auch ein Verfahren zum regioselektiven Sulfonieren der Hydroxylgruppe der Verbindung 10 an Position C-24 bereit.



[0039] Gemäß dieser Ausführungsform der Erfindung wird Verbindung 10 mit einem Schwefel-Trioxid-Pyridinkomplex umgesetzt (kommerziell erhältlich von Aldrich Chemical, Milwaukee, WI):



[0040] Das Verfahren der Erfindung erreicht Regioselektivität eines Hydroxylrest in Gegenwart eines anderen nicht geschützten Hydroxylrestes. Das Verfahren der Erfindung erreicht regioselektiv einen mindestens ungefähr 9:1 Überschuss der gewünschten hydroxylierten oder sulfonierten Verbindung. Bevorzugt wird eine Selektivität von größer als ungefähr 19:1 erreicht, und am meisten bevorzugt wird Selektivität größer als ungefähr 33:1 erreicht.

[0041] Die hier beschriebenen erfindungsgemäßen Verfahren können verwendet werden, um ein hydroxyliertes Zwischenprodukt herzustellen, das weiter modifiziert werden kann, wie oben beschrieben worden ist, um das gewünschte Endprodukt herzustellen. Die erfindungsgemäßen Verfahren stellen regiospezifische Zwischenprodukte her, die weiter modifiziert werden können, um Squalamin oder die Verbindung 1436 zu synthetisieren (z. B. C-24 Sulfatgruppen in R-Orientierung bei Squalamin und Verbindung 1436). Solche Zwischenprodukte schließen ein, sind aber nicht beschränkt auf, Verbindungen 3–10, die im Schema 2 oben dargestellt worden sind.

[0042] Die erfindungsgemäßen Verfahren werden nun in spezifischen Beispielen beschrieben. Jedoch dienen die folgenden Beispiele nur dazu, die Erfindung darzustellen, und sie sind in keiner Weise als Begrenzung der Erfindung gedacht.

Beispiele

Regioselektive und stereoselektive Synthese eines Vorläufers von Squalamin und der Verbindung 1436

[0043] Allgemeines. Die ^1H und ^{13}C NMR-Spektren wurden bei 400 bzw. 100 MHz, unter Verwendung 7,28 und 77,0 (CDCl_3) ppm als Referenzen hergestellt. Elementaranalysen wurden bei Oneida Research Services, Inc., Whitesboro, NY, durchgeführt. Fast Atom Bombardment-Massenspektrometrie wurde bei M-Scan Inc., West Chester, PA, durchgeführt.

Beispiel 1. Herstellung von (5- α , 7- α)-3-Ketobisnorcholan-7,22-diol (3).

[0044] Flüssiger Harnstoff (125 ml) wurde mit Tetrahydrofuran (15 ml) und Lithium (300 mg, 43 mmol) behandelt und für 30 min. gerührt. Dann wurde eine Lösung von 2 (Despreaux, C. W., et al., Appl. Environ. Microbiol., 51, 946–949 (1986)) (352 mg, 1,20 mmol) in Tetrahydrofuran (20 ml) und Ethanol (0,4 ml) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 40 min. gerührt, und dann wurden 20 g Ammoniumchlorid hinzugegeben. Das Lösungsmittel wurde unter Stickstoff verdampft, und der Rest wurde mit Wasser (200 ml) behandelt, und mit Ethylacetat (3 \times 75 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und verdampft. Die Reinigung des erhaltenen Feststoffs durch Flashchromatographie auf Kieselgel (Hexan-ethyl Acetat-methanol 10:10:1) ergab reines 3 (251 mg, 71%, mp 221–223°C, MW 348,53); ^1H

NMR (CDCl₃): δ 3,86 (br s, 1H), 3,65–3,62 (m, 1H), 3,39–3,36 (m, 1H), 2,34–1,18 (m, 23H), 1,05 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 1,01 (s, 3H), 0,71 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 67,9, 67,4, 52,4, 50,2, 45,2, 44,1, 42,7, 39,5, 39,2, 39,0, 38,7, 38,1, 36,5, 35,6, 27,7, 23,7, 21,2, 16,7, 11,9, 10,4; MS (+FAB): 349 ([M + I]⁺, 100), 331 (52); Analyse berechnet für C₂₂H₃₆O₃: C, 75,82; H, 10,4. Gefunden: C, 75,71; H, 10,19.

Beispiel 2. (5-α, 7-α)-3-Dioxolan Bisnorcholan-7,22-diol (4).

[0045] Zu einem Gemisch des Steroids 3 (101 g, 0,290 mol) in Beispiel 1 und wasserfreiem Ethylenglycol (800 ml) wurde Chlortrimethylsilan (200 ml, 1,58 mol) über 60 min. bei Raumtemperatur unter Stickstoff hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur für 19 h gerührt. Das Gemisch wurde langsam in gesättigte Natriumbicarbonatlösung (1 l) geschüttet und mit Dichlormethan (3 × 500 ml) extrahiert. Die organische Schicht wurde mit Lauge (3 × 150 ml) gewaschen, und über Natriumsulfat (20 g) getrocknet. Nach dem Filtrieren und dem Verdampfen wurde das Produkt aus Ethylacetat in Hexan (800 ml) rekristallisiert. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit Hexan gewaschen (150 ml), um 4 hervorzubringen (96,14 g, 84%, mp 173–175°C, MW 392,58); ¹H NMR (CDCl₃): δ 3,93 (s, 4H), 3,83 (br s, 1H), 3,65 (d von d, J = 10,4 und 3,1 Hz, 1H), 3,36 (d von d, J = 10,4 und 7,1 Hz, 1H), 2,0–1,8 (m, 3H), 2,7–1,1 (m, 21H), 1,05 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,82 (s, 3H), 0,69 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 109,2, 67,8, 64,1, 52,4, 50,3, 45,6, 42,7, 39,5, 39,3, 38,8, 37,4, 26,2, 36,1, 35,7, 35,5, 31,2, 27,7, 23,7, 20,9, 16,7, 11,9, 10,3; MS (+FAB): 394 ([M + I]⁺, 100), Analyse berechnet für C₂₄H₄₀O₄: C, 73,43; H, 10,27. Gefunden: C, 73,15; H, 10,15. Diese Reaktion wurde bei einer 10-%igen Konzentration an Substrat durchgeführt, welche eine effiziente Steigerung des Verfahrens ermöglicht.

Beispiel 3. Herstellung von (5-α, 7-α)-3-Dioxolan-7-hydroxy Bisnorcholan-22-al (5).

[0046] Zu einer Lösung von 4 (100 g, 255 mmol) des Beispiels 2 in Methylenchlorid (1.200 ml) wurde Kaliumbromid (3,19 g, 26,8 mmol) und Natriumbicarbonat (10,97 g, 130 mmol) gelöst in Wasser (120 ml) hinzugegeben. Das abgekühlte (0°C) Reaktionsgemisch wurde mit TEMPO (1,20 g, 7,7 mmol) und mit 10–13-%igem Natriumhypochlorid (170 ml, 275–358 mmol) behandelt. Nach dem Rühren (magnetisch) für 2 h bei 0°C wurde das Reaktionsgemisch mit Natriumthiosulfat (20 g, 126 mmol) in Wasser (220 ml) behandelt. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit Lauge gewaschen (3 × 70 ml), über Natriumsulfat getrocknet (30 g), filtriert und in vacuo für 18 h bei Raumtemperatur aufkonzentriert, um Nr. 5 hervorzubringen (99,5 g, 98%, MW 390,57, FW 397,77); ¹H NMR (CDCl₃): δ 9,57 (d, J = 3,4 Hz, 1H), 3,95 (s, 4H), 3,83 (br s, 1H), 3,76 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,0–1,2 (m, 21H), 1,13 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,72 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 204,9, 109,0, 67,6, 64,0, 50,8, 49,7, 49,3, 45,4, 43,0, 39,3, 39,0, 37,3, 36,2, 35,9, 35,6, 35,4, 31,0, 26,8, 23,8, 20,7, 13,3, 12,1, 10,2; MS (+FAB): 391 ([M + I]⁺, 100), Analyse berechnet für C₂₄H₃₈O₄·H₂O: C, 72,47; H, 9,83. Gefunden: C, 72,49; H, 9,77.

Beispiel 4. Herstellung von (5-α, 7-α)-3-Dioxolan-7-hydroxy Cholest-23-en-24-on (7).

[0047] Eine Mischung aus 97% Natrium t-butoxid (37 g, 373 mmol) und wasserfreiem Tetrahydrofuran (400 ml) wurde für 10 min. unter Stickstoff gerührt und dann wurde eine Lösung aus 6 (94 g, 423 mmol, siehe Schema 2 oben) in Tetrahydrofuran (150 ml) in einem hinzugegeben. Das Gemisch wurde anfänglich auf 41°C aufgewärmt, aber dann auf 24°C unter Rühren (45 min.) zurückgeführt. Dann wurde eine Lösung der Nr. 5 aus Beispiel 3 in Tetrahydrofuran (400 ml) über 60 min. hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur (18 h) gerührt, und dann wurde Wasser (30 ml) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in vacuo aufkonzentriert, und mit Cyclohexan (1200 ml), Toluol (600 ml) und Wasser (160 ml) behandelt. Die organische Schicht wurde abgetrennt, mit Lauge gewaschen (3 × 100 ml) und mit Wasser (160 ml), über Natriumsulfat getrocknet (30 g), filtriert und verdampft, um einen Feststoff hervorzubringen. Der unbehandelte Feststoff wurde aus Ethylacetat in Cyclohexan rekristallisiert und in vacuo bei 50°C für 5 h getrocknet, um 7 hervorzubringen (94,64 g, 82%, mp 177–178°C, MW 458,69); ¹H NMR (CDCl₃): δ 6,72 (d von d, J = 15,7 und 9,0 Hz, 1H), 3,94 (s, 4H), 3,83 (br s, 1H), 2,85 (hept, J = 6,9 Hz, 1H), 2,29 (m, 1H), 2,0–1,1 (m, 22H), 1,11 (m, 9H), 0,83 (s, 3H), 0,71 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 204,5, 152,4, 126,2, 109,1, 67,8, 64,1, 54,9, 50,4, 45,6, 43,0, 40,0, 39,5, 39,3, 38,1, 37,4, 36,3, 36,1, 35,7, 31,2, 28,1, 23,6, 20,9, 19,3, 18,6, 18,4, 12,1, 10,3; MS (+FAB): 459 ([M + I]⁺, 92), 99 (100); Analyse berechnet für C₂₉H₄₆O₄: C, 75,94; H, 10,11. Gefunden: C, 75,5; H, 9,87.

Beispiel 5. Herstellung von (5-α, 7-α, 24S-)-7, 24-Dihydroxy-3-dioxolan Cholest-23-en (8).

[0048] Ein getrockneter und Stickstoff-behandelter Reaktor wurde mit 1 M (R)-MeCBS-Reagenz in Toluol (20 ml, 20 mmol) beladen, und mit 1 M Bortetrahydrofurankomplex in Tetrahydrofuran (25 ml, 25 mmol), und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde abgekühlt (–15 bis –28°C), mit Steroid 7 (9,16 g,

20 mmol) aus Beispiel 4 in Tetrahydrofuran (150 ml) behandelt, und für 2 h (–20 bis –28°C) gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Methanol (25 ml) behandelt, unter Rühren für 18 h bei Raumtemperatur, und dann wurde es wiederholt durch Destillieren verdampft, und mit Methanol (4 × 30 ml) behandelt, um die Lösungsmittel auszutauschen. Schließlich wurde Methanol (70 ml) hinzugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde in den Rückfluss gebracht, in einem Kühlschranks abgekühlt (es haben sich keine Kristalle gebildet) und in vacuo aufkonzentriert. Die Rekristallisierung aus Acetonitril (100 ml), die Filtrierung und die Verdampfung bei 50–50°C für 7 h ergab Kristalle der Nr. 8 (7,43 g, 80%, mp 121–125°C, MW 460,70, FW 464,3 1); ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,5–5,3 (m, 2H), 3,94 (s, 4H), 3,82 (br s, 1H), 3,75 (in, 1H), 2,2–1,1 (m, 25H), 1,05 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,94 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,70 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 139,5, 128,6, 109,2, 78,5, 67,8, 64,1, 55,5, 50,6, 45,6, 42,6, 40,0, 39,5, 39,4, 37,5, 36,2, 36,1, 35,7, 35,6, 33,9, 31,2, 28,7, 23,6, 20,9, 20,4, 18,3, 18,1, 12,0, 10,3; MS (+FAB): 462 ([M + I]⁺, 100), Analyse berechnet für C₂₉H₄₈O₄·0,2H₂O: C, 75,02; H, 10,51. Gefunden: C, 75,00; H, 10,48.

Beispiel 6. Herstellung von (5-α, 7-α-, 24R)-7, 24-Dihydroxy-3-dioxolan Cholestan (9).

[0049] Steroid 8 (10,0 g, 21,5 mmol) des Beispiels 5, Toluol (170 ml), Triethylamin (1 ml) und 10% Platin auf Kohlenstoff (0,5 g) wurden unter 50 psi Wasserstoff in einem Parr-Apparat (19 h) kombiniert. Das Reaktionsgemisch wurde durch Celit filtriert, mit Chloroform und Ethylacetat (10 ml gesamt) gewaschen, und in vacuo aufkonzentriert, um einen Feststoff zu ergeben, welcher aus Ethylacetat in Hexan (180 ml) rekristallisiert wurde. Der Feststoff wurde filtriert und bei 50–60°C im Vacuum für 7 h aufkonzentriert, um reines Nr. 9 hervorzubringen (9,24 g, 92%, mp 161–163°C, MW 462,72, FW 466,32); ¹H NMR (CDCl₃): δ 3,95 (s, 4H), 3,84 (br s, 1H), 3,33 (br s, 1H), 2,0–1,1 (m, 29H), 0,93 (m, 9H), 0,83 (s, 3H), 0,67 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 109,2, 77,0, 67,8, 64,1, 55,9, 50,5, 45,5, 42,6, 39,5, 37,4, 36,2, 36,1, 35,7, 35,5, 33,5, 32,0, 31,2, 30,5, 28,2, 23,6, 20,9, 18,8, 18,6, 17,2, 11,8, 10,3; MS (+FAB): 463 ([M + I]⁺, 100)⁺, Analyse berechnet für C₂₉H₅₀O₄·0,2H₂O: C, 74,70; H, 10,89. Gefunden: C, 74,48; H, 10,49.

Beispiel 7. Herstellung von (5-α, 7-α-, 24R)-7, 24-Dihydroxy-3-ketocholestan (10).

[0050] Steroid 9 (2,03 g, 4,35 mmol) des Beispiels 6, p-Toluolsulfonsäure (200 mg), Wasser (1 ml) und Aceton (100 ml) wurden unter Rühren für 4 h zusammengegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in vacuo aufkonzentriert und mit Dichlormethan (100 ml), und mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (50 ml) behandelt. Die organische Schicht wurde entfernt, mit Lauge gewaschen (3 × 25 ml), über Natriumsulfat (10 g) getrocknet, filtriert und bei 50–60°C verdampft. Der Feststoff wurde aus Ethylacetat in Hexan (50 ml) rekristallisiert, filtriert, mit Hexan gewaschen, und in vacuo bei 50–60°C für 7 h getrocknet, um die Nr. 10 hervorzubringen (1,63 g, 89%, mp 151–153°C, MW 418,67); ¹H NMR (CDCl₃): δ 3,88 (br s, 1H), 3,33 (br s, 1H), 2,5–1,1 (m, 29H), 1,02 (s, 3H), 0,94 (m, 9H), 0,71 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 212,0, 76,9, 67,3, 56,1, 50,3, 45,1, 44,1, 42,6, 39,4, 39,0, 38,1, 38,0, 36,6, 35,8, 35,6, 33,6, 32,1, 30,6, 28,2, 23,6, 21,1, 18,9, 18,6, 17,3, 11,8, 10,4; MS (+FAB): 419 ([M + I]⁺, 100); Analyse berechnet für C₂₇H₄₆O₃: C, 77,46; H, 11,07. Gefunden: C, 77,25; H, 11,04.

Beispiel 8. Herstellung eines Kaliumsalzes von (5-α, 7-α-, 24R)-7, 24-Hydroxy-3-ketocholestan-24-yl Sulfat (11).

[0051] Eine getrocknete und mit Stickstoff gespülte Flasche wurde mit Verbindung 10 (2,09 g, 5,0 mmol) des Beispiels 7, gelöst in wasserfreiem Pyridin (30 ml) behandelt. Schwefeltrioxidpyridinkomplex (836 mg, 5,25 mmol, 1,05 Äquiv.), welches in Pyridin (20 ml) gelöst war, wurde zu der Reaktionsmischung hinzugegeben, welche für 4 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Wasser wurde hinzugegeben (10 ml), und das Pyridin wurde durch Aufkonzentrierung in vacuo bei 40°C entfernt. Der Rest wurde mit Ethylacetat (50 ml) und mit Kaliumchlorid (1,12 g, 15 mmol), welches in Wasser gelöst war, unter Rühren für 1,5 h behandelt. Das Kaliumsalz 11 wurde mit Celit (3 g) durch Filtrieren eingesammelt, mit Ethylacetat gewaschen (50 ml) und mit Wasser (10 ml), und in 1 N Kaliumhydroxid in 15 Methanol (10 ml, 10 mmol) und Methanol (100 ml) gelöst. Der Methanol wurde in vacuo bis zur Trockenheit entfernt, und der Feststoff wurde mit Wasser (30 ml) gewaschen, filtriert, und in vacuo bei Raumtemperatur für 20 h getrocknet, um Nr. 11 hervorzubringen (2,10 g, 77%, MW 536,82, FW 544); ¹H und ¹³C NMR waren identisch mit den publizierten Spektren. Die HPLC-Analyse des zuvor beschriebenen Verfahrens (Zhang, X., et al., J. Org. Chem., 63, 8599–8603 (1998)) zeigte einen diastereomeren Überschuss von 95%.

Beispiel 9. Herstellung der Verbindung 1436

[0052] Eine klare farblose Lösung der Verbindung 11 (16 mg, 0,032 mmol) und Spermin (20 mg, 0,1 mmol, kommerziell erhältlich von Aldrich) in wasserfreiem Methanol (3 ml) wurde bei Raumtemperatur unter Stickstoff

für 12 h gerührt, auf -78°C abgekühlt und tröpfchenweise mit Natriumborhydrid (1 Pellet, 0,4 g, 10 mmol) in Methanol (10 ml) behandelt. Dieses Reaktionsgemisch wurde für 3 h gerührt, mit einem Gemisch aus Wasser und Methanol (10 ml jeweils) behandelt, auf Raumtemperatur aufgewärmt, und dann mit 0,78%iger Trifluoressigsäure (TFA)-Lösung behandelt, bis ihr pH den Bereich von 4–5 erreichte. Das erhaltene Gemisch wurde durch eine dünne Schicht Celit[®] gefiltert, und das Celit[®] wurde mit Methanol und Wasser (100 ml) gewaschen. Celit[®] ist SiO_2 , das kommerziell von Aldrich erhältlich ist. Die kombinierten sauren Waschungen wurden in vacuo bei Raumtemperatur aufkonzentriert, und dann über Nacht gefriergetrocknet, um einen weißen Feststoff zu ergeben. Der Celit[®]-Kuchen wurde dann mit Isopropylamin/Methanol/Wasser (140 ml eines 1:3:3-Gemischs) gewaschen, und der basische Teil wurde verdampft, um dessen Volumen zu reduzieren. Dieses Material wurde über Nacht gefriergetrocknet, um einen hellbraunen Feststoff zu ergeben. Beide Waschungen enthielten die Verbindung 1436, so dass sie zusammengegeben wurden, und auf einen pH von 3 mit 0,78% TFA angesäuert wurden, filtriert wurden, und auf eine kleine HPLC-Säule (1 cm Durchmesser, siehe unten) geladen wurden. Das Reaktionsprodukt war die Verbindung 1436 (12,2 mg, 36%): $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O): δ 4,14 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,2–3,0 (m, 13H), 2,1–1,0 (m, 35H), 0,92 (m, 9H), 0,82 (s, 3H), 0,67 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, D_2O): δ 87,2, 68,0, 57,9, 56,0, 50,5, 47,4, 45,6, 44,9, 42,8, 41,9, 39,7, 37,5, 36,9, 36,7, 36,0, 35,8, 31,5, 31,1, 30,6, 28,3, 27,1, 24,8, 24,1, 23,6, 23,4, 23,1, 21,4, 19,2, 17,7, 12,1, 11,2; MS (-LD): 684 (M – 1); Analyse berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{72}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}\cdot 3\text{TFA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 48,58; H, 7,49; F, 16,08; N, 5,27; S, 3,02. Gefunden: C, 48,49; H, 7,40; F, 16,16; N, 5,31; S, 3,05.

Beispiel 10. Reinigung der Verbindung 1436 durch HPLC

[0053] Das unbehandelte Material des Beispiels 9 wurde in Wasser (50 ml) gelöst, in einem Eisbad abgekühlt und mit 1,5% TFA in Wasser angesäuert, bis sein pH 3 betrug. Anfänglich wurde beobachtet, dass man, wenn der pH fällt, eine Suspension erhält und dann wird bei einem niedrigeren pH-Wert eine Lösung erhalten. Diese Lösung wurde auf eine Rainin-Umkehrphasen-HPLC auf ein Rainin-Umkehrphasen-HPLC-System (2,14 cm Durchmesser, C18, 100 Å, 8 μm) geladen, und mit A eluiert (auf Wasser mit 0,1% TFA) und mit B (Acetonitril mit 0,1% TFA). Das HPLC-Programm war wie folgt: 10 min. (0–10% B), 60 min. (10–45% B), 10 min. (45–80% B), 10 min. (80% B). Das reine Produkt wurde in den Fraktionen bei 33 bis 55 min. eluiert, wie durch TCL bestimmt wurde (R_f : 0,1–0,2 in 6/3/1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$) (sollte Platten unter Vacuum vor dem Eluieren verdampfen, und mit Ninhydrinfärbung nach Eluieren beobachten), was lyophilisiert wurde, um 1,20 Gramm der Verbindung 1436 als weißes Pulver (70%) zu ergeben; $\text{C}_{37}\text{H}_{72}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}\cdot 3\text{TFA}\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$, FW 1072,18.

Beispiel 11. Herstellung von Squalamin

[0054] Squalamin wurde durch Umsetzen des Kaliumsalzes der Verbindung 11 (0,5 Äquivalente) des Beispiels 8 mit $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{N}_3\cdot 2\text{HCl}$ (1 Äquivalent) in NaOMe (2 Äquivalente) und Methanol bei Raumtemperatur für 24 h umgesetzt, und dann bei -78°C mit NaBH_4 , gefolgt von einer Behandlung mit H_2 , RaNi, RP-HPLC, 69% bezogen auf das Kaliumsalz der Verbindung 11. Siehe Weis et al., Tetrahedron Letters, 40, 4863–4864 (1999).

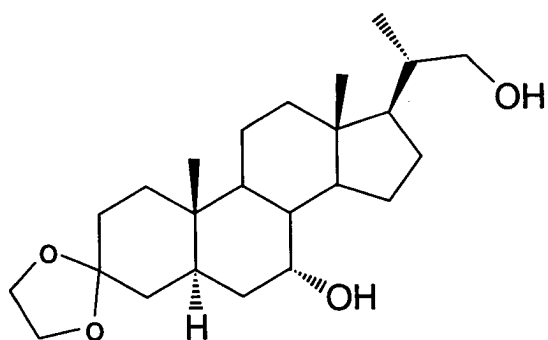
[0055] Bei der Beschreibung der Erfindung hat die Anmelderin einige Theorien angegeben, um zu helfen darzulegen, wie und warum die Erfindung in der Weise funktioniert, in der sie funktioniert. Diese Theorien sind nur für Informationszwecke ausgeführt. Die Anmelderin wünscht nicht, an irgendeine spezifische Theorie eines Arbeitsschritts gebunden zu sein.

[0056] Während die Erfindung im Hinblick auf zahlreiche spezifische bevorzugte Ausführungsformen oder spezifische Beispiele geschrieben worden ist, erkennen Fachleute auf dem Gebiet an, dass zahlreiche Änderungen und Modifizierungen gemacht werden können, ohne vom Geist und Schutzbereich der Erfindung abzuweichen, wie in den angehängten Ansprüchen definiert wird.

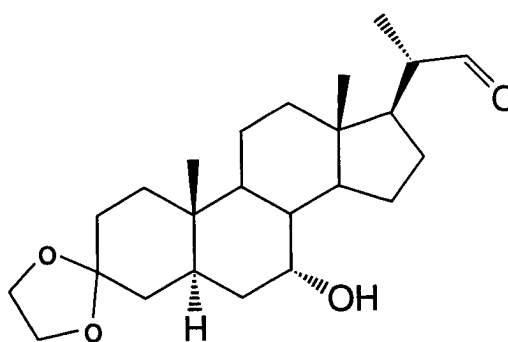
[0057] Ohne weitere Beschreibung wird geglaubt, dass jemand von durchschnittlichen Fachkenntnissen auf dem Gebiet unter Verwendung der vorhergehenden Beschreibung und der darstellenden Beispiele die erfindungsgemäßen Verbindungen machen und verwenden kann, und die beanspruchten Verfahren ausführen kann. Es sollte klar sein, dass die vorhergehende Diskussion die Beispiele nur eine detaillierte Beschreibung bestimmter bevorzugter Ausführungsformen darstellen. Es wird Fachleuten mit gewöhnlichen Kenntnissen in dem Gebiet klar, dass zahlreichen Modifizierungen und Äquivalente gemacht werden können, ohne vom Geist und dem Schutzbereich der Erfindung abzuweichen. Alle Patente, Zeitschriftenartikel und andere Dokumente, die hier diskutiert oder zitiert sind, sind in ihrer Gesamtheit durch Bezugnahme eingeschlossen.

Patentansprüche

1. Verfahren zum regioselektiven Oxidieren des primären Hydroxylsubstituenten der Verbindung 4, um die Verbindung 5 hervorzubringen, wobei das Verfahren die Schritte umfasst:
Umsetzen der Verbindung 4 mit Bleiche in Gegenwart eines 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinyloxy (TEMPO)-Katalysators vom Typ eines freien Radikals

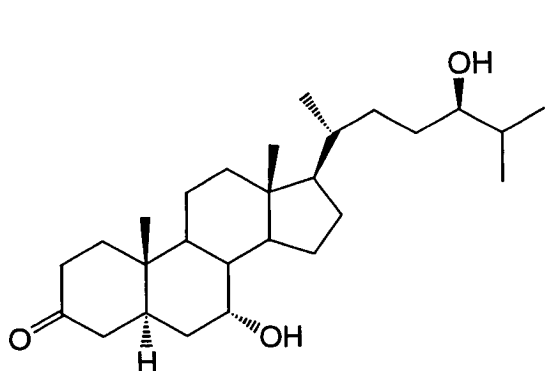


(4)

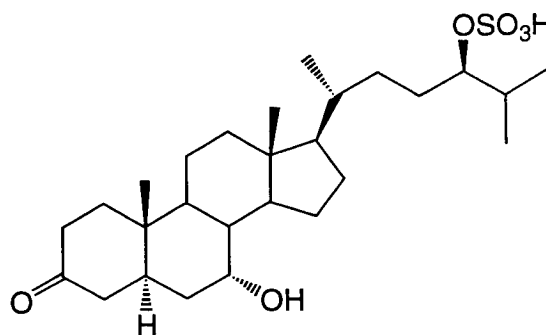


(5)

2. Verfahren zum regioselektiven Sulfonieren der C24-Hydroxylgruppe der Verbindung 10, um die Verbindung 11 hervorzubringen, wobei das Verfahren die Schritte umfasst:
Umsetzen der Verbindung 10 mit einem 5%-igen Überschuss eines Schwefeltrioxid-Pyridinkomplexes,

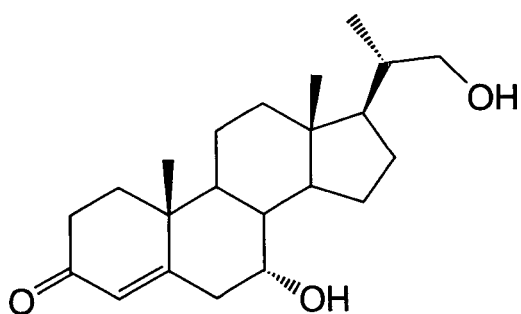


(10)



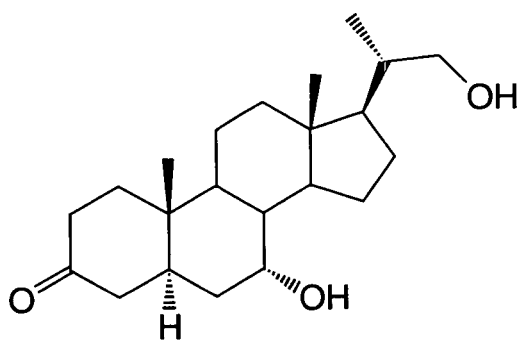
(11)

3. Verfahren zum Herstellen einer Aminosterolverbindung umfassend die Schritte:
(a) Umsetzen der Verbindung 2:



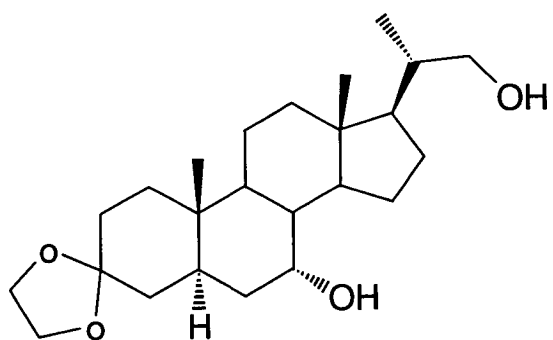
(2)

mit Li und NH₃, um die Verbindung 3 zu bilden:



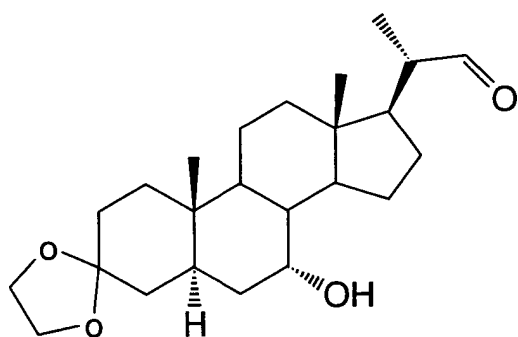
(3)

(b) Umsetzen der Verbindung 3 mit TMSCl und Ethylenglycol, um die Verbindung 4 zu bilden:



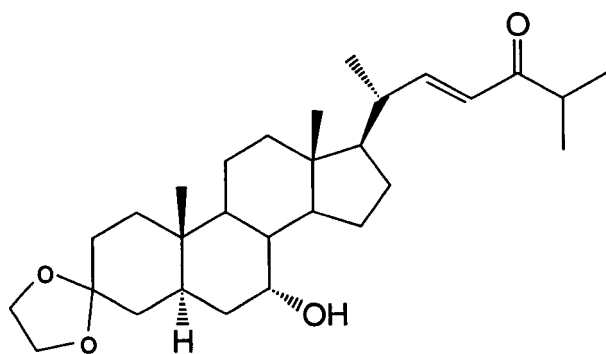
(4)

(c) Umsetzen der Verbindung 4 mit Bleiche und einem TEMPO-Katalysator, um die Verbindung 5 zu bilden:



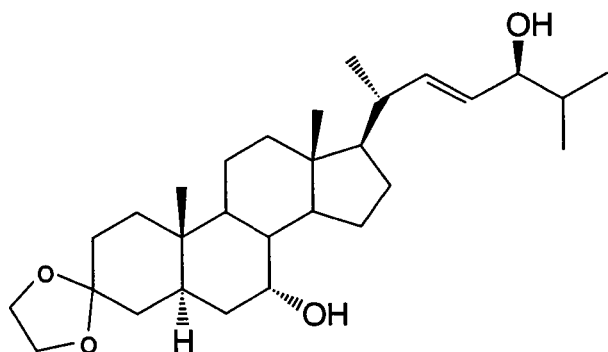
(5)

(d) Umsetzen der Verbindung 5 mit $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{-CH}_2\text{-C}(\text{O})\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ und Natrium t-Butoxid, um die Verbindung 7 zu bilden:



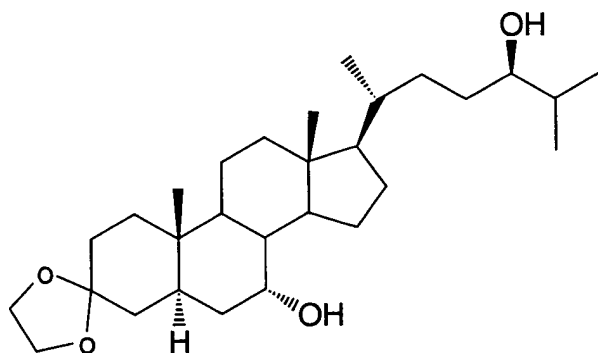
(7)

(e) Umsetzen der Verbindung 7 unter Bedingungen, die ausreichen, um die Verbindung 8 zu bilden:



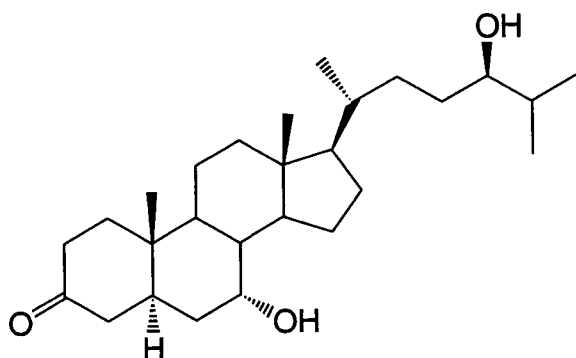
(8)

(f) Hydrogenieren der Verbindung 8, um die Verbindung 9 zu bilden:



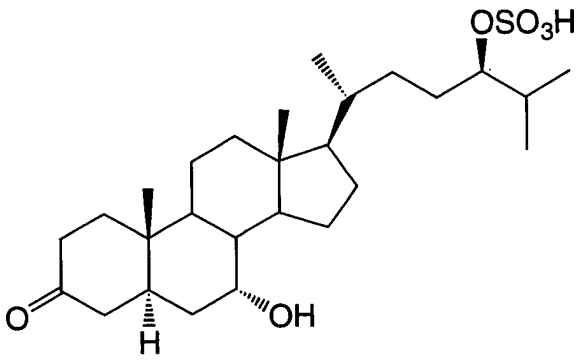
(9)

(g) Entschützen der Verbindung 9, um die Verbindung 10 zu bilden:



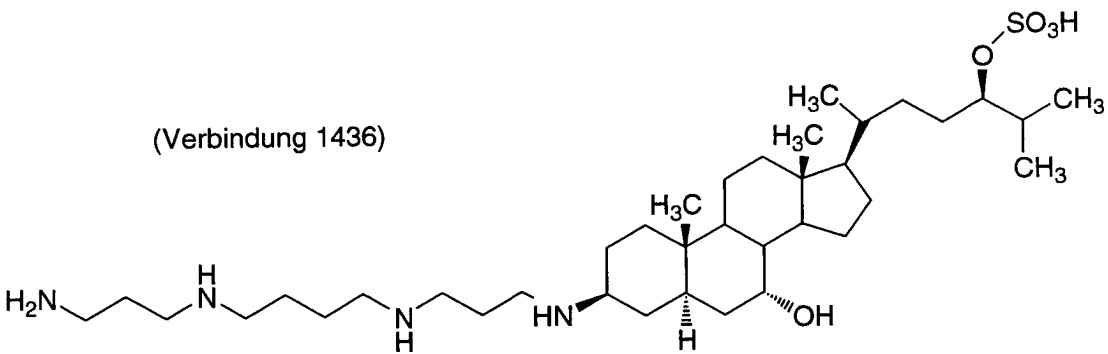
(10)

(h) Umsetzen der Verbindung 10 mit einem 5%-igen Überschuss an SO_3 : Pyridin, um die Verbindung 11 zu bilden:



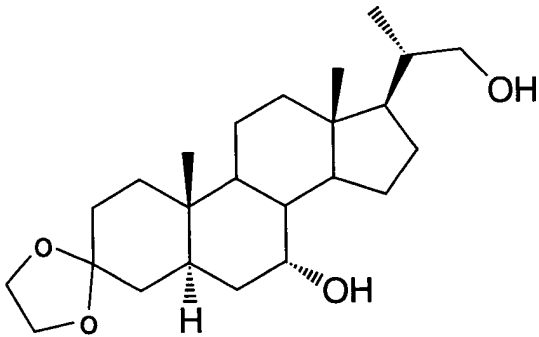
(11)

und (i) Umsetzen der Verbindung 11 mit einem geeigneten Amin, um Squalamin oder die Verbindung 1436 zu bilden,



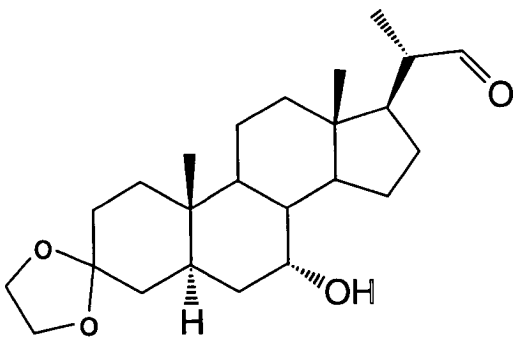
(Verbindung 1436)

4. Verbindung



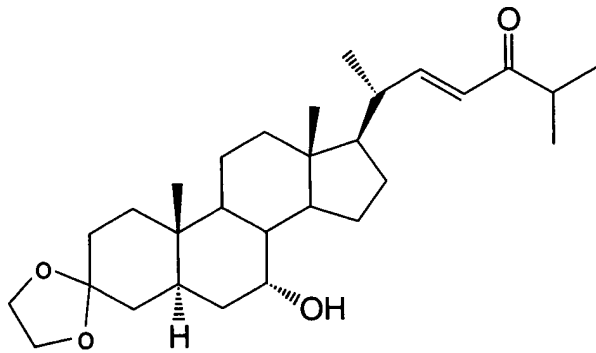
(4)

5. Verbindung



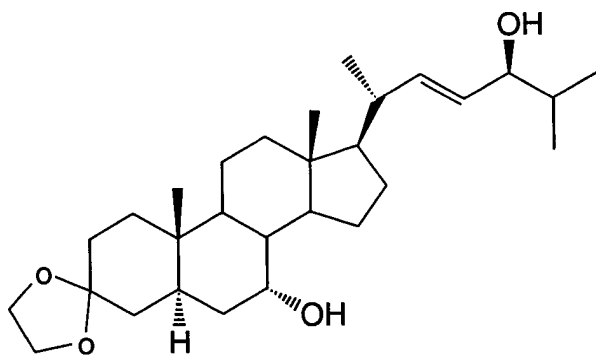
(5)

6. Verbindung



(7)

7. Verbindung



(8)

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

FIG. 2

