



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(11) 322018

(13) B1

(51) Int Cl.

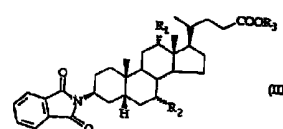
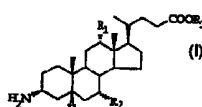
C07J 41/00 (2006.01)

C07J 43/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20020969	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2000.08.23 PCT/EP00/08226
(22)	Inng.dag	2002.02.27	(85)	Videreføringsdag	2002.02.27
(24)	Løpedag	2000.08.23	(30)	Prioritet	1999.08.31, IT, MI99A001856
(41)	Alm.tilgj	2002.04.25			
(45)	Meddelt	2006.08.07			
(73)	Innehaver	Bracco Imaging SpA , Via E Folli, 50, 20134 MILANO, IT			
(72)	Oppfinner	Pier Lucio Anelli, c/o Bracco Imaging SpA, Via E Folli, 50, I-20134 Milano, IT Marino Brocchetta, c/o Bracco Imaging SpA, Via E Folli, 50, I-20134 Milano, IT Massimo Visigalli, , Milano, IT Chiara Gallotti, , Milano, IT			
(74)	Fullmektig	Oslo Patentkontor AS , Postboks 7007 Majorstua, 0306 OSLO, NO			
(54)	Benevnelse	Fremgangsmåte ved fremstilling av gallesyrederivater og derivater fremstilt derved.			
(56)	Anførte publikasjoner	Ingen			
(57)	Sammendrag				

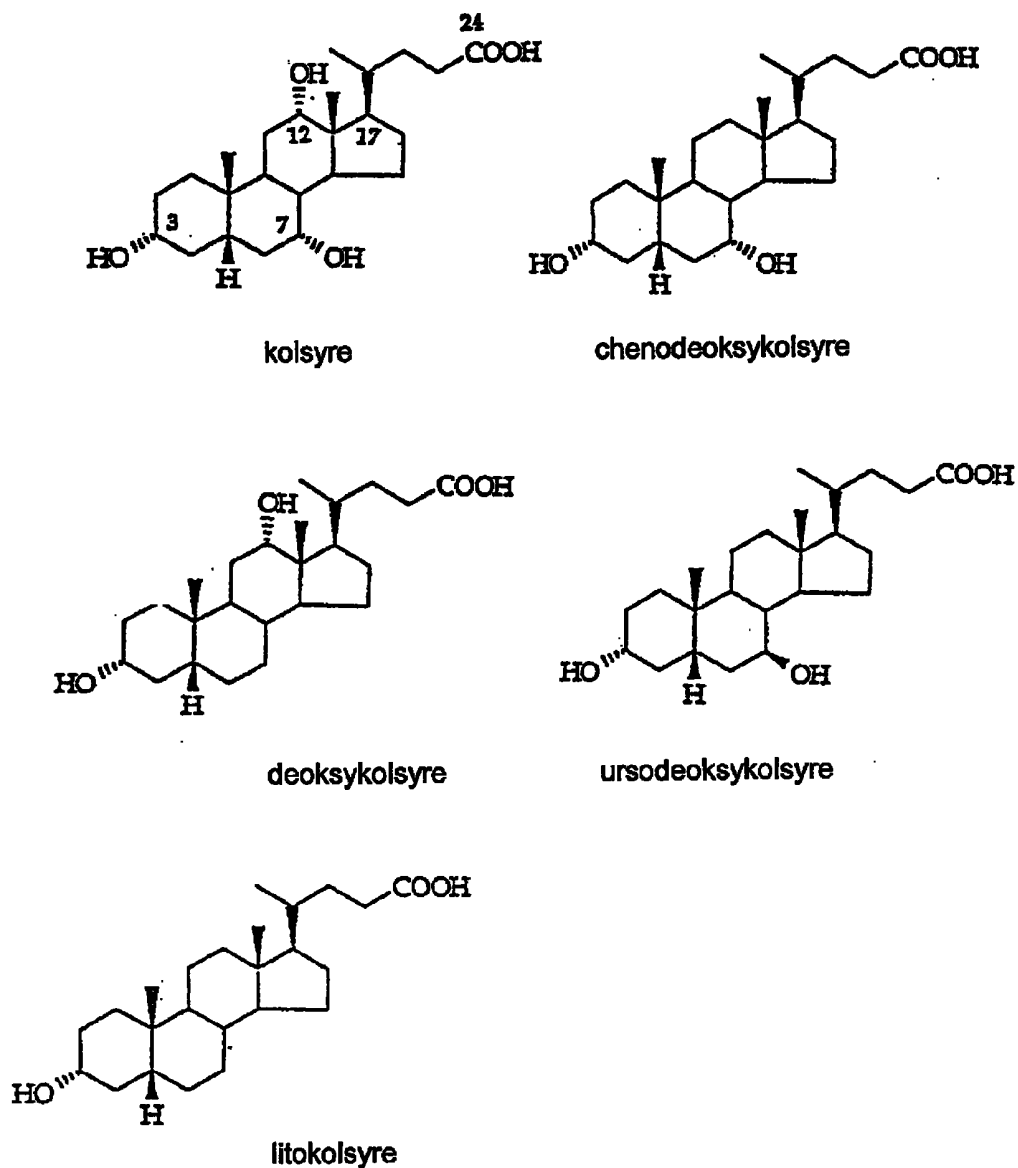
En fremgangsmåte ved fremstillingen av forbindelsene med generell formel (I) hvor R_1 er H eller OH; R_2 er H, α -OH, eller β -OH; og R_3 er en rett eller forgrenet C_1 - C_4 alkylgruppe eller en benzylgruppe, omfattende reduksjonen av forbindelser med formel (III) hvori R_1 , R_2 og R_3 har de samme betydningene som i formel (I), i nærvær av natriumborhydrid.



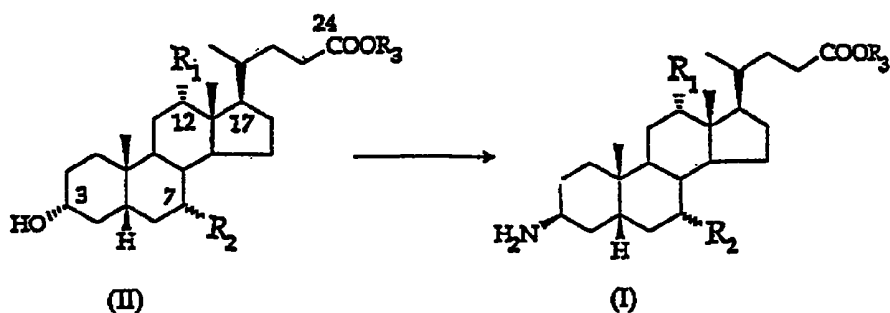
Foreliggende oppfinnelse vedrører en ny fremgangsmåte ved fremstillingen av gallesyrederivater hvor en aminogruppe er til stede i 3 β -stillingen. Oppfinnelsen vedrører videre derivater fremstilt i henhold til nevnte fremgangsmåte

De viktigste gallesyrer er representert i det følgende skjema 1:

Skjema 1



Mer spesielt vedrører oppfinnelsen en fremgangsmåte ved fremstillingen av forbindelser med formel (I) fra forbindelser med formel (II):



hvor

R_1 er H eller OH;

R_2 er H, α -OH eller β -OH; og

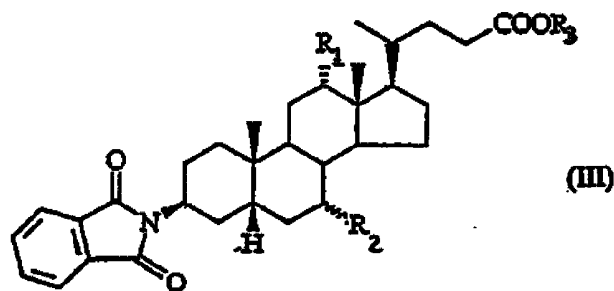
R_3 er en rett eller forgrenet C_1 - C_4 alkylgruppe, eller en benzylgruppe.

Forbindelsene med generell formel (I) er viktige intermediater for fremstillingen av forbindelser nyttige i mange farmasøytiske applikasjoner. De anvender, for eksempel, for fremstillingen av inhibitorer av gallesyrer-intestinal-absorpsjon (se EP-A-0489423) eller som bærere for aktive forbindelser i den enter-hepatiske sirkulasjon (se EP-A-0417725).

Til sist, men ikke minst, er anvendelsen derav ved fremstillingen av kontrastmidler for medisinsk diagnose ved å anvende magnetisk resonans, slik som de som beskrevet i WO-A-95/32741, resulterende fra konjugasjonen av en gallesyre med et chelaterende middel, hvilket er i stand til å chelatere ionene av paramagnetiske bi- og trivalente metaller, spesielt gadoliniumionet, eller i publikasjonen: Anelli P. L. et al., Acta Radiologica, 38, 125, 1997.

EP-A-614 908 bringer for dagen fremstillingen av derivatene med generell formel (I), omfattende de følgende trinn:

- a) dannelse av ftalimidoderivater med generell formel (III) ved å reagere forbindelser med generell formel (II) med ftalimid;



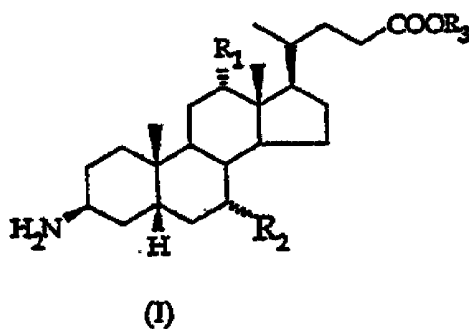
- b) behandling av forbindelser med generell formel (III) med hydrazinhydrat eller fenyldiazin;
- c) etterfølgende behandling av reaksjonsproduktene fra trinn b) med mineralsyrer for å danne addisjonssaltene, og
- d) frigjøring fra saltet for å gi forbindelsene med generell formel (I).

Som allerede vidt diskutert i EP-A-614 908 utføres dannelsen av ftalimidoderivatet ved hjelp av den velkjente Mitsunobu-reaksjon (se Synthesis, 1, 1981; Org. React. Vol. 42, 335 (1992)), nemlig i nærvær av et passende fosfin og DEAD (diethylazodikarbonsylat) eller DIAD (diisopropylazodikarbonsylat), i et organisk løsningsmiddel slik som dioksan eller tetrahydrofuran, ved en temperatur som strekker seg fra 20 til 50°C. Mitsunobu-reaksjonen gir sluttproduktene med inversjon av konfigurasjon.

Den illustrerte fremgangsmåte anvender hydrazinhydrat eller fenyldiazin, spesielt farlige produkter på grunn av deres fastlagte cancerogenisitet.

Det har overraskende blitt funnet at reduksjonen av ftalimidgruppen i forbindelsene med formel (III) fordelaktig kan utføres med natriumborhydrid.

(III)



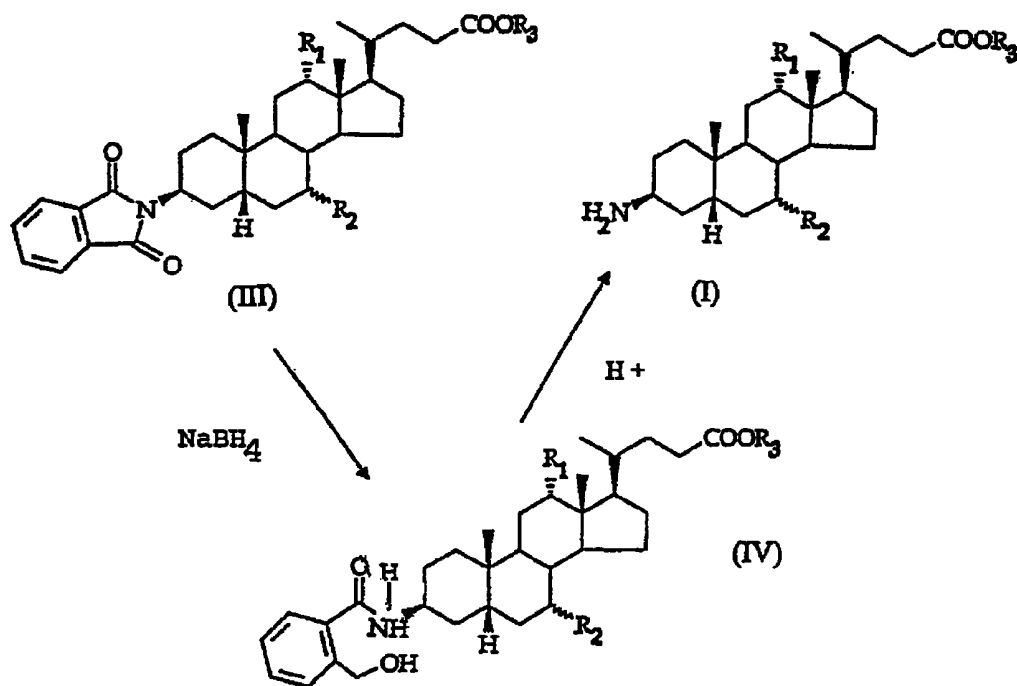
hvor

R_1 er H eller OH;

R_2 er H, α -OH eller β -OH; og

R_3 er en rett eller forgrenet C_1 - C_4 alkylgruppe, eller en benzylgruppe; gjennom dannelsen av de nye forbindelser med generell formel (IV), og etterfølgende avbeskyttelse av forbindelser (IV) ved behandling av forbindelsene med syrer, i henhold til det følgende skjema 3:

SKJEMA 3

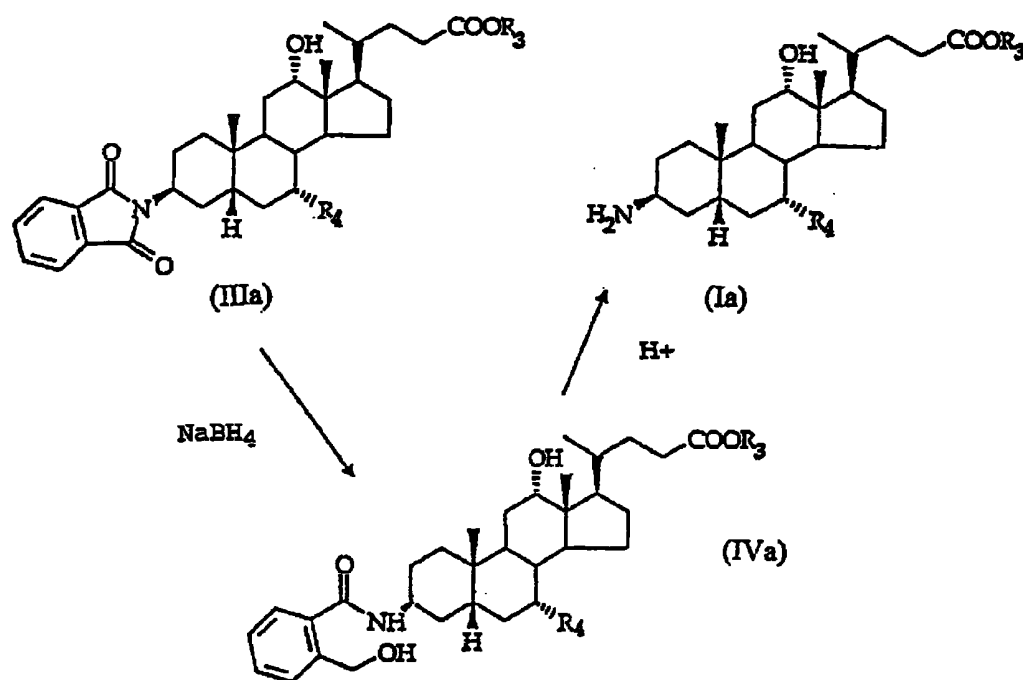


hvor R_1 , R_2 og R_3 har betydningene som definert over.

Forbindelser med generell formel (IV) er nye, nyttige intermediater i fremgangsmåten i henhold til skjema 3 og deres gjenvinning vil bli beskrevet i den eksperimentelle del.

Spesielt foretrukket er fremgangsmåten ved fremstillingen av forbindelser med formel (Ia), i henhold til skjema 3,

startende fra forbindelser med formel (IIIa), som er derivater av kol- eller deoksykolsyre,



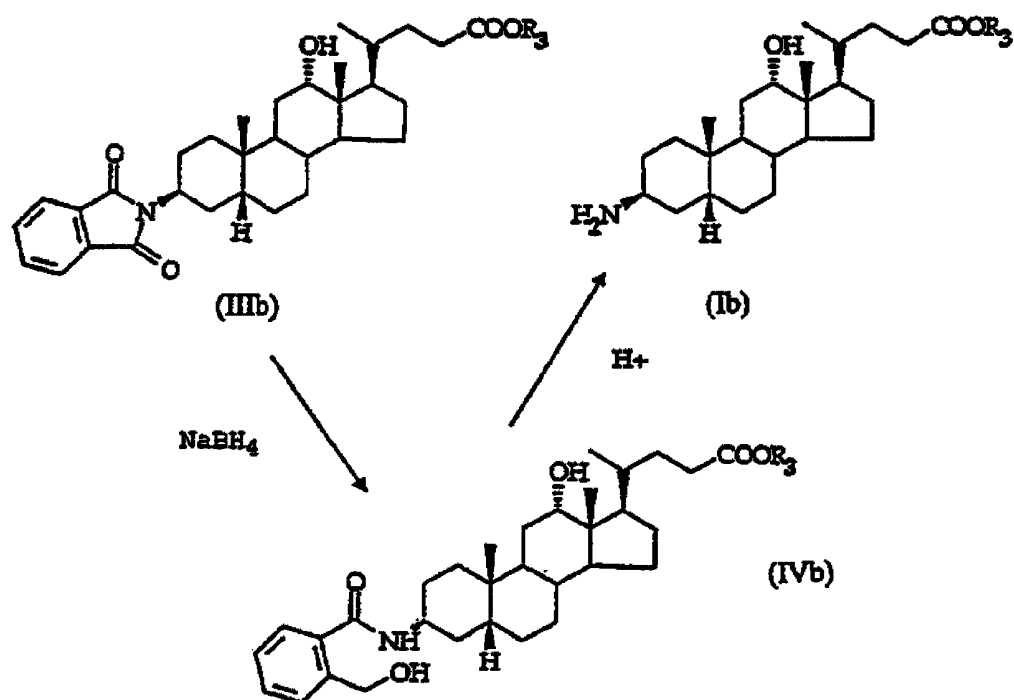
hvor

R_3 har betydningene definert over og

R_4 kan være et hydrogenatom eller en hydroksylgruppe.

Et ytterligere mål for den foreliggende oppfinnelse er fremgangsmåten ved fremstillingen av forbindelser med formel (Ib), i henhold til skjema 4, startende fra forbindelser med formel (IIIb), som er deoksykolsyrederivater,

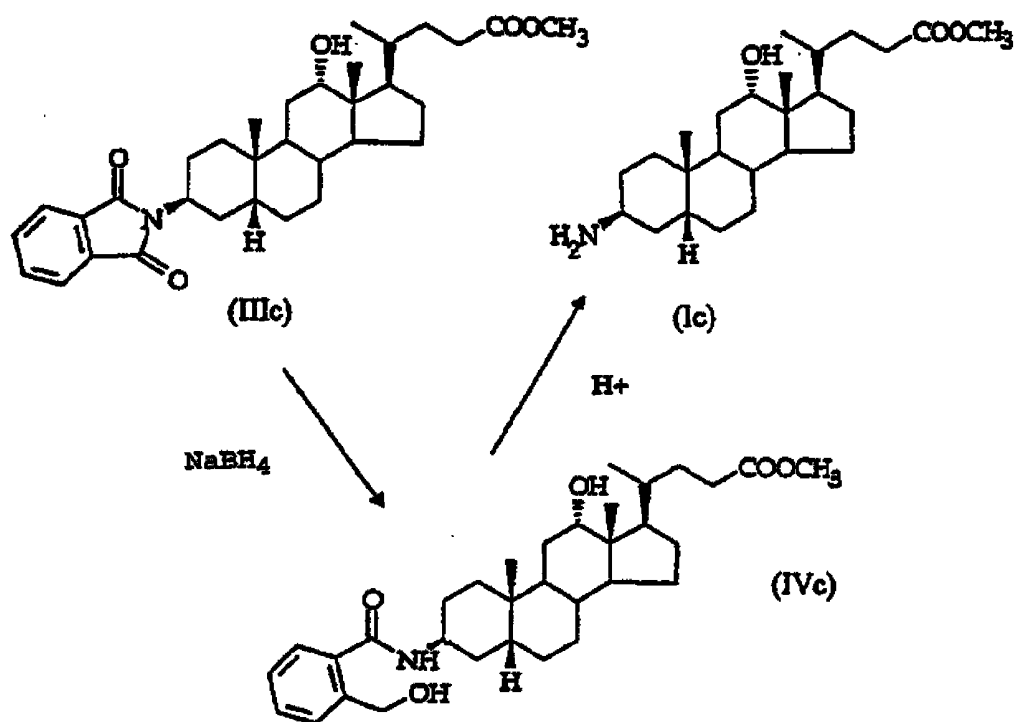
SKJEMA 4



hvor R_3 har betydningene definert over.

Spesielt foretrukket er fremgangsmåten ved fremstillingen av forbindelse (Ic), i henhold til skjema 5, startende fra forbindelse (IIIC), et deoksykolsyrederivat,

SKJEMA 5



Forbindelsene med formel (IIIc) og (IVc), henholdsvis (3 β ,5 β ,12 α)-3-[1,3-dihydro-1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl]-12-hydroksykolan-24-syre-metylester og (3 β ,5 β ,12 α)-12-hydroksy-3-[[2-hydroksymetyl]benzoyl]amino]kolan-24-syre-metylester, er nye og de er nyttige intermediater ved fremstillingen av forbindelse med formel (Ic), et deoksykolsyrederivat.

Forbindelsene med formel (III) syntetiseres i henhold til den generelle prosedyre som allerede beskrevet over og eksemplifisert i EP-A-614 908.

Foretrukne reaksjonsbetingelser omfatter:

- 1) valg av reaksjonstemperatur fra 15 til 25°C, for således å minske mengden diisoprylazodikarboksyilat til et lite overskudd til den stoikiometriske;

2) krystallisasjon av ftalimidoderivater (III) fra MeOH istedenfor 2-PrOH, for derved å redusere volumet av krystallisasjonsløsningsmiddel med minst 4 ganger.

Reduksjonen av ftalimidoderivater med NaBH_4 har aldri tidligere blitt beskrevet i feltet for forbindelsene av den foreliggende oppfinnelse, men referanser eksisterer i litteraturen, (T.W. Greene; P.G.M. Wuts "Protective groups in Organic Synthesis"; 3. utg. John Wiley and sons, New York, 1999), som rapporterer anvendelsen av et stort overskudd med dette reduksjonsmiddel (5-10 mol) for å avbeskytte en ftalimidogruppe.

Skoleringen inneholdt i den viktigste artikkel [Osby, Tetrahedron Letters, vol. 25, 2093 (1984)] dvs. anvendelsen av 2-PrOH/ H_2O = 6/1 som et reduksjonsløsningsmiddel viste seg definitivt å være uegnet for fremgangsmåten av den foreliggende oppfinnelse. Faktisk var det på grunn av den dårlige løselighet av forbindelser med formel (III), nødvendig å operere ved temperaturer rundt 40 °C og med en 2,5 % maksimum konsentrasjon som er selvfølgelig er industrielt uakseptabel.

På annen side viste allerede Osby at de foreslåtte betingelser ikke var spesielt egnet for å avbeskytte ftalimidogrupper fra derivater inneholdende en esterfunksjon. Osby selv observerte faktisk at avbeskyttelsen av denne gruppe i nevnte derivater ble ledsaget av reduksjon og hydrolyse av estergruppen med etterfølgende minskning i reaksjonsutbytter.

Søkeren fant at når forbindelsene med formel (III) reduseres under Osby-betingelsene, ble forbindelser med formel (I) gjenvunnet i rundt 65 % utbytter, men kontaminert med bemerkelsesverdige mengder biprodukter, hovedsakelig produktet fra reduksjonen av estergruppen i 24- til alkohol. Dette fenomen er fremdeles betydelig selv når NaBH_4 -overskuddet reduseres markert. For å bedre forstå opprinnelsen

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

96

97

98

99

100

101

102

103

104

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

203

204

205

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363

364

365

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446

447

448

449

450

451

452

453

454

455

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497

498

499

500

501

502

503

504

505

506

507

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524

525

52



som isopropanol beskrevet av Osby, kunne disse problemer overvinnes. Spesielt foretrukket er dimetylacetamid og N-metylpyrrolidon.

Ved å anvende nevnte løsningsmidler kunne konsentrasjonen av forbindelser (III) økes opp til mer enn 10 %, uten å øke mengden med biprodukter.

Under betingelsene i den foreliggende oppfinnelse, kunne dessuten NaBH_4 -overskuddet minskes, sammenlignet med det rapportert over.

Spesielt kan de molare ekvivalenter av reduksjonsmiddel senkes fra et kraftig overskudd (cirka 5) til hovedsakelig støikiometriske verdier (1,2-0,85) til substratet, uten å ugunstig påvirke reaksjonsutbyttene.

Et ytterligere aspekt av den foreliggende oppfinnelse er anvendelsen av, samtidig med de dipolare aprotiske løsningsmidler, en bufferløsning ved pH 7,5-9 som tillater å kontrollere pH under reaksjonen. Dette tillater hemming av hydrolysen av sensitive funksjoner som minimaliserer dannelsen av biprodukter (VI)-(VIII).

Forbindelsene med formel (IV) omdannes deretter til de med formel (I) ved behandling i dipolart aprotisk eller alkoholisk løsningsmiddel, eventuelt i blanding med vann, og i nærvær av en mineral- eller organisk syre (slik som eddiksyre).

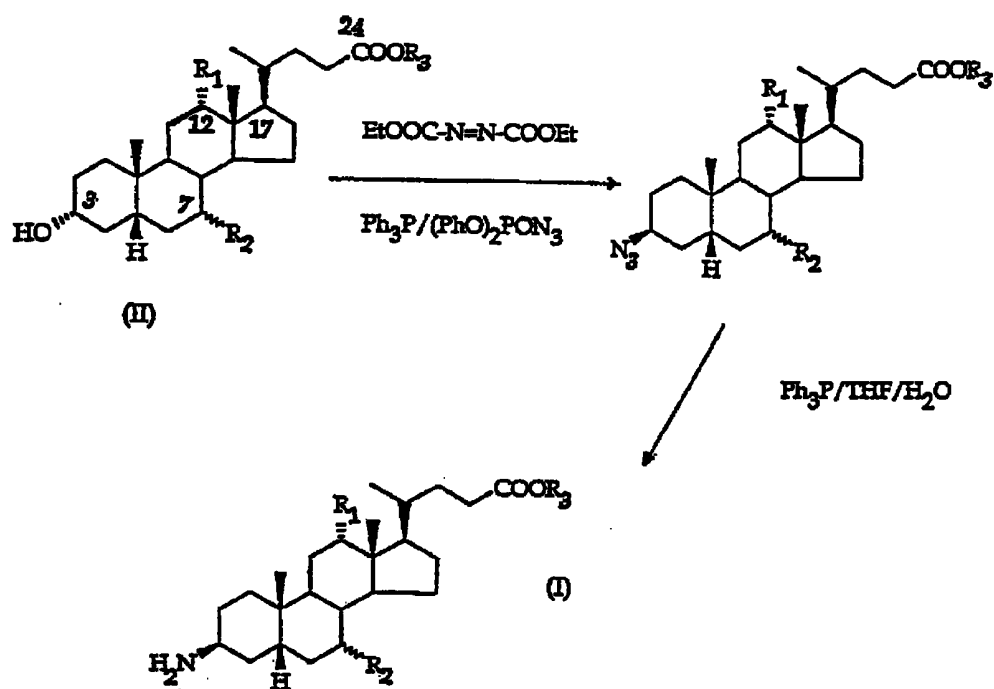
Spesielt foretrukket er anvendelsen av HCl i metanol-løsning. Etterfølgende frigjøring av den frie base fra saltet utføres ved behandling av løsningen i en av de ovennevnte løsningsmidler med vandige baser (slik som NaOH, Na_2CO_3 ...).

Som allerede nevnt over er forbindelser med formel (I) nyttige ved fremstillingen av medikamenter for å minske kole-

sterolnivåer i plasma, (EP-A-417 725 eller EP-A-489 423) eller av kontrastmidler for den kjerne magnetiske resonans diagnose, som beskrevet i WO-A-95/32741.

For den sistnevnte omfattet den kjente syntese omdannelsen av forbindelser (II) til de tilsvarende forbindelser (I) ved mellomliggende dannelsen av azidet i 3 β -stillingen, i henhold til Mitsunobu-reaksjon, som beskrevet i det følgende skjema 6:

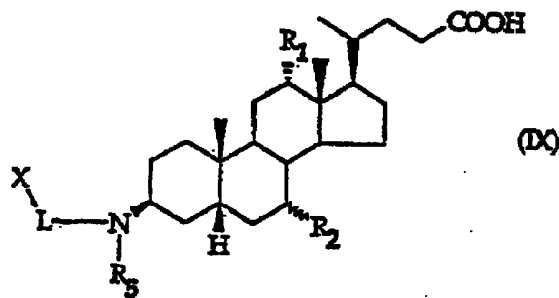
Skjema 6



Dette synteseskjema er uegnet for oppskalering for diazider potensielt er farlige og nøkkelreagenset (difenyldifosforylazid) er ekstremt dyrt.

Den foreliggende oppfinnelse vedrører en fremgangsmåte ved fremstillingen av chelaterende midler med generell formel (IX), som er i stand til å chelatere paramagnetiske bi-trivalente metallioner, valgt fra gruppen bestående av Fe⁽²⁺⁾,

$\text{Fe}^{(3+)}$, $\text{Cu}^{(2+)}$, $\text{Cr}^{(3+)}$, $\text{Gd}^{(3+)}$, $\text{Eu}^{(3+)}$, $\text{Dy}^{(3+)}$, $\text{La}^{(3+)}$, $\text{Yb}^{(3+)}$ eller $\text{Mn}^{(2+)}$,



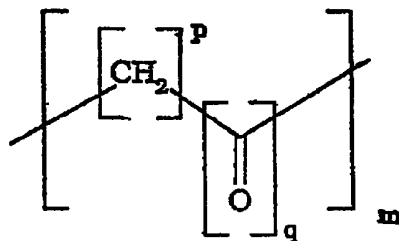
hvor

R_1 og R_2 har betydningene definert over;

R_3 er et hydrogenatom eller en (C_1-C_5) alkylgruppe usubstituert eller substituert med en karboksylgruppe;

X er residuet av en polyaminokarboksyl-ligand og derivater derav, valgt fra gruppen bestående av: etylendiaminotetraeddiksyre (EDTA), dietylentriaminopentaeddiksyre (DTPA), 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetraeddiksyre (DOTA), 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7-trieddiksyre (DO3A), [10-(2-hydroksypropyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7-trieddiksyre (HPDO3A), 4-karboksy-5,8,11-tris(karboksymetyl)-1-fenyl-2-oksa-5,8,11-triazatridekan-13-syre (BOPTA);

L er et residu med formel

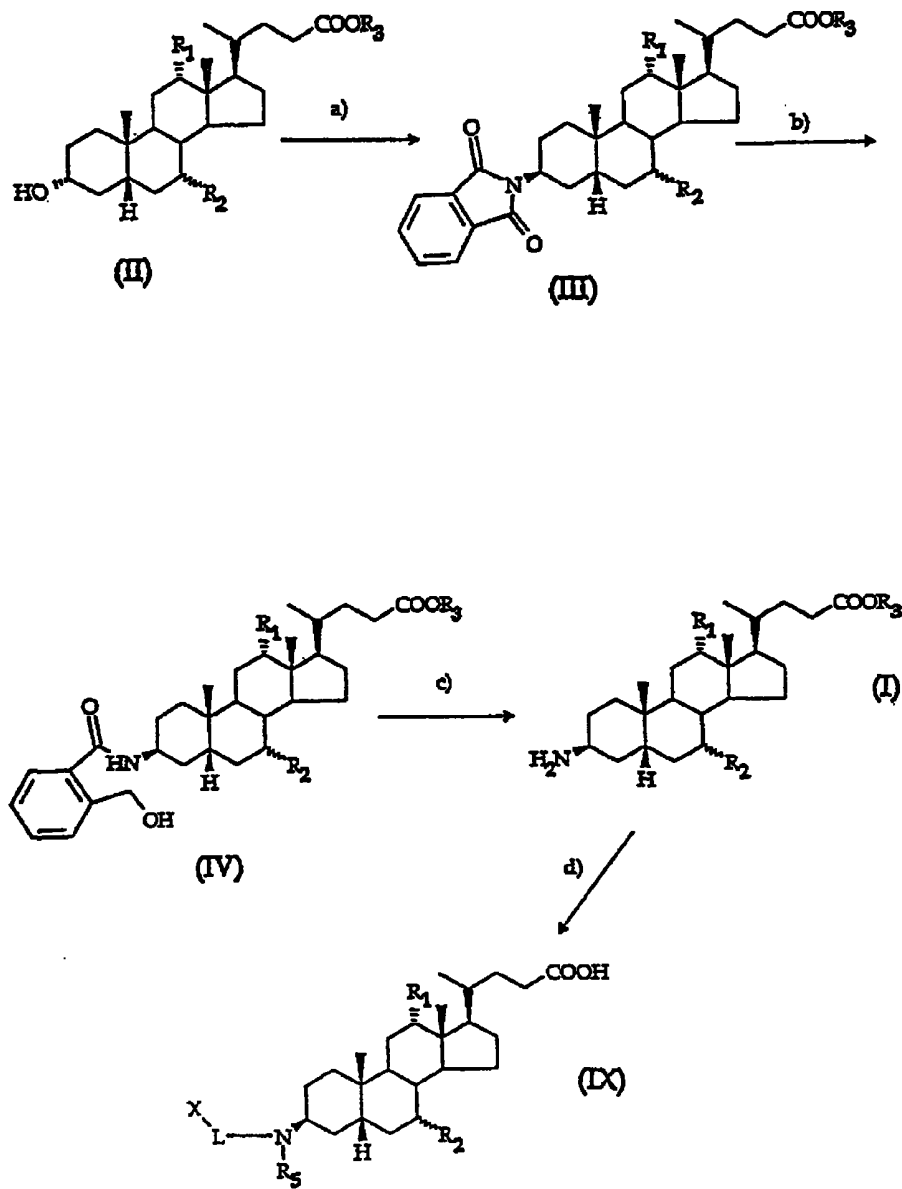


m er et heltall fra 1 til 10, hvori for verdier over 1, kan verdiene av p og q være forskjellige i monomerenhetene;

q er 0 eller 1;

p kan strekke seg fra 0 til 10, p og q er ikke på samme tid null,

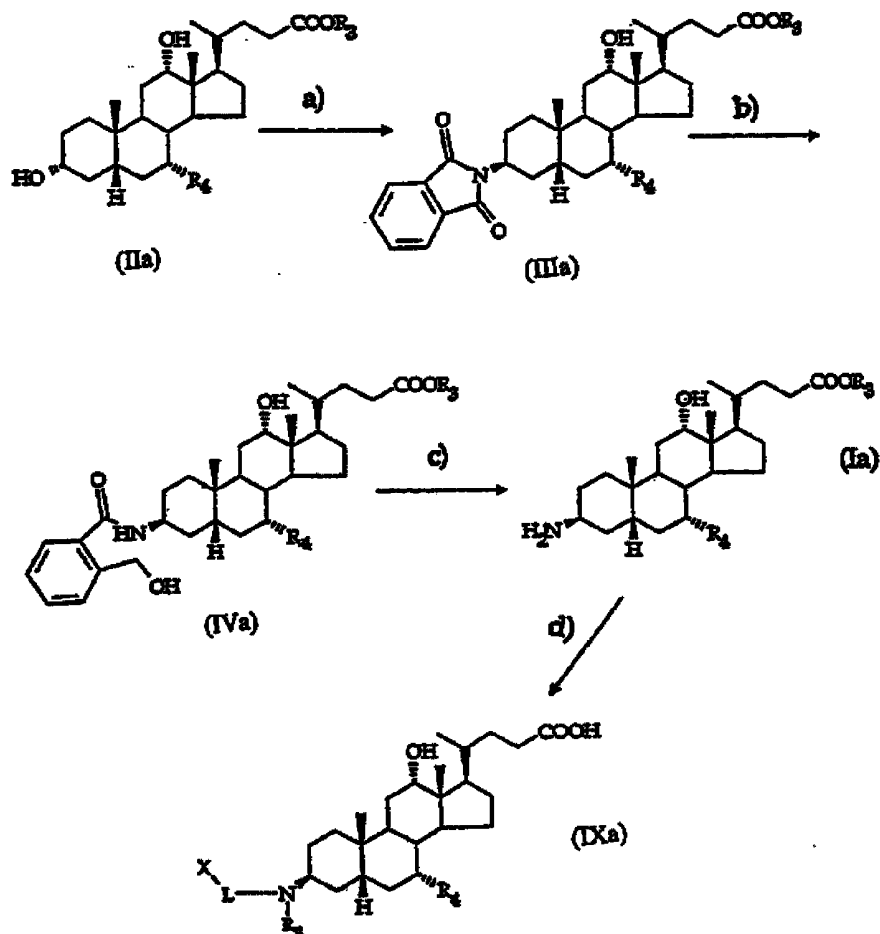
fremgangsmåten omfattende de følgende trinn:



- a) dannelsen av forbindelser (III) startende fra forbindelser (II) ved reaksjon med ftalimid i henhold til Mitsunobu prosedyre, ved temperaturer som strekker seg fra 15 til 25 °C, i nærvær av et azodikarboksylat valgt fra DEAD (dietylazodikarboksylat) eller DIAD (diisopropylazodikarboksylat) i mengder som strekker seg fra 1,1 til 1,3 molare ekvivalenter, i et løsningsmiddel valgt fra gruppen bestående av THF, dioksan, toluen og DMF;
- b) reduksjon av forbindelser (III) med NaBH_4 for å gi forbindelser (IV);
- c) sur hydrolyse av forbindelser (IV) etterfulgt av nøytralisering for å gi forbindelser (I);
- d) kondensasjon av forbindelser (I) med de reaktive rester av polyaminokarboksyl-ligandene definert over.

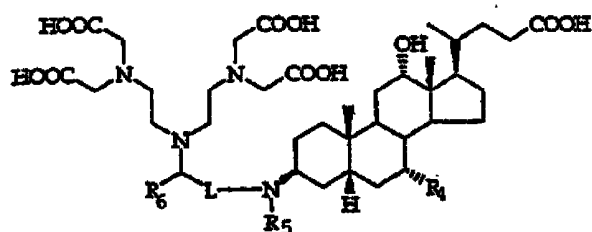
Spesielt foretrukket er fremgangsmåten ved fremstillingen av forbindelser (IXa), som er kol- eller deoksykolsyrederivater, i henhold til det følgende skjema 7:

Skjema 7

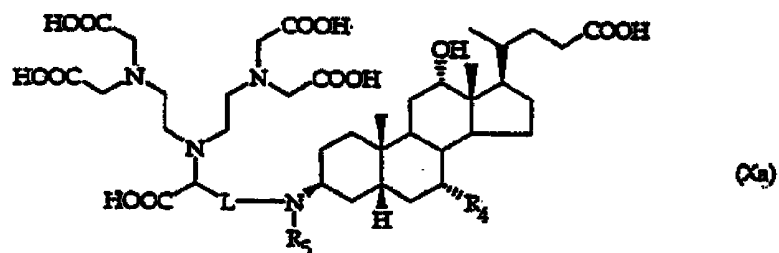


hvor R_3 , R_4 og R_5 har betydningene definert over.

Spesielt foretrukket er videre fremgangsmåten ved fremstillingen av forbindelser (X), hvor i formel (IXa) residuet X er DTPA substituert på kjeden i sentral stillingen, R_6 kan være et hydrogenatom eller en karboksylgruppe og L-kjeden, R_4 og R_5 har betydningene definert over.



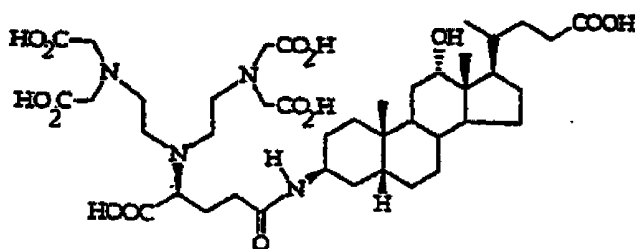
Spesielt foretrukket er fremgangsmåten ved fremstillingen av forbindelser (Xa)



hvor L-kjeden, R_4 og R_5 har betydningene definert over.

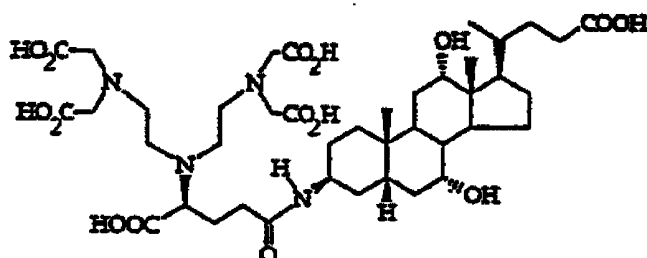
Spesielt foretrukket er videre fremgangsmåten ved fremstillingen av den følgende nye forbindelse, med generell formel (Xa):

[3 β (S), 5 β , 12 α]-3-[[4-[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-12-hydroksykolan-24-syre;

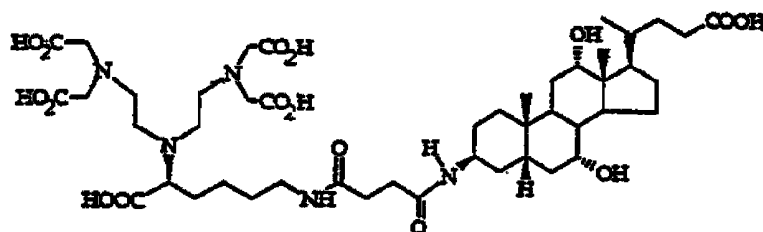


Andre forbindelser som tilhører denne klasse, hvis fremstilling allerede har blitt beskrevet i WO-A-95/32741, er de følgende:

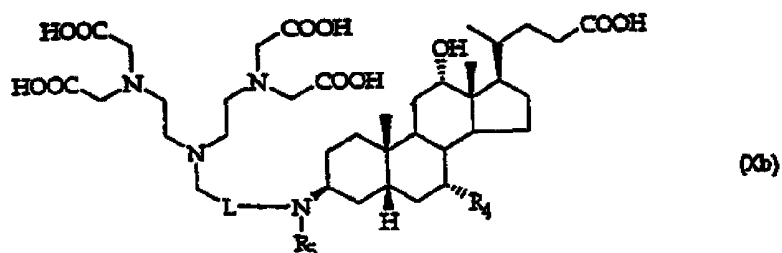
[3 β (S), 5 β , 7 α , 12 α]-3-[[4-[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre;



[3 β (S), 5 β , 7 α , 12 α]-3-[[[4-[[5-[bis[2-[bis(karboksymetyl)-amino]-etyl]amino]-5-karboksyetyl]amino]-1,4-dioksobutyl]-amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre.

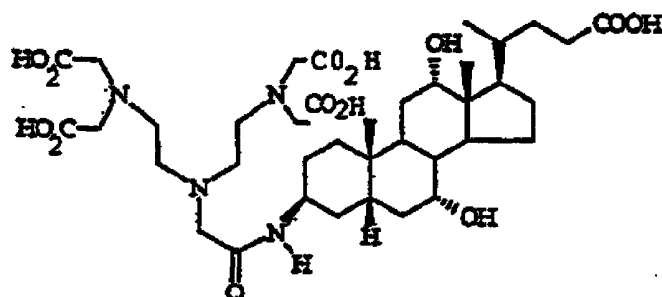


Den er videre den foretrukne fremgangsmåte ved fremstillingen av de følgende forbindelser med formel (Xb) hvor i formel (X) R₆ er et hydrogenatom, og R₄, R₅ og L har betydningene definert over.



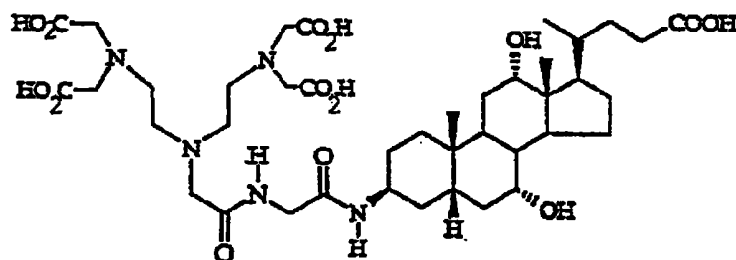
Også foretrukket er fremgangsmåten ved fremstillingen av den følgende nye forbindelse, som tilhører klassen med generell formel (Xb):

(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-amino]acetyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre.

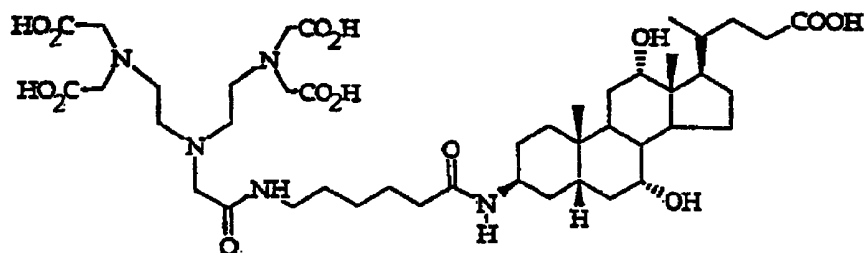


Andre forbindelser som tilhører denne klasse, allerede beskrevet i WO-A-95/32741, er de følgende:

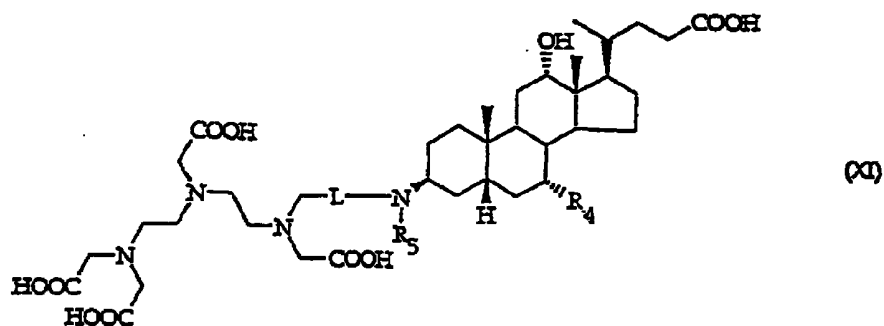
(3 β ,5 β ,7 α ,12 α)-3-[[[[[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]-etyl]amino]acetyl]amino]acetyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre;



(3 β ,5 β ,7 α ,12 α)-3-[[6-[[[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]-etyl]amino]acetyl]amino]-1-oksoheksyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre.

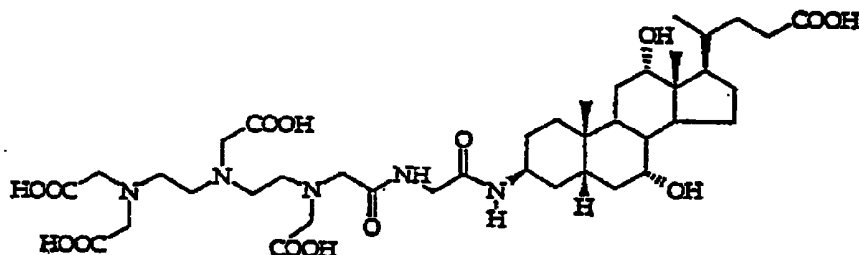


Spesielt foretrukket er også fremgangsmåten ved fremstillingen av forbindelser med formel (XI), hvor i formel (IXa) residuet X avledes fra DTPA, og R₄, R₅ og L har betydningene definert over.

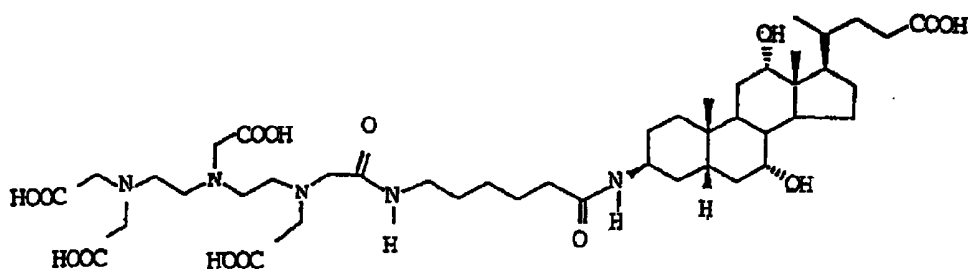


Andre forbindelser som tilhører denne klasse, hvis fremstilling allerede beskrevet i WO-A-95/32741, er de følgende:

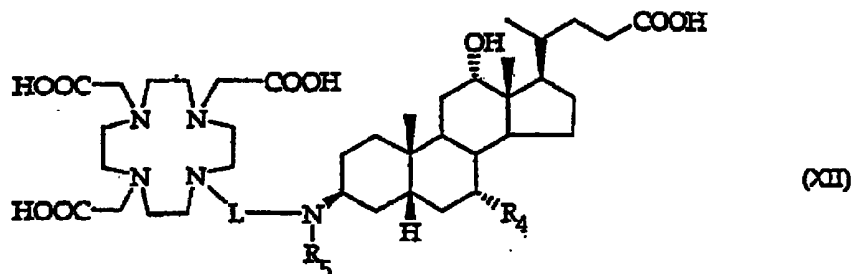
(3 β ,5 β ,7 α ,12 α)-3-[[N-[N-[2-[[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-(karboksymetyl)amino]etyl]-N-(karboksymetyl)-glycyl]glycyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre;



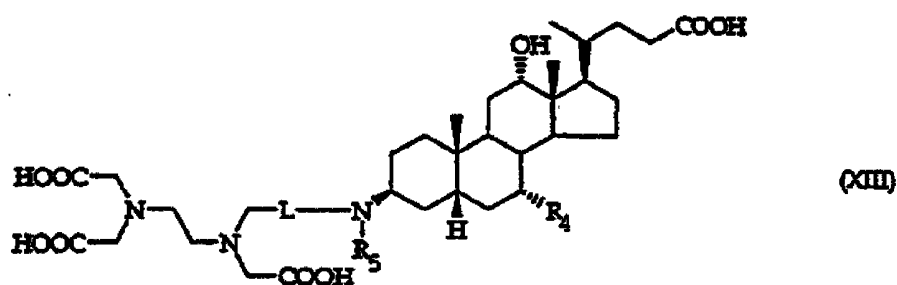
18-[[(3 β ,5 β ,7 α ,12 α)-23-karboksy-7,12-dihydroksy-24-norkolan-3-yl]amino]-3,6,9-tris(karboksymetyl)-11,18-diokso-3,6,9,12-tetrazazoktadekansyre.



Spesielt foretrukket er også fremgangsmåten ved fremstillingen av de følgende forbindelser med formel (XII), hvor i formel (IXa) residuet X er DOTA, og R₄, R₅ og L har betydningene definert over.

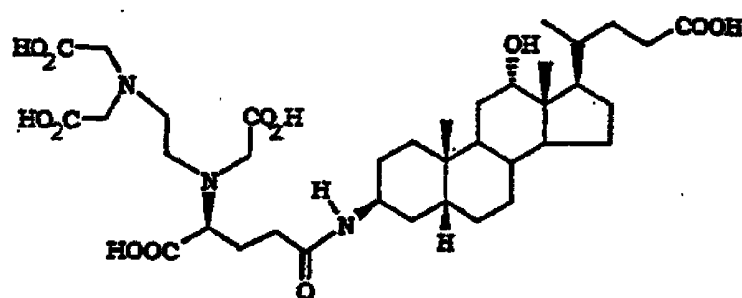


Foretrukket er dessuten fremgangsmåten ved fremstilling av forbindelser med formel (XIII), hvor i formel (IXa) residuet X er EDTA, og R₄, R₅ og L har betydningene definert over.

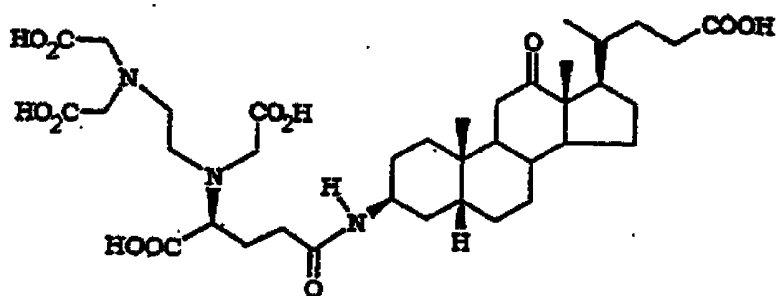


Spesielt foretrukket er fremgangsmåten ved fremstillingen av de følgende forbindelser med formel (XIII):

[3 β (S), 5 β , 12 α]-3-[[4-[[2-[[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-(karboksymetyl)amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-12-hydroksykolan-24-syre



[3 β (S), 5 β]-3-[[4-[[2-[[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-(karboksymetyl)amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-12-okso-kolan-24-syre

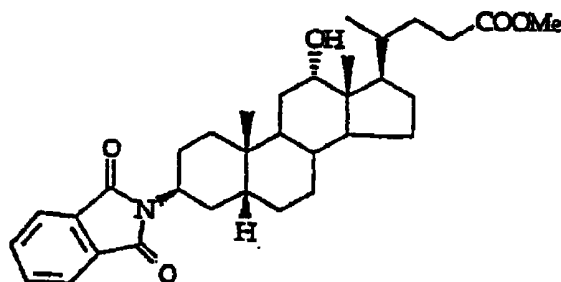


De anvendte eksperimentelle betingelser vil bli illustrert i detalj i den eksperimentelle del.

Eksperimentell del

Eksempel 1

(3 β ,5 β ,12 α)-3-[1,3-dihydro-1,3-dio-2H-isoindol-2-yl]-12-hydroksykolan-24-syre-metylester



Ftalimid (202,8 g; 1,378 mol) suspenderes i en løsning av (3 β ,5 β ,12 α)-3,12-dihydroksykolan-24-syre-metylester (fremstilt som beskrevet i Steroids, vol. 37, 239) (511,9 g; 1,259 mol), og trifenylfosfin (372,7 g; 1,421 mol) i THF (1,5 l), deretter dryppes en løsning av diisopropylazodikarboksyilat (284,7 g; 1,408 mol) i THF (0,49 l) deri over 1,5 t, mens temperaturen holdes ved 15 °C. Den resulterende løsning etterlates ved romtemperatur i 18 timer. Løsningsmidlet destilleres av og oljeaktig residu tilsettes MeOH (3,2 l) og omrøres i 20 timer. Det resulterende krystallinske produkt filtreres, vaskes med MeOH (1,4 l) og tørkes for å gi det ønskede produkt (481,3 g; 0,898 mol). Moder-væsker og vasking konsentreres for å gi en andre mengde produkt (61,6 g; 0,114 mol)

Utbytte: 80 %

smp.: 160-162 °C

HPLC-analyse: 98,7 %

Stasjonær fase: Lichrosorb RP-Select B 5 μ m; kolonne 250 x 4 mm Merck KGaA;

Temperatur: 45 °C;

Mobilfase: gradient eluering

A = 0,017 M H₃PO₄ i vann

B = CH₃CN

Gradient: min	% A	% B
0	82	18
30	15	85
45	15	85

Strømningshastighet: 1 ml min⁻¹

Deteksjon (UV): 210 nm;

Elementanalyse	C	H	N
% kalk.:	73,99	8,47	2,61
% funnet:	73,96	8,51	2,62

TLC: slikagelplate 60F 254 Merck

Eluent: AcOEt/n-heksan = 4:6 Rf:0,35

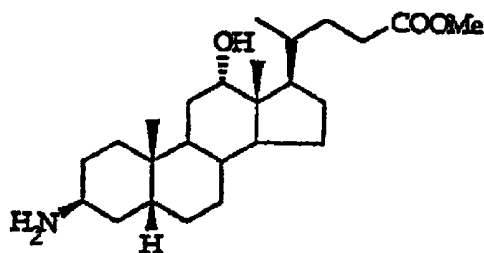
Deteksjon: 2 % Ce(SO₄)·4 H₂O, 4,2 % (NH₄)₆Mo₇O₂₄, 6 % H₂SO₄ i vann

¹H-NMR-, ¹³C-NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

Eksempel 2

Reduksjon av forbindelser med formel (III) i henhold til en prosedyre lignende den beskrevet i Osby, Tetrahedron Letters, Vol. 25, 2093 (1984).

(3β,5β,12α)-3-amino-12-hydroksykolan-24-syre-metylester



Forbindelsen fremstilt i eksempel 1 (75 g; 0,14 mol) løses i 2-PrOH (2,5 l) ved 75 °C. Løsningen omrøres kraftig og avkjøles til 50 °C, tilsettes deretter H₂O (430 ml) for å oppnå en suspensjon som tilsettes fast NaBH₄ (26,5 g; 0,70 mol) i porsjoner i løpet av 30 min. Reaksjonsblandingen omrøres ved 40 °C i 2,5 timer. CH₃COOH tilsettes forsiktig til pH 4,5-5 og blandingen varmes ved 80 °C i 24 timer,

mens pH holdes ved 4,5-5 ved gjentatte tilsetninger av CH_3COOH . Etter avkjøling til romtemperatur og fordampning av løsningsmidlet, oppnås et residu som løses i vann (1 l). Løsningen alkaliseres til pH 10 med 2 M NaOH for å oppnå et presipitat som omrøres i 1 time, filtreres deretter, vaskes med vann og tørkes.

Krystallisasjon fra acetonitril (1,2 l) gir det ønskede produkt (36,9 g; 0,091 mol)

Utbytte: 65 %

HPLC-analyse: 87 %

Stasjonær fase: Lichrosorb RP-Select B 5 μm ; kolonne 250 x 4 mm Merck KGaA;

Temperatur: 45 °C

Mobilfase: gradient eluering

A = 0,01 M natriumpentansulfonat i vann bufferet til pH 2,5 med H_2SO_4

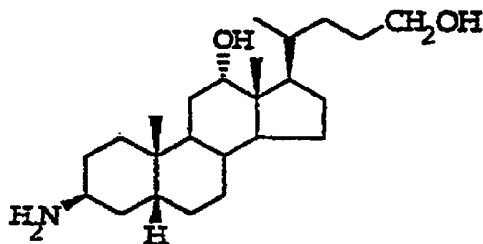
B = CH_3CN

Gradient: min	% A	% B
0	82	18
30	15	85
45	15	85

Strømningshastighet: 1 ml min^{-1}

Deteksjon (UV): 210 nm;

Silikagelkromatografi av råforbindelsen ga hoved-biproduktet (2,5 g) som var:



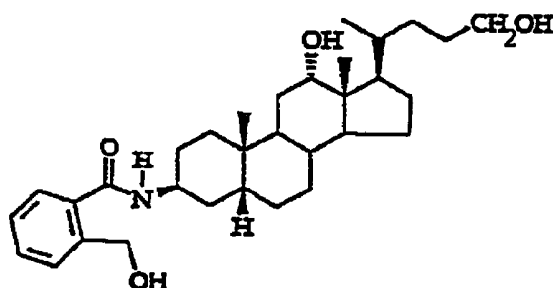
smp.: 174-175 °C

Elementanalyse	C	H	N
% kalk.:	76,34	11,48	3,71
% funnet:	76,18	11,65	3,52

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

I en annen reaksjon utført under de over beskrevne betingelser, ble, ved slutten av reduksjonen, NaBH_4 -overskuddet ødelagt med eddiksyre og reaksjonsblandingen (cirka nøytral pH) ble dampet inn og tatt opp i vann for å oppnå et råprodukt som ble rensed ved silikagelkromatografi. Sammen med den forventede forbindelse (IVb) (se eksempel 3) ble bemerkelsesverdige mengder av biproduktene, rapportert heri under sammen med deres analytiske karakterisering, gjenfunnet. Dette forklarer i stor grad årsaken til det lave gjenvunnede utbytte av forbindelse (Ib) etter hydrolyse med eddiksyre ved 80 °C.

N-[(3 β ,5 β ,12 α)-12,24-dihydroksykolan-3-yl]-2-(hydroksymetyl)benzamid

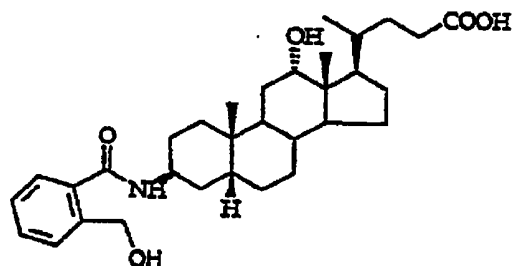


smp.: 200-203 °C

Elementanalyse	C	H	N
% kalk.:	75,11	9,65	2,74
% funnet:	74,66	9,61	2,71

(3 β ,5 β ,12 α)-12-hydroksy-3-[[2-(hydroksymetyl)benzoyl]-amino]kolan-24-syre

26

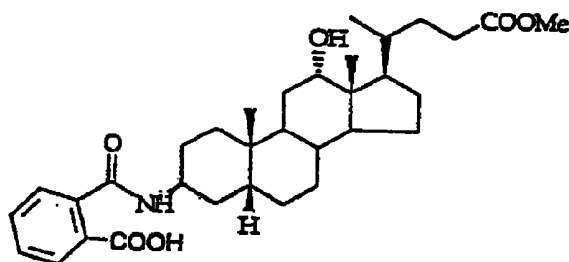


smp.: >260 °C

Elementanalyse

	C	H	N
% kalk.:	73,11	9,01	2,66
% funnet:	73,32	9,15	2,76

N-[(3 β ,5 β ,12 α)-12-hydroksy-24-metoksy-24-oksokolan-3-yl]-2-(hydrometyl)benzamid



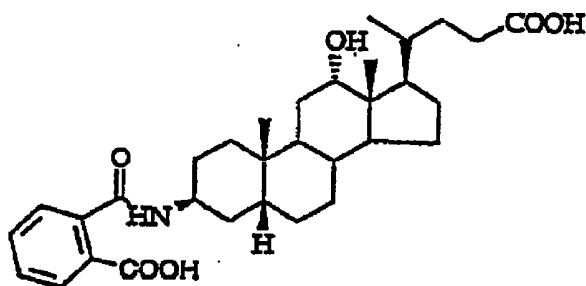
Produktet ble karakterisert som ammoniumsalt

smp.: 156-162 °C

Elementanalyse

	C	H	N
% kalk.:	69,44	8,83	4,91
% funnet:	69,27	8,89	4,82

(3 β ,5 β ,12 α)-12-hydroksy-3-[[2-karboksybenzoyl]amino]kolan-24-syre



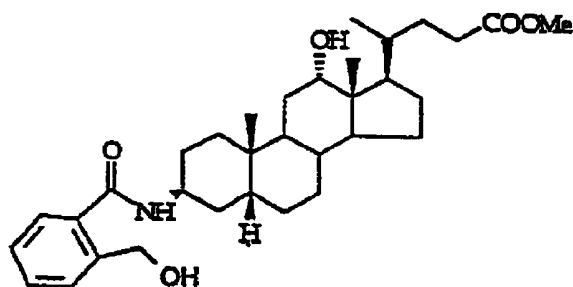
smp.: 193-196 °C

Elementanalyse	C	H	N
% kalk.:	71,48	8,06	2,60
% funnet:	71,18	8,25	2,55

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

Eksempel 3

(3 β ,5 β ,12 α)-12-hydroksy-3-[[2-(hydroksymetyl)benzoyl]-amino]kolan-24-syre-metylester



En løsning av forbindelsen fremstilt i eksempel 1 (225 g; 0,42 mol) i DMA (1,75 l), kraftig omrørt ved 34 °C, fortynnes med 2 M fosfatbuffer pH 8 (500 ml) for å oppnå en blanding ved 43 °C. Fast NaBH_4 (15,45 g; 0,408 mol) tilsettes over 5 minutter og suspensjonen omrøres ved 47-48 °C. Etter 55 minutter oppnås nesten klar løsning som tilsettes CH_3COOH for å nøytralisere hydridoverskuddet og justere pH fra 12,8 til cirka 8.

Blandingen helles i H_2O og omrøres i 3 timer, presipitatet filtreres og suspenderes i H_2O og omrøres deretter i 30 minutter. Til sist filtreres presipitatet, vaskes med H_2O og tørkes for å gi det ønskede produkt (224,6 g; 0,416 mol).

Utbytte: 99 %

smp.: 190,2-192,7 °C

HPLC-analyse: 93 %

Stasjonær fase: Lichrosorb RP-Select B 5 μm ; kolonne 250 x 4 mm Merck KGaA;

Temperatur: 45 °C

Mobilfase: gradient eluering

A = 0,017 M H_3PO_4 i vann

B = CH_3CN

Gradient: min	% A	% B
0	82	18
30	15	85
45	15	85

Strømningshastighet: 1 ml min^{-1}

Deteksjon (UV): 210 nm;

Elementanalyse	C	H	N
% kalk.:	73,43	9,15	2,60
% funnet:	73,43	9,19	2,56

TLC: silikagelplate 60F 254 Merck

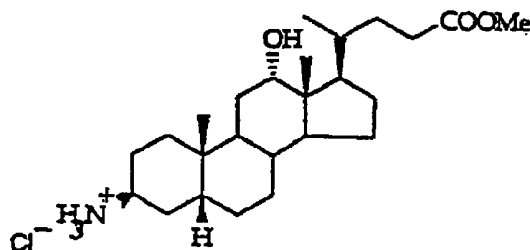
Eluent: AcOEt/n-heksan/MeOH = 5:5:1 Rf: 0,79

Deteksjon: 2 % $\text{Ce}(\text{SO}_4) \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 4,2 % $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, 6 % H_2SO_4 i vann

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

Eksempel 4

(3 β ,5 β ,12 α)-3-amino-12-hydroksykolan-24-syre-metylesterhydroklorid



Suspensjon av forbindelsen fremstilt i eksempel 3 (223,5 g; 0,414 mol) i MeOH (1,5 l) og 37 % HCl (52 ml; 0,63 mol) varmes ved 50 °C under omrøring. Etter cirka 1,5 timer oppnås en løsning og etter ytterligere 2 timer, er reaksjonen

fullført. Løsningsmidlet dampes av og residuet omrøres ved 60 °C i 2 timer med CH₃CN. Etter 15 timer ved romtemperatur filtreres presipitatet, vaskes med CH₃CN og tørkes for å gi det ønskede produkt (183,3 g; 0,414 mol).

Utbytte: 100 %

smp.: > 250 °C

HPLC-analyse: 95 %

Stasjonær fase: Lichrosorb RP-Select B 5 µm; kolonne 250 x 4 mm Merck KGaA;

Temperatur: 45 °C

Mobilfase: gradient eluering

A = 0,01M natriumpentansulfonat i vann bufferert til pH 2,5 med H₂SO₄

B = CH₃CN

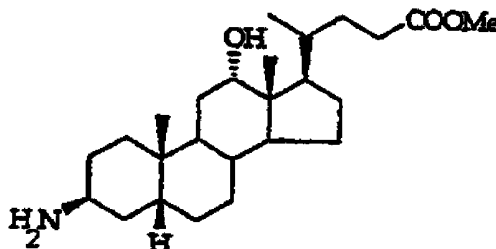
Gradient: min	% A	% B
0	82	18
30	15	85
45	15	85

Strømningshastighet: 1 ml min⁻¹

Deteksjon (UV): 210 nm;

Eksempel 5

(3β,5β,12α)-3-amino-12-hydroksykolan-24-syre-metylester



Forbindelsen fremstilt i eksempel 4 (89,5 g; 0,202 mol) løses i MeOH (460 ml) ved 55 °C, deretter avkjøles løsningen til cirka 40 °C og helles, under kraftig omrøring, i H₂O mens fast Na₂CO₃ tilsettes for å holde pH på 9,8. Etter omrøring i 2 timer, filtreres suspensjonen, det faste stoff suspenderes i H₂O og omrøres i 2 timer, filtreres og vaskes

med H_2O . Etter tørking oppnås det ønskede produkt (74,9 g; 0,185 mol).

Utbytte: 91 %

smp.: > 155-155,5 °C

HPLC-analyse: 96,5 %

Stasjonær fase: Lichrosorb RP-Select B 5 μm ; kolonne 250 x 4 mm Merck KGaA;

Temperatur: 45 °C

Mobilfase: gradient eluering

A = 0,01 M natriumpentansulfonat i vann bufferert til pH 2,5 med H_2SO_4

B = CH_3CN

Gradient: min	% A	% B
0	82	18
30	15	85
45	15	85

Strømningshastighet: 1 ml min^{-1}

Deteksjon (UV): 210 nm;

GC-analyse: 96,3 %

Stasjonær fase: PE 1 (OV 1)

Filmtykkelse: 0,25 μm

Kolonne (WCOT): 30 m x 0,32 mm

Start-temperatur i ovnen: 255 °C, etter 5 minutter økes temperaturen med 0,6 °C/min for å nå 290 °C.

Injektor-temperatur: 290 °C

Temperatur FID: 290 °C

Elementanalyse	C	H	N
% kalk.:	74,03	10,69	3,45
% funnet:	73,91	10,78	3,44

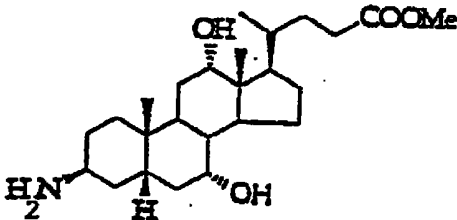
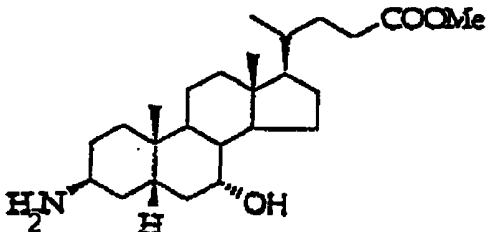
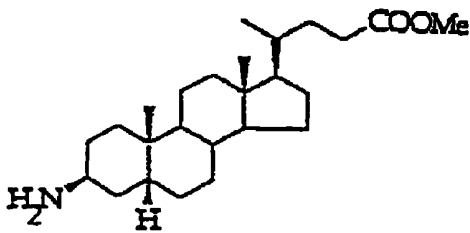
TLC: silikagelplate 60F 254 Merck

Eluent: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/25\% \text{ NH}_4\text{OH} = 6:2:0,5$ Rf:0,69

Deteksjon: 2 % $\text{Ce}(\text{SO}_4) \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 4,2 % $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, 6 % H_2SO_4 i vann

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

Forbindelser med formel (I), hvis formel og analytiske data er rapportert under, ble fremstilt analogt:

	smp. (°C)	Rf ^a
	164-166	0,48
	121-123	0,67
	127-128	0,80

^aTLC: silikagelplate 60F 254 Merck

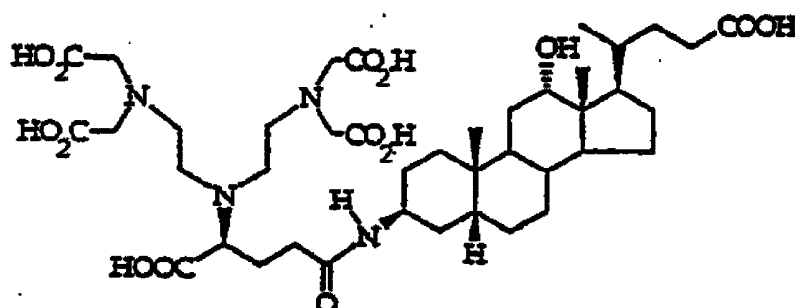
Eluent: CHCl₃/MeOH/25 % NH₄OH = 6:2:0,5

Deteksjon: 2 % Ce(SO₄)·4 H₂O, 4,2 % (NH₄)₆Mo₇O₂₄, 6 % H₂SO₄ i vann

¹H-NMR-, ¹³C-NMR-, IR- og MS-spekterne samt elementære analysene er overensstemmende med den indikerte struktur.

Eksempel 6

[3 β (S), 5 β , 12 α]-3-[[4-[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]-etyl]amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-12-hydroksykolan-24-syre



A) [3 β (S), 5 β , 12 α]-3-[[4-[bis[2-[bis(2-(1,1-dimetyletoksy)-2-oksoetyl]amino)etyl]amino]-5-(1,1-dimetyletoksy)-1,5-dioksopentyl]amino]-12-hydroksykolan-24-syre-metylester

Trietylamin (2,23 g; 22 mmol) tilsettes til en løsning av 8,93 g [3 β , 5 β , 12 α]-3-amino-12-hydroksykolan-24-syre-metylester (fremstilt i eksempel 5) (22 mmol), 16,41 g N,N-bis[2-[bis[2-(1,1-dimetyletoksy)-2-oksoetyl]amino)etyl]-L-glutaminsyre (1,1-dimetyletyl)ester (fremstilt som beskrevet i WO-A-95/32741:eksempel 15) (22 mmol) og 3,91 g dietylcyanofosfat (24 mmol) i 300 ml DMF ved 0 °C. Etter 1,5 timer ved 0° C og 18 timer ved romtemperatur dampes reaksjonsblandingen inn og residuet løses i AcOEt. Løsningen vaskes med en NaHCO₃ mettet løsning og H₂O, tørkes (Na₂SO₄) og dampes inn. Råproduktet renses ved flashkromatografi for å gi det ønskede produkt (20,67 g; 18,2 mmol).

Utbytte: 83 %

$[\alpha]_D^{20} = -6,75$ (c 2,0, CHCl₃)

Elementanalyse

	C	H	N
% kalk.:	65,69	9,60	4,94
% funnet:	66,54	9,95	4,99

TLC: bærer: silikagelplate 60F 254 Merck

Eluent: n-heksan/EtOAc = 1:1 Rf:0,09

Deteksjon: $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (0,18 %) og $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (3,83 %) i 10 % H_2SO_4

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

B) $[3\beta(\text{S}), 5\beta, 12\alpha]-3-[[4-[\text{bis}[2-[\text{bis}(\text{karboksymetyl})\text{amino}]-\text{etyl}]\text{amino}]-4\text{-karboksy-1-oksobutyl}]\text{amino}]-12\text{-hydroksykolan-24-syre}$

Forbindelsen fremstilt i trinn A) (19,72 g; 17,4 mmol) løses i 105 ml $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ved romtemperatur. Etter 26 timer dampes løsningen inn og residuet behandles med H_2O ; det faste stoffet filtreres, vaskes med H_2O og tørkes delvis under vakuum. Det resulterende intermediat løses i H_2O ved pH 13 med 1M NaOH.

Etter 5 timer ved romtemperatur tilsettes løsningen dråpevis 0,5 M HCl ved pH 1,4. Etter 15 timer ved romtemperatur filtreres presipitatet, vaskes med H_2O og tørkes under vakuum for å gi et råprodukt som renses ved kromatografi på Amberlite^(R) XAD 1600 resin for å oppnå det ønskede produkt (9,92 g; 11,8 mmol).

Utbytte: 68 % smp.: 184 °C (dek.)

Kompleksimetrisk titrevæske (0,1 M GdCl_3): 99,3 %

Sur titrevæske (0,1 M NaOH): 99,8 %

$[\alpha]_D^{20}$ (c 2,0; 1 M NaOH)

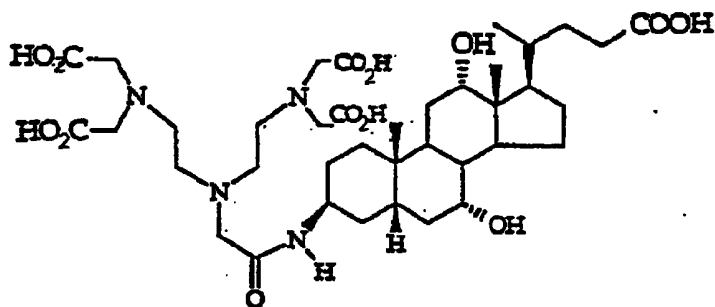
λ (nm)	589	578	546	436	405	365
$[\alpha]$	+23,61	+24,59	+27,90	+46,67	+55,61	+71,40
Elementanalyse			C	H	N	
% kalk.:			58,70	7,93	6,68	
% funnet:			58,22	8,16	6,59 H_2O	0,70 %
TLC:	silikagelplate 60F 254 Merck					
Eluent:	$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH} = 5:4:2$ Rf:0,13					

Deteksjon: $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (0,18 %) og $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (3,83 %) i 10 % H_2SO_4

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

Eksempel 7

(3 β ,5 β ,7 α ,12 α)-3-[[[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-amino]acetyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre



A) N-[[[bis[2-[bis[2-(1,1-dimetyletoksy-2-oksoetyl)]-amino]etyl]amino]-acetyl]glysin

6,5 g glycyglysin (49,3 mmol) suspenderes i 100 ml av en 1:1 = H_2O :EtOH-blanding og løses ved pH 10 med 10 M NaOH (4,8 ml). N-(2-brometyl)-N[2-(1,1-dimetyletoksy)-2-oksoetyl]glysin-1,1-dimetyletylester (42 g; 110,9 mmol) i 40 ml EtOH dryppes inn 2 timer mens pH holdes ved 10,5 med 10 M NaOH (5,8 ml). Løsningen går hurtig over til en emulsjon, som løses etter 2,5 timer ved tilsetning av 10 M NaOH. Etter 22 timer dampes løsningsmidlet av, residuet fortynnes med vann og ekstraheres med CH_2Cl_2 . Den organiske fase vaskes med H_2O , tørkes og dampes inn, for å gi et residu som renses ved flashkromatografi. Residuet løses i vann, pH justeres til 4,5 ved tilsetning av 1 M HCl og løsningen ekstraheres med kloroform. Den organiske fase vaskes med H_2O , tørkes og dampes inn for å gi 13 g av den ønskede forbindelse (19,3 mmol).

Utbytte: 39 %

Elementanalyse	C	H	N
% kalk.:	56,95	8,66	8,30
% funnet:	56,67	8,68	8,30
TLC:	silikagelplate 60F 254 Merck		
Eluent:	CHCl ₃ /MeOH/NH ₄ OH 25 % = 6:3:1 Rf:0,65		
Deteksjon:	KMnO ₄ i alkalinløsning		

¹H-NMR-, ¹³C-NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

B) (3β,5β,7α,12α)-3-[[[[[bis[2-[bis[2-(1,1-dimetyletoksy)-2-oksoetyl]amino]etyl]amino]acetyl]amino]acetyl]-amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre-metylester

2,8 ml TEA (20,2 mmol) tilsettes dråpevis i 5 minutter til en løsning av 13,6 g med forbindelsen fremstilt i trinn A) (20,2 mmol), 8,52 g (3β,5β,7α,12α)-3-amino-7,12-dihydroksykolan-24-syre-metylester (fremstilt i eksempel 5) (20,2 mmol) og DEPC (3,4 ml; 22,2 mmol) i DMF (290 ml) som omrøres ved 0 °C. Etter 1 time varmes reaksjonen til romtemperatur og løsningen omrøres i 6,5 timer. 0,3 ml DEPC (2 mmol) tilsettes og løsningen omrøres i ytterligere 15,5 timer. DMF dampes av, residuet løses i EtOAc, vaskes med aq. NaHCO₃ og deretter vann og tørkes til sist. Rensing med flashkromatografi gir 13,7 g av det ønskede produkt (12,7 mmol).

Utbytte: 63 %

$[\alpha]_D^{20} = +5,26$ (c 1,5; CHCl₃)

Elementanalyse	C	H	N
% kalk.:	63,48	9,25	6,49
% funnet:	63,22	9,40	6,40

¹H-NMR-, ¹³C-NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

C) (3 β ,5 β ,7 α ,12 α)-3-[[[[[bis(2-[bis(karboksymetyl)amino]-etyl)-amino]acetyl]amino]acetyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre

12,85 g av forbindelsen fremstilt i trinn trinn B) (12 mmol) løses i TFA (210 ml) under omrøring ved 0-5 °C. Etter 16 timer dampes TFA for å gi et residu som løses i 90 ml 0,8 M NaOH ved pH 13 og omrøres ved romtemperatur i 15 timer. Løsningen konsentreres til 50 ml, dryppes i 105 ml 0,6 M HCl og omrøres i 2 timer. Det faste stoffet filtreres, vaskes med 0,1 M HCl og tørkes for å oppnå et råprodukt som renses ved kromatografi. Fraksjonene inneholdende den ønskede forbindelse i saltform dampes inn for å gi et residu som løses i vann og dryppes inn i 1 M HCl ved pH 1,45. Presipitatet filtreres, vaskes med 0,1 M HCl og tørkes for å gi 2,6 g av det ønskede produkt (3,1 mmol).

Utbytte: 26 % smp.: 120-125 °C

HPLC-analyse: 98 % (areal %)

¹H-NMR-, ¹³C-NMR-, IR- og MS-spekterne er overensstemmende med den indikerte struktur.

Eksempel 8

Fremstilling av kolsyrederivat chelaterende midler.

Ved å anvende (3 β ,5 β ,7 α ,12 α)-3-amino-7,12-dihydroksykolan-24-syre-metylester fremstilt som beskrevet i eksempel 5, over følger prosedyrene beskrevet i WO-A-95/32741, ble de følgende chelaterende midler fremstilt:

[3 β (S),5 β ,7 α ,12 α]-3-[[4-[bis(2-[bis(karboksymetyl)amino]-etyl)-amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre;

[3 β (S),5 β ,7 α ,12 α]-3-[[4-[[5-bis(2-[bis(karboksymetyl)-amino]etyl)amino]-5-karboksy-pentyl]amino]-1,4-dioksybutyl]-amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre;

(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-amino]acetyl]amino]acetyl]amino]-7,12-dihidroksykolan-24-syre;

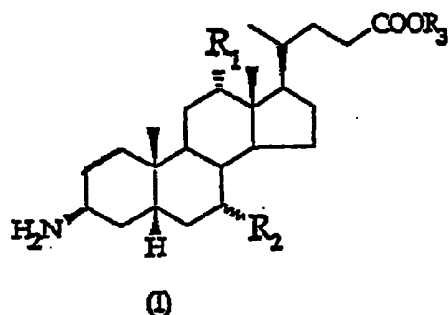
(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[6-[[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]amino]acetyl]amino]-1-oksoheksyl]amino]-7,12-dihidroksykolan-24-syre;

(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[N-[N-[2-[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-(karboksymetyl)amino]etyl]-N-(karboksyamino)glycyl]glycyl]amino]-7,12-dihidroksykolan-24-syre;

18-[(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-23-karboksy-7,12-hidroksy-24-norckolan-3-yl]amino]-3,6,9-tris(karboksymetyl)-11,18-diokso-3,6,9,12-tetraazaoktadekansyre.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåte ved fremstillingen av forbindelser med generell formel (I)



hvor

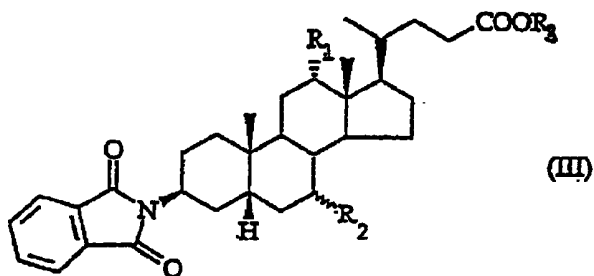
R_1 er H eller OH;

R_2 er H, α -OH eller β -OH; og

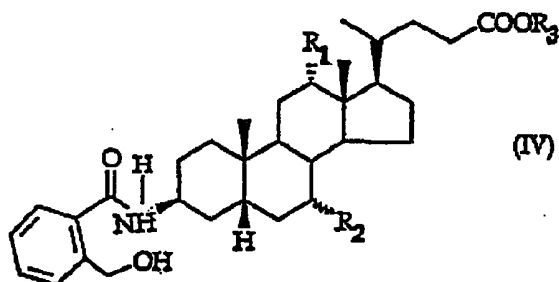
R_3 er en rett eller forgrenet C_1 - C_4 alkylgruppe, eller en benzylgruppe;

k a r a k t e r i s e r t v e d

reduksjonen av forbindelser med generell formel (III)

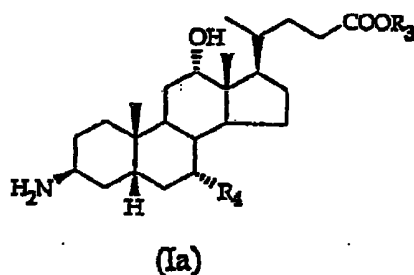


hvor R_1 , R_2 og R_3 har de samme betydningene som i formel (I), i nærvær av natriumborhydrid og i et dipolart aprotisk løsningsmiddel valgt fra gruppen bestående av dimetylacetamid, dimetylformamid, dimetylsulfoksid, N-metylpyrrolidon for å gi forbindelser med generell formel (IV),



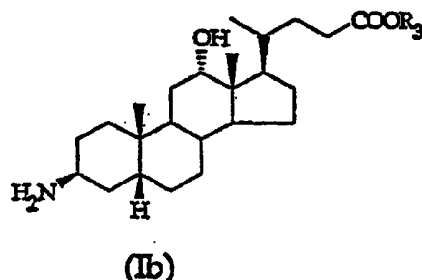
hvor R_1 , R_2 og R_3 har de samme betydningene som i formel (I), og den etterfølgende avbeskyttelse av forbindelser (IV) ved syrebehandling.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, karakterisert ved fremstillingen av forbindelser med generell formel (Ia),



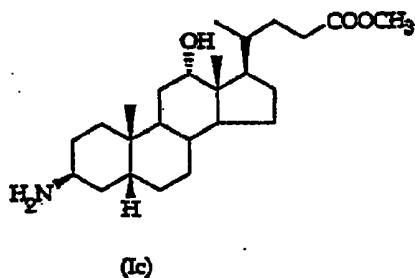
hvor R_3 har de samme betydningene som i krav 1 og R_4 kan være et hydrogenatom eller en hydroksylgruppe.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 2, karakterisert ved fremstillingen av forbindelser med generell formel (Ib),

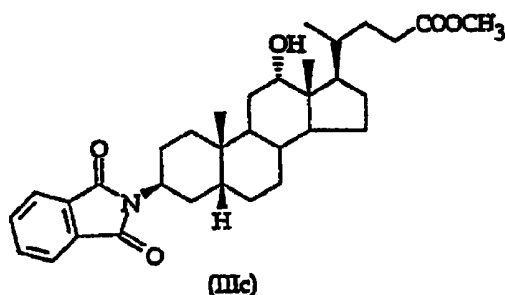


hvor R_3 har de samme betydningene som i krav 1.

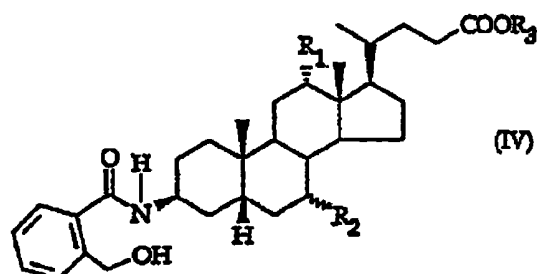
4. Fremgangsmåte ifølge krav 3, karakterisert ved fremstillingen av forbindelsen med formel (Ic)



5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4,
karakterisert ved at reduksjonen med natriumborhydrid utføres i et dipolart aprotisk løsningsmiddel valgt fra dimetylacetamid og N-metylpyrrolidon.
6. Fremgangsmåte ifølge krav 1 til 5,
karakterisert ved at antall mol NaBH_4 strekker seg fra 1,2 til 0,85.
7. Fremgangsmåte ifølge krav 1 til 6,
karakterisert ved at reduksjonen med natriumborhydrid utføres i et dipolart aprotisk løsningsmiddel og i nærvær av en bufferløsning ved pH 7,5-9.
8. Fremgangsmåte ifølge krav 1 til 7,
karakterisert ved at forbindelser med formel (IV) omdannes til de med formel (I) ved behandling i et dipolart aprotisk løsningsmiddel, eventuelt i en blanding med vann, og i nærvær av en mineral- eller organisk syre.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 8,
karakterisert ved at mineralsyren er HCl i metanolløsning.
10. Forbindelsen (3 β ,5 β ,12 α)-3-[1,3-dihydro-1,3-diokso-2H-isoindol-2-yl)]-12-hydroksykolan-24-syre-metylester med formel (IIIc)



11. Forbindelser med generell formel (IV)

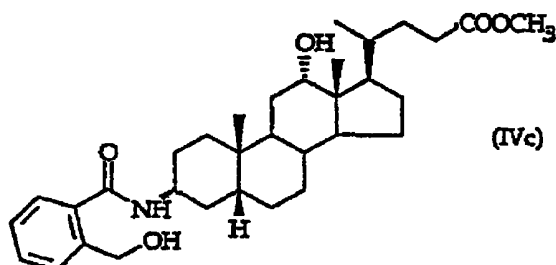
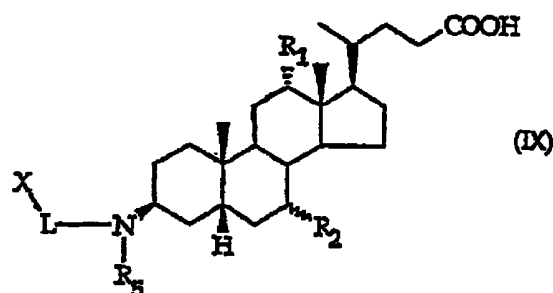


hvor:

R_1 er H eller OH,

R_2 er H, $\alpha\text{-OH}$ eller $\beta\text{-OH}$; og

R_3 er en rett eller forgrenet $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkylgruppe, eller en benzylgruppe.

12. Forbindelse ifølge krav 11, (3 β ,5 β ,12 α)-12-hydroksy-3-[[(2-hydroksymetyl)benzoyl]amino]kolan-24-syre-metylester med formel (IVc)13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, ved fremstillingen av de chelaterende midler med formel (IX), som er i stand til å chelatere paramagnetiske bi-trivalente metallioner valgt fra gruppen bestående av $\text{Fe}^{(2+)}$, $\text{Fe}^{(3+)}$, $\text{Cu}^{(2+)}$, $\text{Cr}^{(3+)}$, $\text{Gd}^{(3+)}$, $\text{Eu}^{(3+)}$, $\text{Dy}^{(3+)}$, $\text{La}^{(3+)}$, $\text{Yb}^{(3+)}$ eller $\text{Mn}^{(2+)}$,

hvor

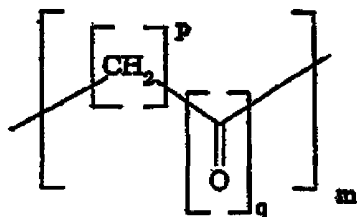
R_1 er H eller OH,

R_2 er H, α -OH eller β -OH; og

R_3 er et hydrogenatom eller en (C_1-C_5) alkylgruppe usubstituert eller substituert med en karboksylgruppe;

X er residuet av en polyaminokarboksyl-ligand og derivater derav, valgt fra gruppen bestående av: etylendiaminotetraeddiksyre, dietylentriaminopentaeddiksyre, 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetraeddiksyre, 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7-trieddiksyre, [10-(2-hydroksypropyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7-trieddiksyre, 4-karboksy-5,8,11-tris(karboksymetyl)-1-fenyl-2-oksa-5,8,11-triazatridekan-13-syre;

L er et residu med formel

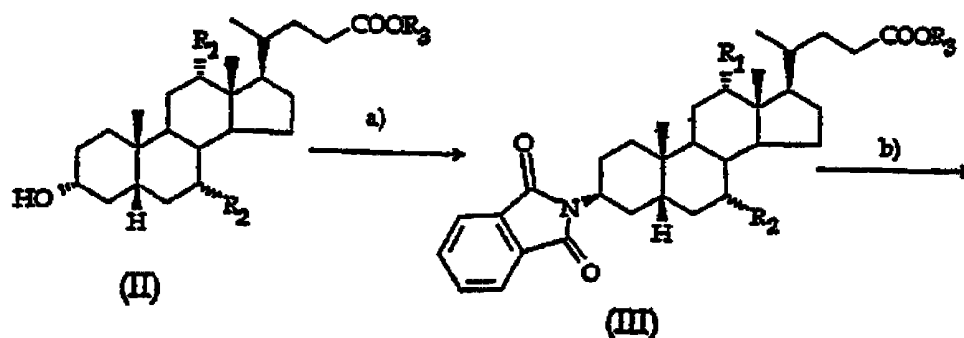


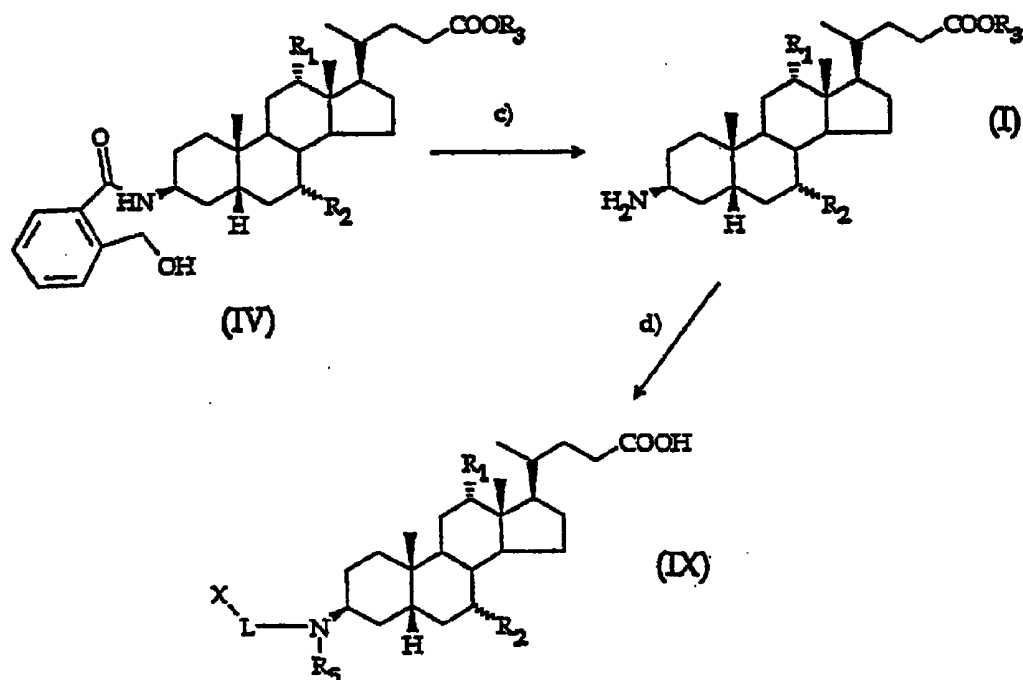
m er et heltall fra 1 til 10, hvori for verdier over 1, kan verdiene av p og q være forskjellige i monomerenhetene;

q er 0 eller 1;

p kan strekke seg fra 0 til 10, p og q er ikke på samme tid null,

karakterisert ved at fremgangsmåten omfatter de følgende trinn:





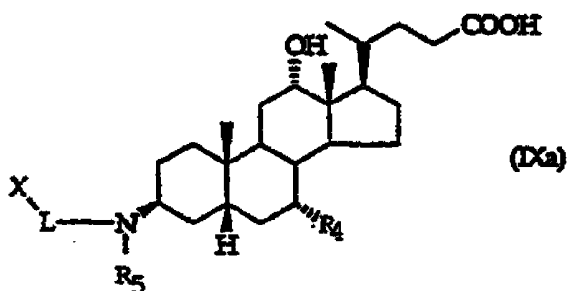
a) fremstilling av forbindelser med formel (III) startende fra forbindelser med formel (II) ved reaksjon med ftalimid i henhold til Mitsunobus prosedyre, ved temperaturer som strekker seg fra 15 til 25 °C, i nærvær av et azodikarboksylat valgt fra dietylazodikarboksylat eller diisopropylazodikarboksylat i mengder fra 1,1 til 1,3 molar-ekvivalenter, i et løsningsmiddel valgt fra gruppen bestående av THF, dioksan, toluen og DMF;

b) reduksjon av forbindelser med formel (III) med NaBH_4 for å gi forbindelser med formel (IV);

c) sur hydrolyse av forbindelser med formel (IV) etterfulgt av nøytralisering for å gi forbindelser med formel (I);

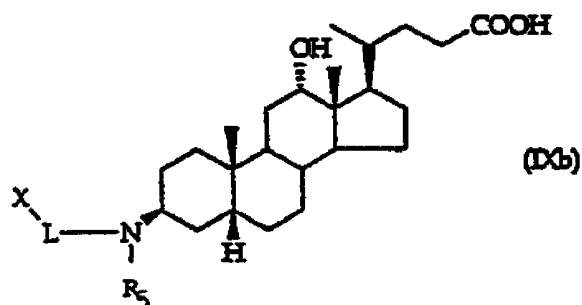
d) kondensasjon av forbindelser med formel (I) med reaktive residuer av polyaminokarboksyl-ligandene definert over.

14. Fremgangsmåte ifølge krav 13,
karakteriseret ved fremstillingen af for-
bindelser med formel (IXa),



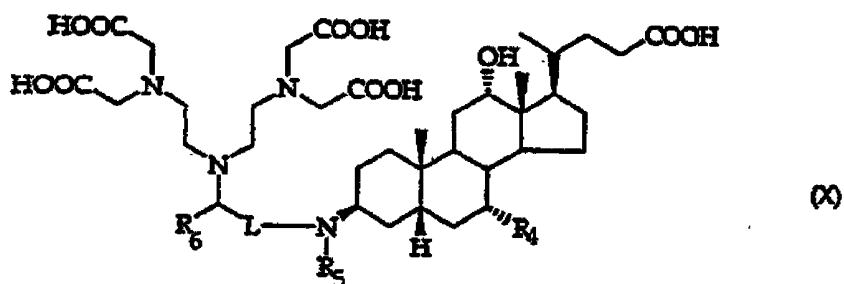
hvor R_4 har de samme betydningene som i krav 2 og R_5 , X og L har de samme betydningene som i krav 13.

15. Fremgangsmåte ifølge krav 13,
karakteriseret ved fremstillingen af forbin-
delser med formel (IXb),



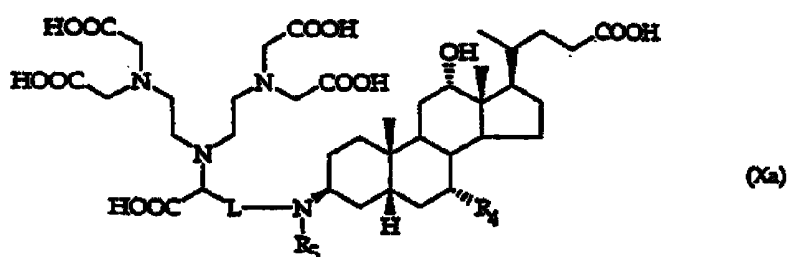
hvor X, L og R_5 har samme betydningene som i krav 13.

16. Fremgangsmåte ifølge krav 13,
karakteriseret ved fremstillingen af for-
bindelser med formel (X),



hvor R_6 kan være et hydrogenatom eller en karboksylgruppe, R_4 har de samme betydningene som i krav 2 og L og R_5 har de samme betydningene som i krav 13.

17. Fremgangsmåte ifølge krav 16, karakteriseret ved fremstillingen af forbindelser med formel (Xa)



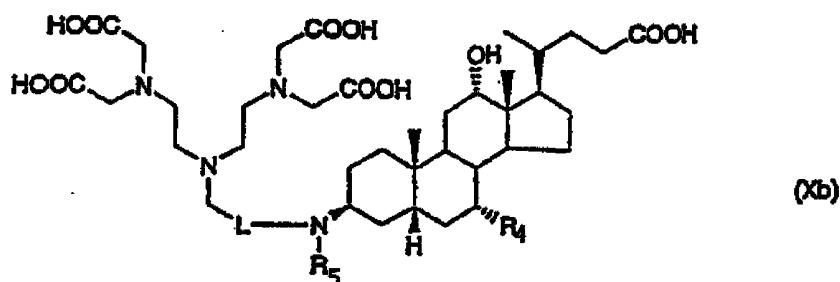
hvor R_4 har de samme betydningene som i krav 2 og L og R_5 har de samme betydningene som i krav 13.

18. Fremgangsmåte ifølge krav 17, karakteriseret ved fremstillingen af de følgende forbindelser:

[3 β (S), 5 β , 12 α]-3-[[4-[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-12-hydroxyskolan-24-syre;

[3 β (S), 5 β , 7 α , 12 α]-3-[[4-[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-7,12-dihydroxyskolan-24-syre.

19. Fremgangsmåte ifølge krav 13, karakteriseret ved fremstillingen af forbindelser med formel (Xb),

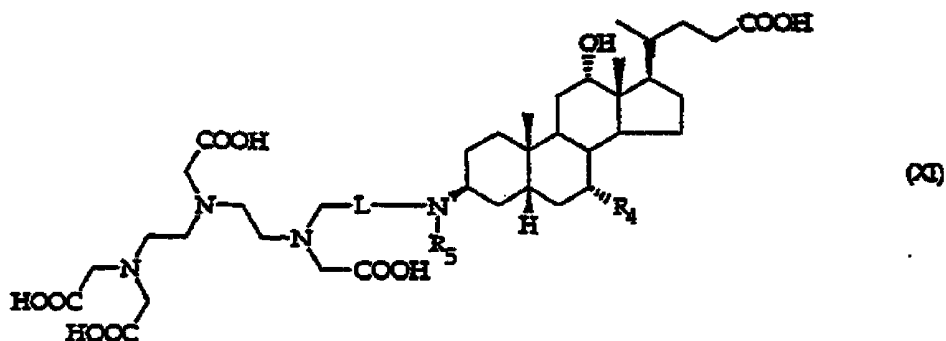


hvor R_4 har de samme betydningene som i krav 2 og R_5 og L har de samme betydningene som i krav 13.

20. Fremgangsmåte ifølge krav 19,
karakteriseret ved fremstillingen av den følgende forbindelse:

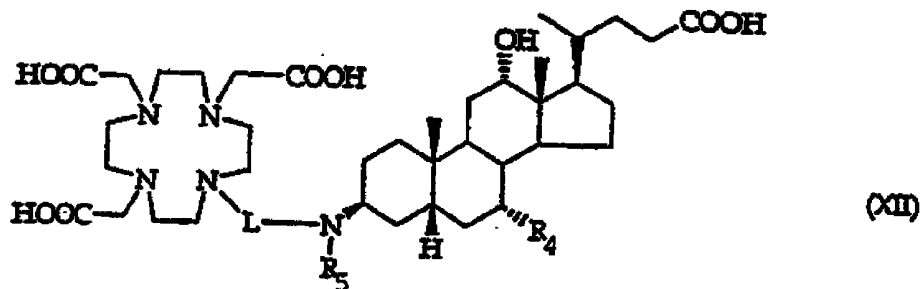
(3 β ,5 β ,7 α ,12 α)-3-[[[bis[2-[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-amino]acetyl]amino]-7,12-dihydroksykolan-24-syre.

21. Fremgangsmåte ifølge krav 13,
karakteriseret ved fremstillingen av forbindelser med formel (XI),



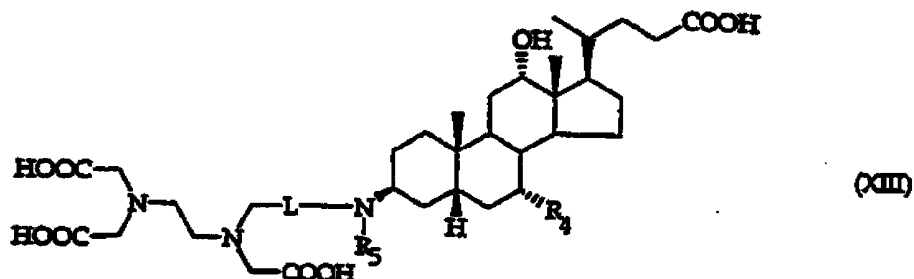
hvor R_4 har de samme betydningene som i krav 2 og R_5 og L har de samme betydningene som i krav 13.

22. Fremgangsmåte ifølge krav 13,
karakteriseret ved fremstillingen av forbindelser med formel (XII),



hvor R_4 har de samme betydningene som i krav 2 og R_5 og L har de samme betydningene som i krav 13.

23. Fremgangsmåte ifølge krav 13,
k a r a k t e r i s e r t v e d fremstillingen av forbindelser med formel (XIII),



hvor R_4 har de samme betydningene som i krav 2 og R_5 og L har de samme betydningene som i krav 13.

24. Fremgangsmåte ifølge krav 13,
k a r a k t e r i s e r t v e d fremstillingen av de følgende forbindelser:

[3 β (S), 5 β , 12 α]-3-[[4-[[2-[[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-(karboksymetyl)amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-12-hydroksykolan-24-syre;

[3 β (S), 5 β]-3-[[4-[[2-[[bis(karboksymetyl)amino]etyl]-(karboksymetyl)amino]-4-karboksy-1-oksobutyl]amino]-12-oksykolan-24-syre.