



УДК 547.689.6'11\*2'623'291.057

СИНТЕЗ ПЕНТАДЕЙТЕРИРОВАННОГО ГЛЮКУРОНИДА  
ПРЕГНАДИОЛА

Голубовская Л. Е., Шивницкий К. К.

*Институт экспериментальной эндокринологии и химии гормонов  
Академии медицинских наук СССР, Москва*

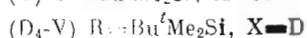
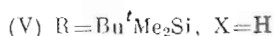
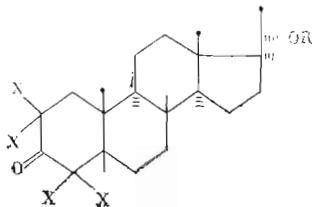
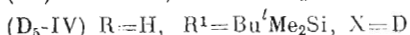
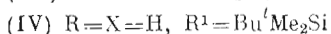
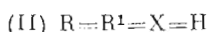
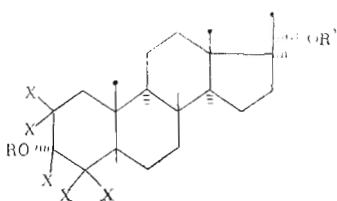
Осуществлен синтез натривой соли глюкуронида 2,2,3,4,4-пентадейтеропрегнадиола, изотопически меченного аналога основного метаболита прогестерона. Вистрет-бутилдиметилсилиловый эфир исходного 5 $\beta$ -прегнан-3 $\alpha$ .20 $\alpha$ -диола селективным десилилированием и окислением превращают в 20-моноэфир 5 $\beta$ -прегнан-20 $\alpha$ -ол-3-она. В последнем  $\alpha$ -водородные атомы обменивают на дейтериевые действием смеси D<sub>2</sub>O — MeOD при катализе карбонатом натрия и образовавшийся 2,2,4,4-тетрадейтерированный 3-кетон восстанавливают бордейттеридом натрия в 2,2,3,4,4-пентадейтерированный 20-силиловый эфир прегнадиола — субстрат для глюкуронозилрования по методу Кенигса — Кюрра с использованием метил(2,3,4-три-О-ацетил- $\alpha$ -D-глюкопиранозилбромид)уроната в присутствии Ag<sub>2</sub>O. Получают полностью защищенный пентадейтерированный глюкуронид прегнадиола, последовательным гидролизом плавиковой кислотой и водным раствором NaHCO<sub>3</sub> превращенный в указанную натриевую соль.

Ранняя диагностика беременности, а также определение фертильного периода менструального цикла являются важнейшими видами диагностических процедур в программах регулирования семьи. В настоящее время в соответствующих программах Всемирной Организации Здравоохранения для этих целей разрабатывается методика, основанная на определении содержания глюкуронидов стероидных гормонов (эстрогены) и их метаболитов (гестагены) в моче женщин методом радиоиммунологии (РИЛ) [1—3]. В частности интенсивно используется РИЛ-метод анализа глюкуронида прегнадиола — натрий[(2,2,3,4,4-пентадейтеро-5 $\beta$ -прегнан-20 $\alpha$ -ол-3 $\alpha$ -ил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид]уроната (I) [1—4] — основного стероидного метаболита мочи в период беременности [5]. Достоверность РИЛ-метода анализа уровней глюкуронида (I) должна быть подтверждена независимым референтным методом абсолютной специфичности ввиду присутствия в моче глюкуронидов нескольких стереоизомерных прегнадиолов [6].

Практически единственным референтным методом достаточной специфичности для подтверждения РИЛ-методов анализа стероидов является хроматомасс-фрагментография (ХМФ) [7] с использованием изотопически меченных внутренних стандартов (обычно дейтерированных). Для глюкуронида (I) и прочих стероидных глюкуронидов отсутствие соответствующих полидейтерированных стандартов высокой изотопной чистоты пока не позволяет использовать метод ХМФ. Поэтому нашей целью явился синтез полидейтерированного глюкуронида (I) для его последующего использования в качестве внутреннего стандарта при разработке ХМФ-метода анализа уровней этого метаболита в биологических объектах.

В соответствии с описанными ранее требованиями к дейтерированным стандартам стероидов [8] дейтерированный глюкуронид (I) должен содержать 4—5 атомов дейтерия на молекулу. Ввиду малой доступности препаративных количеств глюкуровида (I) и полифункциональности его молекулы схемой синтеза полидейтерированного глюкуронида (I) было избрано введение дейтерия в свободный стероид с последующим глюкуронозилрованием.

Гидроксильные группы в исходном 5 $\beta$ -прегнан-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -диоле (II) дифференцированы переводом в бис-*tert*-бутилдиметилсилиловый эфир (III) стандартным методом [9] и селективным десилилированием при СЗ обработкой 1,2 экв. Bu<sup>t</sup><sub>2</sub>NF. Хотя селективность десилилирования только умеренная, возврат побочных продуктов — исходного диэфира (III) и диола (II) — позволяет получать 20-моноэфир (IV) с выходом до 88% на невозвращенное исходное. Окислением моноэфира (IV) хлорхроматом пиридина получен 3-кетон (V) с количественным выходом. Изотопный обмен  $\alpha$ -водородных атомов в кетоне (V) гладко протекает при 60°С в смеси D<sub>2</sub>O—MeOH — тетрагидрофуран при катализе карбонатом натрия, приводя к 2,2,4,4-тетрадейтерокетону (D<sub>4</sub>-V). Возможность использования в качестве основного источника дейтерия доступной окиси дейтерия в большом избытке (400 моль-экв.) позволяет достичь высокой изотопной чистоты дейтеростероида (D<sub>4</sub>-V) — более 90% D<sub>4</sub>-формы. Вопреки распространенному мнению об относительно высокой стабильности  $\alpha$ -дейтерокетонов, в дейтерокетоне (D<sub>4</sub>-V) атомы дейтерия весьма лабильны и частично подвергаются обмену на протий уже при обычном ГЖХ-анализе на неполярной колонке (фаза SE-30), так что воспроизводимый анализ изотопного состава возможен только масс-спектрометрией при прямом вводе в ионный источник прибора. По этой же причине после завершения изотопного обмена дейтерокетон (D<sub>4</sub>-V) без выделения из реакционной смеси немедленно восстановлен добавлением бородейтерида натрия в 2,2,3,4,4-пентадейтеростероид (D<sub>5</sub>-IV) очень высокой изотопной чистоты (0,5% D<sub>0</sub>-формы, 95% D<sub>5</sub>-формы), неспособный к изотопному обмену. Вышеописанный метод полидейтерирования стероидных кетонов без выделения промежуточных продуктов («one-pot») экономичен, обеспечивает высокую изотопную чистоту и без существенных модификаций был успешно использован нами и для получения иных дейтерированных стероидов.

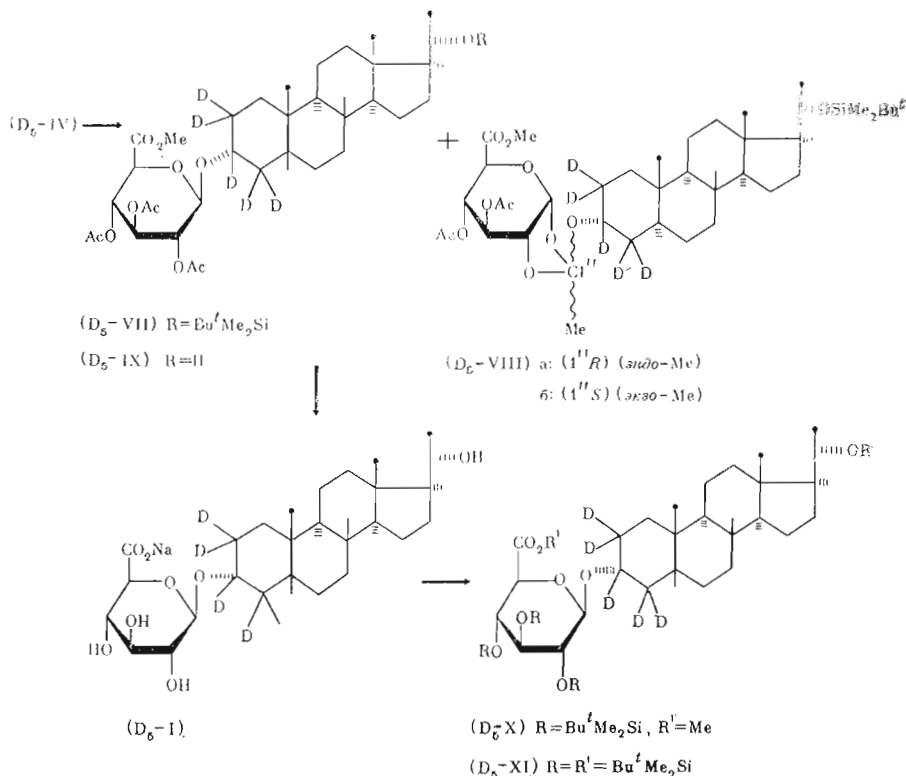


Стабильность Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-защиты не только обеспечивает 97% химический выход дейтеростероида (D<sub>5</sub>-IV), но и делает его удобным субстратом для глюкуронозилрования. Из нескольких известных сейчас способов синтеза  $\beta$ -глюкуронидов мы избрали классический метод Кенигса — Кнорра [10]. Этот метод наиболее  $\beta$ -селективен, хотя и не свободен от побочного процесса образования ортоэфиров [10—13].

Беглое изучение методом ТСХ хода взаимодействия дейтеростероида (D<sub>5</sub>-IV) с метиловым эфиром (2,3,4-три-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозилбромид) уроневои кислоты (VI) в присутствии различных катализаторов (Ag<sub>2</sub>O, Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, CdCO<sub>3</sub>) показал, что в нашем случае реакция протекает наиболее селективно с Ag<sub>2</sub>O. В препаративном опыте реакция дейтеростероида (D<sub>5</sub>-IV) с 6 эквивалентами бромид (VI) в присутствии Ag<sub>2</sub>O и молекулярных сит при 20°С привела к образованию защищенного глюкуронида (D<sub>5</sub>-VII) с неожиданно высоким выходом — 63,4%. Обычно синтез стероидных глюкуронидов по методу Кенигса — Кнорра характеризуется значительно более низкими выходами (25—35% [13—16]), хотя известны и исключения [17].  $\beta$ -Конфигурация гликозидной связи в глюкурониде (D<sub>5</sub>-VII) подтверждается характерной для  $\beta$ -глюкуровидов

[16, 18] величиной константы спин-спинового взаимодействия ( $J$  7,5 Гц) аномерного протона при C1' ( $\delta$  4,62 м.д.) в спектре ПМР параллельно полученного из спирта (IV) недеитерированного глюкуроида (VII). Одновременно с глюкуроидом ( $D_5$ -VII) образовались и были хроматографически выделены с выходами 21,9 и 7,7% изомерные соединения, по спектральным данным идентифицированные как ортоацетаты ( $D_5$ -VIIa, б). Особенности спектров ПМР соответствующих недеитерированных соединений (VIIa, б) является сильный слабопольный сдвиг сигналов аномерного протона при C1' ( $\delta$  5,59–5,80 м.д.,  $J$  4–5 Гц) по сравнению с глюкуроидом (VII) (см. выше; ср. с [19]), а также наличие синглетных сигналов метильной группы ортоацетатной группировки с  $\delta$  1,71 и 1,50 м.д. соответственно. Химический сдвиг последних сигналов по аналогии с работами [11, 13] позволяет приписать изомерам (VIIa, б) *эндо*- и *экзо*-конфигурации ортоацетатной метильной группы. Нам неизвестны случаи получения эпимерной пары стероидно-углеводных ортоэфиров.

Хотя вероятность изотопного обмена на стадии глюкуронозилрования и низка, для полной гарантии был измерен изотопный состав защищенного глюкуроида ( $D_5$ -VII), который оказался идентичным (в пределах ошибки измерения) составу исходного спирта ( $D_5$ -IV).



Снятие защитных группировок с защищенного глюкуроида ( $D_5$ -VII) встретило некоторые трудности. Гидролиз защитных группировок глюкуроновой части молекулы кипящим водным раствором NaHCO<sub>3</sub> [15] и гидролиз группировки Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-эфира действием NaF приводили к сложным смесям продуктов. Удовлетворительный результат был получен при гидролизе 40%-ной плавиковой кислотой в ацетонитриле [20–22], приводящем к 78% продукта отщепления Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-остатка, метилового эфира триацетата глюкуроида ( $D_5$ -IX), наряду с небольшими количествами продуктов расщепления гликозидной связи спиртов ( $D_5$ -II) и ( $D_5$ -IV). Последующий гидролиз водным раствором NaHCO<sub>3</sub> теперь уже частично защищенного глюкуроида ( $D_5$ -IX) протекал гладко и привел к свободному дейтерированному глюкуроиду, выделенному и очищен-

ному в виде кристаллического сесквигидрата натриевой соли ( $D_5$ -I) с выходом 59%. За исключением предсказуемых отличий, вызванных наличием пяти атомов дейтерия в молекуле, полученный образец хроматографически и спектрально идентичен заведомому образцу глюкуронида (I).

Для использования натриевой соли ( $D_5$ -I) как стандарта при хромато-масс-спектрометрическом определении глюкуронида (I) необходимо получение летучего производного. При ГЖХ стероидных глюкуронидов обычно используют метиловые эфиры пертриметилсилиловых эфиров [23, 24]. Эти производные достаточно термически стойки и летучи, но при ионизации электронным ударом претерпевают интенсивный распад и в масс-спектрах дают низкие выходы ионов высокой массы [25], что вынуждает считать их малоприспособными для масс-фрагментографии. Значительно предпочтительнее  $Bu^tMe_2Si$ -эфиры благодаря высокому выходу ионов типа  $M^+ - C_8H_9$  [26].

Гладкий синтез сполна  $Bu^tMe_2$ -силилированных производных ( $D_5$ -X) и ( $D_5$ -XI) удается при использовании мощного силилирующего реагента — *трет*-бутилдиметилсилилтрифлата [27, 28] в относительно жестких условиях (2 ч при 50° С). В более мягких условиях образуются продукты неполного силилирования вследствие значительных стерических затруднений при введении объемистых  $Bu^tMe_2Si$ -остатков. Производные ( $D_5$ -X) и ( $D_5$ -XI) обнаруживают в масс-спектрах электронного удара интенсивные ионы с  $m/z$  914 и 1014 ( $M^+ - C_8H_9$ ) соответственно, что характеризует производные как подходящие кандидаты для использования при ХМФ глюкуронида (I).

Таким образом, синтезирован образец дейтерированного глюкуронида ( $D_5$ -I) высокой изотопной чистоты ( $D_5$  95%,  $D_0$  0,5%), пригодный для использования как изотопический внутренний стандарт при анализе глюкуронида прегнадиола — основного метаболита прогестерона.

### Экспериментальная часть

Температуры плавления определены на нагревательном столике Voetius (ГДР), углы вращения измерены на поляриметре Palamat A (ГДР). Спектры ПМР получены на приборе Tesla BS-487 С (80 МГц) (ЧССР) в дейтерохлороформе, внутренний стандарт — тетраметилсилан. Сигналы ОН-групп идентифицированы обменом с  $D_2O$ . ИК-спектры сняты на приборе Spesord 75 IR (ГДР) в таблетках KBr. Масс-спектры получены на хроматомасс-спектрометре LKB-2091 (Швеция) при энергии ионизирующих электронов 22,5 эВ прямым вводом в ионный источник при указанной температуре или после хроматографии на кварцевой капиллярной колонке (0,36 мм × 25 м) с фазой SE-30, газ-носитель — гелий (70 см<sup>3</sup>/с), программируемый разогрев колонки 10 град/мин от 220 до 290° С. Качественный анализ смесей проводили методом ТСХ на пластинках марки Silufol UV-254 (ЧССР), используя системы: бензол — эфир, 1:1 (А) и 3:2 (Б), эфир (В), бензол — гексан, 1:1 (Г), этилацетат — гексан, 1:1 (Д) и 3:7 (Е), хлороформ — MeOH, 9:1 (Ж), бензол — этанол — вода — 85% HCOOH, (800:200:14:1 (И)). Вещества обнаруживали 10% спиртовым раствором фосфомолибденовой кислоты. Для препаративной колоночной хроматографии использовались методом высокоэффективной флэш-хроматографии (ВЭФХ) [29] на силикагеле LSC<sub>274</sub> (5–40 мкм, Chemapol, ЧССР); диаметр колонки и система для элюции указаны в каждом конкретном случае.

В работе использованы дейтерированные реактивы отечественного производства со следующим содержанием изотопа (в атомных %):  $D_2O$  — 99,8, MeOD — 98,5, NaBD<sub>4</sub> — 98. Диазометан получали из диазальда по методу [30]. Использовали *трет*-бутилдиметилхлорсилан (Fluka, Швейцария), *трет*-бутилдиметилсилилтрифлат (Fluka, Швейцария), диметилформамид «для силилирования» (Pierce, США) без дополнительной очистки, имидазол (Reanal, Венгрия) перекристаллизовывали из бензола и возгоняли (100° С, 0,1 мм рт. ст.). Остальные растворители и реактивы — отечественного производства марки ос.ч. и х.ч. Абсолютирование растворителей проводили по стандартным методикам.

Растворы уваривали в вакууме при 40° С. Под стандартной силилирующей смесью подразумевается раствор 1 ммоль  $Bu^tMe_2SiCl$  и 2,5 ммоль имидазола в 1 мл абс. диметилформамида.

*5β-Прегнаи-3α,20α-диол (II)*. По методу [31] гидрированием прогестерона в пиридине над 5% Pd/C получали 5β-прегнаи-3,20-диол. Выход 74,5%, т.пл. 120–122° С (из ацетона),  $[\alpha]_D^{25} +112^\circ$  (с 0,86, хлороформ),  $R_f$  0,41,  $R_f$  исходного 0,28 (А). Восстановлением этого diketона натрием в кипящем изопропиловом спирте согласно описанной методике [32] синтезировали диол (II). Выход 54,3%, т.пл. 236–239° С (из этанола),  $[\alpha]_D^{25} +20,8^\circ$  (с 0,95, этанол),  $R_f$  0,47 (В). Константы упомянутых соединений совпадают с ранее опубликованными [5, 31].

*Бис-трет-бутилдиметилсилиловый эфир 5β-прегнан-3α,20α-диола (III)*. Суспензию 4 г (12,50 ммоль) диола (II) в 56 мл стандартной силилирующей смеси (56 ммоль  $\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiCl}$ ) при перемешивании нагревали 4 ч при 80°С. По ходу реакции продукт выкристаллизовывался из реакционной смеси. После 12-часового стояния при 20°С кристаллы отфильтровали, промыли MeOH и высушили. Получили 6,57 г (95,9%) бисэфира (III), т. пл. 116–117°С (из ацетона),  $[\alpha]_D^{25} +34,9^\circ$  (с 0,92, гексан),  $R_f$  0,44,  $R_f$  исходного 0,01 (Г). ИК (ν, см<sup>-1</sup>): 780, 840, 1100, 1130. ПМР (δ, м.д.): 0,04 и 0,06 (2с, 12H, 2SiMe<sub>2</sub>), 0,60 (с, 3H, C18-H<sub>3</sub>), 0,87 (с, 9H, Bu<sup>t</sup>), 0,89 (с, 3H, C19-H<sub>3</sub>), 1,13 (д, J 6 Гц, 3H, C21-H<sub>3</sub>), 3,56 (м, 2H, HC3β+HC20β). Масс-спектр,  $m/z$  (I, %): 491 ( $[M-\text{Bu}^t]^+$ , 100), 359 ( $[M-(\text{Bu}^t+\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiOH})]^+$ , 15), 284 ( $[M-2\times\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiOH}]^+$ , 61), 175 (9), 159 (9) ( $\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiO}^+=\text{CHMe}$ , 65), 145 ( $\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiO}^+=\text{CH}_2$ , 44), 121 (8), 117 ( $\text{Bu}^t\text{MeSi}=\text{OH}$ , 36), 115 ( $\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{Si}^+$ , 2), 103 ( $\text{HMe}_2\text{SiO}=\text{CHMe}$ , 60), 75 (38).

*20-Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-эфир 5β-прегнан-3α,20α-диола (IV)*. К раствору 6,5 г (11,86 ммоль) бисэфира (III) в 33 мл абс. тетрагидрофурана добавили 14,3 мл 1 М раствора фторида тетра-*n*-бутиламмония в тетрагидрофуране (14,3 ммоль). Через 16 ч стояния при 20°С желтый раствор разбавили 100 мл воды. Выпавший розовый липкий твердый осадок отфильтровали, промыли водой, высушили. По данным ТСХ, вещество является смесью моноэфира (IV) с небольшим количеством диола (II) и исходного бисэфира (III),  $R_f$  0,34; 0,04 и 0,86 (А) соответственно. Эту смесь частично растворили в 80 мл кипящего гексана, отделив 303 мг нерастворившегося диола (II). Гексановый раствор упарили досуха, остаток перекристаллизовали из этилацетата и получили 2,32 г (45,1%) моноэфира (IV). Из маточного раствора с помощью ВЭФХ (колонка 35 мм, система А) выделили еще 100 мг диола (II), 0,82 г бисэфира (III) и 1,5 г смеси моноэфира (IV) с соответствующим 3-моноэфиром. Стандартным силированием этой смеси моноэфиров и возвращенного диола (II) регенерировали бисэфир (III). Общий возврат бисэфира (III) 3,18 г (48,9%), выход моноэфира (IV) на невозвращенное исходное 88,2%. Аналитический образец моноэфира (IV): т. пл. 165–167°С (из этилацетата),  $[\alpha]_D^{25} +10,6^\circ$  (с 0,76, гексан). ИК (ν, см<sup>-1</sup>): 780, 815, 840, 1050, 1125, 3375. ПМР (δ, м.д.): 0,04 (с, 6H, SiMe<sub>2</sub>), 0,61 (с, 3H, C18-H<sub>3</sub>), 0,86 (с, 9H, Bu<sup>t</sup>), 0,91 (с, 3H, C19-H<sub>3</sub>), 1,13 (д, J 6 Гц, 3H, C21-H<sub>3</sub>), 3,58 (м, 2H, HC3β+HC20β). Масс-спектр,  $m/z$  (I, %): 377 ( $[M-\text{Bu}^t]^+$ , 100), 359 ( $[M-(\text{Bu}^t+\text{H}_2\text{O})]^+$ , 33), 302 ( $[M-\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiOH}]^+$ , 12), 287 ( $[M-(\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiOH}+\text{Me})]^+$ , 19), 284 ( $[M-(\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiOH}+\text{H}_2\text{O})]^+$ , 30), 257 ( $[M+(\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiO}=\text{CHMe}+\text{H}_2\text{O})]^+$ , 24), 255 (13), 189 (17), 175 (27), 163 (13), 161 (16), 159 (29), 149 (29), 145 (6), 135 (22), 123 (10), 121 (27), 117 (16), 115 (3), 109 (22), 107 (13), 103 (73), 95 (22), 83 (13), 81 (13), 75 (10). Интерпретацию строения ионов с  $m/z < 160$  см. выше.

*Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-эфир 5β-прегнан-20α-ол-3-она (V)*. К суспензии тщательно растертой смеси 2,1 г (9,77 ммоль)  $\text{Ru}\cdot\text{HCl}\cdot\text{CrO}_3$ , 170 мг безводного  $\text{AcONa}$  и 1,5 г целита 545 (80–100 меш) в 60 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при 20°С и перемешивании добавили раствор 2,82 г (6,5 ммоль) моноэфира (IV) в 25 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Через 3 ч перемешивания реакционную смесь разбавили 50 мл абс. эфира и суспензию профильтровали через колонку с 20 г  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (нейтр., II ст. акт.), элюируя эфиром. Упариванием элюата получили 2,77 г (98,6%) белого кристаллического кетозэфира (V), т. пл. 118–120°С (из MeOH),  $[\alpha]_D^{25} +18,7^\circ$  (с 0,76, гексан),  $R_f$  0,65,  $R_f$  исходного 0,33 (А). ИК (ν, см<sup>-1</sup>): 780, 815, 835, 1730. ПМР (δ, м.д.): 0,05 (с, 6H, SiMe<sub>2</sub>), 0,64 (с, 3H, C18-H<sub>3</sub>), 0,86 (с, 9H, Bu<sup>t</sup>), 0,99 (с, 3H, C19-H<sub>3</sub>), 1,13 (д, J 6 Гц, 3H, C21-H<sub>3</sub>), 3,63 (м, 1H, HC20β). Масс-спектр,  $m/z$  (I, %): 375 ( $[M-\text{Bu}^t]^+$ , 100), 357 ( $[M-(\text{Bu}^t+\text{H}_2\text{O})]^+$ , 15), 300 ( $[M-\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiOH}]^+$ , 11), 285 ( $[M-(\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiOH}+\text{Me})]^+$ , 3), 282 ( $[M-(\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiOH}+\text{H}_2\text{O})]^+$ , 25), 255 ( $[M-(\text{Bu}^t\text{Me}_2\text{SiO}=\text{CHMe}+\text{H}_2\text{O})]^+$ , 16), 175 (13), 173 (13), 161 (19), 159 (23), 149 (10), 147 (21), 145 (8), 135 (16), 121 (19), 117 (3), 115 (3), 107 (11), 103 (17), 95 (10), 81 (8), 75 (43). Интерпретация строения ионов с  $m/z < 160$  см. выше.

*20-Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-эфир 2,2,3,4,4-пентадейтеро-5β-прегнан-3α,20α-диола (D<sub>5</sub>-IV)*. Раствор 1,6 г (15,1 ммоль) прокаленного (после смачивания D<sub>2</sub>O)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  в смеси 65 мл (3575 ммоль) D<sub>2</sub>O, 34 мл (894 ммоль) MeOD и 240 мл абс. тетрагидрофурана кипятили в атмосфере аргона 10 мин. К охлажденному раствору добавили 2,56 г (5,93 ммоль) кетозэфира (V) в 20 мл абс. тетрагидрофурана. Почти гомогенный раствор нагревали при 60°С при перемешивании 30 ч, затем добавили еще 15 мл (394 ммоль) MeOD и 20 мл (1100 ммоль) D<sub>2</sub>O и нагревали еще 3 ч, периодически контролируя изотопный состав образующегося 2,2,4,4-тетрадейтеро-(V) (D<sub>4</sub>-V). Для анализа изотопного состава аликвоту реакционной смеси разбавляли гексаном и регистрировали масс-спектр прямым вводом в ионный источник при 90°С\*. Конечный изотопный состав (D<sub>4</sub>-V) (по относительной интенсивности пиков в интервале  $m/z$  375–379 ( $M^+ - \text{Bu}^t$ ) с учетом природных примесей <sup>13</sup>C, <sup>29</sup>Si и <sup>30</sup>Si): D<sub>0</sub> 0,32%, D<sub>1</sub> 0,46, D<sub>2</sub> 1,35, D<sub>3</sub> 6,9, D<sub>4</sub> 90,9%. Масс-спектр (D<sub>4</sub>-V) идентичен спектру (V), за исключением смещения ионов с  $m/z$  255 и выше на 4 массовые единицы.

К реакционной смеси добавили 0,51 г (12,1 ммоль)  $\text{NaBD}_4$ . Образовавшуюся при этом двухфазную систему интенсивно перемешивали 4 ч, реакционную смесь разбавили 400 мл воды, тетрагидрофуран отогнали в вакууме. Полученную суспензию экстрагировали эфиром. эфирный экстракт промыли водой, сушили над прокален-

\* Анализ в хроматографическом режиме дает нестабильное и высокое содержание пентадейтерированных форм в результате изотопного обмена в колонке.

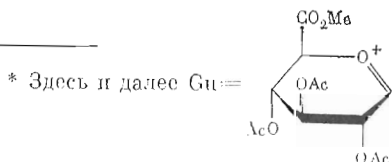
ным  $MgSO_4$  упарили досуха. Получили 2,52 г (96,9%) дейтерированного моноэфира ( $D_5$ -IV), температура плавления и угол вращения которого идентичны соответствующим характеристикам недейтерированного аналога (IV). Изотопный состав ( $D_5$ -IV), определенный по относительным интенсивностям ионов с  $m/z$  377–382 ( $M^+$ – $Bu^+$ ) и масс-спектре:  $D_0$  0,50%,  $D_1$  0,12,  $D_2$  0,57,  $D_3$  0,30,  $D_4$  3,7,  $D_5$  94,8%. Масс-спектр ( $D_5$ -IV), за исключением смещения ионов с  $m/z$  257 и выше на 5 массовых единиц, идентичен спектру (IV).

**Метилловый эфир [20 $\alpha$ -( $Bu^+Me_2Si$ -окси)-2,2,3,4,4-пентадейтеро-5 $\beta$ -прегнан-3 $\alpha$ -ил]-2',3',4'-три-О-ацетил- $\beta$ -D-глюкопиранозидуроной кислоты ( $D_5$ -VII).** Суспензия 220 мг (0,50 ммоль) дейтерированного моноэфира ( $D_5$ -IV), 1,2 г (3,02 ммоль) свежеприготовленного метилового эфира (2,3,4-три-О-ацетил- $\alpha$ -D-глюкопиранозидбромид)уроной кислоты (VI) [33], 1,4 г (6,03 ммоль) полученного перед употреблением  $Ag_2O$  и 1 г тонко растертого молекулярных сит (4 Å) в 10 мл абс. толуола перемешивали 5 ч при 20°С в атмосфере аргона в темноте. Темный осадок отфильтровали, промыли бензолом, фильтрат упарили досуха. Получили 1,37 г желтого масла, по данным ТСХ являющегося смесью трех соединений с  $R_f$  0,62; 0,59; 0,56;  $R_i$  исходного 0,35 (Б, два проявления),  $R_f$  0,44; 0,37; 0,34; 0,56 (Е) соответственно. Смесью в две порции делили методом ВЭФХ (колонок 35 мм, 20% этилацетата в гексане). Выделили 240 мг (63,4%)  $\beta$ - $D_5$ -глюкуронида ( $D_5$ -VII), т. пл. 182–183°С (из смеси эфир– $MeOH$ ),  $[\alpha]_D^{25} +2,5^\circ$  (с 0,90, хлороформ),  $R_f$  0,57 (Ж), 0,56 (Б, два проявления). ИК ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): 900, 907, 953, 967, 987, 1053, 1180, 1230, 1253 (перегиб), 1767, 3475. Масс-спектр, 165°С,  $m/z$  ( $I$ , %): 698 ( $[M-Bu^+]^+$ , 17), 422 ( $[M-OGu^*]^+$ , 0,8), 382 ( $[M-(C_4H_9+Gu)]^+$ , 0,9), 364 ( $[M-(Bu^++GuOH)]^+$ , 1), 317 ( $[Gu^+]$ , 1), 290 ( $[M-(Bu^+Me_2SiOH+GuO)]^+$ , 100), 275 ( $[Gu-CH_2CO]^+$ , 0,6), 257 ( $[Gu-AcOH]^+$ , 0,9), 215 ( $[Gu-(CH_2CO+AcOH)]^+$ , 2), 203 (2), 189 (2), 175 (3), 163 (2), 161 (10), 159 ( $Bu^+Me_2SiO=CHMe$ , 22), 155 ( $[Gu-(2\times AcOH+CH_2CO)]^+$ , 2), 149 (3), 135 (3), 127 (2),

121 (10), 117 ( $Bu^+MeSi=OH$ , 21), 103 ( $HMe_2SiO=CHMe$ , 2), 95 (3). Получили также 85 мг (21,9%) метилового эфира 1', 2'-О-{1''(R)-[20 $\alpha$ -( $Bu^+Me_2Si$ -окси)-2,2,3,4,4-пентадейтеро-5 $\beta$ -прегнан-3 $\alpha$ -илокси]этилиден}-3',4'-ди-О-ацетил- $\alpha$ -D-глюкопиранозидуроной кислоты ( $D_5$ -VIIa), т. пл. 174–176°С (из  $MeOH$ ),  $[\alpha]_D^{25} +15,0^\circ$  (с 0,82, хлороформ),  $R_f$  0,61 (Ж), 0,62 (Б, два проявления). Масс-спектр, 155°С,  $m/z$  ( $I$ , %): 698 (35), 422 (1), 382 (29), 364 (5), 317 (14), 290 (100), 275 (3), 257 (13), 229 (5), 215 (56), 203 (5), 197 (5), 189 (5), 175 (9), 163 (5), 161 (14), 159 (34), 155 (26), 149 (10), 137 (3), 135 (14), 127 (23), 121 (22), 117 (50), 115 (6), 109 (6), 107 (5), 103 (16), 98 (14), 95 (9), 75 (27). Выделили также 29 мг (7,7%) метилового эфира 1',2'-О-{1''(S)-[20 $\alpha$ -( $Bu^+Me_2Si$ -окси)-2,2,3,4,4-пентадейтеро-5 $\beta$ -прегнан-3 $\alpha$ -илокси]этилиден}-3',4'-ди-О-ацетил- $\alpha$ -D-глюкопиранозидуроной кислоты ( $D_5$ -VIIб), масло,  $[\alpha]_D^{25} +32,3^\circ$  (с 0,92, хлороформ),  $R_f$  0,59 (Ж), 0,59 (Б, два проявления). Масс-спектр, 145°С,  $m/z$  ( $I$ , %): 698 (14), 382 (3), 364 (1), 317 (3), 290 (100), 275 (2), 257 (3), 215 (6), 203 (3), 197 (3), 189 (3), 175 (6), 163 (3), 161 (11), 159 (12), 155 (10), 149 (6), 137 (1), 135 (6), 127 (5), 121 (19), 117 (44), 115 (4), 109 (3), 107 (3), 103 (6), 98 (3), 95 (6). Интерпретация строения ионов в масс-спектрах ортоацетатов ( $D_5$ -VIIa, б) как в случае глюкуронида ( $D_5$ -VII).

Аналогичным способом из моноэфира (IV) были получены недейтерированные глюкуронид (VII) и ортоацетаты (VIIa, б) с выходами 51,9; 19,4 и 10,2% соответственно с физико-химическими константами, идентичными константам соответствующих дейтерированных аналогов. Глюкуронид (VII), ИК ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): 816, 837, 900, 920, 933, 940 (перегиб), 963, 987, 1037, 1227, 1760; ПМР ( $\delta$ , м.д.): 0,05 (с, 6H,  $SiMe_2$ ), 0,61 (с, 3H,  $C18-H_3$ ), 0,86 (с, 9H,  $Bu^+$ ), 0,89 (с, 3H,  $C19-H_3$ ), 1,13 (д,  $J$  6 Гц, 3H,  $C21-H_3$ ), 1,97 и 2,00 (2с, 9H,  $3\times OAc$ ), 3,70 (ус, 5H,  $CO_2Me+HC3\beta+HC20\beta$ ), 3,87–4,07 (м, 1H,  $HC5'$ ), 4,62 (д,  $J$  7,5, 1H,  $HC1'$ ), 4,75–4,97 (м, 1H,  $HC2'$ ), 5,0–5,36 (м, 2H,  $HC3'+HC4'$ ). (S)\*\*-ортоацетат (VIIa), ИК ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): 816, 837, 900, 920, 933, 940, 963, 987, 1037, 1227, 1760; ПМР ( $\delta$ , м.д.): 0,06 (с, 6H,  $SiMe_2$ ), 0,64 (с, 3H,  $C18-H_3$ ), 0,89 (с, 9H,  $Bu^+$ ), 0,92 (с, 3H,  $C19-H_3$ ), 1,15 (д,  $J$  6 Гц, 3H,  $C21-H_3$ ), 1,71 (с, 3H,  $C1''-H_3$ ), 2,05 (с, 6H,  $3'-OAc+4'-OAc$ ), 3,70 (ус, 5H,  $CO_2Me+HC3\beta+HC20\beta$ ), 4,10–4,41 (м, 2H,  $HC2'+HC5'$ ), 4,98–5,28 (м, 2H,  $HC3'+HC4'$ ), 5,80 (д,  $J$  5 Гц, 1H,  $HC1'$ ). (R\*\*)-ортоацетат (VIIб), ИК ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): 813, 840, 900, 920, 937, 990 (перегиб), 1000 (перегиб), 1043, 1107, 1220, 1240, 1763; ПМР ( $\delta$ , м.д.): 0,05 (с, 6H,  $SiMe_2$ ), 0,60 (с, 3H,  $C18-H_3$ ), 0,84 (с, 9H,  $Bu^+$ ), 1,13 (д,  $J$  6 Гц, 3H,  $C21-H_3$ ), 1,50 (с, 3H,  $C1''-H_3$ ), 1,99 и 2,02 (2с, 6H,  $3'-OAc+4'-OAc$ ), 3,69 (ус, 5H,  $CO_2Me+HC3\beta+HC20\beta$ ), 3,82–4,13 (м, 1H,  $HC5'$ ), 4,74 (д,  $J$  8 Гц, 1H,  $HC2'$ ), 5,07–5,42 (м, 2H,  $HC3'+HC4'$ ), 5,59 (д,  $J$  4 Гц, 1H,  $HC1'$ ).

**Метилловый эфир [2,2,3,4,4-пентадейтеро-5 $\beta$ -прегнан-20 $\alpha$ -ол-3 $\alpha$ -ил]-2',3',4'-три-О-ацетил- $\beta$ -D-глюкопиранозидуроной кислоты ( $D_5$ -IX).** К раствору 154 мг (0,20 ммоль)



\*\* Обозначения конфигурации при  $C1''$  зависят от изогонного замещения при  $C3$ .

дейтерированного глюкуроида ( $D_5$ -VII) в 5 мл ацетонитрила в полиэтиленовом сосуде при 25° С и перемешивании добавили 410 мкл 40% водной HF (8,2 ммоль). Через 40 мин перемешивания раствор упарили в токе азота досуха. Полученное белое кристаллическое вещество дважды перекристаллизовали из смеси эфир – гексан, получив 48 мг индивидуального защищенного глюкуроида ( $D_5$ -IX). Из маточных растворов методом ВЭФХ (колонок 20 мм, система Д) выделили еще 54 мг глюкуроида ( $D_5$ -IX) (общий выход 78%), 3 мг моноэфира ( $D_5$ -IV) и 10 мг диола ( $D_5$ -II),  $R_f$  0,37; 0,57; 0,35 (Д, два проявления),  $R_f$  0,44; 0,51; 0,37 (И) соответственно. Аналитический образец глюкуроида ( $D_5$ -IX): т. пл. 121–123° С (вамокает при 94° С, из смеси эфир – гексан),  $[\alpha]_D^{25}$  –12,2° (с 1,00, хлороформ). ИК ( $\nu$ , см<sup>-1</sup>): 900, 907 (перегиб), 953, 967, 987, 1053, 1180, 1253 (перегиб), 1763, 3475. ПМР ( $\delta$ , м. д.): 0,63 (с, 3H, C18-H<sub>3</sub>), 0,90 (с, 3H, C19-H<sub>3</sub>), 1,20 (д, 1,6 Гц, 3H, C21-H<sub>3</sub>), 1,97 и 2,00 (2 с, 9H, 3×OAc), 3,44 (ус, OH), 3,70 (ус, 3H, CO<sub>2</sub>Me), 3,98 (дд, 1,1 и 8 Гц, 1H, HC5'), 4,62 (д, 1,7,5 Гц, 1H, HCl'), 4,77–5,40 (м, 3H, HC2'–HC4'). Масс-спектр, 160° С,  $m/z$  (I, %): 623 ([M–H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 2), 594 (10), 308 ([M–OGu]<sup>+</sup>, 4), 317 (71), 290 (100), 275 (9), 260 (25), 257 (46), 228 (14), 220 (21), 215 (12), 197 (12), 186 (7), 175 (15), 157 (13), 155 (50), 149 (10), 137 (5), 122 (17), 121 (22), 120 (13), 109 (11), 107 (10), 95 (17), 60 (15), 44 (35), 43 (30). Интерпретация строения ионов с  $m/z$  317 и легче см. выше.

*Na-соль (2,2,3,4,4-пентадейтеро-5β-прегнан-20α-о-3α-ил)-β - D-глюкопиранозидуроновой кислоты (D<sub>5</sub>-I).* К раствору 60 мг (0,08 ммоль) защищенного глюкуроида ( $D_5$ -IX) в 4 мл MeOH добавили 1 мл 1 М водного раствора NaHCO<sub>3</sub> (1 ммоль) и образовавшуюся суспензию кипятили при перемешивании 0,5 ч. Охлажденную суспензию (рН 9) разбавили 15 мл воды, экстрагировали этилацетатом, экстракт отбросили. Водный раствор подкислили 5% HCl до рН 5, пропустили через колонку (1,5×7 см) со смолой XAD-2, колонку предварительно промыли последовательно водой, метанолом и водой, элюировали последовательно 15 мл 1% HCl, 25 мл H<sub>2</sub>O и 50 мл MeOH. Метанольный элюат после упаривания дал 38 мг (80,8%) аморфной кислоты, соответствующей соли ( $D_5$ -I),  $R_f$  0,13,  $R_f$  исходного 0,49 (И). К суспензии полученного продукта в 1 мл воды добавили 7 мг (1 экв.) NaHCO<sub>3</sub>, подогрели до почти полного растворения, тщательно профильтровали и фильтрат упарили досуха. Полученный белый кристаллический продукт дважды перекристаллизовали из этанола, получив после высушивания в вакууме (0,1 мм) при 20° С 29 мг (59,2%) сесквигидрата натриевой соли ( $D_5$ -I), т. пл. 283–284° С (лит. данные – см. [10]). По данным ТСХ (И) (нанесение подкисленной пробы), вещество идентично заведомому образцу глюкуроида прегнадиола. Найдено, %: С 59,02; Н+D 9,83; Na 4,44. C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>D<sub>5</sub>O<sub>8</sub>Na·1,5H<sub>2</sub>O. Вычислено, %: С 58,85; Н+D 9,39; Na 4,17. ИК ( $\nu$ , см<sup>-1</sup>): 1016, 1029, 1043, 1066, 1086, 1343, 1387, 1618, 3430.

*Метиловый эфир [20α-(Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-окси)-2,2,3,4,4-пентадейтеро-5β-прегнан-3α-ил]-2',3',4'-три-О-Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-β-D-глюкопиранозидуроновой кислоты (D<sub>5</sub>-X).* К подкисленному 5% HCl раствору 0,3 мг (6·10<sup>-4</sup> ммоль) натриевой соли ( $D_5$ -I) в 0,1 мл MeOH добавили эфирный раствор диазометана до устойчивой желтой окраски. Через 15 мин стояния при 20° С раствор упарили. К сухому остатку добавили 60 мкл абс. Et<sub>3</sub>N (0,42 ммоль) и 200 мкл (0,2 ммоль) 1 М раствора Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-трифлат в абс. бензоле. Раствор нагревали 2 ч при 50° С. К охлажденному раствору добавили 500 мкл гексана и 200 мкл воды, водный слой после встряхивания отбросили, гексановый промыли 200 мкл воды, упарили досуха и остаток растворили в 100 мкл гексана. Масс-спектр полученного Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-эфира ( $D_5$ -X), 165° С,  $m/z$  (I, %): 914 ([M–Bu<sup>t</sup>]<sup>+</sup>, 25), 782 ([M–(Bu<sup>t</sup>+Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiOH)<sup>+</sup>, 8), 594 ([M–(Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si+2×Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiOH)<sup>+</sup>, 15), 475 ([Cu–(Bu<sup>t</sup>+H)<sup>+</sup>, 14), 422 ([M–GuO]<sup>+</sup>, 4), 401 ([Cu–Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiOH]<sup>+</sup>, 27), 361 ([Cu–(Bu<sup>t</sup>+Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si)]<sup>+</sup>, 15), 347 ([Gu–(Bu<sup>t</sup>+Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiO)]<sup>+</sup>, 10), 301 (11), 290 ([M–(GuO+Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiOH)]<sup>+</sup>, 38), 269 ([Gu–2×Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiOH]<sup>+</sup>, 9), 207 (9), 175 (11), 174 (11), 159 (Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiO=CHMe, 100), 149 (9), 147 (10), 133 (12), 117 (Bu<sup>t</sup>MeSi=OH, 11), 115 (Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si<sup>+</sup>, 7), 103 (HMe<sub>2</sub>SiO=CHMe, 6), 86 (7), 77 (18), 75 (67), 73 (15), 58 (6), 57 (Bu<sup>t</sup>, 12), 56 (15).

*Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-эфир [20α-(Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-окси)-2,2,3,4,4-пентадейтеро-5β-прегнан-3α-ил]-2',3',4'-три-О-Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-β-D-глюкопиранозидуроновой кислоты (D<sub>5</sub>-XI).* К 0,3 мг (6·10<sup>-4</sup> ммоль) натриевой соли ( $D_5$ -I) добавили 60 мкл абс. Et<sub>3</sub>N (0,42 ммоль) и 200 мкл (0,2 ммоль) 1 М раствора Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-трифлат в абс. бензоле. Раствор нагревали 2 ч при 50° С, затем обрабатывали как описано выше. Масс-спектр полученного Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si-эфира ( $D_5$ -XI), 170° С,  $m/z$  (I, %): 1056 ([M–Me]<sup>+</sup>, 2), 1014 ([M–Bu<sup>t</sup>]<sup>+</sup>, 52), 882 ([M–(Bu<sup>t</sup>+Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiOH)]<sup>+</sup>, 26), 594 ([M–(Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si+Bu<sup>t</sup>MeSi+2×Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiO)]<sup>+</sup>, 22), 574 (39), 501 ([Gu–Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiOH]<sup>+</sup>, 34), 461 ([Gu–(Bu<sup>t</sup>+Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si)]<sup>+</sup>, 32), 445 (25), 329 (17), 301 (17), 290 ([M–(GuO+Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiOH)]<sup>+</sup>, 54), 270 (10), 207 (19), 175 (9), 174 (6), 159 (Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>SiO=CHMe, 100), 149 (12), 147 (9), 117 (Bu<sup>t</sup>MeSi=OH, 9), 115 (Bu<sup>t</sup>Me<sub>2</sub>Si<sup>+</sup>, 12), 103 (HMe<sub>2</sub>SiO=CHMe, 8), 86 (7), 77 (32), 75 (79), 73 (23).

Аналогично были получены недеитерированные эфиры (X) и (XI), масс-спектры которых идентичны вышеприведенным спектрам их дейтерированных аналогов, за исключением смещения ионов, содержащих стероидный остаток, на 5 массовых единиц.

Работа выполнена по планам и при финансовой поддержке Комиссии по репродукции человека Всемирной Организации Здравоохранения.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Aldercreutz H., Brown J., Collins W., Goebelsman U., Keillie J. E., Campbell H., Spieler J., Braissand G. // *J. Steroid Biochem.* 1982. V. 17. № 6. P. 695-702.
2. Samarajeewa P., Cooley G., Kellie A. E. // *J. Steroid Biochem.* 1979. V. 11. P. 1165-1171.
3. Stanczyk F. Z., Miyakawa I., Goebelsman U. // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 1980. V. 137. P. 443-450.
4. Collins W. P., Collins P. O., Kilpatrick M. J., Manning P. A., Pike J., Tyler J. P. P. // *Acta endocrinol. (Kbh).* 1979. V. 93. P. 123-128.
5. Физер Л., Физер М. Стероиды: Пер. с англ. М.: Мир, 1964. С. 581.
6. Савченко О. Н. // *Гормоны яичника и гонадотропные гормоны.* Л.: Медицина, 1967. С. 103-111.
7. Johnson D. W., Phillipou G., Seamark R. F. // *J. Steroid Biochem.* 1981. V. 14. P. 793-800.
8. Голубовская Л. Е., Пивницкий К. К. // *Журн. общ. химии.* 1985. Т. 55. № 2. С. 427-440.
9. Corey E. J., Venkateswarlu A. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1972. V. 94. P. 6190-6191.
10. Hadd H. E., Blickenstojf R. T. // *Conjugates of Steroid Hormones.* N. Y.: Springer-Verlag, 1969. P. 117-136.
11. Perlín A. S. // *Can. J. Chem.* 1963. V. 41. № 2. P. 399-406.
12. Mazurek M., Perlín A. S. // *Can. J. Chem.* 1965. V. 43. № 7. P. 1918-1923.
13. Mattox R., Goodrich J. E., Nelson A. W. // *Steroids.* 1982. V. 40. № 1. P. 23-24.
14. Huebner C. F., Overman R. S., Link K. P. // *J. Biol. Chem.* 1944. V. 155. P. 615-617.
15. Kirk D. N., Slade C. J. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* 1984. P. 2595-2597.
16. Hadd H. E., Slikker W., Miller D. W., Helton E. D., Duax W. D., Strong P. D., Swenson D. C. // *J. Steroid Biochem.* 1983. V. 18. P. 81-87.
17. Schneider J. J., Bhacca N. S. // *J. Org. Chem.* 1969. V. 34. P. 1990-1993.
18. Fischer B., Nudelman A., Ruse M., Herzig J., Gottlieb H. E., Keinan E. // *J. Org. Chem.* 1984. V. 49. P. 4988-4993.
19. Harreus A., Kunz H. // *Lieb. Ann.* 1986. № 4. P. 717-730.
20. Newton R. N., Reynolds D. P. // *Tetrahedron Lett.* 1979. V. 41. P. 3981-3982.
21. Eaborn S. // *J. Chem. Soc.* 1952. P. 2846-2849.
22. Collington E. W., Finch H., Smith I. J. // *Tetrahedron Lett.* 1985. V. 26. № 5. С. 681-684.
23. Shackleton C. H. L., Mattox V. R., Honour J. W. // *J. Steroid Biochem.* 1983. V. 19. P. 209-217.
24. Jaakomaki P. I., Yarger K. A., Horning E. S. // *Biochim. et biophys. acta.* 1967. V. 167. P. 216-219.
25. Shackleton C. H. L. // *Steroids.* 1981. V. 38. P. 485-494.
26. Gaskell S. I., Pike A. W., Griffiths K. // *Steroids.* 1980. V. 36. P. 219-223.
27. Corey E. J., Cho H., Hua D. H. // *Tetrahedron Lett.* 1981. V. 22. P. 3455-3458.
28. Коренчук Е. Н., Голубовская Л. Е., Пивницкий К. К. // *Журн. общ. химии.* 1985. Т. 55. № 9. С. 2150-2151.
29. Васильева Л. Л., Пивницкий К. К. // *Высокоэффективная флэш-хроматография.* М., 1986. Рукопись деп. в ВИНТИ 2.IX.1986, № 6390-В.86.
30. Физер Л., Физер М. Реагенты для органического синтеза. Т. 1. Пер. с англ. М.: Мир, 1971. С. 176.
31. Суворов Н. Н., Ярославцева З. А. // *Журн. общ. химии.* 1961. Т. 31. № 4. С. 1372-1378.
32. Kirk D. N., Mudd A. // *J. Chem. Soc. C.* 1969. № 6. P. 968-974.
33. Голубовская Л. Е., Пивницкий К. К. // *Биоорг. химия.* 1986. Т. 12. № 10. С. 1379-1383.

Поступила в редакцию  
11.III.1987

### SYNTHESIS OF THE PENTADEUTEROPREGNANEDIOL GLUCURONIDE

GOLUBOVSKAYA L. E., PIVNITSKY K. K.

*Institute of Experimental Endocrinology and Hormone Chemistry,  
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

The synthesis of 2,2,3,4,4-pentadeuteropregnanediol glucuronide sodium salt, an isotopically substituted analogue of the main progesterone metabolite, have been accomplished. The starting 5 $\beta$ -pregnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol bis-*tert*-butyldimethylsilyl ether was converted by consecutive selective desilylation and oxidation into 5 $\beta$ -pregnane-20 $\alpha$ -ol-3-one 20-monoether. The latter's  $\alpha$ -hydrogen atoms were exchanged for deuteriums by treatment with D<sub>2</sub>O - MeOD mixture catalysed with sodium carbonate, and 2,2,4,4-tetra-deuterated 3-ketone formed was reduced by sodium borodeuteride into 2,2,3,4,4-penta-deuterated pregnanediol 20-silyl ether. The ether was glucuronidated under Koenigs - Knorr method with (2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosylbromide)uronate in the presence of Ag<sub>2</sub>O. The completely protected pentadeuterated pregnanediol glucuronide resulted was converted into the above mentioned sodium salt by consecutive hydrofluoric acid hydrolysis and treatment with aqueous sodium bicarbonate solution.