



УДК 612.391.81.35

## СИНТЕЗ $3\beta$ -(2-ГИДРОКСИЭТОКСИ)- $5\alpha$ -ХОЛЕСТ-8(14)-ЕН-15-ОНА И $3\beta$ -(2-ГИДРОКСИ-2- $[^3\text{H}]$ ЭТОКСИ)- $5\alpha$ -ХОЛЕСТ-8(14)-ЕН-15-ОНА

© 1996 г. А. Ю. Мишарин<sup>#</sup>, А. Я. Штейншнейдер

Институт экспериментальной кардиологии, КНЦ РАМН, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15а

Поступила в редакцию 05.12.95 г.

$3\beta$ -(2-Гидроксиэтоксиг)- $5\alpha$ -холест-8(14)-ен-15-он, новый ингибитор биосинтеза холестерина, синтезирован из  $3\beta$ -гидрокси- $5\alpha$ -холеста-7,14-диена по схеме, включающей О-алкилирование исходного трифенилметоксиэтилтозилатом, избирательное  $\alpha$ -эпоксицирование 14,15-двойной связи и перегруппировку полученного эпоксида в целевой продукт в кислой среде.  $3\beta$ -(2-Гидрокси-2- $[^3\text{H}]$ этоксиг)- $5\alpha$ -холест-8(14)-ен-15-он получен алкилированием  $3\beta$ -гидрокси- $5\alpha$ -холеста-7,14-диена 1-О-тозил-2,3-изопропилиден-(*R*)-глицерином, удалением изопропилиденовой группы с последующим периодатным окислением образующегося диола, восстановлением полученного альдегида натрийбор $[^3\text{H}]$ гидридом, 14,15 $\alpha$ -эпоксицированием  $3\beta$ -(2-гидрокси-2- $[^3\text{H}]$ этоксиг)- $5\alpha$ -холеста-7,14-диена и последующей обработкой эпоксида кислотой с образованием  $^3\text{H}$ -содержащего кетостерола.

**Ключевые слова:** оксистеролы, ингибиторы биосинтеза холестерина.

В предыдущих сообщениях [1, 2] мы показали, что  $3\beta$ -(2-гидроксиэтоксиг)-производные холестерина и продуктов его автоокисления ингибируют биосинтез холестерина в культуре гепатоцитов. В настоящей работе синтезированы  $3\beta$ -(2-гидроксиэтоксиг)- $5\alpha$ -холест-8(14)-ен-15-он (Ia), а также его  $[^3\text{H}]$ производное (Iб). Соединения (Ia) и (Iб) являются структурными аналогами  $3\beta$ -гидрокси- $5\alpha$ -холест-8(14)-ен-15-она (Iв), эффективного регулятора метаболизма холестерина *in vivo* и *in vitro* [3–5]. Кетостерол (Iв) ингибирует активность 3-гидрокси-3-метилглутарил-СоА-редуктазы (КФ 1.1.1.34), цитозольной ацетоацетил-СоА-тиолазы (КФ 2.3.1.9), 3-гидрокси-3-метилглутарил-СоА-синтазы (КФ 4.1.3.5) в культуре клеток, является конкурентным субстратом ацил-СоА:холестерин-ацилтрансферазы (КФ 2.3.1.43) в микросомах печени и кишечника, ингибирует всасывание холестерина в кишечнике [4–8]. Показано, что кетостерин (Iв) обладает сильной гипохолестеринемической и антиатерогенной активностью [9, 10].

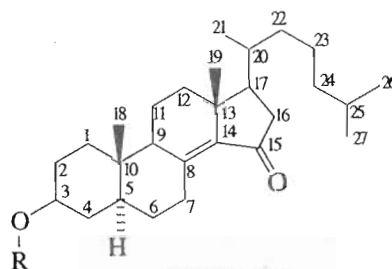
Кетостероид (Ia) был получен нами ранее из  $3\beta$ -(2-гидроксиэтоксиг)холест-5-ена по схеме [3,4], разработанной для превращения холестерина в кетостерин (Iв) (не опубликовано), однако указанный синтетический путь неудовлетворителен вследствие низкого выхода и сложности выделения промежуточного  $3\beta$ -(2-*n*-метилбензоилоксиэтоксиг)холеста-5,7-диена.

Ниже описан синтез кетостероида (Ia) (схема). Этот путь оказался также приемлемым для синтеза  $^3\text{H}$ -меченого стероида (Iб), необходимого для исследования метаболизма 15-кетостероидов в культуре клеток [11].

<sup>#</sup> Автор для переписки.

$3\beta$ -Бензоилокси- $5\alpha$ -холеста-7,14-диен (II), полученный изомеризацией бензоата 7-дегидрохолестерина по методу [12], был выбран в качестве исходного соединения.

Ключевой стадией в данном синтезе является О-алкилирование стерина (III). Попытки использования в качестве алкилирующих агентов производных галогенуксусных кислот в присутствии оснований были неудовлетворительными, так же как и альтернативный подход [13] – реакция О-триметилсилильного производного диена (III) с бромуксусным эфиром. Реакция стерина (III) с тозилатами (трифенилметоксиэтилтозилатом или 1-тозил-2,3-изопропилиден-(*R*)-глицерином) в присутствии гидрида натрия или диметилнатрия сопровождалась быстрым восстановлением тозилокси-группы. Лучший результат с теми же тозилатами был получен в условиях реакции Вильямсона (кипячение в ксилоле в течение 6–8 ч в присутствии металлического натрия). Тритилированное производное (IV) было выделено с выходом 60%,

(Ia) R = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH(Iб) R = CH<sub>2</sub>C $[^3\text{H}]$ НОН

(Iв) R = H

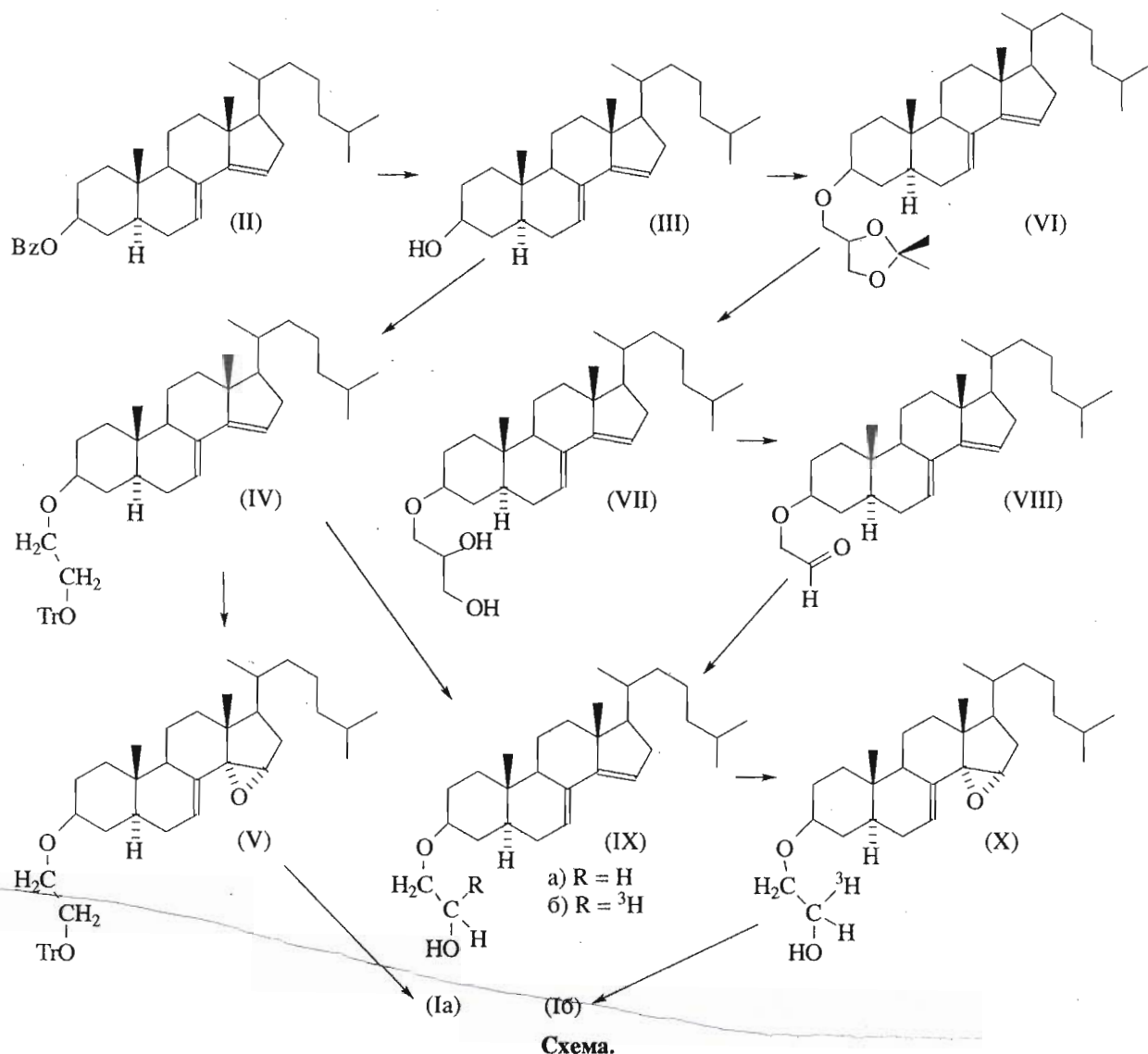


Схема.

выход продукта (VI) составлял 28%. Низкий выход продукта был обусловлен термическим разложением 1-тозил-2,3-изопропилиден-(*R*)-глицерина и образованием продуктов, нерастворимых в ксилоле и пассивирующих поверхность натрия.

7,14-Диеновый фрагмент в соединениях (IV) и (VI) был устойчив в условиях удаления кислотолабильных защитных групп, на что указывает присутствие в спектрах ЯМР соединений (VII) и (IXa) мультиплетов при 5.50 и 5.75 м. д. (H-15 и H-7 в стеринных 7,14-диенах). Изопропилиденную группу удаляли 0.1 М HCl в водном диоксане, тритильную – в смеси трифторуксусной кислоты и бутанола. Альдегид (VIII), полученный периодатным окислением глицеринового производного (VII), восстанавливали натрийбор[<sup>3</sup>H]гидридом в смеси метанола и диоксана. 3β-(2-Гидрокси-2-[<sup>3</sup>H]этокси)-5α-холеста-7,14-диен (IXб), охарактеризованный <sup>1</sup>H-ЯМР-спектром, был идентичен

стероиду (IXa), полученному детритилированием соединения (IV).

Избирательное стереоспецифическое α-эпоксицирование 14,15-двойной связи в 5α-стеринах под действием *m*-хлорнадбензойной кислоты в присутствии сухого бикарбоната натрия было описано ранее для 3-ацилпроизводных [4, 14]. Эпоксицирование диенов (IV) и (IXб) в тех же условиях приводило к 14,15-эпоксипроизводным (V) и (X) без заметных побочных реакций. Превращение эпоксидов (V) и (X) в соответствующие 8(14)-ненасыщенные 15-кетоны (Ia) и (Iб) проводилось кипячением в водно-метанольном растворе соляной кислоты, что в случае тритилсодержащего эпоксида (V) сопровождалось отщеплением защитной группы.

Отнесение сигналов в спектрах <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР соединения (Ia) приведено в таблице. Гомогенность меченного тритием соединения (Iб) составляла не менее 96% по данным ВЭЖХ и ТСХ.

Таблица. Химические сдвиги <sup>13</sup>C-, <sup>1</sup>H-ЯМР соединения (Ia)

Атом	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H	
1	35.932	1.20	1.72
2	29.326	1.38	1.85
3	78.658	3.31	
4	37.119	1.28	1.68
5	44.265	1.41	
6	28.126	1.34	1.48
7	27.668	1.58	4.26
8	150.291	—	
9	51.087	1.86	
10	39.074	—	
11	19.659	1.53	1.65
12	39.607	1.25	2.11
13	51.087	—	
14	39.074	—	
15	207.780	—	
16	42.431	2.06	2.33
17	51.046	1.46	
18	18.823	0.996	
19	12.904	0.700	
20	34.557	1.57	
21	19.309	0.998	
22	34.584	1.08	1.33
23	32.663	1.18	1.33
24	39.451	1.11	1.15
25	27.991	1.51	
26	22.507	0.849	
27	22.706	0.849	
28*	69.018	3.37	3.42
29*	62.183	3.55	3.59

\* C-28 и C-29 – атомы в 2-гидроксиэтоксифрагменте.

Синтезированный в данной работе 3β-(2-гидроксиэтокси)-5α-холест-8(14)-ен-15-он (Ia) ингибировал биосинтез холестерина в первичной культуре гепатоцитов кролика, причем с активностью, превосходящей активность известного ингибитора (Iв) (значения ID<sub>50</sub> составляли 1.7 × 10<sup>-6</sup> и 5.0 × 10<sup>-6</sup> М соответственно [15]). Известные ранее 3-замещенные производные стерина (Iв) обладали незначительным ингибирующим эффектом или были неактивными [16, 17]. Мы полагаем, что 3β-(2-гидроксиэтокси)стерины, в частности соединения (Ia), могут оказывать перспективными регуляторами метаболизма холестерина.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

<sup>1</sup>H-ЯМР-спектры регистрировали на приборе WM 500 фирмы Bruker (приведены значения хим. сдвигов (δ, м. д.) и констант КССВ (J, Гц)); <sup>13</sup>C-ЯМР-спектры – на приборе СХР 200 (Bruker) в дейтерохлороформе. УФ-спектры записаны на приборе Yanaco UO 2000 в этаноле. ТСХ проводили на пластинках Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) и на тех же

пластинках, предварительно обработанных 2% раствором AgNO<sub>3</sub> в ацетонитриле и активированных в течение 40 мин при 100°C. Используемые системы растворителей: гексан–толуол (1 : 1), гексан–этилацетат (7 : 3 и 9 : 1), гексан–ацетон (9 : 1, 4 : 1 и 3 : 1), толуол–этилацетат (9 : 1). Вещества обнаруживали в УФ-свете (фильтр 254 нм), а также с использованием проявляющих реагентов: 5% раствора треххлористой сурьмы в сухом хлороформе или 5% раствора молибдата аммония в 10% серной кислоте. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 (Chemapol), ВЭЖХ – на приборе Du Pont 8800 со спектрофотометрическим детектированием при 210 и 240 нм на колонке Octadecyl Si (4.6 мм × 25 см, 5 мкм, Serva) в изократическом режиме с использованием в качестве элюента смеси MeOH–H<sub>2</sub>O (96:4). Me<sub>3</sub>Si-производное соединения (Ia) получали обработкой 0.5 мг образца N,N-бис(триметилсилил)трифторацетамидом, содержащим 1% триметилхлорсилана, в ацетонитриле. ГХ-МС-анализ проводили на приборе АЕI, снабженном колонкой (0.32 мм × 6.0 м, 0.3 мкм) DB5 при 295°C.

**3 $\beta$ -Бензоилоксихолестадиен-5,7** был получен по методу [18], **1-тозил-2,3-изопропилиден-(R)-глицерин** – по методу [19].

**Трифенилметоксиэтилтозилат.** Тритилхлорид (27.9 г, 0.1 моль) растворяли в 100 мл сухого пиридина, прибавляли этиленгликоль (40.5 мл, 0.6 моль) и перемешивали 14 ч, прибавляли 300 мл толуола, фильтровали, фильтрат промывали водой (4  $\times$  100 мл), сушили, упаривали и остаток наносили на колонку (4.5  $\times$  60 см) с силикагелем, уравновешенным смесью гексан–этилацетат (9 : 1). Примеси трифенилкарбинола и 1,2-бистритилового эфира этиленгликоля смывали той же смесью. Моноэтилэфир этиленгликоля элюировали смесью гексан–этилацетат (3 : 1). Элюаты упаривали, высушивали с добавлением сухого пиридина, остаток растворяли в 100 мл сухого пиридина, охлаждали на ледяной бане, затем прибавляли раствор тозилхлорида (19.1 г, 0.1 моль) в 50 мл сухого пиридина, смесь перемешивали 2 ч при охлаждении, затем 14 ч при комнатной температуре, выливали в смесь 300 г льда и 300 мл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивали 3 ч, экстрагировали толуолом (3  $\times$  200 мл), экстракт промывали водой (5  $\times$  50 мл), сушили, упаривали, остаток дважды перекристаллизовывали из смеси гексан–этилацетат (3 : 1). Выделено 22.3 г (48 ммоль, 48% в расчете на исходный тритилхлорид) белых кристаллов трифенилметоксиэтилтозилата с т. пл. 152°C.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 2.46 (с, 3H); 3.28 (м, 2H); 4.14 (м, 2H); 7.20–7.37 (м, 17H); 7.94 (д, 2H).

**3 $\beta$ -Бензоилокси-5 $\alpha$ -холеста-7,14-диен (II)** [12]. Охлажденные 6 М растворы ацетилацетата и абс. метанола в сухом хлороформе смешивали при температуре ниже 0°C, затем раствор перемешивали 1 ч при –5–0°C и снова охлаждали. К охлажденному до –30°C раствору при перемешивании прибавляли 9.8 г (20 ммоль) 3 $\beta$ -бензоилоксихолеста-5,7-диена, смесь перемешивали 45 мин при –30°C. Реакционную смесь охлаждали до –70°C и выливали при перемешивании в смесь 150 мл хлороформа, 30 мл пиридина и 100 г колотого льда, перемешивали 1 ч, водный слой дважды экстрагировали равным объемом хлороформа, объединенный хлороформный экстракт промывали насыщенным раствором хлористого натрия, упаривали до ~20% первоначального объема и выливали в 250 мл кипящего ацетона. После охлаждения полученный белый осадок представлял собой смесь диенов, в котором содержание диена (II) составляло 76%. Продукт растворяли в 50 мл диоксана, добавляли 0.1 мл конц.  $\text{HCl}$ , выдерживали 14 ч при комнатной температуре, нейтрализовали  $\text{NaHCO}_3$  и дважды перекристаллизовали из смеси хлороформ–ацетон (7 : 10). Белые иглы с т.пл. 153–156°C. Содержание стерина (II) в полученном препарате 94% по данным  $^1\text{H}$ -ЯМР. Выход 6.0 г (62%). Аналитический образец с т. пл. 156–157°C (ацетон–хлороформ) получен по [12].

**3 $\beta$ -Гидрокси-5 $\alpha$ -холеста-7,14-диен (III).** К раствору 4.9 г (10 ммоль) бензоата (II) в 40 мл диоксана прибавляли 10 мл метанола и 10 мл 6 М водного раствора  $\text{NaOH}$ , смесь перемешивали 14 ч, нейтрализовали 1 М  $\text{HCl}$ , добавляли 50 мл хлороформа, водный слой экстрагировали хлороформом (2  $\times$  50 мл), экстракт упаривали, остаток перекристаллизовали из метанола при –20°C. Т. пл. 113°C (MeOH). Выход 3.1 г (8.1 ммоль, 81%). УФ-спектр:  $\lambda_{\text{max}}$  249 (ε 8200, в этаноле).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.78 (с, 3H, 18- $\text{CH}_3$ ); 0.82 (с, 3H, 19- $\text{CH}_3$ ); 0.87 (д, J 6.6,  $\text{CH}_3\text{C}-25$ ); 0.88 (д, J 6.6,  $\text{CH}_3\text{C}-25$ ); 0.92 (д, J 6.6, 21- $\text{CH}_3$ ); 3.61 (м, 1H, H-3); 5.48 (м, 1H, H-15); 5.75 (м, 1H, H-7).

**3 $\beta$ -(2-Трифенилметокси)-5 $\alpha$ -холеста-7,14-диен (IV).** Стерин (III) (3.84 г, 10 ммоль) сушили упариванием с сухим ксилолом, растворяли в 15 мл сухого ксилола, к раствору прибавляли 0.35 г (15 мг-атом) металлического натрия, смесь кипятит 1 ч, затем прибавляли трифенилметоксиэтилтозилат (6.87 г, 15 ммоль) и смесь продолжали кипятить 8 ч, добавляя каждый час по 0.1 г металлического натрия. После охлаждения непрореагировавший натрий разлагали 10 мл MeOH, к смеси прибавляли 50 мл бензола и 20 мл воды, водный слой экстрагировали бензолом (2  $\times$  50 мл), бензольный экстракт сушили, концентрировали в вакууме и наносили на колонку (2  $\times$  40 см) с силикагелем, уравновешенным смесью гексан–бензол (5 : 1). Колонку промывали 250 мл той же смеси растворителей, тритилсодержащий стерин элюировали смесью гексан–бензол (1 : 1). После упаривания продукт (IV) (4.0 г, 6.0 ммоль, 60%) был выделен в виде бесцветной стеклообразной пленки.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.78 (с, 3H, 18- $\text{CH}_3$ ); 0.82 (с, 3H, 19- $\text{CH}_3$ ); 0.87 (д, J 6.6,  $\text{CH}_3\text{C}-25$ ); 0.88 (д, J 6.6,  $\text{CH}_3\text{C}-25$ ); 0.92 (д, J 6.6, 21- $\text{CH}_3$ ); 3.22 (т, 2H, J 6.5,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 3.30 (м, 1H, H-3); 3.67 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 5.51 (м, 1H, H-15); 5.75 (м, 1H, H-7); 7.18–7.50 (м, 15H, тритил).

**3 $\beta$ -(2-Гидроксиэтокси)-5 $\alpha$ -холест-8(14)-ен-15-он (Ia).** К раствору тритилированного диена (IV) (0.80 г, 1.2 ммоль) в 50 мл абс. эфира прибавляли 1.50 г сухого  $\text{NaHCO}_3$ , затем при перемешивании и охлаждении до 0°C вносили *m*-хлорнадбензойную кислоту (0.34 г, 2.0 ммоль), смесь перемешивали при комнатной температуре 40 мин, затем добавляли 10 мл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$ , 10 мл насыщенного раствора  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , 5 мл воды, смесь перемешивали 10 мин, эфирный слой промывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (20 мл), водный слой экстрагировали хлористым метилом (2  $\times$  20 мл), объединенный экстракт сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , упаривали. Остаток, содержащий эпоксид (V) ( $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 5.69 (м, H-7); 3.69 (м, H-15)), без дальнейшей очистки растворяли в 15 мл 90% водного MeOH, добавляли 1.5 мл конц.  $\text{HCl}$ , кипятили 15 мин, нейтрализовали сухим  $\text{NaHCO}_3$ ,

прибавляли 30 мл хлороформа, экстракт сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали и наносили на колонку (2.0  $\times$  40 см) с силикагелем, уравновешенной смесью гексан-этилацетат (9 : 1), промывали той же смесью растворителей (200 мл), продукт элюировали смесью гексан-этилацетат (2 : 1). Полученный после упаривания остаток дважды перекристаллизовали из 50% водного этанола. Т. пл. 92°C. Выход 0.25 г (0.58 ммоль, 48% в расчете на диен (IV)). Найдено, %: С 78.54; Н 11.00. Вычислено для  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_3$ , %: С 78.38; Н 10.81. МС  $\text{Me}_3\text{Si}$ -производного,  $m/z$  ( $I$ , %): 516 (100),  $M^+$ ; 501 (6),  $(M - \text{CH}_3)^+$ ; 403 (7),  $(M - \text{фрагмент C-20-C-27})$ ; 382 (31),  $(M - \text{Me}_3\text{Si-OCH}_2\text{CH}_2\text{OH})^+$ ; 367 (35),  $(M - \text{Me}_3\text{Si-OCH}_2\text{CH}_2\text{OH} - \text{CH}_3)^+$ . УФ-спектр:  $\lambda_{\text{max}}$  258 ( $\epsilon$  13500, в этаноле). Данные спектров  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР см. в таблице.

**3 $\beta$ -(2,3-Изопропилиден-(*R*)-глицерил)-5 $\alpha$ -холеста-7,14-диен (VI).** Стерин (III) (100 мг, 0.26 ммоль) сушили упариванием с сухим ксилолом, растворяли в 3 мл сухого ксилола, прибавляли раствор 200 мг 1-тозил-2,3-изопропилиден-(*R*)-глицерина в 2 мл сухого ксилола и 50 мг металлического натрия, смесь кипятили 6 ч, внося каждый час по 10 мг металлического натрия и 50 мг 1-тозил-2,3-изопропилиден-(*R*)-глицерина. После охлаждения непрореагировавший натрий разлагали 2 мл  $\text{MeOH}$ , смесь разбавляли 15 мл бензола, промывали насыщенным раствором хлористого натрия, сушили, упаривали и наносили на колонку (1.5  $\times$  20 см) с силикагелем, уравновешенным бензолом. Колонку промывали бензолом, продукт элюировали смесью бензол-этилацетат (7 : 1) и очищали препаративной ТСХ в системе гексан-ацетон (9 : 1). Зону, имеющую значение  $R_f$  0.42, экстрагировали смесью бензол-этилацетат (1 : 1), экстракт упаривали, продукт сушили в вакууме. Выход 36 мг (28%). УФ-спектр:  $\lambda_{\text{max}}$  249 нм (в этаноле).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.78 (с, 3H, 18- $\text{CH}_3$ ); 0.82 (с, 3H, 19- $\text{CH}_3$ ); 0.87 (д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{C-25}$ ); 0.88 (д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{C-25}$ ); 0.91 (д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{-21}$ ); 1.33 (с, 3H, изопронилиден); 1.37 (с, 3H, изопронилиден); 3.25 (м, 1H, H-3); 3.45 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 3.57 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 4.22 (м, H, CH глицерина); 5.49 (м, 1H, H-15); 5.75 (м, 1H, H-7).

**3 $\beta$ -(2,3-Дигидрокси-2-(*R*)-пропилокси)холеста-7,14-диен (VII).** К раствору 20 мг изопронилиденового производного (VI) в 1.35 мл 90% водного диоксана прибавляли 0.15 мл 1 М водной  $\text{HCl}$ , смесь перемешивали 14 ч при комнатной температуре, упаривали, продукт выделяли препаративной ТСХ в системе гексан-ацетон (3 : 1). Зону, имеющую значение  $R_f$  0.23, экстрагировали ацетоном, растворитель упаривали, продукт сушили в вакууме. Выход 15 мг (83%). УФ-спектр:  $\lambda_{\text{max}}$  249 (в этаноле).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.78 (с, 3H, 18- $\text{CH}_3$ ); 0.82 (с, 3H, 19- $\text{CH}_3$ ); 0.86 (д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{C-25}$ ); 0.87

(д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{C-25}$ ); 0.89 (д,  $J$  6.6, 21- $\text{CH}_3$ ); 3.26 (м, 1H, H-3); 3.55-3.75 (м, 4H,  $\text{CH}_2$  глицерина); 4.20 (м, 1H, CH глицерина); 5.50 (м, 1H, H-15); 5.75 (м, 1H, H-7).

**3 $\beta$ -(2-Оксэтоксид)-5 $\alpha$ -холеста-7,14-диен (VIII).** К раствору 100 мг  $\text{NaIO}_4$  в 1 мл воды при перемешивании прибавляли раствор 15 мг глицеринового производного (VII) в 3 мл диоксана, затем 0.5 мл воды и 0.5 мл диоксана, смесь перемешивали 10 мин, прибавляли 5 мл хлористого метилена, водный слой промывали хлористым метиленом (3  $\times$  3 мл), экстракты сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , упаривали, продукт выделяли ТСХ в системе гексан-ацетон (5 : 1). Зону, имеющую значение  $R_f$  0.62, дающую положительную пробу с 2,4-динитрофенилгидразином, элюировали смесью гексан-ацетон (1 : 1), упаривали, продукт сушили в вакууме. Выход 9 мг (63%).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.77 (с, 3H, 18- $\text{CH}_3$ ); 0.82 (с, 3H, 19- $\text{CH}_3$ ); 0.86 (д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{C-25}$ ); 0.87 (д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{C-25}$ ); 0.92 (д,  $J$  6.6, 21- $\text{CH}_3$ ); 3.30 (м, 1H, H-3); 3.90 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CH=O}$ ); 5.50 (м, 1H, H-15); 5.75 (м, 1H, H-7); 8.11 (м, 1H,  $\text{HC=O}$ ).

**3 $\beta$ -(2-Гидроксиэтоксид)-5 $\alpha$ -холеста-7,14-диен (IXa).** К раствору 100 мг (0.15 ммоль) тритильного производного (IV) в 4 мл бутанола прибавляли 1 мл трифторуксусной кислоты, смесь выдерживали 4 ч при комнатной температуре, упаривали досуха, продукт выделяли препаративной ТСХ в системе толуол-ацетон (10 : 1) и кристаллизовали из метанола. Т. пл. 108°C ( $\text{MeOH}$ ). Выход 56 мг (0.13 ммоль, 88%). УФ-спектр: 249 ( $\epsilon$  8000, в этаноле).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.78 (с, 3H, 18- $\text{CH}_3$ ); 0.82 (с, 3H, 19- $\text{CH}_3$ ); 0.86 (д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{C-25}$ ); 0.88 (д,  $J$  6.6,  $\text{CH}_3\text{C-25}$ ); 0.92 (д,  $J$  6.6, 21- $\text{CH}_3$ ); 3.27 (м, 1H, H-3); 3.59 (дд, 2H,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 3.71 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 5.50 (м, 1H, H-15); 5.75 (м, 1H, H-7).

**3 $\beta$ -(2-Гидрокси-2-[ $^3\text{H}$ ])этоксид)-5 $\alpha$ -холест-7,14-диен (IXб).** К раствору 6 мг альдегида (VIII) в 250 мкл диоксана прибавляли 250 мкл метанола и  $\text{NaB}[^3\text{H}]_4$  (100 мКи), смесь перемешивали 10 мин, затем добавляли 2 мг  $\text{NaNH}_4$ , перемешивали 10 мин, добавляли 100 мкл ацетона, упаривали досуха, остаток растворяли в 3 мл хлористого метилена, раствор промывали 1 мл воды, упаривали и продукт выделяли ТСХ в системе толуол-ацетон (10 : 1). УФ- и  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектры - см. соединение (IXa). Выход 5 мг (80%). Активность препарата составляла 540 мКи/мг.

**3 $\beta$ -(2-Гидрокси-2-[ $^3\text{H}$ ])этоксид)-5 $\alpha$ -холест-8(14)-ен-15-он (Iб).** К раствору диена (IXб) (1.0 мКи) в 1.50 мл абс. эфира прибавляли 15 мг сухого  $\text{NaHCO}_3$ , затем при перемешивании и охлаждении до 0°C вносили *m*-хлорнадбензойную кислоту (3.4 мг) в 0.5 мл абс. эфира, смесь перемешивали при комнатной температуре 40 мин, затем добавляли 1 мл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$ , 1 мл

воды, перемешивали 10 мин, эфирный слой промывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (2 мл), водный слой экстрагировали хлористым метиленом ( $2 \times 2$  мл), объединенный экстракт упаривали. К остатку добавляли 1.5 мл смеси 90% водного  $\text{MeOH}$  и 0.15 мл конц.  $\text{HCl}$ , кипятили 15 мин, нейтрализовали сухим  $\text{NaHCO}_3$ , добавляли 3 мл хлороформа, экстракт концентрировали и подвергли препаративной ТСХ в системе гексан-ацетон (7 : 3), дважды проявляя хроматограмму. Радиоактивную зону, соответствующую по подвижности кетостероиду (Ia) ( $R_f$  0.22), элюировали и повторно хроматографировали на пластинке в системе гексан-этилацетат (7 : 3). Гомогенность радиоактивного продукта составляла не менее 96% по данным ТСХ и ВЭЖХ. Выход кетостероида (Ib) составлял 0.38 мКи (38%).

Авторы благодарны С.В. Витту (ИПВ РАН) за выполнение ГХ-МС-анализа и участие в обсуждении результатов, Российскому фонду фундаментальных исследований (проект № 95-04-12165) и Национальной программе "Атеросклероз" (проект № 221) за финансовую поддержку.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Малюгин А.В., Новиков Д.К., Косых В.А., Косенков Е.В., Медведева Н.В., Валентинова Н.В., Штейншнейдер А.Я., Мишарин А.Ю. // Биоорганическая химия. 1996. Т. 22. С. 541–547.
2. Малюгин А.В., Штейншнейдер А.Я., Косых В.А., Алки К., Лафонт Ю., Мишарин А.Ю. // Биоорганическая химия. 1996. Т. 22. С. 606–610.
3. Schroepfer G.J., Parish E.J., Chen H.W., Kandutsch A.A. // J. Biol. Chem. 1977. V. 252. P. 8975–8980.
4. Wilson W.K., Wang K.-S., Kisic A., Schroepfer G.J. // Chem. Phys. Lipids. 1988. V. 48. P. 7–17.
5. Pinkerton F.D., Izumi A., Anderson C.M., Miller L.R., Kisic A., Schroepfer G.J. // J. Biol. Chem. 1982. V. 257. P. 1929–1936.
6. Miller L.R., Pinkerton F.D., Schroepfer G.J. // Biochem. Int. 1980. V. 1. P. 223–228.
7. Miller L.R., Needleman D.H., Brabson J.S., Wang K.-S., Schroepfer G.J. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987. V. 148. P. 934–940.
8. Schroepfer G.J., Christophe A., Needleman D.H., Kisic A., Sherrill B.C. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987. V. 146. P. 1003–1008.
9. Schroepfer G.J., Monger C., Taylor A.S., Chamberlain J.S., Parish E.J., Kisic A., Kandutsch A.A. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1977. V. 78. P. 1227–1233.
10. Schroepfer G.J., Sherrill B.S., Wang K.-S., Wilson W.K., Kisic A., Clarkson T.B. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1982. V. 81. P. 6861–6865.
11. Misharin A.Yu., Alquier C., Steinschneider A.Ya., Malugin A.V., Lafont H. // Med. Chem. Res. 1995. V. 5. P. 409–416.
12. Беликов О.Е., Штейншнейдер А.Я., Мишарин А.Ю. // Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. С. 1127–1130.
13. Edwards L.H., Turner C.E., Lane C.E., Thames S.E. // Tetrahedron Lett. 1969. P. 4225–4229.
14. Parish E.J., Spike T.E., Schroepfer G.J. // Chem. Phys. Lipids. 1977. V. 18. P. 233–239.
15. Misharin A.Yu., Malugin A.V., Steinschneider A.Ya., Kosykh V.A., Novikov D.K. // Med. Chem. Res. 1993. V. 3. P. 451–458.
16. Schroepfer G.J., Parish E.J., Kandutsch A.A. // Chem. Phys. Lipids. 1979. V. 25. P. 265–269.
17. Schroepfer G.J., Parish E.J., Kandutsch A.A. // Biochem. Int. 1982. V. 4. P. 263–269.
18. Hunziker F., Mullner F.X. // Helv. Chim. Acta. 1958. V. 41. P. 70–76.
19. Baer E., Fisher H.O.L. // J. Am. Chem. Soc. 1948. V. 70. P. 609–616.

## The Synthesis of $3\beta$ -(2-Hydroxyethoxy)- $5\alpha$ -cholest-8(14)-en-15-one and $3\beta$ -(2-Hydroxy-2- $^3\text{H}$ ethoxy)- $5\beta$ -cholest-8(14)-en-15-one

A. Yu. Misharin and A. Ya. Shteinshneider

Cardiological Scientific Center, Institute of Experimental Cardiology, Russian Academy of Medical Sciences, Tret'ya Cherepkovskaya ul. 15a, Moscow, 121552 Russia

**Abstract**— $3\beta$ -(2-Hydroxyethoxy)- $5\alpha$ -cholest-8(14)-en-15-one, a novel inhibitor of cholesterol biosynthesis, was synthesized by a scheme involving *O*-alkylation of the starting  $3\beta$ -hydroxy- $5\alpha$ -cholesta-7,14-diene with triphenylmethoxyethyl toluenesulphonate, selective  $\alpha$ -epoxidation of 14,15-double bond, and the rearrangement of the epoxide obtained into the target product in an acidic medium. The alkylation of the  $3\beta$ -hydroxy- $5\alpha$ -cholesta-7,14-diene with 1-*O*-tosyl-2,3-isopropylidene-*sn*-glycerol, the protective isopropylidene group removal, the periodate oxidation of the diol formed, the reduction of the intermediate aldehyde with sodium borohydride, 14,15 $\alpha$ -epoxidation of the  $3\beta$ -(2-hydroxy-2- $^3\text{H}$ ethoxy)- $5\alpha$ -cholesta-7,14-diene obtained, and an acidic treatment of the intermediate epoxide yielded the desired  $3\beta$ -(2-hydroxy-2- $^3\text{H}$ ethoxy)- $5\alpha$ -cholest-8(14)-en-15-one.

**Key words:** hydroxysterols, inhibitors of cholesterol biosynthesis.