



УДК 612.391.81.35

СИНТЕЗ β -ЗАМЕЩЕННЫХ АНАЛОГОВ 15-КЕТОСТЕРИНА

© 1998 г. А. Ю. Мишарин[#], Н. А. Шаталов

Институт экспериментальной кардиологии. РКНПК, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15А

Поступила в редакцию 28.04.98 г. Принята к печати 06.07.98 г.

Синтезированы β -(2-пропенилокси)-, β -[2(*R,S*)-2,3-оксидопропилокси]-, β -[2(*R,S*)-2,3-дигидрокси-пропилокси]-, β -(2-оксоэтоксид)-, β -[2(*R,S*)-2-ацетокси-3-ацетамидопропилокси]-, β -[2(*R,S*)-2-гидрокси-3-ацетамидопропилокси]-, β -[2(*R,S*)-2-гидрокси-3-(7-нитробензо-2-окса-1,3-диазол-4-иламино)пропилокси]-, β -[2(*R,S*)-2-гидрокси-3-(5-диметиламинонафталинсульфониламино)пропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-оны. β -(2-Пропенилокси)-5 α -холеста-7,14-диен получен реакцией 5 α -холеста-7,14-диен-3 β -ола с аллилбромидом в присутствии *t*-BuOK в смеси DMSO–толуол. Полученный продукт был превращен в β -(2-пропенилокси)-5 α -холест-8(14)-ен-15-он избирательным 14 α ,15 α -эпоксидированием с последующей изомеризацией в кислой среде. Аллильный фрагмент β -(2-пропенилокси)-5 α -холест-8(14)-ен-15-она был окислен *m*-хлорнадбензойной кислотой в кипящем хлороформе и полученный эпоксид превращен в целевые продукты обычными методами без затрагивания стероидного скелета.

Ключевые слова: оксистерин; ингибиторы биосинтеза холестерина.

В предыдущих сообщениях [1–8] мы показали, что β -(2-гидроксиэтоксид)-производные стероидов эффективно влияют на метаболизм холестерина в культуре клеток печени. В частности, β -(2-гидроксиэтоксид)-5 α -холест-8(14)-ен-15-он ингибировал биосинтез холестерина и активность HMG-CoA редуктазы в клетках гепатомы человека Hep G2 [4, 6], а также обладал сродством к оксистеринсвязывающему белку [6], проявлял гипохолестеринимический эффект и снижал уровень аполипопротеина В у мышей при введении с кормом [3, 5]. Это соединение (в отличие от родственного ему β -гидрокси-5 α -холест-8(14)-ен-15-она, так называемого 15-кетостерина [9–11]) превращалось в клетках печени в соответствующий олеат [4, 6], а не в полярные метаболиты.

Основываясь на тривиальном предположении, что для проявления биологической активности существенны как структура стероидного скелета, так и структура заместителя в положении β , мы решили синтезировать серию β -замещенных производных 15-кетостерина и испытать их биологическую активность в культуре клеток печени.

Целью данного сообщения является синтез новых β -замещенных 15-кетостероидов (IV)–(XII) (схема). Соединения (V), (VI), (VIII)–(XII) являются смесью эпимеров относительно единственного

хирального центра в β -заместителе (разделение диастереоизомерных пар в задачу данной работы не входило). Данные по влиянию соединений (IV)–(X) на метаболизм холестерина в клетках гепатомы человека линии Hep G2 будут представлены в отдельном сообщении. Производные кетостероидов (XI) и (XII), содержащие известные флуорофоры, получены для исследований внутриклеточного транспорта и локализации оксистероидов методом флуоресцентной микроскопии.

Ранее [3, 4, 8] нами было описано *O*-алкилирование β -гидрокси-5 α -холеста-7,14-диена (I) тозилатами в кипящем ксилоле в присутствии металлического натрия. Для получения соединений (IV)–(XII) более удобной оказалась схема, включающая синтез и дальнейшие превращения аллилового эфира (II).

Аллиловый эфир (II) был получен обработкой β -гидрокси-5 α -холеста-7,14-диена (I) аллилбромидом в присутствии *t*-BuOK в смеси DMSO–толуол с выходом 78%. Известной изомеризации [12] аллилового эфира (II) в соответствующий метилвиниловый эфир в наших условиях обнаружено не было. Весь последующий синтетический путь основывался на различии в реакционной способности трех двойных связей в молекуле соединения (II).

При обработке соединения (II) MCPBA в присутствии сухого бикарбоната натрия в эфире, хлороформе или хлористом метиле при 0–20°C (в условиях избирательного стереоспецифического α -эпоксидирования 14,15-двойной связи в 5 α -стероидных 7,14-диенах [13]) двойная связь ал-

Сокращения: HMG-CoA – 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А; MCPBA – *meta*-хлорнадбензойная кислота; NBD – 7-нитробензо-2-окса-1,3-диазол-4-ил.

[#] Автор для переписки.

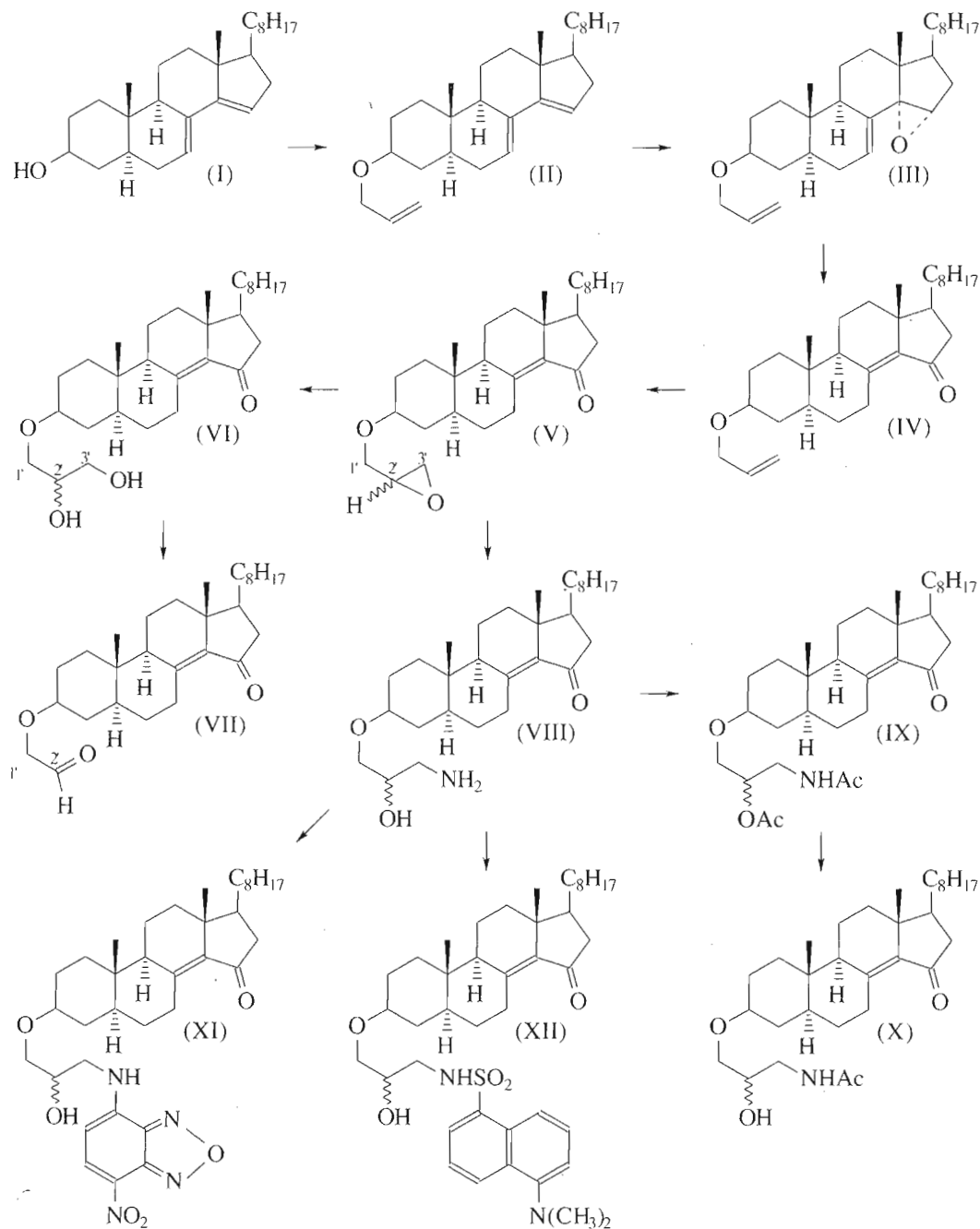


Схема.

лильного фрагмента не подвергалась окислению. Хорошо известная нестойкость стеринových $14\alpha,15\alpha$ -эпоксидов в условиях адсорбционной и обращеннофазной хроматографии препятствовала хроматографической очистке эпоксида (III), а попытки кристаллизации были неудачными. Поэтому сырой аллиловый эфир $14\alpha,15\alpha$ -эпоксида

(III), охарактеризованный ¹H-ЯМР-спектром, без очистки изомеризовали в 8(14)-непредельный 15-кетон (IV) в водно-метанольном растворе HCl. Кристаллический аллиловый эфир кетостерина (IV) был получен с 45% выходом (в расчете на исходный эфир (II)). Получение аллилового эфира (IV) по вышеприведенной схеме оказалось удоб-

нее, чем попытка прямого введения аллилового эфира в 15-кетостерин в стандартных условиях [12], когда после 8 ч кипячения 15-кетостерина с избытком аллилбромид в присутствии NaH в бензоле были выделены аллиловый эфир (IV) (7%) и исходный 15-кетостерин (30%).

Аллиловый эфир (IV) при кипячении в хлороформе в течение 4 ч с избытком МСРВА давал 3 β -[2(*R,S*)-2,3-оксидопропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (V) с выходом 67%. Обработка эпоксида (V) хлорной кислотой в водном THF приводила к образованию дигидроксипропильного производного 15-кетостерина (VI), выделенного с выходом 74%, а та же реакция в водном метаноле (H₂O–MeOH, 1:4, по объему) давала два продукта раскрытия оксиранового цикла: диол (VI) (42%) и 3 β -[2(*R,S*)-2-гидрокси-3-метоксипропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (50%); в спектре ¹H-ЯМР последнего имелись сигналы при 3.665 (с, 3H, OCH₃) и 3.900 (м, 1H, HC–OH) м. д. 3 β -(Оксозтокси)замещенный 15-кетостерин (VII) был получен периодатным окислением диола (VI) в водном метаноле с выходом 83%.

Обработка эпоксида (V) насыщенным метанольным раствором аммиака приводила к аминоксодержащему стерину (VIII), дающему положительную реакцию с нингидрином и охарактеризованному в виде диацетата (IX). Ацетилирование неочищенного продукта (VIII) в обычных условиях дало один основной продукт (выход 84% в расчете на исходный эпоксид (V)), ¹H-ЯМР-спектр которого соответствовал структуре соединения (IX). Щелочной гидролиз *N,O*-диацетата (IX) приводил к образованию *N*-ацетилированного кетостерина (X), не дающего цветной реакции с нингидрином. Для получения флуоресцентномеченных производных (XI) и (XII) неочищенный продукт аммонолиза (VIII) обрабатывали NBD-хлоридом или дансилхлоридом в стандартных условиях [14, 15].

Все полученные соединения были гомогенны по данным ВЭЖХ и ТСХ. Существование каждого из соединений (V), (VI), (VIII)–(XII) в виде смеси стереоизомеров не приводило к хроматографическому разделению диастереомерных пар в используемых условиях и не вызывало раздвоения сигналов протонов метильных групп стеринной части молекулы в спектрах ¹H-ЯМР. Химические сдвиги протонов CH₃-18, CH₃-19, CH₃-21, CH₃-26, CH₃-27, H-7 β , H-7 α , H-16 α и H-16 β различались от соединения к соединению не более чем на 0.03 м. д. (см. Эксперим. часть) и практически совпадали с указанными значениями в спектрах 15-кетостерина [13] и 3 β -(2-гидроксиэтокси)замещенного 15-кетостерина [8]. Химический сдвиг H-3 в соединениях (IV)–(XII) был характерен для 3 β -*O*-алкилированных стеринов [1–8]. Стереохимического отнесения протонов в 3 β -заместителе

для спектров ¹H-ЯМР соединений (V), (VI), (VIII)–(XII) не проводилось.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

¹H-ЯМР-спектры регистрировали на приборе WM 500, Bruker (приведены значения химических сдвигов, δ , м.д. и констант КССВ, *J*, Гц) в дейтерохлороформе, УФ-спектры записаны на приборе Yanaco UO 2000 в этаноле. ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) и на тех же пластинках, предварительно обработанных 2% раствором AgNO₃ в ацетонитриле и активированных 40 мин при 100°C. Обнаружение веществ на хроматограммах проводили в свете ультрафиолетовой лампы (фильтры 254 или 335 нм), а также с использованием проявляющих реагентов: 5% раствора молибдата аммония в 10% серной кислоте или раствора нингидрина в смеси уксусной кислоты и *n*-бутанола (1 : 4 по объему). Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 (Chemapol). Аналитическую ВЭЖХ проводили на приборе Du Pont 8800 со спектрофотометрическим детектированием при 258, 335 или 475 нм на колонке Octadecyl Si-100 (4.6 × 250 мм, 5 мкм, Serva) в изократическом режиме, со скоростью потока 1 мл/мин.

5 α -Холест-8(14)-ен-15-он-3 β -ол (15-кетостерин) синтезирован по методу [13]; 5 α -холеста-7,14-диен-3 β -ол (I) как описано ранее [8].

3 β -(2-Пропенилокси)-5 α -холеста-7,14-диен (II). Стерин (I) (1.92 г, 5.0 ммоль) высушивали упариванием в вакууме с добавлением сухого ксилола, прибавляли 5 мл сухого DMSO, 5 мл сухого толуола, при перемешивании вносили *t*-BuOK (1.00 г, 8.0 ммоль) и нагревали при перемешивании в атмосфере азота до начала кипения толуола и образования устойчивого красно-коричневого вязкого раствора. Раствор при перемешивании охлаждали до 70°C и по каплям прибавляли свежеперегнанный аллилбромид (0.87 мл, 1.21 г, 10 ммоль), перемешивали 5 мин при 70°C, разбавляли 20 мл толуола, добавляли 0.2 мл (2.3 ммоль) аллилбромида, кипятили 5 мин, охлаждали и выливали в 50 мл воды. Органический слой промывали водой (3 × 30 мл), сушили Na₂SO₄, упаривали растворитель. Получили 2.00 г желтого вязкого масла, содержащего, по данным ¹H-ЯМР, не более 15% примесей (выход аллилового эфира (II) 78%). Для получения аналитического образца 200 мг сырого продукта растворяли в 20 мл гексана, раствор кипятили 5 мин с активированным углем, добавляли 1 мл ацетона, фильтровали через Nyflo Supercel, упаривали и хроматографировали на колонке (2.5 × 40 см) с силикагелем в смеси гексан–толуол (2 : 1), контролируя чистоту элюируемых фракций методом ТСХ в системе гексан–толуол (1 : 1). После упаривания растворителя бесцветную затвердевшую пленку (120 мг) пере-

кристаллизовали из MeOH. Чистый аллиловый эфир (II) имел т. пл. 96–98°C. УФ-спектр (λ_{\max} , нм, ϵ) 248 (6000). ^1H -ЯМР-спектр: 0.759 и 0.805 (с, 6H, CH_3 -18 и CH_3 -19), 0.846 (д, 6H, J 6.7, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.904 (д, 3H, J 6.6, CH_3 -21), 3.251 (м, 1H, H-3), 4.000 (м, 2H, CH_2O), 5.129 (м, 1H, = CH_aH), 5.247 (м, 1H, = CH_bH), 5.478 (м, 1H, H-15), 5.738 (м, 1H, H-7), 5.898 (м, 1H, =CH). Найдено, %: C 84.60; H 11.25. $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$. Вычислено, %: C 84.83; H 11.40.

β -[2-Пропенилокси]-14 α ,15 α -оксидо-5 α -холест-7-ен (III). Аллиловый эфир (II) (1.80 г сырого продукта, 3.5 ммоль в расчете на чистый (II)) растворяли в 50 мл эфира, прибавляли 2.0 г мелкорастертого NaHCO_3 , при интенсивном перемешивании охлаждали до 0°C и вносили МСРВА (1.05 г, 5.0 ммоль). Смесь перемешивали без охлаждения 20 мин, прибавляли 10 мл 10% водного раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, перемешивали 10 мин, водный слой экстрагировали эфиром (3 \times 20 мл). Объединенный эфирный экстракт промывали насыщенным раствором NaHCO_3 (2 \times 10 мл) и упаривали растворитель. Выделено 1.80 г эпоксида (III) в виде прозрачной стеклообразной массы, содержащей, по данным ^1H -ЯМР, не более 12% примесей, которую в дальнейшем использовали без дополнительной очистки. ^1H -ЯМР-спектр: 0.690 (с, 3H, CH_3 -19), 0.849 (д, 6H, J 6.6, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.948 (с, 3H, CH_3 -18), 0.970 (д, 3H, J 6.6, CH_3 -21), 3.332 (м, 1H, H-3), 3.665 (с, 1H, H-15), 4.010 (м, 2H, CH_2O), 5.130 (м, 1H, = CH_aH) и 5.270 (м, 1H, = CH_bH), 5.586 (м, 1H, H $_{\beta}$ -7), 5.920 (м, 1H, =CH).

β -[2-Пропенилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (IV). Неочищенный эпоксид (III) (1.40 г, 2.8 ммоль в расчете на чистый (III)) в смеси 40 мл MeOH, 5 мл воды и 5 мл 6*n*. HCl нагревали до кипения и по каплям прибавляли толуол до образования гомогенного раствора. Раствор кипятили 15 мин и при перемешивании выливали в колбу, содержащую 150 мл толуола, 30 мл воды и 2.5 г Na_2CO_3 . После разделения слоев водный экстракт промывали толуолом (2 \times 30 мл). Объединенный толуольный раствор промывали насыщенным водным раствором Na_2SO_4 (3 \times 20 мл) и упаривали растворитель. Полученное масло экстрагировали последовательно 3 \times 20 мл кипящей смеси $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (4:1 по объему), объединенный экстракт снова нагревали до кипения и осторожно декантировали с выпавшего темного масла, а затем выдерживали при 4°C в течение суток. Выпавший творожистый остаток дважды перекристаллизовывали из минимального объема смеси $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (4:1). После высушивания выделено 0.37 г белых кристаллов соединения (IV) с т. пл. 112°C. Объединенные маточки упаривали, остаток хроматографировали на колонке (3.5 \times 40 см) с силикагелем, элюируя продукт (IV) смесью гексан–этилацетат (7:1). После перекристаллизации из смеси $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (4:1) выделено еще 0.11 г кетостерина (IV) с т. пл. 110–112°C.

Суммарный выход 0.48 г (45%, в расчете на аллиловый эфир (II)). УФ-спектр (λ_{\max} , нм, ϵ): 258.5 (10200). ^1H -ЯМР-спектр: 0.690 (с, 3H, CH_3 -19), 0.842 (д, 6H, J 6.6, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.948 (с, 3H, CH_3 -18), 0.975 (д, 3H, J 6.6, CH_3 -21), 2.328 (м, 1H, H-16), 3.301 (м, 1H, H-3), 4.001 (м, 2H, CH_2O), 4.117 (м, 1H, H $_{\beta}$ -7), 5.132 (м, 1H, = CH_aH), 5.251 (м, 1H, = CH_bH), 5.906 (м, 1H, =CH). Найдено, %: C 81.90; H 11.03. $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$. Вычислено, %: C 81.76; H 10.98.

β -[2(R,S)-2,3-Оксидапропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (V). Аллиловый эфир кетостерина (IV) (220 мг, 0.5 ммоль) растворяли в 30 мл хлороформа, прибавляли МСРВА (344 мг, 2.0 ммоль) и кипятили 4 ч, контролируя исчезновение соединения (IV) по ТСХ в системе гексан–этилацетат (7 : 1). Растворитель упаривали досуха, остаток перемешивали 10 мин с 10 мл 10% водного раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, экстрагировали эфиром (2 \times 30 мл), эфирный раствор промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2 \times 10 мл), сушили Na_2SO_4 , упаривали, остаток хроматографировали на колонке (2.5 \times 40 см) с силикагелем, элюируя эпоксид (V) смесью гексан–этилацетат (4 : 1). После упаривания растворителя и высушивания в вакууме выделено 87 мг бесцветной стеклообразной массы, закристаллизовавшейся при стоянии. Фракции, содержащие продукт (V) и неидентифицированные примеси, подвергали дополнительной очистке препаративной ТСХ в системе гексан–этилацетат (1:1). Суммарный выход продукта (V) 153 мг (67%), т. пл. 105–106°C (из MeOH). УФ-спектр (λ_{\max} , нм, ϵ): 259.1 (11600). ^1H -ЯМР-спектр: 0.687 (с, 3H, CH_3 -19), 0.841 (д, 6H, J 6.6, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.946 (с, 3H, CH_3 -18), 0.973 (д, 3H, J 6.6, CH_3 -21), 2.324 (м, 1H, H-16), 2.590 (м, 1H, H $_{\alpha}$ -3'), 2.777 (м, 1H, H $_{\beta}$ -3'), 3.113 (м, 1H, H $_{\alpha}$ -1'), 3.323, 3.330 (2м, в сумме 1H, H-3 в двух эписмерах), 3.440 (м, 1H, H $_{\alpha}$ -1'), 3.711 (м, 1H, H-2'), 4.109 (м, 1H, H $_{\beta}$ -7). Отнесение сигналов в β -заместителе проводилось двойным резонансом. Найдено, %: C 78.95; H 10.48. $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$. Вычислено, %: C 78.90; H 10.59.

β -[2(R,S)-2,3-Дигидроксипропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (VI). Эпоксид (V) (30 мг, 70 мкмоль), 8 мл THF, 2 мл воды и 300 мкл хлорной кислоты перемешивали при комнатной температуре до образования гомогенного раствора (2 ч), прибавляли 10 мл CHCl_3 и насыщенный водный раствор NaHCO_3 до прекращения выделения углекислого газа. Водный слой экстрагировали CHCl_3 (2 \times 5 мл). Хлороформные экстракты объединяли, упаривали досуха, продукт (VI) выделяли препаративной ТСХ в системе гексан–этилацетат (1:1), продукт элюировали смесью CHCl_3 –MeOH (5:1), растворитель упаривали, остаток сушили в вакууме. Выделено 20.7 мг (52 мкмоль, 74%) соединения (VI) в виде сухой белой пленки, которую не удалось перекристаллизовать. УФ-

спектр (λ_{\max} , нм, ϵ): 257.7 (11300). ^1H -ЯМР-спектр: 0.683 (с, 3H, CH_3 -19), 0.837 (д, 6H, J 6.6, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.942 (с, 3H, CH_3 -18), 0.967 (д, 3H, J 6.6, CH_3 -21), 2.324 (м, 1H, H-16), 3.286 (м, 1H, H-3), 3.360–3.560 (м, 6H, H_2 -1', H_2 -3', 2OH), 3.816 (м, 1H, H-2'), 4.110 (м, 1H, H_β -7).

3 β -(2-Оксоэтокси)-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (VII). К раствору 70 мг NaIO_4 в 1 мл воды при перемешивании прибавляли раствор 15 мг (32 мкмоль) стерина (VI) в 2 мл MeOH , смесь перемешивали 20 мин, затем прибавляли 4 мл CHCl_3 и 2 мл воды, водный слой промывали CHCl_3 (3 \times 3 мл), хлороформные экстракты объединяли и упаривали, продукт выделяли ТСХ в системе гексан–этилацетат (7:3). Продукт элюировали смесью CHCl_3 – MeOH (85:15), растворитель упаривали, полученный остаток в виде бесцветной прозрачной пленки сушили в вакууме. Выход 11.6 мг (27 мкмоль, 83%). УФ-спектр (λ_{\max} , нм, ϵ): 258.0 (10800). ^1H -ЯМР-спектр: 0.704 (с, 3H, CH_3 -19), 0.843 (д, 6H, J 6.6, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.951 (с, 3H, CH_3 -18), 0.976 (д, J 6.6, CH_3 -21), 2.330 (м, H-16), 3.342 (м, 1H, H-3), 4.095 (уш.с, 2H, CH_2O), 4.120 (м, 1H, H_β -7), 9.719 (с, 1H, $\text{HC}=\text{O}$).

3 β -[2(R,S)-2-Гидрокси-3-аминопропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (VIII) и 3 β -[2(R,S)-2-ацетокси-3-ацетидапропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (IX). Раствор эпоксистерина (V) (60 мг, 0.13 ммоль) в 5 мл насыщенного при 0 $^\circ\text{C}$ метанольного раствора аммиака выдерживали 48 ч в плотно закрытом сосуде при 20 $^\circ\text{C}$, контролируя прохождение аммонолиза по ТСХ в системах гексан–этилацетат (5 : 1) и хлороформ–метанол– HCOOH (85 : 14 : 1), затем упаривали в вакууме, трижды переупаривали с метанолом и полученные 60 мг неочищенного продукта (VIII) растворяли в 3 мл метанола. Раствор разделили на три части по 1 мл. Одну часть раствора, содержащего 20 мг неочищенного амина (VIII), упаривали досуха, дважды упаривали с сухим пиридином, растворяли в 1 мл сухого пиридина, прибавляли 300 мкл As_2O_3 , выдерживали 14 ч при 20 $^\circ\text{C}$, прибавляли 2 мл пиридина и 1 мл этанола, выдерживали 1 ч, упаривали с добавлением воды, затем упаривали с этанолом. Продукт (IX) выделяли препаративной ТСХ в системе гексан–этилацетат (1:1). После высушивания в вакууме получили белое воскообразное вещество. Выход 84%. ^1H -ЯМР-спектр: 0.677 (с, 3H, CH_3 -19), 0.842 (д, 6H, J 6.6, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.945 (с, 3H, CH_3 -18), 0.977 (д, 3H, J 6.6, CH_3 -21), 1.952 (с, 3H, N-Ac), 2.073 (с, 3H, O-Ac), 3.248 (м, 1H, H-3), 3.360–3.630 (м, 4H, CH_2O и CH_2N), 4.117 (м, 1H, H_β -7), 4.957 (м, 1H, $\text{HC}=\text{OAc}$), 5.900 (уш.с, 1H, NH).

3 β -[2(R,S)-2-Гидрокси-3-ацетидапропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (X). Диацетат (IX) (5 мг, 0.9 мкмоль) растворяли в 1 мл MeOH , прибавляли 1 мл 4 н. водного NaOH , перемешивали

3 ч, нейтрализовали добавлением 2 мл 2 н. HCl , экстрагировали хлороформом (3 \times 2 мл), сушили Na_2SO_4 и упаривали растворитель. Продукт очищали препаративной ТСХ в системе CHCl_3 – MeOH (24:1), элюировали смесью CHCl_3 – MeOH (1:1), растворитель упаривали, остаток высушивали в вакууме. Выход ацетамида (IX) составил 76%. ^1H -ЯМР-спектр: 0.691 (с, 3H, CH_3 -19), 0.842 (д, 6H, J 6.6, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.955 (с, 3H, CH_3 -18), 0.977 (д, 3H, J 6.6, CH_3 -21), 1.989 (с, 3H, N-Ac), 3.220, 3.380, 3.500 (3м, 1H, 1H, 2H, CH_2O и CH_2N), 3.268 (м, 1H, H-3), 3.815 (м, 1H, $\text{HC}=\text{OH}$), 4.115 (м, 1H, H_β -7), 5.920 (уш.с, 1H, NH).

3 β -[2(R,S)-2-Гидрокси-3-(7-нитробензо-2-окса-1,3-диазол-4-иламино)пропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (XI). Метанольный раствор (1 мл) аминоксодержащего соединения (VIII) (20 мг неочищенного продукта, 35 мкмоль амина (VIII)) упарили досуха, остаток растворили в 10 мл эфира, к эфирному раствору прибавили 35 мг (175 мкмоль) NBD -хлорида и 10 мл 0.5 М раствора NaHCO_3 . Смесь перемешивали при комнатной температуре в темноте 14 ч, эфирный слой отделяли, водный экстрагировали эфиром (3 \times 5 мл). К объединенному эфирному экстракту добавляли 0.5 г силикагеля и упаривали растворитель. Продукт, адсорбированный на силикагеле, нанесли на колонку (2 \times 30 см) с силикагелем, уравновешенным смесью гексан–этилацетат (5 : 1), затем промывали 200 мл той же смеси. Флуоресцирующую зону элюировали смесью гексан–этилацетат (1 : 1), растворитель упаривали, остаток подвергали дополнительной очистке с помощью препаративной ТСХ в системе гексан–ацетон (3 : 1). После упаривания растворителя выделено 16 мг (50%) темно-оранжевой стеклообразной пленки соединения (XI), гомогенного по ТСХ (R_f 0.74 и 0.18 в системах гексан–этилацетат (1 : 1) и (7 : 3) соответственно) и ВЭЖХ (RT 5.4 мин и 10.6 мин в MeOH и в смеси MeOH – H_2O (19 : 1) соответственно). После перекристаллизации из гексана получено 7 мг оранжевых кристаллов. УФ-спектр (λ_{\max} , нм, ϵ): 260 (17000), 465 (20800). ^1H -ЯМР: 0.687 (с, 3H, CH_3 -19), 0.842 (д, 6H, J 6.6, CH_3 -26 и CH_3 -27), 0.965 (с, 3H, CH_3 -18), 0.982 (д, 3H, J 6.6, CH_3 -21), 2.323 (м, 1H, H-16), 3.200–3.900 (м, 6H, H_2 -3, H-1', H-2', H_2 -3'), 4.118 (м, 1H, H_β -7), 6.160 (д, 1H, J 8.5, бензофуразан), 8.490 (д, 1H, J 8.5, бензофуразан).

3 β -[2(R,S)-2-Гидрокси-3-(5-диметиламинонафталинсульфониламино)пропилокси]-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (XII). Метанольный раствор (1 мл) аминоксодержащего соединения (VIII) (20 мг неочищенного продукта, 35 мкмоль амина (VIII)) упарили досуха, остаток растворили в 10 мл ацетона, прибавили 30 мг (111 мкмоль) дансилхлорида и 0.2 мл 0.5 М раствора Na_2CO_3 . Смесь переме-

шивали при 45°C 1 ч, упаривали до объема 4 мл, разбавили 20 мл бензола, бензольный экстракт промыли водой (2 × 10 мл), сушили Na₂SO₄, упарили растворитель, остаток разделяли препаративной ТСХ в системе гексан–этилацетат (1 : 1). Выделено 17 мг (17 мкмоль, 48%) желто-зеленого воскообразного соединения (XII), гомогенного по ТСХ (*R_f* 0.79 и 0.21 в системах гексан–этилацетат (1:1) и (7:3) соответственно) и ВЭЖХ (RT 5.2 мин и 9.8 мин в MeOH и в смеси MeOH–H₂O (19:1) соответственно). УФ-спектр (λ_{max} , нм, ϵ): 251.9 (23700), 331.6 (5 100). ¹H-ЯМР-спектр: 0.671 (с, 3H, CH₃-19), 0.842 (д, 6H, J 6.6, CH₃-26 и CH₃-27), 0.955 (с, 3H, CH₃-18), 0.977 (д, 3H, J 6.6, CH₃-21), 2.322 (м, 1H, H-16), 2.873 (с, 6H, N-CH₃), 3.220, 3.380, 3.500 (3м, 1H, 1H, 2H, CH₂-O и CH₂-N), 3.168 (м, 1H, H-3), 3.815 (м, 1H, HC-OH), 4.105 (м, 1H, H_β-7), 5.329 (уш.с, 1H, NH), 7.12–8.030 (м, 6H, дансил).

Авторы благодарны Российскому фонду фундаментальных исследований (проекты № 95-04-12165 и 98-04-48870) за финансовую поддержку.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Misharin A.Yu., Malugin A.V., Steinschneider A.Ya., Kosykh V.A., Novikov D.K. // *Med. Chem. Res.* 1993. V. 3. P. 451–458.
- Малюгин А.В., Новиков Д.К., Косых В.А., Косенков Е.В., Медведева Н.В., Валентинова Н.В., Штейншейндер А.Я., Мишарин А.Ю. // *Биоорганическая химия.* 1996. Т. 22. С. 541–547.
- Misharin A.Yu., Malugin A.V., Steinschneider A.Ya., Abramov V.V., Kosykh V.A., Medvedeva N.V., Morozkin A.D. // *Med. Chem. Res.* 1994. V. 4. P. 189–195.
- Misharin A.Yu., Alquier C., Steinschneider A.Ya., Malugin A.V., Lafont H. // *Med. Chem. Res.* 1995. V. 5. P. 409–416.
- Malugin A.V., Medvedeva N.V., Abramov V.V., Misharin A.Yu. // *Atherosclerosis.* 1994. V. 109. P. 197.
- Мишарин А.Ю., Крылов А.С., Алки К., Лафонт Ю., Штейншейндер А.Я., Косых В.А., Морозкин А.Д. // *Биоорганическая химия.* 1997. Т. 23. С. 297–303.
- Малюгин А.В., Штейншейндер А.Я., Косых В.А., Алки К., Лафонт Ю., Мишарин А.Ю. // *Биоорганическая химия.* 1996. Т. 22. С. 606–610.
- Мишарин А.Ю., Штейншейндер А.Я. // *Биоорганическая химия.* 1996. Т. 22. С. 611–617.
- Schwoepfer G.J., Parish E.J., Chen H.W., Kandutsch A.A. // *J. Biol. Chem.* 1977. V. 252. P. 8975–8980.
- Miller L.R., Pinkerton F.D., Schwoepfer G.J. // *Biochem. Int.* 1980. V. 1. P. 223–228.
- Miller L.R., Pinkerton F.D., Needleman D.H., Brabson J.S., Wang K.S., Schwoepfer G.J. // *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 1987. V. 148. P. 934–940.
- Green T.W., Wuts P.G.M. // *Protective Groups in Organic Synthesis.* 2nd ed. / J. Wiley & Sons. Inc. N.Y., 1991. P. 42–46.
- Wilson W.K., Wang K.-S., Kisic A., Schwoepfer G.J. // *Chem. Phys. Lipids.* 1988. V. 48. P. 7–17.
- Ghosh P.B., Whitehouse M.W. // *Biochem. J.* 1968. V. 108. P. 155–162.
- Cassidy R.M., Le Gay D.S., Frei R.W. // *J. Chromatogr. Sci.* 1974. V. 12. P. 85–89.

The Synthesis of β -Substituted Analogues of 15-Ketosterol

A. Yu. Misharin and N. A. Shatalov

*Institute of Experimental Cardiology, Cardiology Research Center,
Tret'ya Cherepkovskaya ul. 15a, Moscow, 121552 Russia*

A chemical synthesis of β -(2-propenyloxy)-, β -[2(*R,S*)-2,3-oxidopropyloxy]-, β -[2(*R,S*)-2,3-dihydroxypropyloxy]-, β -(2-oxoethoxy)-, β -[2(*R,S*)-2-acetoxy-3-acetamidopropyloxy]-, β -[2(*R,S*)-2-hydroxy-3-acetamidopropyloxy]-, β -[2(*R,S*)-2-hydroxy-3(7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol-4-ylamino)propyloxy]-, and β -[2(*R,S*)-2-hydroxy-3-(5-dimethylaminonaphthalenesulfonylamido)propyloxy]-5 α -cholest-8(14)-en-15-ones was carried out. β -(2-Propenyloxy)-5 α -cholesta-7,14-diene was prepared from 5 α -cholesta-7,14-dien-3 β -ol by reaction with allyl bromide in the presence of *tert*-BuOK in DMSO–toluene. The product was converted to β -(2-propenyloxy)-5 α -cholest-8(14)-en-15-one by selective 14 α , 15 α -epoxidation followed by acid-catalyzed isomerization. The allyl double bond in β -(2-propenyloxy)-5 α -cholest-8(14)-en-15-one was oxidized with *m*-chloroperbenzoic acid in boiling chloroform, and the resulting epoxide was transformed into the final products by usual approaches without affecting the ketosterol backbone.

Key words: hydroxysterols, cholesterol biosynthesis inhibitors

To whom correspondence should be addressed.