



УДК 547.92.057

## 22,23-ЭПОКСИДЫ СИТОСТЕРИНА И РОДСТВЕННЫХ 7-ОКСИГЕНИРОВАННЫХ $\Delta^5$ -СТЕРИНОВ

© 2005 г. Г. Ю. Флегентов\*, Я. В. Ткачев\*\*, Е. А. Пийр\*, А. П. Плешкова\*\*\*,  
В. П. Тимофеев\*\*, А. Ю. Мишарин\*\*

\*Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАН,  
119992, Москва, Погодинская ул., 10;

\*\*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва;

\*\*\*Институт элементоорганических соединений им. Н.А. Несмеянова РАН, Москва

Поступила в редакцию 17.09.2004 г. Принята к печати 16.12.2004 г.

Синтезированы (22*S*,23*S*)- и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидоситостеринны, (22*S*,23*S*)- и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидо-7-кетоситостеринны, (22*S*,23*S*)- и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидо-7 $\alpha$ -гидроксиситостеринны, (22*S*,23*S*)- и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидо-7 $\beta$ -гидроксиситостеринны. Исследованы спектры  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР синтезированных соединений и масс-спектры их триметилсилильных производных.

*Ключевые слова:* оксистеринны, фитостеринны, синтез.

### ВВЕДЕНИЕ

Растительные стеринны (фитостеринны), поступающие в организм млекопитающих с пищей, влияют на абсорбцию липидов в кишечнике, образование желчных кислот, уровень холестерина, триглицеридов и липопротеинов в плазме крови [1–5]. Фитостеринны, в частности ситостерин [(24*R*)-24-этилхолестерин], входят в состав многих лекарственных и витаминных препаратов, нормализующих липидный обмен [5–7]. Мы предположили, что некоторые синтетические производные ситостерина (в частности, содержащие оксигенированную боковую цепь и/или кислородсодержащий заместитель в положении 7) могут представлять интерес в качестве регуляторов метаболизма липидов в печени млекопитающих. В самом деле, эти производные ситостерина являются близкими структурными аналогами соответствующих биологически активных производных холестерина (оксистериннов, регулирующих активность транскрипционных факторов LXR $\alpha$  и LXR $\beta$  [8–12], важнейших ферментов биосинтеза стериннов и желчных кислот [13–16], процессинг белков семейства SREBP [17–19]), но отличающихся от оксистериннов млекопитающих наличием С24-этильной группы, что, как известно [20], препятствует окислительному разрыву боковой цепи. Метаболическая деградация боковой цепи оксистерина в клетках печени ведет к ослаблению или к потере

его регуляторных свойств [21–23]. Поэтому разумно полагать, что соответствующие производные ситостерина могут оказаться более устойчивыми и эффективными регуляторами метаболизма липидов в печени.

Производные холестерина, содержащие эпоксигруппы в различных положениях боковой цепи, являются важными регуляторными молекулами [8–12]. В литературе имеются сообщения о получении и поверхностно-активных свойствах 22,23-оксидопроизводных некоторых фитостериннов [24, 25], однако данные о стереохимии образующихся изомеров и их биологической активности отсутствуют.

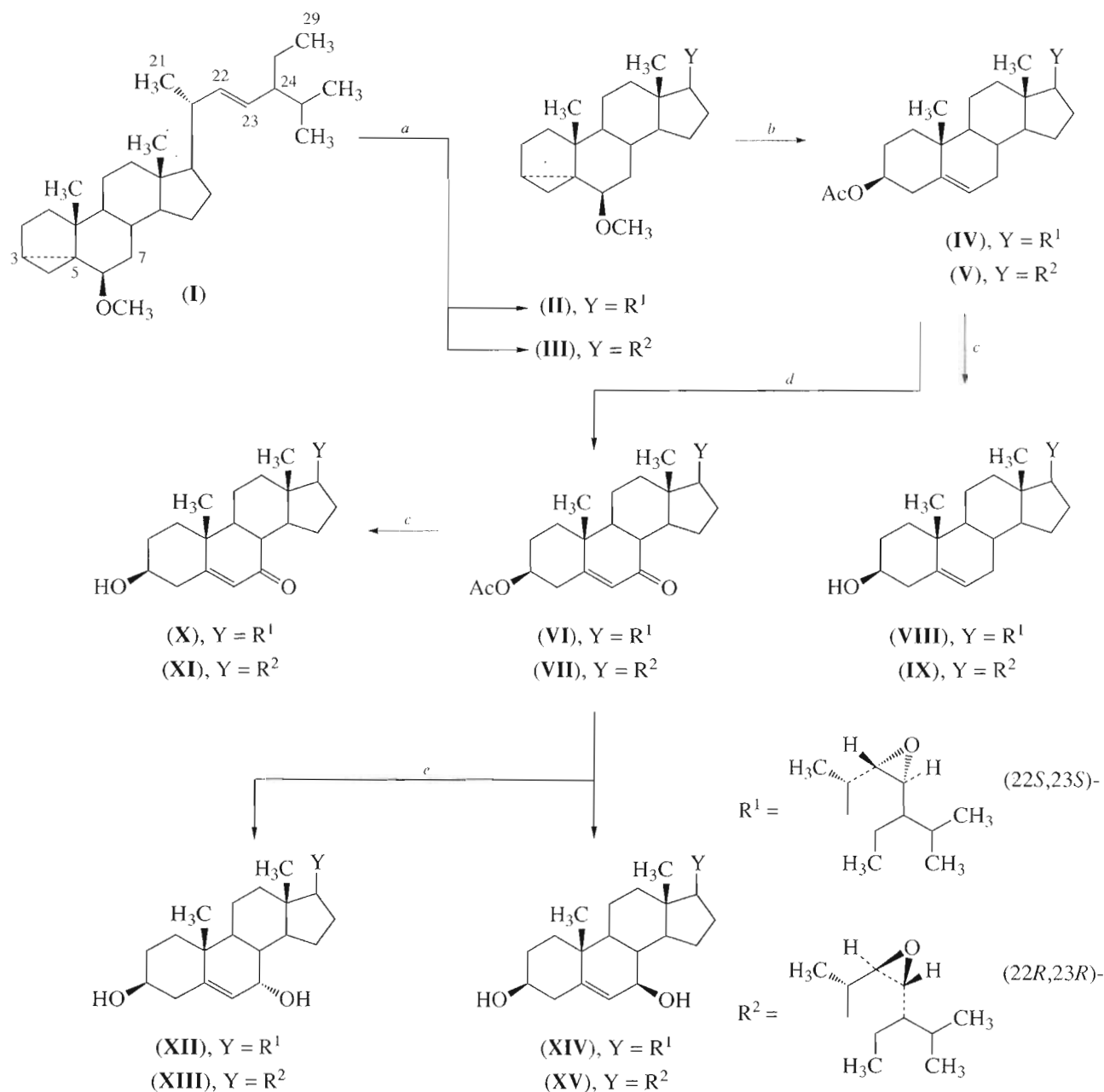
В данной работе проведен синтез (22*S*,23*S*)- и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидоситостериннов, а также родственных (22*S*,23*S*)- и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидопроизводных 7-кетоситостерина, 7 $\alpha$ -гидроксиситостерина и 7 $\beta$ -гидроксиситостерина (схема 1); исследованы спектры ЯМР полученных соединений и масс-спектры их триметилсилильных производных. Синтезированные соединения в настоящее время исследуются в качестве регуляторов экспрессии генов, вовлеченных в метаболизм холестерина в клетках гепатомы HepG2 и в моноцитарных макрофагах.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения целевых продуктов в качестве исходного соединения был выбран известный (22*E*)-3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -цикло-6 $\beta$ -метоксистерин-22-ен (I), легко получаемый из стигмастерина через соответствующий тозилат [26]. Реакция соединения (I) с избытком CPBA в кипящем  $\text{CHCl}_3$  в присутствии сухого  $\text{NaHCO}_3$  приводила к смеси (1 : 1) изомерных эпоксидов (II) и (III), выделенных в индиви-

Сокращения: оксистерин – 3 $\beta$ -гидроксистерин, в цикле или в боковой цепи которого содержатся кето-, гидроксид-, гидропероксид- или эпоксигруппы; CPBA – *мета*-хлорнадбензойная кислота; МСЭУ – масс-спектры электронного удара.

# Автор для переписки (тел.: (095) 246-33-75; эл. почта: alexander.misharin@ibmc.msk.ru).



**Схема 1.** *a* – CPBA/CHCl<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, кипячение, 90 мин; *b* – AcOH, кипячение, 40 мин; *c* – K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/MeOH–H<sub>2</sub>O, кипячение, 20 мин; *d* – K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>/AcOH – Ac<sub>2</sub>O, 50°C, 50 мин; *e* – LiAlH<sub>4</sub>/Et<sub>2</sub>O, 0°C, 1 мин.

дуальном состоянии колоночной хроматографией на силикагеле в CHCl<sub>3</sub>, не содержащем спирта. Соединение (II), обладающее большей хроматографической подвижностью, соответствовало 22*S*,23*S*-изомеру, а соединение (III) – 22*R*,23*R*-изомеру (см. ниже). Эпоксидные группы в соединениях (II) и (III) устойчивы при нагревании в AcOH или в водно-метанольном растворе K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, а также в условиях восстановления (LiAlH<sub>4</sub> в Et<sub>2</sub>O) и окисления (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> в смеси AcOH и Ac<sub>2</sub>O), что определило схему получения целевых 7-оксигенированных продуктов (схема 1).

Эпоксиды (II) и (III) при нагревании в ледяной AcOH с высоким выходом превращались в ацетаты (IV) и (V), гидролиз которых под действием K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> в водном MeOH приводил к (22*S*,23*S*)- (VIII) и (22*R*,23*R*)- (IX)-оксидоситостеринам. Получение из ацетатов (IV) и (V) целевых соединений (X)–(XV) осуществляли по известным методикам превращения холестерилацетата в соответствующие 7-оксигенированные производные [27, 28]. Аллильное окисление соединений (IV) и (V) K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> в смеси AcOH и Ac<sub>2</sub>O приводило к ацетатам (VI) и (VII), соответственно, с выходом ≈60%.

Таблица 1. Химические сдвиги ( $\delta$ , м. д.) в спектрах  $^{13}\text{C}$ -ЯМР соединений (VIII)–(XV)

Номер атома	(VIII)	(IX)	(X)	(XI)	(XII)	(XIII)	(XIV)	(XV)
1	37.57	37.78	37.47	37.44	38.63	39.08	38.91	38.96
2	30.59	30.61	30.13	30.08	29.81	30.02	29.88	29.95
3	70.68	70.71	69.44	69.45	71.56	71.48	71.54	71.48
4	41.57	41.62	44.31	44.36	41.86	42.47	41.87	42.47
5	139.76	139.65	164.02	163.87	143.67	146.42	143.55	146.34
6	120.46	120.59	124.95	125.02	125.60	123.99	125.65	124.02
7	30.85	30.85	200.79	200.86	73.44	65.42	73.43	65.44
8	30.79	30.81	35.29	35.31	31.72	31.53	31.71	31.53
9	49.06	49.16	48.86	48.93	48.49	48.86	48.71	49.04
10	36.19	36.22	37.18	37.25	37.09	37.67	37.12	37.69
11	19.09	19.15	19.50	19.58	20.30	20.33	20.24	20.37
12	38.53	38.64	37.60	37.52	39.52	39.16	39.64	39.24
13	41.23	41.26	42.35	42.36	41.08	42.15	41.05	42.17
14	55.33	55.30	56.44	56.58	55.76	56.01	55.72	55.95
15	23.47	23.45	25.46	25.44	26.74	24.67	26.69	24.66
16	28.08	28.28	28.11	28.28	29.29	29.34	29.48	29.48
17	55.05	55.00	55.75	55.89	55.60	55.73	55.59	55.68
18	11.38	11.29	11.40	11.29	12.56	12.65	12.50	12.51
19	18.51	18.36	18.47	18.34	19.72	19.68	19.53	19.55
20	35.43	35.44	35.92	35.96	36.60	37.17	36.60	37.17
21	18.30	18.30	18.33	18.31	19.27	18.37	19.26	18.36
22	61.05	61.98	61.16	61.66	62.24	62.28	63.16	63.08
23	61.02	61.97	61.01	61.64	62.20	62.27	63.15	63.07
24	42.56	42.59	43.75	43.72	43.37	42.64	43.41	42.68
25	26.87	26.01	27.24	26.18	28.37	28.20	27.45	27.26
26	19.82	19.89	19.75	19.90	21.07	20.82	21.10	20.85
27	19.97	20.02	20.12	20.14	21.18	20.92	21.21	21.12
28	15.09	15.20	16.24	16.22	16.30	16.48	16.51	16.38
29	10.77	10.91	10.88	11.05	11.96	11.76	12.09	11.90

Омыление ацетатов (VI) и (VII) с высоким выходом давало оксидосодержащие 7-кетостерины (X) и (XI). Восстановление соединения (VI)  $\text{LiAlH}_4$  в  $\text{Et}_2\text{O}$  дало смесь (22*S*,23*S*)-22,23-оксидо-7 $\alpha$ -(XII) и -7 $\beta$ -гидроксистерина (XIV) в соотношении  $\approx 2 : 3$ , а восстановление соединения (VII) – смесь (22*R*,23*R*)-22,23-оксидо-7 $\alpha$ -(XIII) и -7 $\beta$ -гидроксистерина (XV) в соотношении  $\approx 1 : 2$ . Продукты восстановления разделяли хроматографией на силикагеле “Silasorb 600” (30 мкм) в системе ( $\text{Et}_2\text{O}$ –бензол–циклогексан, 90 : 9 : 1), рекомендованной [29] для разделения критической пары: 7 $\alpha$ -гидроксихолестерин – 7 $\beta$ -гидроксихолестерин. Данные спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР соединений (VIII)–(XV) сведены в табл. 1.

Отнесение абсолютной конфигурации атомов C22 и C23 в соединениях (VIII)–(XV) проведено на основании спектров  $^1\text{H}$ -ЯМР (табл. 2) и полуэмпирического расчета энергетически выгодных конформаций (22*S*,23*S*)- и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидопроизводных ситостерина (рисунок). В соединениях (VIII), (X), (XII), (XIV), а также (II), (IV) и (VI) сигналы H23, H21 и H29 лежат в более сла-

бом поле, чем соответствующие сигналы в соединениях (IX), (XI), (XIV), (XV), (III) и (V) на  $\approx 0.25$  м. д. (H23) и на  $\approx 0.03$  м. д. (H21 и H29). В двух рассчитанных наиболее выгодных конформерах (22*S*,23*S*)-22,23-оксидост-5-ен-3 $\beta$ -ола боковая цепь полностью развернута, а в двух рассчитанных наиболее выгодных конформерах (22*R*,23*R*)-22,23-оксидост-5-ен-3 $\beta$ -ола H23 экранирован концевыми метильными группами. Расстояния от H23 до ближайших алкильных заместителей в обоих рассчитанных конформерах (22*R*,23*R*)-эпоксида приблизительно равны расстояниям от H22 до C21 и C17, в то время как в обоих рассчитанных конформерах (22*S*,23*S*)-эпоксида они достоверно больше. Такие же заключения сделаны для соединений (X)–(XV) на основании аналогичных расчетов, что позволило приписать соединениям (IX), (XI), (XIII), (XV) конфигурацию 22*R*,23*R*, а соединениям (VIII), (X), (XII), (XIV) – конфигурацию 22*S*,23*S*.

Сигналы H6 в спектрах  $^1\text{H}$ -ЯМР соединений (XII)–(XV) позволили однозначно отнести конфигурацию хиральных центров C7. В 7 $\beta$ -гидро-

**Таблица 2.** Значения хим. сдвигов ( $\delta$ , м. д.) и КССВ ( $J$ , Гц) характеристичных сигналов в спектрах  $^1\text{H}$ -ЯМР соединений (VIII)–(XV)

Номер атома	(VIII)	(IX)	(X)	(XI)	(XII)	(XIII)	(XIV)	(XV)
3	3.51 м	3.52 м	3.67 м	3.67 м	3.57 м	3.54 м	3.54 м	3.58 м
6	5.34 м	5.34 м	5.69 д ( $J$ 1.2)	5.69 д ( $J$ 1.2)	5.60 дд ( $J$ 1.3; 5.4)	5.60 дд ( $J$ 1.3; 5.4)	5.28 т* ( $J$ 1.3)	5.29 т* ( $J$ 1.3)
7	1.55 м; 1.97 м	1.55 м; 1.97 м	–	–	3.84 м	3.85 м	3.83 дт* ( $J$ 1.3; 7.8)	3.85 дт* ( $J$ 1.3; 7.6)
18	0.67 с	0.66 с	0.68 с	0.67 с	0.68 с	0.67 с	0.69 с	0.68 с
19	1.00 с	0.99 с	1.19 с	1.19 с	0.98 с	0.98 с	1.02 с	1.04 с
21	1.02 д ( $J$ 6.6)	0.99 д ( $J$ 6.6)	1.04 д ( $J$ 6.0)	0.99 д ( $J$ 6.5)	1.05 д ( $J$ 6.6)	1.01 д ( $J$ 6.8)	1.03 д ( $J$ 6.6)	1.01 д ( $J$ 6.8)
22	2.48 дд ( $J$ 2.2; 5.9)	2.50 м	2.48 дд ( $J$ 2.2; 4.7)	2.48 м#	2.47 дд ( $J$ 2.3; 7.5)	2.50 м#	2.49 дд ( $J$ 2.3; 6.6)	2.51 м
23	2.74 дд ( $J$ 2.2; 7.2)	2.50 м	2.74 дд ( $J$ 2.2; 6.9)	2.50 м#	2.73 дд ( $J$ 2.3; 7.5)	2.51 м#	2.74 дд ( $J$ 2.3; 7.5)	2.51 м
26	0.92 д ( $J$ 6.6)	0.92 д ( $J$ 6.6)#	0.92 д ( $J$ 6.6)	0.92 д ( $J$ 6.6)#	0.91 д ( $J$ 6.6)	0.93 д ( $J$ 6.6)	0.91 д ( $J$ 6.6)	0.94 д ( $J$ 6.6)#
27	0.92 д ( $J$ 6.6)	0.93 д ( $J$ 6.6)#	0.92 д ( $J$ 6.6)	0.93 д ( $J$ 6.6)#	0.91 д ( $J$ 6.6)	0.93 д ( $J$ 6.6)	0.91 д ( $J$ 6.6)	0.95 д ( $J$ 6.6)*
29	0.95 т ( $J$ 7.5)	0.92 т ( $J$ 7.5)	0.95 т ( $J$ 7.5)	0.91 т ( $J$ 7.5)	0.95 т ( $J$ 7.5)	0.92 т ( $J$ 7.5)	0.95 т ( $J$ 7.5)	0.92 т ( $J$ 7.5)

# Отнесение может быть попарно противоположным.

\* Значения КССВ получены измерением ширины сигнала на 1/2 от его высоты.

ксипроизводных (XIV) и (XV) сигналы H6 представляли собой псевдотриплеты 5.28 м. д. и 5.29 м. д. (вследствие равенства КССВ  $J_{4,6} = J_{6,7\alpha} = 1.3$  Гц), аналогичные сигналу H6 в спектре  $7\beta$ -гидроксихолестерина; а в спектрах  $7\alpha$ -гидроксипроизводных (XII) и (XIII) дублеты дублетов при 5.60 м. д. ( $J_{4,6} 1.3$ ,  $J_{6,7\beta} 5.4$  Гц), аналогичные сигналу H6 в спектре  $7\alpha$ -гидроксихолестерина.

Данные МСЭУ ( $\text{Me}_3\text{Si}$ -производных соединений (VIII)–(XV) сведены в табл. 3. Масс-спектры всех соединений характеризовались наличием интенсивных пиков молекулярных ионов. Для ( $\text{Me}_3\text{Si}$ -производных соединений (VIII), (IX), (XII)–(XV) основные направления фрагментации определялись элиминированием триметилсиланола и разрывом боковой цепи (схема 2). Для ( $\text{Me}_3\text{Si}$ -производных 7-кетостероидов (X) и (XI) элиминирование триметилсиланола не наблюдалось, а доминирующим направлением фрагментации являлся разрыв связи C20–C22 с образованием иона B ( $m/z$  127). Для бис-( $\text{Me}_3\text{Si}$ -производных диолов (XII)–(XV) (в отличие от остальных производных) не наблюдалось разрыва связи C23–C24. В масс-спектрах всех производных присутствовали пики незначительной интенсивности, соответствующие ионам ( $M - \text{CH}_3$ )<sup>+</sup>, ( $M - \text{OH}$ )<sup>+</sup>, ( $M - \text{H}_2\text{O}$ )<sup>+</sup>.

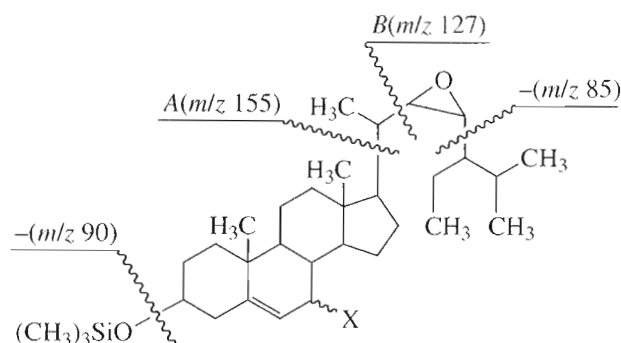
### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и растворители получены от фирм “Aldrich”, “Merck” и “МедХимЛаб”. (22ΔE)-6β-Метокси-3α,5α-циклостигмаст-22-ен (I) синтезиро-

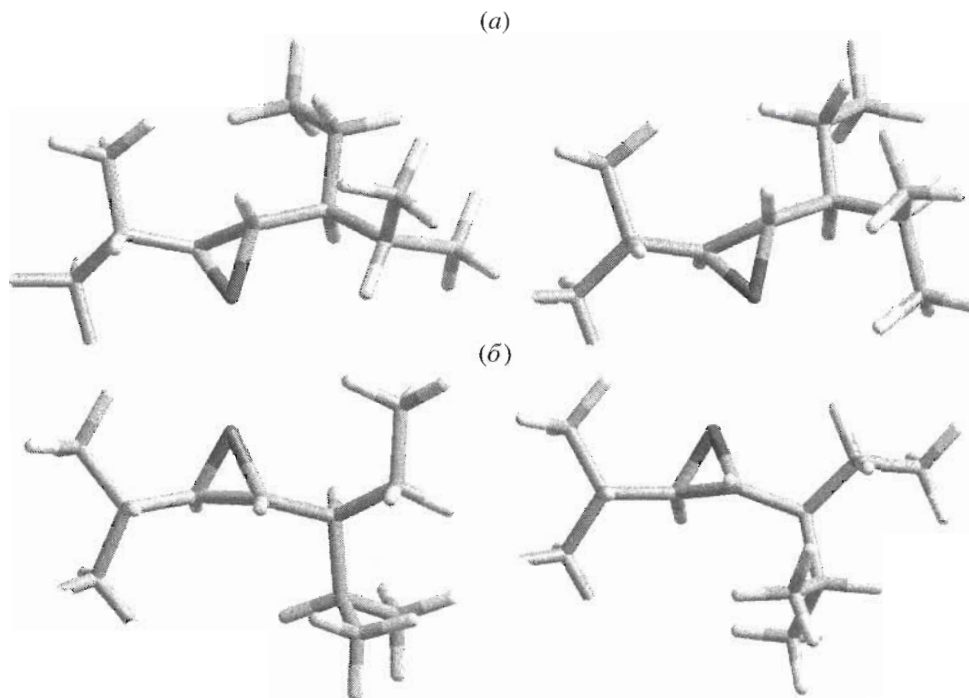
ван из стигмастерина (фирмы “ICN”) по методу [26] с незначительными модификациями.

Колоночную хроматографию проводили на силикагелях L40/100 и Silasorb 600 (30 мкм) фирмы “Chemapol”; ТСХ – на пластинках НРТLC Kieselgel (Merck), обнаруживая продукты опрыскиванием пластинок 3% раствором молибдата аммония в 5% водной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и/или 5% раствором  $\text{SbCl}_5$  в сухом  $\text{CHCl}_3$  с последующим нагреванием.

Спектры  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР регистрировали на приборе АМХ-III-400 (Bruker) в  $\text{CDCl}_3$ ; приведены значения химического сдвига ( $\delta$ , м. д.) и КССВ (Гц); значения  $\delta$   $\text{CHCl}_3$  в спектрах  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 7.25 и 77.16 м. д. соответственно.



**Схема 2.** МС-фрагментация ( $\text{Me}_3\text{Si}$ -производных соединений (VIII)–(XV) ( $X = \text{H}_2$ ;  $=\text{O}$ ; ( $\text{Me}_3\text{SiO}$ ,  $\text{H}$ ).



Энергетически выгодные конформации фрагментов C20–C29 (22*S*,23*S*)-22,23-оксидоситостерина (а) и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидоситостерина (б), рассчитанные полуэмпирическим методом AM1.

Масс-спектры (Me)<sub>3</sub>Si-производных соединений (VIII)–(XV), а также соединений (II) и (III) регистрировали на приборе Kratos MS-890 в режиме электронного удара при энергии ионизации 70 эВ.

Расчеты энергетически выгодных конформеров соединений (VIII)–(XV) проводили полуэмпирическим методом AM1 с использованием программы NucleChem 6.0.

Все синтезированные соединения выделены в индивидуальном состоянии (ТСХ); т. пл. кристаллических соединений определялась в капилляре.

**(22*S*,23*S*)-22,23-Окси-3α,5α-цикло-6β-метоксиситостан (II) и (22*R*,23*R*)-22,23-окси-3α,5α-цикло-6β-метоксиситостан (III).** К раствору (22*E*)-3α,5α-цикло-6β-метоксиситостан-22-ена (I) (2.46 г, 5 ммоль) в 50 мл CHCl<sub>3</sub> прибавляли 6 г сухого NaHCO<sub>3</sub> и 2.60 г 60% CPBA (12 ммоль CPBA) и смесь кипятили 90 мин, образовавшийся белый

гель упаривали, отгоняя 40 мл CHCl<sub>3</sub>, к остатку прибавляли 100 мл 10% раствора Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 200 мл толуола и смесь перемешивали до полного растворения, водный слой экстрагировали 100 мл толуола, объединенный толуольный экстракт промывали водой, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток наносили на колонку (3.5 × 35 см) с силикагелем, колонку промывали 500 мл смеси гексан–CHCl<sub>3</sub> (3 : 2), а затем – CHCl<sub>3</sub>, что приводило к последовательному элюированию соединений (II) и (III). Оба соединения выделены в виде бесцветных вязких масел, затвердевающих с образованием стеклообразной массы при стоянии. (22*S*,23*S*)-22,23-Окси-3α,5α-цикло-6β-метоксиситостан (II); выход: 0.86 г (1.95 ммоль, 35%); <sup>1</sup>H-ЯМР: 0.43 (1 H, м); 0.65 (1 H, м); 0.71 (3 H, с); 0.92 (6 H, д, *J* 6.8); 0.95 (3 H, т, *J* 7.5); 1.00 (3 H, д, *J* 6.8); 1.01 (3 H, с); 2.34 (2 H, т, *J* 7.8); 2.49 (1 H, м); 2.73 (1 H, м); 2.76 (1 H, м); 3.32 (3H, с).

**Таблица 3.** Данные масс-спектров (Me)<sub>3</sub>Si-производных соединений (VIII)–(XV) [*m/z* (*I*, %)]

Ион	(VIII)	(IX)	(X)	(XI)	(XII)	(XIII)	(XIV)	(XV)
<i>M</i> <sup>+</sup>	500 (56)	500 (30)	514 (100)	514 (45)	588 (31)	588 (41)	588 (30)	588 (46)
<i>M</i> -CH <sub>3</sub>	485 (3)	485 (2)	499 (3)	499 (2)	573 (3)	573 (3)	573 (2)	573 (11)
<i>M</i> -OH	483 (1)	483 (1)	497 (4)	497 (2)	571 (1)	571 (2)	571 (2)	571 (4)
<i>M</i> -H <sub>2</sub> O	482 (2)	482 (2)	496 (2)	496 (2)	570 (1)	570 (2)	570 (1)	570 (4)
<i>M</i> -CH(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	415 (6)	415 (3)	429 (61)	429 (47)	–	–	–	–
<i>M</i> -(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> SiOH	410 (40)	410 (18)	–	–	498 (100)	498 (58)	498 (68)	498 (100)
<i>M</i> -2(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> SiOH	–	–	–	–	408 (47)	408 (52)	408 (100)	408 (74)
<i>A</i> <sup>+</sup>	155 (19)	155 (24)	155 (5)	155 (23)	155 (3)	155 (82)	155 (31)	155 (6)
<i>B</i> <sup>+</sup>	127 (100)	127 (100)	127 (15)	127 (100)	127 (8)	127 (100)	127 (37)	127 (13)

МС,  $m/z$  ( $I$ , %): 442 ( $M^+$ , 7), 427 (41), 387 (70), 341 (11), 297 (36), 253 (59), 227 (47), 213 (100). (22*R*,23*R*)-22,23-Оксида-3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -цикло-6 $\beta$ -метокситостан (**III**); выход 0.80 г (1.81 ммоль, 32%);  $^1\text{H-NMR}$ : 0.42 (1 H, м); 0.63 (1 H, м); 0.70 (3 H, с); 0.91 (3 H, т,  $J$  7.5); 0.92 (3 H, д,  $J$  6.8); 0.93 (3 H, д,  $J$  6.8); 0.99 (3 H, д,  $J$  6.8); 1.01 (3 H, с), 2.33 (2 H, т,  $J$  7.8); 2.50 (2 H, м); 2.76 (1 H, м); 3.31 (3 H, с). МС,  $m/z$  ( $I$ , %): 442 ( $M^+$ , 4), 427 (9), 387 (22), 341 (19), 297 (42), 253 (39), 227 (76), 213 (100).

(22*S*,23*S*)-3 $\beta$ -Ацетокси-22,23-оксидоситост-5-ен (**IV**) и (22*R*,23*R*)-3 $\beta$ -ацетокси-22,23-оксидоситост-5-ен (**V**). Эпоксиды (**II**) и (**III**) (0.55 г, 1.17 ммоль) кипятили в 10 мл  $\text{AcOH}$  40 мин, и полученные растворы соединений (**IV**) и (**V**) использовали в синтезе соединений (**VI**) и (**VII**). Для получения аналитических образцов соединений (**IV**) и (**V**) отбирали алиquotы растворов объемом 1 мл, упаривали до суха, остатки растворяли в  $\text{CHCl}_3$ , хлороформные экстракты промывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , водой, сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , упаривали, хроматографировали на колонке с силикагелем в системе гексан– $\text{EtOAc}$  (9 : 1), снова упаривали и остатки перекристаллизовывали из  $\text{CH}_3\text{CN}$ . (22*S*,23*S*)-Изомер (**IV**): т. пл. 95–97°C; выход 51 мг (90%);  $^1\text{H-NMR}$ : 0.67 (3 H, с); 0.92 (6 H, д,  $J$  6.8); 0.95 (3 H, т,  $J$  7.5); 1.01 (3 H, с); 1.02 (3 H, д,  $J$  6.8); 2.02 (3 H, с); 2.30 (2 H, м); 2.47 (1 H, м); 2.73 (1 H, м); 4.59 (1 H, м); 5.36 (H, м). (22*R*,23*R*)-Изомер (**V**): т. пл. 124–126°C; выход 49 мг (90%);  $^1\text{H-NMR}$ : 0.66 (3 H, с); 0.93 (3 H, д,  $J$  6.8); 0.94 (3 H, д,  $J$  6.8); 0.92 (3 H, т,  $J$  7.5); 0.99 (3 H, д,  $J$  6.8); 1.01 (3 H, с); 2.02 (3 H, с); 2.29 (2 H, м); 2.50 (2 H, м); 4.59 (1 H, м); 5.36 (1 H, м).

(22*S*,23*S*)-3 $\beta$ -Ацетокси-22,23-оксидоситост-5-ен-7-он (**VI**) и (22*R*,23*R*)-3 $\beta$ -ацетокси-22,23-оксидоситост-5-ен-7-он (**VII**). К растворам 0.50 г (1.05 ммоль) ацетатов (**IV**) и (**V**) в 9 мл  $\text{AcOH}$  прибавляли по 10 мл  $\text{Ac}_2\text{O}$ , вносили по 0.36 г (1.20 ммоль) мелко-растертого  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , смеси перемешивали при 50°C 50 мин, контролируя окисление ТСХ в системе гексан– $\text{EtOAc}$  (5 : 1). Полученные смеси выливали в 150 мл толуола, встряхивали 5 мин, через 15 мин толуольные растворы фильтровали через бумажный фильтр в перемешиваемые насыщенные растворы  $\text{NaHCO}_3$  (100 мл). Толуольные растворы отделяли, водные слои экстрагировали толуолом (100 мл), объединенные толуольные экстракты промывали водой, сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривали. Остатки растворяли в минимальном количестве  $\text{CHCl}_3$ , прибавляли кипящий гексан до помутнения и выдерживали 24 ч при –5°C. Осадки, содержащие ацетаты кетостеринов (**VI**) (0.22 г) и (**VII**) (0.28 г) отделяли, маточки концентрировали и хроматографировали на колонке с силикагелем в системе гексан– $\text{EtOAc}$  (5 : 1), что позволило дополнительно выделить 0.12 г соединения (**VI**) и 0.06 г соединения (**VII**). Объединенные порции продуктов (**VI**) и (**VII**) перекристаллизовывали из гексана. (22*S*,23*S*)-Изомер (**VI**): т. пл. 132–134°C; сум-

марный выход 0.32 г (0.68 ммоль, 64%);  $^1\text{H-NMR}$ : 0.67 (3 H, с); 0.91 (6 H, д,  $J$  6.8); 0.95 (3 H, т,  $J$  7.5); 1.04 (3 H, д,  $J$  6.8); 1.20 (3 H, с); 2.05 (3 H, с); 2.30 (2 H, м); 2.47 (1 H, м); 2.74 (1 H, м); 4.50 (1 H, м); 5.70 (1 H, д,  $J$  1.2). (22*R*,23*R*)-Изомер (**VII**): т. пл. 144–146°C; суммарный выход 0.29 г (0.61 ммоль, 58%);  $^1\text{H-NMR}$ : 0.67 (3 H, с); 0.91 (6 H, д,  $J$  6.8); 0.93 (3 H, т,  $J$  7.5); 0.99 (3 H, д,  $J$  6.8); 1.20 (3 H, с); 2.04 (3 H, с); 2.30 (2 H, м); 2.45–2.60 (2 H, м); 4.70 (1 H, м); 5.69 (1 H, д,  $J$  1.2).

(22*S*,23*S*)-22,23-Оксидоситостерин (**VIII**), (22*R*,23*R*)-22,23-оксидоситостерин (**IX**), (22*S*,23*S*)-22,23-оксида-7-кетоситостерин (**X**), (22*R*,23*R*)-22,23-оксида-7-кетоситостерин (**XI**). Соединения (**IV**)–(**VII**) кипятили с 10-кратным избытком  $\text{K}_2\text{CO}_3$  в смеси  $\text{MeOH-H}_2\text{O}$  (2 : 1) в течение 30 мин. Продукты (**VIII**)–(**XI**) экстрагировали  $\text{CHCl}_3$ , хлороформные экстракты сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , упаривали. (22*S*,23*S*)-22,23-Оксидоситостерин (**VIII**) перекристаллизовывали из ацетона; т. пл. 186–188°C; выход количественный; спектры ЯМР в табл. 1 и 2. (22*R*,23*R*)-22,23-Оксидоситостерин (**IX**) перекристаллизовывали из  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; т. пл. 147–149°C; выход количественный; спектры ЯМР в табл. 1 и 2. Кетостерины (**X**) и (**XI**) выделяли хроматографией на колонке с силикагелем в системе гексан– $\text{EtOAc}$  (3 : 2). (22*S*,23*S*)-22,23-Оксида-7-кетоситостерин (**X**) выделен в виде белой воскообразной пленки; выход 92%; спектры ЯМР в табл. 1 и 2. (22*R*,23*R*)-22,23-Оксида-7-кетоситостерин (**XI**) выделен в виде белой воскообразной пленки; выход 94%; спектры ЯМР в табл. 1 и 2.

(22*S*,23*S*)-22,23-Оксидоситост-5-ен-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -диола (**XII**) и (22*R*,23*R*)-22,23-оксидоситост-5-ен-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -диола (**XIII**), (22*S*,23*S*)-22,23-оксидоситост-5-ен-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -диола (**XIV**), (22*R*,23*R*)-22,23-оксидоситост-5-ен-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -диола (**XV**). Растворы соединений (**VI**) и (**VII**) (50 мг, 0.1 ммоль) в 8 мл сухого  $\text{Et}_2\text{O}$  прибавляли при охлаждении к перемешиваемой суспензии 100 мг  $\text{LiAlH}_4$  в 20 мл сухого  $\text{Et}_2\text{O}$ . Реакции полностью проходили в течение 1 мин, избыток  $\text{LiAlH}_4$  разлагали ледяной водой, эфирный раствор декантировали, остаток последовательно промывали эфиром, содержащим 5%  $\text{MeOH}$  (3  $\times$  15 мл). Растворы упаривали, остатки растворяли в 1 мл смеси  $\text{Et}_2\text{O}$ –бензол–циклогексан (90 : 9 : 1) и нанесли на колонку (1.5  $\times$  40 см) с силикагелем Silasorb 600 (30 мкм), уравновешенную той же тройной смесью, продукты элюировали той же тройной смесью, контролируя разделение ТСХ. После упаривания полученные продукты выделены в виде белых воскообразных пленок. Восстановление соединения (**VI**) дало 27 мг (0.06 ммоль, 60%) (22*S*,23*S*)-22,23-оксидоситост-5-ен-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -диола (**XIV**) и 18 мг (0.04 ммоль, 40%) (22*S*,23*S*)-22,23-оксидоситост-5-ен-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -диола (**XII**); восстановление соединения (**VII**) дало 26 мг (0.06 ммоль, 60%) (22*R*,23*R*)-22,23-оксидоситост-5-ен-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -диола (**XV**) и 14 мг (0.03 ммоль, 31%) (22*R*,23*R*)-22,23-оксидоситост-



5-ен-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -диола (XIII). Спектры ЯМР соединений (XII)–(XV) в табл. 1 и 2.

**Триметилсилильные производные соединений (VIII)–(XV).** Оксистерин (1 мг) обрабатывали 100 мкл смеси (Me)<sub>3</sub>SiCl–(Me)<sub>3</sub>Si–N=N–Si(Me)<sub>3</sub>–абс. пиридин (1 : 2 : 10, по объему) в течение 20 мин при комнатной температуре, реакцию смесь наносили на микроколону (1 см<sup>3</sup>) с силикагелем; колонку промывали 3 мл смеси гексан–EtOAc (7 : 1), растворы концентрировали в токе азота и вводили в ионный источник масс-спектрометра.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 03-04-48700) и программы “Молекулярная и клеточная биология” Президиума Российской академии наук.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ordovas J.M., Tai E.* // *Nutr. Rev.* 2002. V. 60. P. 30–33.
2. *Volger O.L., van der Boom H., de Wit E.C., van Duyvenvoorde W., Hornstra G., Plat J., Havekes L.M., Mensink R.P., Princen H.M.* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. V. 21. P. 1046–1052.
3. *Lu K., Lee M.H., Patel S.B.* // *Trends Endocrinol. Metab.* 2001. V. 12. P. 314–320.
4. *Nestel P., Cehun M., Pomeroy S., Abbey M., Weldon G.* // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2001. V. 55. P. 1084–1090.
5. *Gylling H., Miettinen T.A.* // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2002. V. 12. P. 19–23.
6. *Wong N.C.* // *Can. J. Cardiol.* 2001. V. 17. P. 715–721.
7. *Plat J., van Onselen E.N., van Heugten M.M., Mensink R.P.* // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2000. V. 54. P. 671–677.
8. *Janowski B.A., Willy P.J., Devi T.R., Falck J.R., Mangelsdorf D.J.* // *Nature.* 1996. V. 383. P. 728–731.
9. *Lehmann J.M., Kliewer S.A., Moore L.B., Smith-Oliver T.A., Su J.-L., Sundset S.S., Winegar D.A., Blanchard D.E., Spencer T.A., Willson T.M.* // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 3137–3140.
10. *Peet D.J., Janowsky B.A., Mangelsdorf D.J.* // *Curr. Opin. Genet. Develop.* 1998. V. 8. P. 571–575.
11. *Janowski B.A., Grogan M.J., Jones S.A., Wisely G.B., Kliewer S.A., Corey E.J., Mangelsdorf D.J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. V. 96. P. 266–271.
12. *Spencer T.A., Li D., Russell J.S., Collins J.L., Bledsoe R.K., Consler T.J., Moore L.B., Gallard C.M., McKee D.D., Moore J.T., Watson M.A., Parks D.D., Lambert M.H., Wilson T.M.* // *J. Med. Chem.* 2001. V. 44. P. 886–897.
13. *Russell D.W.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. V. 1529. P. 126–135.
14. *Javitt N.B.* // *J. Lipid Res.* 2002. V. 43. P. 665–670.
15. *Björkhem I.* // *J. Clin. Invest.* 2002. V. 110. P. 725–730.
16. *Zhang Y., Yu C., Spencer T.A., Chang C., Chang T.-Y.* // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 11642–11647.
17. *DeBose-Boyd R.A., Ou J., Goldstein J.L., Brown M.S.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. P. 1477–1482.
18. *Janowski B.A.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. P. 12675–12680.
19. *Sever N., Song B.-L., Yabe D., Goldstein J.L., Brown M.S., DeBose-Boyd R.A.* // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 52479–52490.
20. *Björkhem I.* // *J. Lipid Res.* 1992. V. 33. P. 455–471.
21. *Gibbons G.F.* // *Lipids.* 2002. V. 37. P. 1163–1170.
22. *Pandak W.M., Schwarz C., Hylemon P.B., Mallonee D., Valerie K., Heuman D.M., Fisher R.A., Redford K., Vlahcevic Z.R.* // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2001. V. 281. P. 878–889.
23. *Пуйр Е.А., Игнатов Д.В., Медведева Н.В., Мушарин А.Ю.* // *Биоорг. химия.* 2003. Т. 29. С. 648–654.
24. *Piatak D.M., Wicha J.* // *Chem. Rev.* 1978. V. 78. P. 199–241.
25. *Jones J.Br., Baskevitch N.* // *Steroids.* 1973. V. 22. P. 525–531.
26. *Fieser L.F., Fieser M.* *Natural Products Related to Phenanthrene.* 3rd ed. N.Y.: Reinhold Publishing Corp., 1949. P. 256.
27. *Marshall C.W., Ray R.E., Laos J., Riegel B.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. V. 79. P. 6308–6313.
28. *Vijaykumar V., Schmitt G., Amann A., Ji Y.H., Ourisson G., Luu B.* // *Colloque INSERM.* 1988. V. 166. P. 295–300.
29. *Bascoul J., Domergue N., Olle M., Crastes de Paulet A.* // *Lipids.* 1986. V. 21. P. 383–387.

## 22,23-Epoxides of Sitosterol and Related 7-Oxygenated $\Delta^5$ -Sterols

G. Yu. Flegentov\*, Ya. V. Tkachev\*\*, E. A. Piir\*,  
A. P. Pleskova\*\*\*, V. P. Timofeev\*\*, and A. Yu. Misharin\*\*

\*Phone: +7 (095) 246-3375; e-mail: alexander.misharin@ibmc.msk.ru

\*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences,  
Pogodinskaya ul. 10, Moscow, 119992 Russia

\*\*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,  
ul. Vavilova 32, Moscow, 117984 Russia

\*\*\*Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences,  
ul. Vavilova 28, Moscow, 117813 Russia

(22S,23S)-22,23-Epoxysitosterol, (22R,23R)-22,23-epoxysitosterol, (22S,23S)-22,23-epoxy-7-ketositosterol, (22R,23R)-22,23-epoxy-7-ketositosterol, (22S,23S)-22,23-epoxy-7 $\alpha$ -hydroxysitosterol, (22R,23R)-22,23-epoxy-7 $\alpha$ -hydroxysitosterol, (22S,23S)-22,23-epoxy-7 $\beta$ -hydroxysitosterol, and (22R,23R)-22,23-epoxy-7 $\beta$ -hydroxysitosterol were synthesized. Their <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR and the mass spectra of their trimethylsilyl derivatives were studied. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 5; see also <http://www.maik.ru>.

*Key words:* oxysterols, phytosterols, synthesis