



УДК 612.391.81.35

## СТЕРИЛЦЕЛЛОЗОЛЬВЫ – РЕГУЛЯТОРЫ МЕТАБОЛИЗМА ХОЛЕСТЕРИНА В ИЗОЛИРОВАННЫХ ГЕПАТОЦИТАХ КРОЛИКА

© 1996 г. А. В. Малюгин, А. Я. Штейншнейдер, В. А. Косых, К. Алки\*, Ю. Лафонт\*, А. Ю. Мишарин#

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

\*Лаборатория транспорта липидов (INSERM-U130), Марсель, Франция

Поступила в редакцию 05.12.95 г.

Синтезированы 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)холест-5-ен, 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)холест-5-ен-7-он, 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)-7 $\beta$ -гидроксихолест-5-ен, 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -эпоксихолестан, 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -дигидроксихолестан, которые ингибировали биосинтез холестерина в культуре гепатоцитов кролика ( $ID_{50}$   $5.5(\pm 0.7) \times 10^{-8}$ – $1.3(\pm 0.2) \times 10^{-5}$  М). Подавление биосинтеза холестерина в клетке под воздействием указанных соединений сопровождалось заметным ингибированием биосинтеза белка.

*Ключевые слова:* синтетические стеринны, оксистеролы, биосинтез холестерина, первичная культура гепатоцитов кролика.

Биологическая активность продуктов автоокисления холестерина неоднократно обсуждалась в монографиях и обзорах [1–4]. Такие соединения, как  $\alpha$ - и  $\beta$ -5,6-эпоксихолестаны, 7-кетохолестерин, 7 $\alpha$ - и 7 $\beta$ -гидроксихолестерины, 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -холестантриол, 25- и 26-гидроксихолестерины, являются ингибиторами биосинтеза холестерина в культуре клеток. Для них характерны также цитотоксичность и ингибирование биосинтеза белка [1, 2, 5, 6]. Известно, что сильное ингибирование синтеза белка 7 $\beta$ -гидроксихолестерином в клетках гепатобластомы, независимое от влияния на синтез холестерина, обеспечивает противоопухолевую активность этого соединения [7, 8]. Не исключено, что цитотоксическое действие стериннов, имеющих кислородсодержащий заместитель в кольце В, в значительной степени обусловлено продуктами их метаболической трансформации в 4-холестен-3-он, 3,6-холестадион, 3,7-холестадион и родственные соединения, содержащие кетогруппу в положении 3, цитотоксический эффект которых значительно превосходит эффект основных продуктов автоокисления холестерина [1, 7, 9].

В предыдущем сообщении [10] мы показали, что 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)холест-5-ен (I) в противоположность холестерину ингибирует биосинтез холестерина в культуре гепатоцитов кролика. Полагая, что биологическая активность 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)-замещенных стериннов в клетках печени зависит от особенностей их метаболизма (в частности, от невозможности превращения в 3-кетопроизводные), в данной работе мы синте-

зировали 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)-замещенные аналоги основных продуктов автоокисления холестерина и исследовали их влияние на биосинтез холестерина в гепатоцитах кролика. Поскольку 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)-замещенные стеринны формально являются простыми моноэфирными этиленгликоля, для которых широко используется тривиальное название “целлозольвы”, для стерильных простых эфиров этиленгликоля использовано название “стерилцеллозольвы”.

Для получения стерилцеллозольвов (IV)–(VII) из соединения (I) использованы известные синтетические пути превращения холестерина в соответствующие 3 $\beta$ -стеринны с кислородсодержащими заместителями в кольце В [11–13].

При аллильном окислении ацетата (II) бихроматом натрия в смеси уксусной кислоты и уксусного ангидрида (40°C, 48 ч) выход кетона (III) был ниже (42%), чем при окислении в тех же условиях холестерилацетата (~70%). Кетостерол (IV) был получен щелочным гидролизом ацетата (III).

Восстановление ацетата (III) алюмогидридом лития проводили в кипящем эфире или тетрагидрофуране. <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопия неочищенной реакционной смеси показала наличие двух продуктов восстановления. В спектре основного продукта сигнал H-6 представлял собой дублет дублетов при 5.28 м. д. ( $J_{4,6} = J_{6,7\alpha} = 2.13$  Гц), что характерно для 7 $\beta$ -гидроксистериннов; в спектре минорного продукта – дублет дублетов при 5.65 м. д. ( $J_{4,6} = 2.13$  Гц,  $J_{6,7\beta} = 5.60$  Гц). Как значения химического сдвига H-6, так и значения констант КССВ практически полностью совпадали с теми же характеристиками

# Автор для переписки.

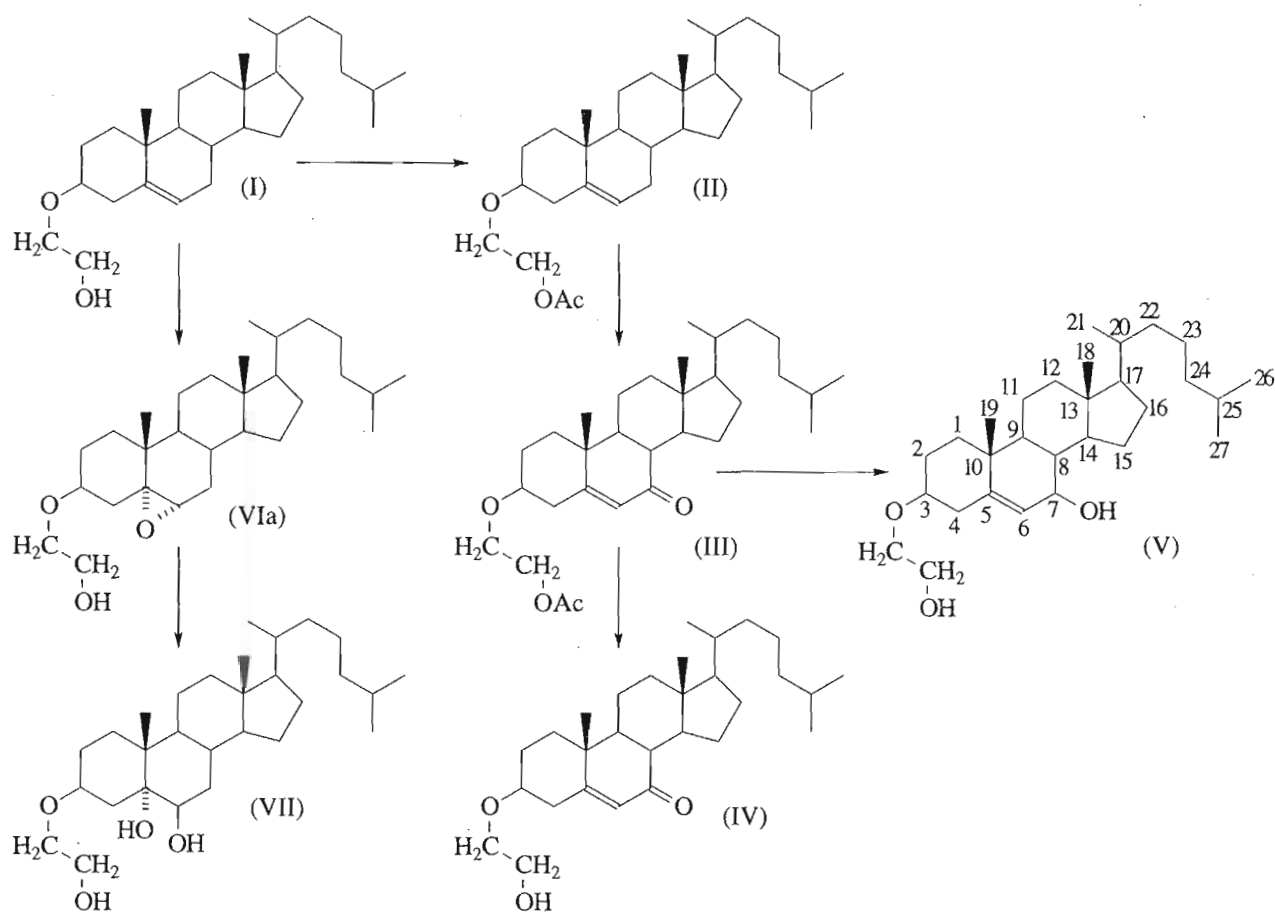


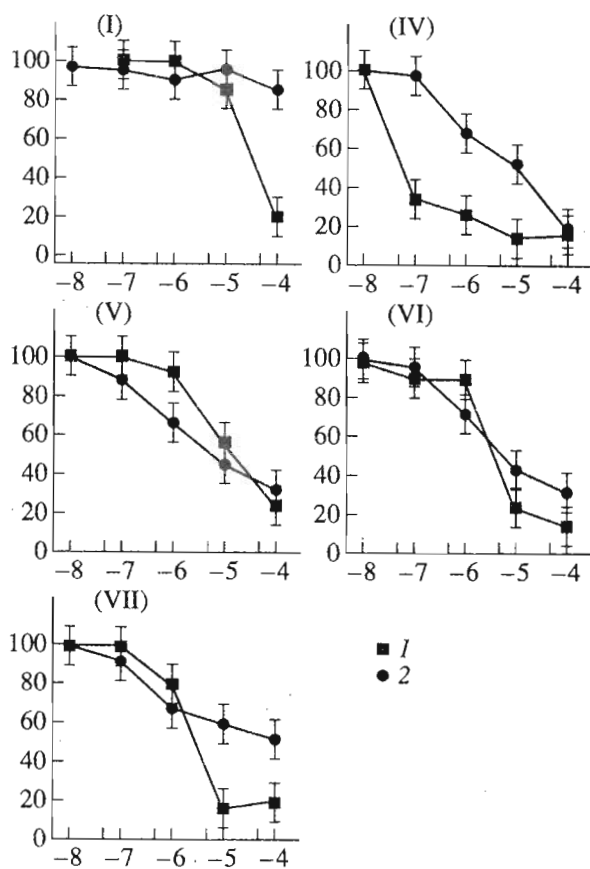
Схема.

для 7 $\alpha$ - и 7 $\beta$ -гидроксихолестерин, ранее полученных стереоспецифическим восстановлением ацетата 7-кетохолестерина с последующим дезацетилированием [14]. Чистый 7 $\beta$ -изомер (V) был выделен двукратной перекристаллизацией с выходом 76%.

Окисление холестерилцеллозольва (I) *m*-хлорнадбензойной кислотой дало смесь 5,6-эпоксидов (VI) с выходом 95%. В <sup>1</sup>H-ЯМР-спектре выделенной смеси присутствовали дублеты 2.88 м. д. ( $J_{6\beta,7\beta} = 4.5$  Гц) и 3.04 м. д. ( $J_{6\alpha,7\beta} = 2.7$  Гц); соотношение интенсивностей сигналов 89 : 11. ЯМР-спектры эпитерных 5,6-эпоксихолестанов детально изучены [15]. Большое значение константы КССВ свидетельствует об  $\alpha$ -конфигурации главного продукта. В отличие от эпитерных 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ - и 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -эпоксихолестанов продукты окисления холестерилцеллозольва (I) *m*-хлорнадбензойной кислотой не разделялись кристаллизацией. Разделение изомеров методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектором было затруднительным в связи с низким поглощением эпоксидов при 209 нм. Высокоэффективная тонкослойная хроматография продуктов в хлороформе (при трех прогонах растворителя) дала удовлетворительное разделение. Для

получения аналитического образца 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтоксиг)-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -эпоксихолестана (VIa) смесь эпоксидов хроматографировали на колонке (1 × 60 см) с силикагелем в хлороформе. Разделение не было полным, однако из 150 мг смеси было выделено 70 мг  $\alpha$ -эпоксида, не содержащего  $\beta$ -эпитера.

При окислении холестерина надмуравьиной кислотой [12], как известно, образуется 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -холестантриол; промежуточно образующийся 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -эпоксихолестан быстро гидролизует в водной муравьиной кислоте. Однако при обработке холестерилцеллозольва (I) надмуравьиной кислотой в тех же условиях главным продуктом был эпоксид (VIa). Смесь 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ - и 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -эпоксидов (соотношение 86 : 14, по данным <sup>1</sup>H-ЯМР) была выделена из реакционной смеси с выходом 78%. Оксирановый цикл соединения (VI) был устойчив в водной муравьиной кислоте.  $\alpha$ -Эпоксид (VIa) гидролизировали хлорной кислотой в водном диоксане, что, естественно, приводило к *транс*-раскрытию оксиранового цикла. Сигнал Н-6 (3.52 м. д., триплет, уширенный взаимодействием с гидроксильной группой,  $J_{6,7} = J_{6,7'} = 2.7$  Гц) в спектре продукта (VII) близок к сигналу Н-6 $\alpha$  в спектре 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -



Влияние стерилцеллозольвов (I), (IV)–(VII) на скорость биосинтеза холестерина (1) и белка (2) в первичной культуре гепатоцитов кролика. По оси ординат – включение радиоактивности (% от контроля), по оси абсцисс – логарифм концентрации соответствующего стерола [M] (представлены средние значения  $M \pm S.E.$  ( $n = 3$ )). Контрольные значения (100%, в отсутствие соединений) составляли: для синтеза холестерина – 428 100 расп./мин мг клеточного белка, для синтеза белка – 618 000 расп./мин мг клеточного белка).

холестантриола (3.51 м. д., уширенный триплет,  $J_{6\alpha,7} = J_{6\alpha,7'} = 2.7$  Гц), но не к сигналу H-6 $\beta$  в спектре 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -холестантриола, синтезированного по [16] (3.63 м. д., дублет дублетов, уширенный взаимо-

Ингибирование биосинтеза холестерина в гепатоцитах кролика соединениями (I), (IV)–(VIII) при 3-часовой преинкубации

Соединение	ID <sub>50</sub> , M
(I)	$3.4 (\pm 0.7) \times 10^{-5}$ *
(IV)	$5.5 (\pm 0.7) \times 10^{-8}$
(V)	$1.3 (\pm 0.2) \times 10^{-5}$
(VI)	$4.5 (\pm 0.7) \times 10^{-6}$
(VII)	$2.8 (\pm 0.4) \times 10^{-6}$

\* Значение получено при 24-часовой инкубации клеток с соединением (I).

действием с гидроксильной группой,  $J_{6\beta,7\alpha} = 8.7$  Гц,  $J_{6\beta,7\beta} = 2.7$  Гц); химический сдвиг 19-CH<sub>3</sub>-группы триола (VII) (1.168 м. д.) характерен для стериннов с 6 $\beta$ -кислородсодержащим заместителем [17].

Спектры <sup>13</sup>C-ЯМР и масс-спектры стерилцеллозольвов будут опубликованы в отдельном сообщении.

Полагая, что биологическая активность стерилцеллозольвов (I), (IV)–(VII) зависит как от заместителей в стеринновом цикле, так и от наличия 3 $\beta$ -(2-гидроксиэтокси)-фрагмента, мы исследовали влияние соединений (I), (IV)–(VII) на скорости биосинтеза холестерина и общего белка в первичной культуре гепатоцитов кролика. Поскольку гепатоциты являются высокодифференцированной культурой, синтезирующей в основном экскретируемые белки, скорость синтеза белка из меченых аминокислот служит характеристикой функционирования клеток в культуре.

В отличие от холестерилцеллозола (I), не влияющего на скорость синтеза холестерина при 3-часовой преинкубации [10], соединения (IV)–(VII) оказались эффективными ингибиторами биосинтеза холестерина из [<sup>14</sup>C]ацетата при краткосрочной (3 ч) и 24-часовой преинкубации с клетками (см. рисунок и таблицу). Ингибирование зависело от концентрации исследуемых соединений в инкубационной среде (см. рисунок). Значения ID<sub>50</sub> (концентрации, вызывающие 50% ингибирования) приведены в таблице.

Ни одно из соединений (I), (IV)–(VII) не снижало жизнеспособности клеток в условиях эксперимента, однако было замечено подавление синтеза общего клеточного белка (см. рисунок). 3 $\beta$ -(2-Гидроксиэтокси)холест-5-ен (I), а также некоторые его производные ингибировали секрецию аполипопротеинов В и Е в изолированных гепатоцитах нормальных и гиперхолестеринемических кроликов [18, 19].

Полученные данные свидетельствуют, что новые стерилцеллозола (I), (IV)–(VII) обладают значительной способностью подавлять синтез холестерина в клетках печени и могут рассматриваться как эффективные ингибиторы биосинтеза холестерина.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

<sup>1</sup>H-ЯМР-спектры записаны на приборе Bruker WM 500 в дейтерохлороформе. В качестве внутреннего стандарта использовался сигнал CHCl<sub>3</sub> в CDCl<sub>3</sub> ( $\delta$  7.24 от Me<sub>4</sub>Si). Приведены значения химических сдвигов ( $\delta$ , м. д.) и констант косвенного спин-спинового взаимодействия ( $J$ , Гц). УФ-спектры записаны на приборе Yapano UO 2000 в этаноле. Хроматографические методы, методы культивирования гепатоцитов кролика, измерение скорости биосинтеза холестерина в культуре гепатоцитов и

синтез  $\beta$ -(2-гидроксиэтокс)холест-5-ена (I) описаны в предыдущем сообщении [10].

**$\beta$ -(2-Ацетоксиэтокс)холест-5-ен (II).** К раствору 1.30 г (3.0 ммоль) соединения (I) в 10 мл абс. пиридина прибавляли 5 мл уксусного ангидрида, смесь перемешивали 2 ч при комнатной температуре, затем охлаждали до 0°C, прибавляли 10 мл абс. этанола, перемешивали 1 ч при комнатной температуре, упаривали в вакууме, остаток растворяли в 50 мл бензола, бензольный раствор последовательно промывали 20 мл воды, 20 мл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$ , 20 мл 5%  $\text{HCl}$ , 20 мл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$ , 20 мл воды, упаривали, продукт в виде бесцветной пленки сушили в вакууме. Выход 1.32 г (3.0 ммоль, количественный).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.666 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -18); 0.850 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.855 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.907 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ -21); 0.991 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 2.071 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ); 3.174 (м, 1H, H-3); 3.663 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 4.188 (м, 2H,  $\text{COOCH}_2$ ); 5.338 (м, 1H, H-6).

**$\beta$ -(2-Ацетоксиэтокс)холест-5-ен-7-он (III).** Смесь 1.32 г (3.0 ммоль) соединения (II), 2 г  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , 5 мл ледяной уксусной кислоты, 5 мл уксусного ангидрида перемешивали 48 ч при 40°C, прибавляли насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  до прекращения выделения газа, экстрагировали хлороформом (5 × 50 мл), хлороформный экстракт сушили, упаривали. Остаток растворяли в 30 мл этилацетата, кипятили 5 мин с активированным углем, упаривали, хроматографировали на колонке (2.5 × 18 см) с силикагелем L 40/100 (Chemapol) в системе гексан–ацетон (5 : 1) с последующей очисткой препаративной ТСХ на пластинке PSC Kieselgel F-254 (Merck) в той же системе. Выход хроматографически гомогенного продукта (III) составил 0.61 г (42%). Т. пл. 84–86°C (из смеси метанол–ацетон).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.670 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -18); 0.849 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.854 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.910 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ -21); 1.179 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 2.076 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ); 3.307 (м, 1H, H-3); 3.683 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 4.198 (м, 2H,  $\text{COOCH}_2$ ); 5.679 (с, 1H, H-6).

**$\beta$ -(2-Гидроксиэтокс)холест-5-ен-7-он (IV).** Смесь 200 мг (0.41 ммоль) соединения (III), 5 мл диоксана, 5 мл метанола и 5 мл 2 н. водного  $\text{NaOH}$  перемешивали 30 мин, прибавляли 15 мл воды, нейтрализовали 5%  $\text{HCl}$ , экстрагировали эфиром (3 × 30 мл), сушили, упаривали. Продукт кристаллизуется при стоянии. Найдено (%): C 78.35; H 10.70. Вычислено для  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_3$  (%): C 78.38; H 10.81. Выход 147 мг (0.33 ммоль, 80%). Т. пл. 121–123°C (из смеси ацетон–гексан). УФ-спектр:  $\lambda_{\text{max}}$  247 нм ( $\epsilon$  8900, в этаноле).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.671 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -18); 0.849 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.853 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.910 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ -21); 1.182 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 3.327 (м, 1H, H-3);

3.596 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 3.724 (м, 2H,  $\text{HOCH}_2$ ); 5.681 (с, 1H, H-6).

**$\beta$ -(2-Гидроксиэтокс)-7 $\beta$ -гидроксихолест-5-ен (V).** К суспензии 150 мг алюмогидрида лития в 10 мл диэтилового эфира прибавляли раствор 200 мг (0.41 ммоль) соединения (III) в 4 мл абс. эфира. Смесь перемешивали 2 ч при комнатной температуре, затем кипятили 4 ч, охлаждали, избыток алюмогидрида разлагали водой, продукт экстрагировали эфиром, упаривали, остаток дважды перекристаллизовывали из ацетона. Найдено (%): C 77.90; H 11.10. Вычислено для  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_3$  (%): C 78.03; H 11.21. Выход 138 мг (0.31 ммоль, 76%). Т. пл. 160°C (из ацетона).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.669 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -18); 0.854 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.860 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.910 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ -21); 1.050 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 2.220 (м, 1H, H-4'); 2.421 (м, 1H, H-4''); 3.325 (м, 1H, H-3); 3.590 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{OC}$ ); 3.712 (м, 2H,  $\text{HOCH}_2$ ); 3.830 (дд,  $J_{6,7}$  2.13, 1H, H-7); 5.288 (т,  $J_{6,7}$  2.13,  $J_{6,4''}$  2.13, 1H, H-6).

**$\beta$ -(2-Гидроксиэтокс)-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -эпоксихолестан (VIa).** К раствору 430 мг (1.0 ммоль) соединения (I) в 4 мл хлороформа при охлаждении прибавляли 300 мг *m*-хлорнадбензойной кислоты, смесь выдерживали 15 мин при комнатной температуре, разбавляли 15 мл хлороформа. Хлороформный раствор последовательно промывали насыщенными растворами  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , водой, сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , упаривали, остаток кристаллизовали из смеси ацетон–вода (85 : 15). Продукт, по данным ЯМР, представлял собой смесь  $\alpha$ - и  $\beta$ -эпоксидов в соотношении 89 : 11. Выход смеси изомеров (VI) составил 430 мг (0.95 ммоль, 95%). Для выделения  $\alpha$ -эпоксида (VIa) 150 мг смеси хроматографировали на колонке (1.0 × 60 см) с силикагелем L 40/100 (Chemapol) в хлороформе. Выделено 70 мг хроматографически гомогенного  $\alpha$ -эпоксида (VIa) с т. пл. 86°C (ацетон–вода, 4 : 1). Найдено (%): C 78.00; H 11.19. Вычислено для  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_3$  (%): C 78.03; H 11.21.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.592 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -18); 0.839 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.844 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.871 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ -21); 1.038 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 2.880 (д, 1H,  $J_{6,7}$  4.5, H-6); 3.542 (м,  $\text{COCH}_2$ ); 3.549 (м, 1H, H-3); 3.679 (ш. т, 2H,  $\text{HOCH}_2$ ).

**$\beta$ -(2-Гидроксиэтокс)-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -дигидроксихолестан (VII).** К раствору 450 мг (1.0 ммоль) смеси  $\alpha$ - и  $\beta$ -эпоксидов (VI) в 9 мл диоксана прибавляли 500 мкл воды и 500 мкл конц. хлорной кислоты, смесь перемешивали 6 ч, нейтрализовали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , экстрагировали хлороформом (5 × 20 мл), хлороформный раствор промывали насыщенным раствором  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , сушили, упаривали, остаток кристаллизовали из смеси ацетон–вода, затем из смеси ацетон–гексан. Найдено (%): C 74.82; H 11.18. Вычислено для  $\text{C}_{29}\text{H}_{52}\text{O}_4$  (%): C 75.00; H 11.21. Выход 380 мг (0.82 ммоль, 82%). Т. пл. 178°C (из смеси ацетон–

гексан).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр: 0.666 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -18); 0.847 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.852 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ C-25); 0.892 (д, 3H, J 6.6,  $\text{CH}_3$ -21); 1.168 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 3.525 (т, J 6.7, 2H,  $\text{HOCH}_2$ ); 3.350–3.500 (м, 4H, H3, H6,  $\text{COCH}_2$ ).

**Уровень биосинтеза белка** в первичной культуре гепатоцитов кролика измеряли по методу [20]. Гепатоциты инкубировали с исследуемыми соединениями, как описано ранее [10], промывали средой Игла и инкубировали 6 ч в свежей среде Игла, содержащей [ $^{14}\text{C}$ ]лейцин (10 мкКи/мл). Клетки трижды промывали 0.1 М фосфатным буфером (рН 7.4), экстрагировали 6% водной трихлоруксусной кислотой (2 × 1 мл). Клеточный остаток растворяли в 0.1 н. NaOH и аликвоты использовали для измерения радиоактивности и определения количества белка по методу Лоури. Уровень биосинтеза белка за 3 ч инкубации рассчитывали, исходя из включения радиоактивной метки и нормируя на клеточный белок, и выражали в виде расп./(мин мг клеточного белка). Уровень биосинтеза белка в отсутствие исследуемых соединений принимали за 100%.

Авторы благодарны Российскому фонду фундаментальных исследований (код № 95-04-12165), Национальной программе "Атеросклероз" (проект № 221) и Национальному институту здравоохранения и медицинских исследований Франции (INSERM) (проект № 94-EO-04) за финансовую поддержку.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Smith L.L.* Cholesterol Autooxidation. N.Y.: Plenum Press, 1981.
2. *Smith L.L., Johnson B.H.* // Free Radicals Biol. Med. 1989. V. 7. P. 285–332.
3. *Smith L.L.* // Chem. Phys. Lipids. 1987. V. 44. P. 87–125.
4. *Peng S.K., Taylor C.B.* // World Rev. Nutr. Diet. 1984. V. 44. P. 117–154.
5. *Taylor C.B., Peng S.K.* // J. Am. Oil Chem. Soc. 1985. V. 62. Abstr. 633.
6. *Chen H.W.* // Fed. Proc. 1984. V. 43. P. 126–130.
7. *Koch P., Luu B., Beck J.-P., Ourisson G.* // Bull. Soc. Chim. Fr. 1985. P. 779–782.
8. *Hietter H., Bischoff P., Beck J.-P., Ourisson G., Luu B.* // Cancer Biochem. Biophys. 1986. V. 9. P. 75–83.
9. *Highley N.A., Taylor S.L.* // Food Chem. Toxicol. 1984. V. 22. P. 983–992.
10. *Малюгин А.В., Новиков Д.К., Косых В.А., Косенков Е.И., Медведева Н.В., Валентинова Н.В., Штейншнейдер А.Я., Мишарин А.Ю.* // Биоорганическая химия. 1996. Т. 22. С. 541–547.
11. *Marshall C.W., Ray R.E., Laos J., Riegel B.* // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. P. 6308–6313.
12. *Fieser L.F., Rajagopalan S.* // J. Am. Chem. Soc. 1949. V. 71. P. 3938–3941.
13. *Физер Л., Физер М.* Реагенты для органического синтеза. Т. 4. М.: Мир, 1971. С. 139.
14. *Vijaykumar, Schmitt G., Amann A., Ji Y.H., Ourisson G., Luu B.* // Biological Activities of Oxygenated Sterols. V. 166 / Eds J.P. Beck, A. Crastes de Paulet. Colloque INSERM, 1988. P. 295–300.
15. *Бхакка Н., Уильямс Д.* Применение ЯМР в органической химии. Примеры из химии стероидов. М.: Мир, 1966. С. 85–140.
16. *Baran J.S.* // J. Org. Chem. 1960. V. 25. P. 257–261.
17. *Zurcher R.F.* // Helv. Chim. Acta. 1963. V. 46. P. 3207–3215.
18. *Malugin A.V., Medvedeva N.V., Abramov V.V., Misharin A.Yu.* // Atherosclerosis. 1994. V. 109. P. 197.
19. *Мамбетисаева Э.Т., Косых В.А., Мишарин А.Ю., Косенков Е.И., Подрез Е.А., Пенин В.С.* // Биохимия. 1993. Т. 58. С. 1126–1132.
20. *Kändutsch A.A., Chen H.W.* // J. Biol. Chem. 1974. V. 249. P. 6057–6061.

## Steryl Cellosolves Regulate Cholesterol Metabolism in Isolated Rabbit Hepatocytes

A. V. Malyugin\*, A. Ya. Shteinshneider\*, V. A. Kosykh\*,  
Ch. Alquier\*\*, H. Lafont\*\*, and A. Yu. Misharin\*

\*Cardiological Scientific Center, Institute of Experimental Cardiology, Russian Academy of Medical Sciences, Tre'tya Cherepkovskaya ul. 15a, Moscow, 121552 Russia

\*\*Lipid Transport Laboratory (INSERM-U130), Marseilles, France

**Abstract**—Synthesis of 3 $\beta$ -(2-hydroxyethoxy)cholest-5-ene, 3 $\beta$ -(2-hydroxyethoxy)cholest-5-en-7-one, 3 $\beta$ -(2-hydroxyethoxy)-7 $\beta$ -hydroxycholest-5-ene, 3 $\beta$ -(2-hydroxyethoxy)-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxycholestane, and 3 $\beta$ -(2-hydroxyethoxy)-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihydroxycholestane was described. Substances obtained inhibited cholesterol biosynthesis in the rabbit hepatocyte cell culture with ID<sub>50</sub> from 5.5(±0.7) × 10<sup>-8</sup> to 1.3(±0.2) × 10<sup>-5</sup> M and also to a remarkable extent the cell protein biosynthesis.

**Key words:** synthetic sterols, oxysterols, cholesterol biosynthesis, primary cell culture of rabbit hepatocytes.