



УДК 612.391.81.35

ПАЛЬМИТАТЫ ИЗОМЕРНЫХ 15-ОКСИГЕНИРОВАННЫХ $\Delta 8(14)$ -СТЕРИНОВ

© 2004 г. Д. В. Игнатов*, Ю. И. Прокофьев*, В. П. Тимофеев**, А. Ю. Мишарин*#

*Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича
РАМН, Москва, 119992, Погодинская ул., 10;**Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
Поступила в редакцию 28.10.2002 г. Принята к печати 10.02.2003 г.

Синтезированы 3β -гексадеканоилокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен-15-он, 3α -гексадеканоилокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен-15-он, 15β -гексадеканоилокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен- 3β -ол, 15α -гексадеканоилокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен- 3β -ол, 15β -гексадеканоилокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен-3-он и 15α -гексадеканоилокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен-3-он. Приведены хроматографические характеристики и данные спектров ^1H -ЯМР полученных соединений.

Ключевые слова: ацильные производные стеринов, оксистерины.

ВВЕДЕНИЕ

15-Оксигенированные производные холестерина и ланостерина проявляют широкий спектр биологической активности в культивируемых клетках и обладают гипохолестеринемическими и антиатерогенными свойствами в организме млекопитающих [1]. Известно, что 3β -гидрокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен-15-он [15-кетостерин (**I**)] образует ацильные производные в плазме крови и в клетках млекопитающих [2–6]. При введении с кормом 15-кетостерина (**I**) его ацильные производные были идентифицированы в составе хиломикрон подопытных животных [5]. Ацильные производные (наряду с полярными метаболитами) образуются при инкубации $\Delta 8(14)$,15-кетостерин с культурами клеток [7–12]. 15-Кетостерилловые эфиры, содержащие остатки различных карбоновых кислот, были получены ацилированием кетостерина (**I**) [13, 14]. В работах [4, 15] было найдено, что токсический эффект 15-кетостериллата и его способность подавлять активность НМГ-СоА-редуктазы в клетках СНО К1 определяются скоростью внутриклеточного гидролиза эфира и образования свободного кетостерина (**I**).

Можно предположить, что ацилирование свободной гидроксильной группы биологически активного оксистерина остатком жирной кислоты, существенно увеличивающее гидрофобность мо-

лекулы, должно способствовать связыванию производного оксистерина с клеткой и влиять на процессы его интернализации и последующего внутриклеточного метаболизма. Вследствие этого получение ацильных производных 15-оксигенированных $\Delta 8(14)$ -стеринов, различающихся положением и конфигурацией заместителей, а также исследование их биологической активности и метаболизма в клетках печени представляют известный интерес. Целью данного сообщения является химический синтез и характеристика пальмитоильных производных изомерных 15-оксигенированных $\Delta 8(14)$ -стеринов (**II**), (**IV**), (**VIII**), (**IX**), (**XV**), (**XVI**) (схемы 1 и 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ацилирование 15-кетостерина (**I**) пальмитиновой кислотой в присутствии TPS и DMAP или *N*-метилимидазола по методу [14] приводило к пальмитату (**II**) (схема 1) с выходами 75–85%. Для получения 3α -пальмитоилокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен-15-она (**IV**) 15-кетостерин (**I**) обрабатывали MsCl в пиридине, а затем 3β -мезилат (**III**) превращали в 3α -пальмитат (**IV**) реакцией с пальмитатом цезия [16, 17]. Проведение реакции в DMF [16] дало лучший результат (выход 72% при кипячении в течение 40 мин) по сравнению с модифицированной методикой [17] [после 12 ч кипячения с избытком пальмитата цезия в толуоле в присутствии 0.5 экв. DMAP прореагировало лишь 15% мезилата (**III**)]. Щелочной гидролиз пальмитата (**IV**) приводил к описанному ранее [18] 3α -гидрокси- 5α -холест- $8(14)$ -ен-15-ону, что однозначно подтверждало 3α -конфигурацию соединения (**IV**).

Сокращения: CPBA – *m*-хлорнадбензойная кислота; DMAP – *N,N*-диметиламинопиридин; DMF – диметилформамид; НМГ-СоА – гидроксиметилглутарил коэнзим А; НМРТА – гексаметилфосфотриамид; Ms – мезил(метансульфонил); Palm – пальмитоил (гексадеканоил); TPS – 2,4,6-триизопропилбензолсульфонилхлорид; Tr – тритил (трифенилметил).

Автор для переписки (эл. почта: misharin@ibmh.msk.su).

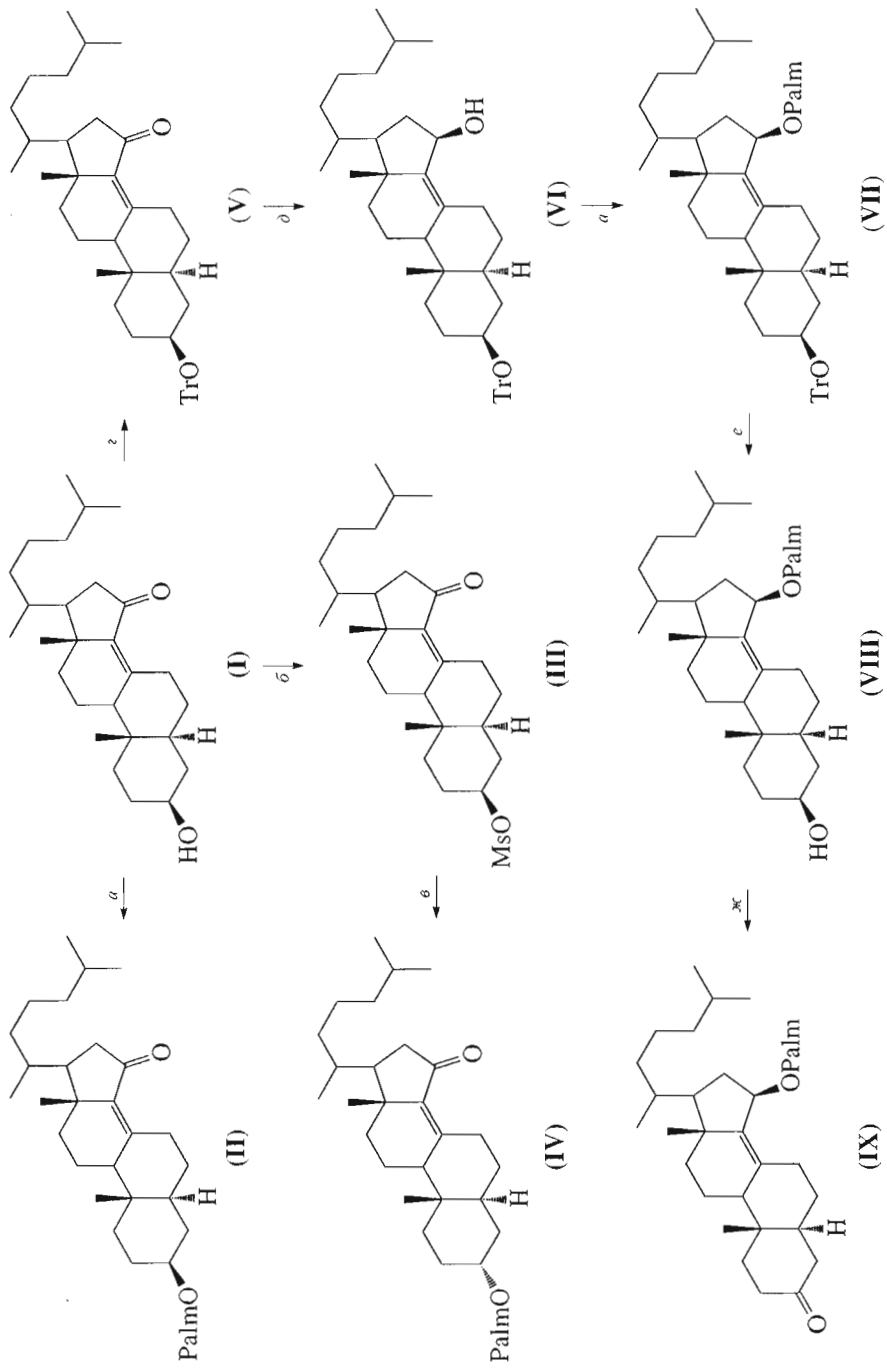


Схема 1. *a*) CH₃(CH₂)₁₄COOH, TPS, *N*-метилпиперазин/толуол; *b*) MsCl/Py; *c*) CH₃(CH₂)₁₄COOCs/DMF; *d*) TrCl/Py; *e*) 90% HCOOH; *ж*) CCl₄/Py/CH₂Cl₂.

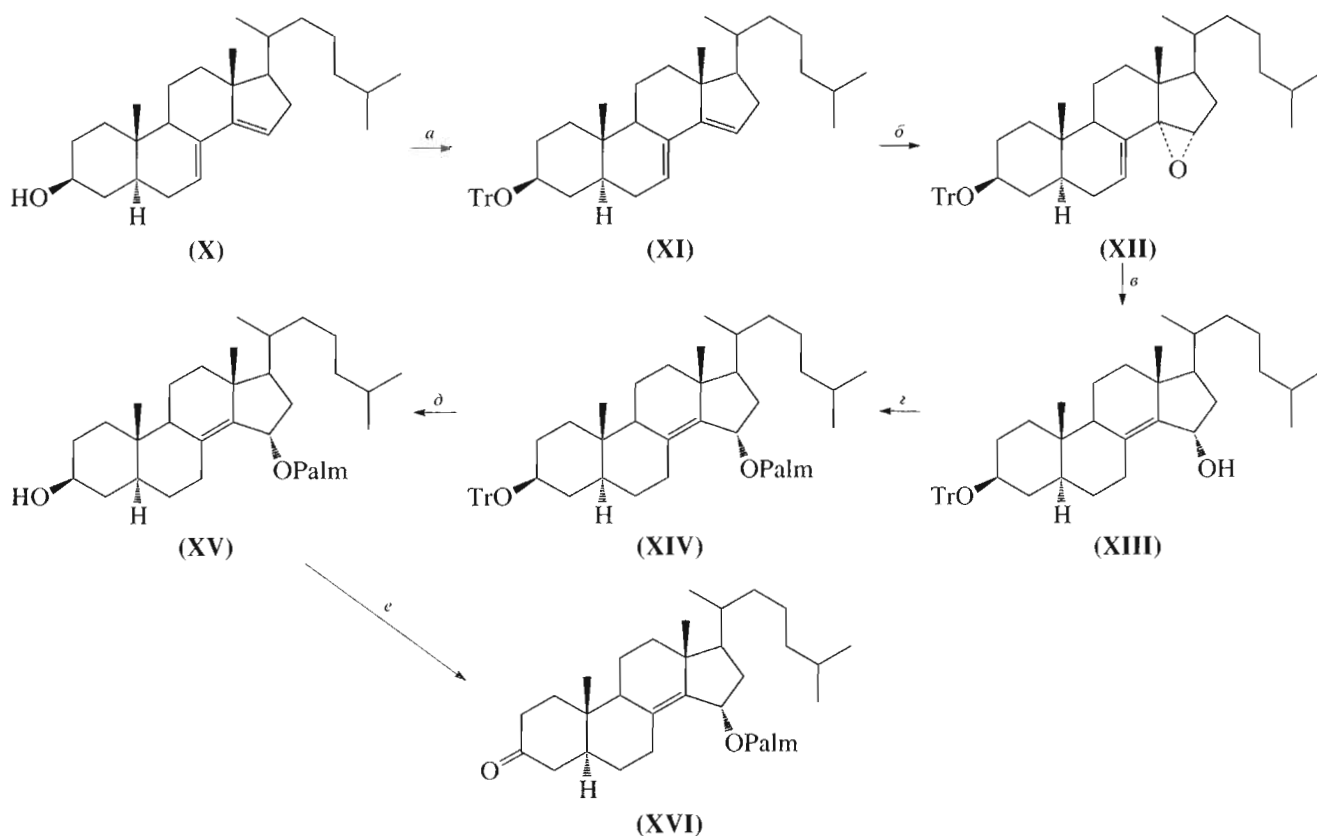


Схема 2. *a)* TrCl/Py; *b)* CPBA, NaHCO₃/Et₂O; *c)* LiAlH₄/Et₂O; *d)* CH₃(CH₂)₁₄COOH, TPS, *N*-метилимидазол/толуол; *e)* 90% HCOOH; *e)* CrO₃-Py/CH₂Cl₂.

Следующей задачей было введение остатка пальмитиновой кислоты в положение 15β. Для этого гидроксильную группу кетостерина (**I**) сначала защищали тритилированием: тритилированный кетостерин (**V**) был получен с выходом 75% обработкой кетостерина (**I**) избытком TrCl в кипящем пиридине. Восстановление кетогруппы в тритилированном стерине (**V**) LiAlH₄, как было показано нами ранее [19], проходило стереоспецифично и с количественным выходом приводило к тритильному производному Δ8(14),15β-гидроксистерина (**VI**). Ацилирование соединения (**VI**) пальмитиновой кислотой в присутствии TPS и *N*-метилимидазола [14] дало соответствующий пальмитат (**VII**) с выходом 74%. Удаление тритильной группы из соединения (**VII**) приводило к 15β-пальмитату 3β-стерина (**VIII**) с выходом 66% в расчете на исходное соединение (**VI**).

Для получения 15α-пальмитилокси-5α-холест-8(14)-ен-3β-ола мы изначально планировали использовать S_N2-замещение 15β-мезилоксигруппы в 3β-тритилокси-15β-мезилокси-5α-холест-8(14)-ене на пальмитилоксигруппу. 3β-Тритилокси-15β-мезилокси-5α-холест-8(14)-ен был действительно получен из соединения (**VI**) с 79% выходом [¹H-ЯМР-спектр: 0.695 (3 H, с, H18), 0.795 (6 H, д, J 6.6,

H26, H27), 0.927 (3 H, д, J 6.6, H21), 0.965 (3 H, с, H19), 3.341 (1 H, м, H3), 3.350 (3 H, с, CH₃S), 6.397 (1 H, м, H15), 7.180–7.550 (15 H, м, тритил)]. Однако при нагревании в DMF или НМРТА он быстро давал продукт элиминирования мезилоксигруппы и с количественным выходом превращался в 3β-тритилокси-5α-холест-8(14),15-диен. Обработка последнего 90% HCOOH приводила к 3β-гидрокси-5α-холест-8(14),15-диену (¹H-ЯМР-спектр: 0.759 (3 H, с, H18), 0.862 (6 H, д, J 6.6, H26, H27), 0.942 (3 H, д, J 6.6, H21), 0.963 (3 H, с, H19), 3.627 (1 H, м, H3), 5.894 (1 H, д, J_{15,16} 8.0, H15), 6.326 (1 H, дд, J_{15,16} 8.0, J_{16,17} 6.5, H16).

Альтернативная схема (см. схему 2) получения 15α-пальмитилокси-5α-холест-8(14)-ен-3β-ола (**XV**), давшая положительный результат, основывалась на известном восстановлении LiAlH₄ стеринных Δ7,14α,15α-эпоксидов в Δ8(14),15α-гидроксистерина [20]. 3β-Трифенилметокси-5α-холест-7,14-диен (**XI**), полученный с 82% выходом тритилированием диена (**X**), обрабатывали CPBA в эфирном растворе в присутствии сухого NaHCO₃, а затем полученный эпиксид (**XII**) без выделения восстанавливали LiAlH₄ в эфире. После разделения продуктов восстановления 3β-тритилокси-5α-холест-8(14)-ен-15α-ол (**XIII**) был выделен с

Таблица 1. Данные высокоэффективной ТСХ соединений (II), (IV), (VIII), (IX), (XV), (XVI)

Соединение	Значения R_f в системах					
	Гексан–EtOAc (10 : 1)	Гексан–EtOAc (4 : 1)	Гексан–ацетон (10 : 1)	Гексан–ацетон (5 : 1)	CHCl ₃ –ацетон (10 : 1)	Толуол–EtOAc (10 : 1)
(II)	0.38	0.71	0.64	0.76	0.99	0.77
(IV)	0.44	0.75	0.66	0.77	0.99	0.81
(VIII)	0.09	0.30	0.15	0.29	0.79	0.31
(IX)	0.24	0.53	0.31	0.51	0.98	0.80
(XV)	0.06	0.26	0.14	0.23	0.72	0.30
(XVI)	0.21	0.51	0.26	0.42	0.95	0.74

Таблица 2. Химические сдвиги в спектрах ¹H-ЯМР соединений (II), (IV), (VIII), (IX), (XV), (XVI)

Соединение	18H	26H; 27H	19H	21H	15H	3H	7H	Протоны ацильного остатка
(II)	0.721 с	0.852 (д, J 6.6)	0.960 с	0.987 (д, J 6.6)	–	4.730 м	4.126 м	0.870 (т, J 7.0), 1.242 (ш с); 2.249 (т, J 7.0)
(IV)	0.694 с	0.857 (д, J 6.6)	0.948 с	0.968 (д, J 6.6)	–	5.046 м	4.137 м	0.872 (т, J 7.0), 1.242 (ш с); 2.302 (т, J 7.0)
(VIII)	0.705 с	0.849 (д, J 6.6)	0.975 с	0.920 (д, J 6.6)	5.544 м	3.638 м	2.40–2.55 м	0.870 (т, J 7.0), 1.242 (ш с); 2.252 (т, J 7.0)
(IX)	0.831 с	0.860 (д, J 6.6)	0.998 с	0.949 (д, J 6.6)	5.540 м	–	2.45–2.60 м	0.866 (т, J 7.0), 1.242 (ш с); 2.252 (т, J 7.0)
(XV)	0.688 с	0.838; 0.841 (д, J 6.6)	0.867 с	0.940 (д, J 6.6)	5.771 м	3.649 м	2.15–2.40 м	0.846 (т, J 7.0), 1.242 (ш с); 2.275 (т, J 7.0)
(XVI)	0.850 с	0.851; 0.858 (д, J 6.6)	0.869 с	0.904 (д, J 6.6)	5.789 м	–	2.45–2.60 м	0.866 (т, J 7.0), 1.242 (ш с); 2.270 (т, J 7.0)

* В скобках приведена форма сигнала и значение КССВ в герцах.

выходом 39% в расчете на тритилированный диен (XI). Ацилирование 15 α -гидроксистерина (XIII) пальмитиновой кислотой и удаление тритильной группы в соединении (XIV) проводили в условиях, описанных выше для получения 15 β -изомера (VIII). Выход 15 α -пальмитата (XV) составил 63% в расчете на исходный (XIII).

Для подтверждения конфигурации заместителя при С15 в соединениях (VIII) и (XV) они были подвергнуты щелочному гидролизу, и полученные стеринны сравнились с известными 3 β ,15 α -дигидрокси-5 α -холест-8(14)-еном и 3 β ,15 β -дигидрокси-5 α -холест-8(14)-еном [21] по спектрам ¹H-ЯМР и по хроматографической подвижности. Окисление 3 β -гидроксильной группы в 15-пальмитатах (VIII) и (XV) комплексом CrO₃–Ru приводило к 3-кетостерил-15-пальмитатам (IX) и (XVI) соответственно.

Хроматографические характеристики соединений (II), (IV), (VIII), (IX), (XV) и (XVI) приведены в табл. 1, данные спектров ¹H-ЯМР – в табл. 2.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

¹H-ЯМР-спектры регистрировали на приборе АМХ-III-400 (Bruker) в дейтерохлороформе. Аналитическую ТСХ проводили на пластинках НРТLC Kieselgel F₂₅₄ фирмы Merck; обнаружение продуктов проводили в свете ультрафиолетовой лампы (фильтр 254 нм) и опрыскиванием 3% раствором молибдата аммония в 5% водной H₂SO₄ с последующим нагреванием. Препаративную ТСХ проводили на пластинках PSC Kieselgel F₂₅₄ фирмы Merck; колоночную хроматографию – на silicaгеле L (40–100 мкм) фирмы Chemapol.

Химические реактивы получены от фирм Aldrich и Merck, растворители очищены стандартными методами. 3 β -Гидрокси-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (I) и 3 β -гидрокси-5 α -холеста-7,14-диен (X) синтезированы по общей схеме [22] со следующими изменениями: изомеризация 3 β -бензоилоксихолеста-5,7-диена в 3 β -бензоилокси-5 α -холеста-7,14-диен проводилась по модифицированной процедуре [23],

а удаление бензоильных групп в 3 β -бензоилокси-5 α -холеста-7,14-диене и 3 β -бензоилокси-5 α -холест-8(14)-ен-15-оне – щелочным гидролизом. 3 β ,15 α -Дигидрокси-5 α -холест-8(14)-ен и 3 β ,15 β -дигидрокси-5 α -холест-8(14)-ен были получены восстановлением 3 β -бензоилокси-5 α -холест-8(14)-ен-15-она по методу [21].

3 β -Гексадеканоиокси-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (II). Смесь кетостерина (I) (400 мг, 1 ммоль) и пальмитиновой кислоты (512 мг, 2.0 ммоль) высушивали упариванием с безводными пиридином и толуолом, прибавляли DMAP (218 мг, 5 ммоль), смесь охлаждали до 0°C, вносили TPS (758 мг, 2.5 ммоль), перемешивали 15 мин при комнатной температуре, разбавляли 50 мл толуола, прибавляли 20 мл насыщенного раствора NaHCO₃, толуольный раствор промывали насыщенным Na₂SO₄ (2 × 15 мл), сушили Na₂SO₄, упаривали и хроматографировали на колонке с силикагелем (2.5 × 30 см) в смеси бензол–EtOAc (19 : 1). Продукт перекристаллизовывали из ацетона. Кристаллический продукт (II) не имел четкой т. пл. Выход 490 мг (75%), хроматографические характеристики см. в табл. 1, ¹H-ЯМР-спектр – в табл. 2.

При использовании в качестве катализатора ацилирования *N*-метилимидазола выход соединения (II) составил 85%.

3 β -Метансульфонилокси-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (III). Кетостерин (I) (400 мг, 1 ммоль) растворяли в 5 мл сухого пиридина и затем при охлаждении прибавляли 0.2 мл MsCl. Смесь перемешивали 4 ч при комнатной температуре, затем прибавляли 20 мл насыщенного раствора NaHCO₃, смесь перемешивали 2 ч и экстрагировали хлороформом (3 × 15 мл). Хлороформный экстракт промывали водой (2 × 5 мл), сушили Na₂SO₄, упаривали, остаток растворяли в кипящем хлороформе и прибавляли кипящий метанол до помутнения. После выдерживания 24 ч при 0°C получали бесцветные кристаллы с т. пл. 146°C, выход 440 мг (0.92 ммоль, 92%); ¹H-ЯМР-спектр: 0.730 (3 H, с, H18), 0.854 (6 H, д, J 6.6, 26-CH₃, H27), 0.962 (3 H, с, H19), 0.988 (3 H, д, J 6.6, H21), 2.996 (3 H, с, CH₃S), 4.136 (1 H, м, H7), 4.656 (1 H, м, H3).

3 α -Гексадеканоиокси-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (IV). Мезилат кетостерина (III) (230 мг, 0.5 ммоль) высушивали упариванием с сухим толуолом, растворяли в 10 мл безводного DMF, прибавляли высушенную соль CH₃(CH₂)₁₄COOCs (1165 мг, 3 ммоль), и смесь кипятили 40 мин, контролируя прохождение реакции по ТСХ в системе гексан–EtOAc (10 : 1). Затем смесь разбавляли 30 мл толуола, промывали водой (3 × 10 мл). Толуольный раствор сушили Na₂SO₄, растворитель упаривали, остаток хроматографировали на колонке (2.5 × 30 см) с силикагелем, элюируя продукт смесью гексан–EtOAc (10 : 1). Продукт (IV) перекристаллизовывали из ацетонитрила. Кри-

сталлический продукт (IV) не имел четкой т. пл. Выход 470 мг (72%), хроматографические характеристики см. в табл. 1, ¹H-ЯМР-спектр – в табл. 2.

3 β -Трифенилметокси-5 α -холест-8(14)-ен-15-он (V). Смесь кетостерина (I) (800 мг, 2 ммоль), TrCl (840 мг, 3 ммоль) и 30 мл сухого пиридина кипятили 1 ч, затем прибавляли TrCl (280 мг, 1 ммоль) и кипятили еще 2 ч. Затем смесь охлаждали, выливали при перемешивании в 50 мл насыщенного раствора NaHCO₃, перемешивали 30 мин и экстрагировали толуолом (3 × 30 мл). Толуольный раствор промывали насыщенным раствором Na₂SO₄ (2 × 25 мл), сушили Na₂SO₄, упаривали и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (2.5 × 30 см), элюируя продукт смесью гексан–EtOAc (15 : 1). Продукт (V) перекристаллизовывали из смеси ацетон–метанол (1 : 2); выход 480 мг (75%); т. пл. 168°C; ¹H-ЯМР-спектр: 0.633 (3 H, с, H18), 0.834 (6 H, д, J 6.6, H26, H27), 0.911 (3 H, с, H19), 0.949 (3 H, д, J 6.6, H21), 3.410 (1 H, м, H3), 4.018 (1 H, м, H7), 7.18–7.50 (15 H, м, тритил).

3 β -Трифенилметокси-5 α -холест-8(14)-ен-15 β -ол (VI). К суспензии 150 мг LiAlH₄ в 15 мл безводного Et₂O при 0°C по каплям прибавляли раствор 640 мг (1 ммоль) соединения (V) в 5 мл безводного Et₂O. Смесь перемешивали 30 мин при 20°C, избыток LiAlH₄ разлагали водой при охлаждении, водный слой экстрагировали эфиром (4 × 20 мл), объединенный эфирный экстракт промывали водой, сушили NaOH и упаривали досуха. Выделяли 640 мг стеклообразной массы соединения (VI), закристаллизовавшейся при стоянии; выход количественный; ¹H-ЯМР-спектр: 0.663 (3 H, с, H18), 0.834 и 0.839 (6 H, 2 д, H26, H27), 0.895 (3 H, д, J 6.6, H21), 0.992 (3 H, с, H19), 2.625 (1 H, м, H7), 3.412 (1 H, м, H3), 4.572 (1 H, м, H15), 7.180–7.550 (15 H, м, тритил).

3 β -Трифенилметокси-15 β -гексадеканоиокси-5 α -холест-8(14)-ен (VII) и 15 β -гексадеканоиокси-5 α -холест-8(14)-ен-3 β -ол (VIII). Смесь стерина (VI) (129 мг, 0.2 ммоль) и пальмитиновой кислоты (128 мг, 0.5 ммоль) высушивали упариванием с безводными пиридином и толуолом, растворяли в 5 мл безводного толуола, прибавляли 0.5 мл (6.1 ммоль) *N*-метилимидазола, вносили TPS (182 мг, 0.6 ммоль) и перемешивали 30 мин при комнатной температуре. Смесь разбавляли 25 мл толуола, прибавляли 10 мл насыщенного раствора NaHCO₃, толуольный раствор промывали насыщенным раствором Na₂SO₄ (2 × 5 мл), сушили Na₂SO₄, упаривали и остаток растворяли в 10 мл CHCl₃.

Аликвоту хлороформного раствора (2 мл) разделяли препаративной ТСХ в системе гексан–EtOAc (10 : 1). Соединение (VII), дававшее положительную реакцию на тритильную группу, выделяли в виде прозрачной пленки; выход 23 мг

(29 мкмоль, 74%); ^1H -ЯМР-спектр: 0.660 (3 H, с, H18), 0.835 и 0.840 (6 H, 2 д, H26, H27), 0.871 (3 H, т, J 7.0, CH_3 , пальмитоил), 0.895 (3 H, д, J 6.6, H21), 0.932 (3 H, с, H19), 1.190–1.290 (ушир. с, CH_2 , пальмитоил), 3.412 (1 H, м, H3), 5.482 (1 H, м, H15), 7.180–7.550 (15 H, м, тритил).

Оставшийся хлороформный раствор (8 мл) упаривали досуха, к остатку при перемешивании прибавляли 10 мл 90% HCOOH и по каплям эфир до растворения осадка. Смесь перемешивали 30 мин, упаривали досуха, повторно упаривали с добавлением воды, и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (2.5×30 см) в системе гексан– EtOAc (4 : 1). 15β -Гексадеканоинокси- 5α -холест-8(14)-ен- 3β -ол (VIII), содержащий примесь пальмитиновой кислоты, рехроматографировали на пластинке в системе гексан–ацетон (5 : 1). Выход соединения (VIII) составлял 76 мг [106 мкмоль, 66% в расчете на исходный (VI)]. Хроматографические характеристики см. в табл. 1, ^1H -ЯМР спектр – в табл. 2.

3β -Трифенилметокси- 5α -холеста-7,14-диен (XI). Смесь соединения (X) (384 мг, 1.0 ммоль), TrCl (420 мг, 1.5 ммоль) и 20 мл сухого пиридина кипятили 1 ч, прибавляли TrCl (140 мг, 0.5 ммоль), кипятили еще 1 ч, затем выливали в 30 мл насыщенного раствора NaHCO_3 , перемешивали 30 мин и экстрагировали толуолом (3×30 мл). Толуольный раствор промывали насыщенным раствором Na_2SO_4 (2×25 мл), сушили Na_2SO_4 , упаривали, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (2.5×30 см), элюируя продукт смесью гексан– EtOAc (15 : 1). Соединение (XI) (513 мг, 0.82 ммоль, 82%) выделяли в виде бесцветной стеклообразной массы. После перекристаллизации из смеси ацетон–метанол (3 : 1) получали бесцветные кристаллы с т. пл. 114–116°C; ^1H -ЯМР-спектр: 0.720 (3 H, с, H18), 0.780 (3 H, с, H19), 0.858 (6 H, д, J 6.6, H26, H27), 0.894 (3 H, д, J 6.6, H21), 3.366 (1 H, м, H3), 5.422 (1 H, м, H15), 5.651 (1 H, м, H7), 7.18–7.55 (15 H, м, тритил).

3β -Трифенилметокси- $14\alpha,15\alpha$ -оксидо- 5α -холест-7-ен (XII) и 3β -трифенилметокси- 5α -холест-8(14)-ен- 15α -ол (XIII). К раствору тритилированного диена (XI) (375 мг, 0.6 ммоль) в 20 мл сухого эфира прибавляли 0.50 г сухого NaHCO_3 , затем вносили CPBA (170 мг, 1.0 ммоль), и смесь перемешивали при 0°C 20 мин. Эфирный раствор декантировали, осадок промывали эфиром (2×20 мл). Объединенный эфирный экстракт промывали при 0°C 10 мл насыщенного раствора Na_2SO_3 , сушили MgSO_4 и упаривали до 10 мл. В ^1H -ЯМР-спектре неочищенного продукта (XII): 5.69 (м, H7); 3.69 (ушир. с, H15). Эфирный раствор, содержащий эпоксид (XII), по каплям прибавляли к перемешиваемой суспензии 100 мг LiAlH_4 в 15 мл сухого Et_2O . Смесь перемешивали 30 мин, охлаждали до 0°C, избыток LiAlH_4 разлагали ледяной водой,

эфирный слой декантировали, и водный слой экстрагировали эфиром (4×15 мл). Объединенный эфирный экстракт сушили MgSO_4 , упаривали и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (3.5×15 см), элюируя продукт смесью гексан– EtOAc (4 : 1). Соединение (XIII) (143 мг, 0.23 ммоль, 39%) выделяли в виде прозрачной пленки. ^1H -ЯМР-спектр: 0.648 (3 H, с, H18), 0.778 (3 H, с, H19), 0.855 (6 H, д, J 6.6, H26, H27), 0.927 (3 H, д, J 6.6, H21), 3.446 (1 H, м, H3), 4.836 (1 H, м, H15), 7.180–7.550 (15 H, м, тритил).

3β -Трифенилметокси- 15α -гексадеканоинокси- 5α -холест-8(14)-ен (XIV). Смесь тритилированного стерина (XIII) (125 мг, 0.2 ммоль) и пальмитиновой кислоты (128 мг, 0.5 ммоль) высушивали упариванием с безводными пиридином и толуолом, растворяли в 5 мл сухого толуола, прибавляли 0.5 мл (6.1 ммоль) N -метилимидазола, вносили TPS (182 мг, 0.6 ммоль), перемешивали 30 мин, затем смесь разбавляли 25 мл толуола, прибавляли 10 мл насыщенного раствора NaHCO_3 , толуольный раствор промывали насыщенным раствором Na_2SO_4 (2×5 мл), сушили Na_2SO_4 и упаривали. Остаток разделяли препаративной ТСХ в системе гексан– EtOAc (10 : 1). Соединение (XIV) (125 мг, 0.15 ммоль, 74%) выделяли в виде бесцветной стеклообразной массы; ^1H -ЯМР-спектр: 0.625 (3 H, с, H18), 0.836 (д, J 6.6) и 0.840 (д, J 6.6) (6 H, H26 и H27), 0.868 (3 H, с, H19), 0.871 (3 H, т, J 7.0, CH_3 , пальмитоил), 0.895 (3 H, д, J 6.6, H21), 1.190–1.290 (ушир. с, CH_2 , пальмитоил), 3.420 (1 H, м, 3 H), 5.772 (1 H, м, H15), 7.180–7.550 (15 H, м, тритил).

15α -Гексадеканоинокси- 5α -холест-8(14)-ен- 3β -ол (XV). К смеси соединения (XIV) (85 мг, 100 мкмоль) и 5 мл 90% HCOOH по каплям прибавляли эфир до растворения осадка, раствор перемешивали 30 мин и упаривали досуха. Остаток разделяли препаративной ТСХ в системе гексан–ацетон (5 : 1). 15α -Гексадеканоинокси- 5α -холест-8(14)-ен- 3β -ол (XV) (51 мг, 85 мкмоль, 85%) выделяли в виде белой воскообразной пленки. Хроматографические характеристики см. в табл. 1, ^1H -ЯМР-спектр – в табл. 2.

15β -Гексадеканоинокси- 5α -холест-8(14)-ен-3-он (IX) и 15α -гексадеканоинокси- 5α -холест-8(14)-ен-3-он (XVI). Раствор пальмитата (VIII) или (XV) (27 мг, 50 мкмоль) в 5 мл CH_2Cl_2 прибавляли к комплексу CrO_3 – Py , приготовленному из 60 мг CrO_3 в 5 мл CH_2Cl_2 [24]. Смесь перемешивали 2 ч, контролируя прохождение окисления по ТСХ, затем прибавляли 1 мл MeOH , через 15 мин к смеси прибавляли 1.0 г силикагеля и смесь упаривали досуха. Продукты реакции, адсорбированные на силикагеле, наносили на колонку (2.0×10 см) с сухим силикагелем, пальмитат кетостерина (IX) или (XVI) элюировали смесью толуол– EtOAc (4 : 1), растворитель упаривали, а продукт подвергали

дополнительной очистке препаративной ТСХ в системе гексан–ацетон (5 : 1). Соединения (IX) (20 мг, 36 мкмоль, 72%) и (XVI) (19 мг, 34 мкмоль, 68%) выделяли в виде белых воскообразных пленок. Хроматографические характеристики см. в табл. 1, спектры ^1H -ЯМР – в табл. 2.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 00–04–48643).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schroeffer G.J. // *Physiol. Rev.* 2000. V. 80. P. 361–554.
2. Schroeffer G.J., Kiscic A., Izumi A., Wang K.-S., Carey K.D., Chu A.J. // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 4098–4109.
3. Schroeffer G.J., Chu A.J., Needleman D.H., Izumi A., Nguen P.T., Wang K.-S., Little J.M., Sherrill B.C., Kiscic A. // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 4110–4123.
4. Needleman D.H., Strong K., Stemke K.A., Brabson J.A., Kiscic A., Schroeffer G.J. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1987. V. 148. P. 920–925.
5. Schroeffer G.J., Christophe A., Needleman D.H., Kiscic A., Sherrill B.C. // *Chem. Phys. Lipids.* 1988. V. 48. P. 29–58.
6. Pinkerton F.D., Kirkpatrick N.D., Schroeffer G.J. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988. V. 156. P. 689–694.
7. Herz J.E., Swaminathan S., Pinkerton F.D., Wilson W.K., Schroeffer G.J. // *J. Lipid Res.* 1992. V. 33. P. 579–598.
8. Swaminathan S., Pinkerton F.D., Numazawa S., Wilson W.K., Schroeffer G.J. // *J. Lipid Res.* 1992. V. 33. P. 1503–1515.
9. Misharin A.Yu., Alquier C., Steinschneider A.Ya., Malugin A.V., Lafont H. // *Med. Chem. Res.* 1995. V. 5. P. 409–416.
10. Мишарин А.Ю., Крылов А.С., Алки К., Лафонт Ю., Штейншнейдер А.Я., Косых В.А., Морозкин А.Д. // *Биоорган. химия.* 1997. Т. 23. С. 297–303.
11. Kisseleva A.F., Goryunova L.E., Medvedeva N.V., Morozkin A.D., Alquier C., Misharin A.Yu. // *FEBS Lett.* 1999. V. 446. P. 163–168.
12. Киселева А.Ф., Горюнова Л.Е., Медведева Н.В., Алки К., Мишарин А.Ю. // *Биохимия.* 1999. Т. 64. С. 456–463.
13. St. Pyrek J., Schroeffer G.J. // *J. Lipid Res.* 1987. V. 28. P. 1308–1312.
14. Мишарин А.Ю., Чернов Б.К. // *Биоорган. химия.* 1997. Т. 23. С. 675–679.
15. Stephens T.W., Schroeffer G.J. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1989. V. 1001. P. 127–133.
16. Huffman J.W., Desai R.C. // *Synth. Commun.* 1983. V. 13. P. 553–556.
17. Hawryluk N.A., Snider B.B. // *J. Org. Chem.* 2000. V. 65. P. 8379–8380.
18. Schroeffer G.J., Parish E.J., Kandutsch A.A. // *Biochem. Int.* 1982. V. 4. P. 263–269.
19. Игнатов Д.В., Мишарин А.Ю. // *Биоорган. химия.* 2002. Т. 28. С. 191–192.
20. Parish E.J., Schroeffer G.J. // *Tetrahedron Lett.* 1976. V. 1976. P. 3775–3778.
21. Huntoon S., Fourcans B., Lutsky B.L., Parish E.J., Emery H., Knapp F.F., Schroeffer G.J. // *J. Biol. Chem.* 1978. V. 253. P. 775–782.
22. Wilson W.K., Wang K.-S., Kiscic A., Schroeffer G.J. // *Chem. Phys. Lipids.* 1988. V. 48. P. 7–17.
23. Беликов О.Е., Штейншнейдер А.Я., Мишарин А.Ю. // *Биоорган. химия.* 1992. Т. 18. С. 1127–1130.
24. Физер Л., Физер М. Реагенты для органического синтеза. М.: Мир, 1978. Т. 7. С. 636–638.

Palmitates of Isomeric 15-Oxygenated Δ 8(14)-Sterols

D. V. Ignatov*, Yu. I. Prokof'ev*, V. P. Timofeev**, and A. Yu. Misharin**

E-mail: misharin@ibmh.msk.su

* Orekhovich Research 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, GSP Moscow, 117984 Russia

3 β -Hexadecanoyloxy-5 α -cholest-8(14)-en-15-one, 3 α -hexadecanoyloxy-5 α -cholest-8(14)-en-15-one, 15 β -hexadecanoyloxy-5 α -cholest-8(14)-en-3 β -ol, 15 α -hexadecanoyloxy-5 α -cholest-8(14)-en-3 β -ol, 15 β -hexadecanoyloxy-5 α -cholest-8(14)-en-3-one, and 15 α -hexadecanoyloxy-5 α -cholest-8(14)-en-3-one were synthesized and their chromatographic and ^1H NMR characteristics were determined. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: oxysterol acyl derivatives, oxysterols