

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
“ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ”**

УДК 547.92.057

**АНТОНЧИК  
АЛЕКСЕЙ ВЛАДИМИРОВИЧ**

**Стероидные С-22 и С-24 карбоновые кислоты в синтезе  
оксигенированных стероинов**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

по специальности 02.00.03 – Органическая химия

Минск, 2007

Работа выполнена в ГНУ  
«Институт биоорганической химии НАН Беларуси»

- Научный руководитель: **ЖАБИНСКИЙ Владимир Николаевич**,  
доктор химических наук, главный научный  
сотрудник, ГНУ «Институт биоорганической  
химии НАН Беларуси», лаборатория химии  
стероидов
- Официальные оппоненты: **КОВГАНКО Николай Владимирович**,  
доктор химических наук, заведующий  
лабораторией химии экдистероидов, ГНУ  
«Институт биоорганической химии НАН  
Беларуси»
- ОЛЬХОВИК Вячеслав Константинович**,  
кандидат химических наук, заведующий  
лабораторией органических красителей и  
люминофоров, ГНУ «Институт химии новых  
материалов НАН Беларуси»
- Оппонирующая организация: ГНУ «Институт физико-органической химии  
НАН Беларуси»

Защита состоится 22 мая 2007 года в 10:00 часов на заседании Совета по защите диссертаций Д 01.21.01 при ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» по адресу: 220141, г. Минск, ул. академика Купревича, 5/2, e-mail: babitskaya@iboch.bas-net.by, телефон (017) 267-85-53.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси».

Автореферат разослан «19» апреля 2007 г.

Ученый секретарь Совета  
по защите диссертаций Д 01.21.01,  
кандидат химических наук

С.В. Бабицкая

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами.** Работа является частью плановых исследований лаборатории химии стероидов ИБОХ НАН Беларуси, выполненных в соответствии с заданиями Государственной программы «Биооргсинтез-2» по теме «Разработка рациональных подходов к целенаправленному синтезу стероидов и родственных биорегуляторов с целью создания новых эффективных препаратов для сельского хозяйства и медицины» (2001-2005), №2004800 гос. регистрации.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы являлось обеспечение доступности 24- и 26-функционализированных стероидов, принадлежащих к оксистеринам, холестеновым кислотам и брассиностероидам. Задачей настоящей работы являлась разработка методов регио- и стереоселективного построения боковых цепей данных стероидов, а также синтез ряда оксистеринов и холестеновых кислот в качестве объектов для поиска новых лекарственных препаратов и брассиностероидных гаптенов нового типа для использования в иммунохимическом анализе.

### **Положения, выносимые на защиту:**

- Метод синтеза церебростерина, основанный на использовании литохолевой кислоты.
- Синтез ряда 24(*R*)- и 24(*S*)-функционализированных стероидов, потенциальных агонистов LXR-рецепторов.
- Синтез ряда 25(*R*)- и 25(*S*)-26-оксигенированных стероидов в качестве инструмента для детального изучения особенностей биосинтеза желчных кислот.
- Синтез брассиностероидных гаптенов нового типа, содержащих линкер в терминальном фрагменте боковой цепи, для применения в иммунохимическом анализе.

**Личный вклад соискателя** заключается в проведении экспериментальной работы по синтезу и установлению структуры полученных соединений, аналитическом обзоре литературы. Экспериментальная работа по синтезу холестеновых кислот проводилась совместно с к.х.н. О.В. Константиновой. Анализ данных ЯМР осуществлялся совместно с к.х.н. Н.Б. Хрипач. Постановка задач, решение методологических проблем, подготовка материалов и интерпретация результатов для научных публикаций

осуществлялась совместно с чл.-корр. НАН Беларуси, д.х.н., проф. В.А. Хрипачом и д.х.н. В.Н. Жабинским.

**Апробация результатов диссертации.** Материалы диссертационной работы представлены на V и VII Молодежных научных школах-конференциях по органической химии (Екатеринбург 2002; 2004), Международных конференциях «Химия, структура и функции биомолекул» (Минск 2004; 2006).

**Опубликованность результатов диссертации.** Изложенные в диссертации результаты составили предмет 3 статей в научных изданиях [1-А – 3-А], что соответствует 2.6 авторским листам, а также тезисов 4 докладов [4-А – 7-А].

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы по теме диссертации (глава 1), обсуждения результатов собственных исследований (глава 2), экспериментальной части (глава 3), заключения и библиографического списка, который насчитывает 256 источников. Работа изложена на 127 страницах, содержит 58 иллюстраций и 5 таблиц, которые занимают 23 страницы.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Необходимым этапом достижения целей настоящей работы (синтез оксистеринов, метаболитов желчных кислот и брассиностероидов) являлась регио- и стереоселективная функционализация терминального фрагмента боковых цепей стероидов.

Традиционно для решения подобных целей используется стигмастерин,  $C_{23}$ - $C_{29}$ -фрагмент боковой цепи которого может быть удален путем озонлиза  $\Delta^{22}$ -связи, а образующийся  $C_{22}$  альдегид позволяет вводить новую боковую цепь (рисунок 1).

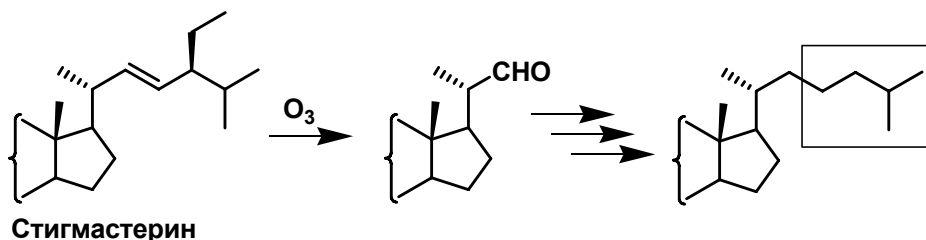


Рисунок 1

В настоящей работе нами изучены синтетические возможности использования стероидных  $C_{22}$  и  $C_{24}$  карбоновых кислот: литохолевой кислоты, которая входит в состав желчи, и 23,24-биснорхол-5-ен-22-овой кислоты, которая является синтетическим продуктом (рисунок 2).

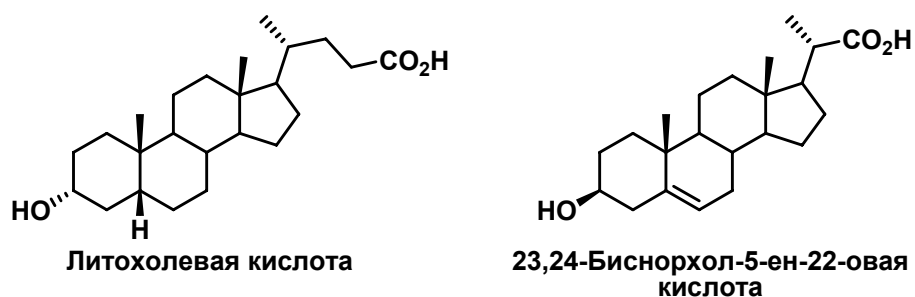


Рисунок 2

Оба соединения являются коммерчески доступными.

## 1 Синтез 24-функционализированных стероидов с циклической частью литохолевой кислоты [1-А, 5-А]

Идентификация оксистеринов в качестве лигандов рецепторов LXR $\alpha$  и LXR $\beta$  дала основание рассматривать их и их аналоги в качестве инструментов для изучения метаболизма липидов в организме человека и животных, а также открыла возможность разработки на их основе новых лекарственных препаратов. Концентрация оксистеринов в организме составляет всего  $10^{-1} - 10^{-4}\%$  от концентрации холестерина, поэтому единственным способом получить их в достаточных для исследования количествах является химический синтез.

В качестве исходного соединения для синтеза 24-функционализированных стероидов нами была использована литохолевая кислота **1** (рисунок 3). Соответствующий метиловый эфир **2** был получен с количественным выходом. Для построения боковой цепи сразу необходимо было защитить гидроксильную группу при C<sub>3</sub>. Наиболее оптимальным вариантом защиты было превращение 3 $\alpha$ -гидроксильной группы в соответствующий тетрагидропиранильный эфир. Восстановление сложного эфира **3** алюмогидридом лития и окисление образующегося спирта **4** по Сверну привело к альдегиду **5**.

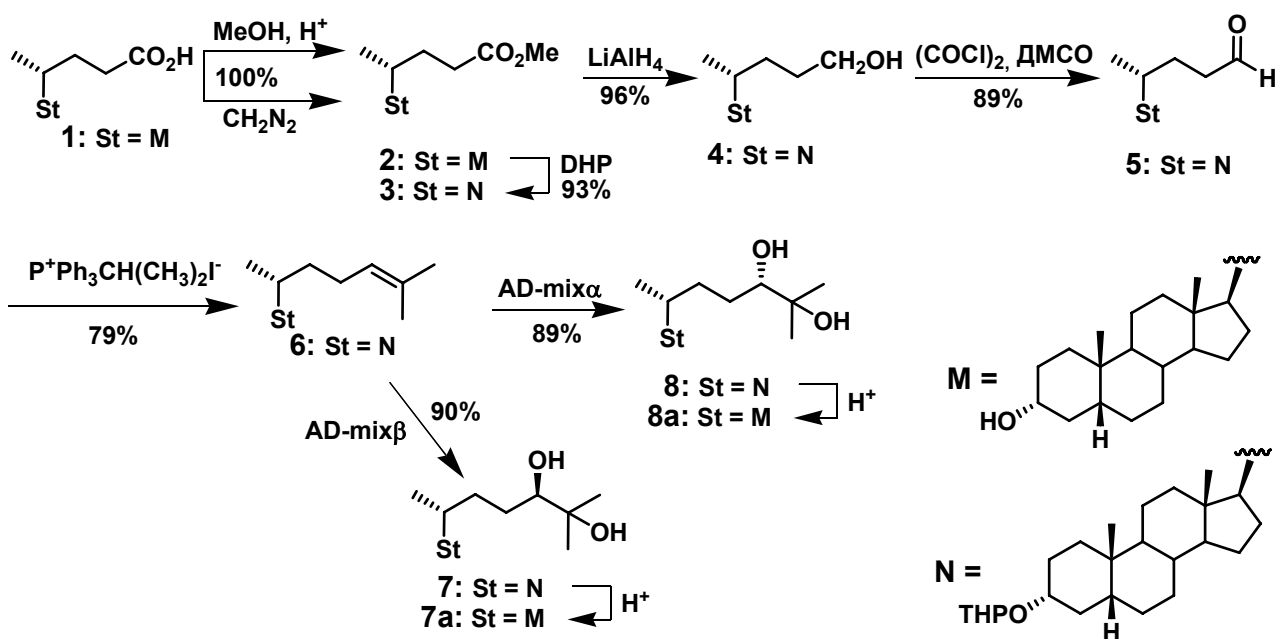
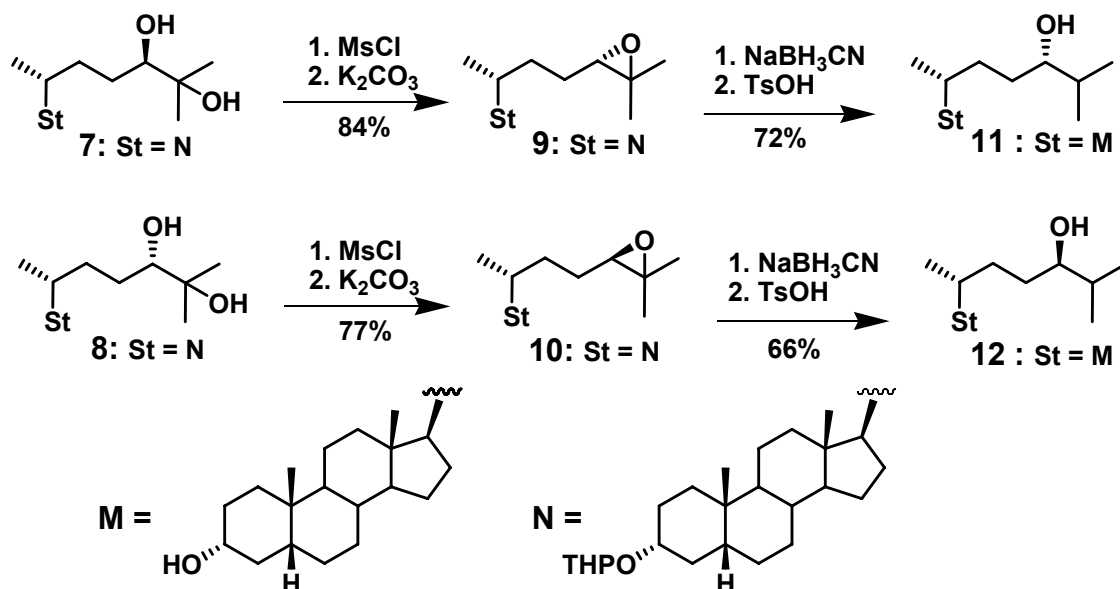


Рисунок 3

Присоединение к последнему илида, полученного из изопропилтрифенилфосфониевой соли, дало олефин **6**. Гидроксилирование олефина **6** с использованием коммерческой смеси AD-mix $\beta$  (содержащей хиральный катализатор на основе хинидина) привело к образованию с выходом 90% 24(*R*),25-диола **7**. Аналогичная реакция с реагентом AD-mix $\alpha$  (содержащим хиральный катализатор на основе хинина) привела к образованию с выходом 89% 24(*S*),25-диола **8**.

Приписание стереохимии гидроксильной группы при C<sub>24</sub> диолам **7** и **8** было сделано по аналогии с литературными данными, указывающими на преимущественное образование 24(*R*)-24,25-диолов при гидроксилировании  $\Delta^{24}$ -стероидов в присутствии катализаторов хинидинового ряда и 24(*S*)-24,25-диолов в присутствии производных хинина. Дополнительным доказательством правильности приписания конфигурации при C<sub>24</sub> служит известная для C<sub>24</sub>-замещенных стероидов закономерность, заключающаяся в том, что сигнал C<sub>24</sub> атома углерода в <sup>13</sup>C ЯМР спектре 24(*S*)-функционализированных изомеров сдвинут примерно на 0.4 м.д. в слабое поле по сравнению с 24(*R*)-функционализированными изомерами. В данном случае такая закономерность имела место: разность между химическими сдвигами C<sub>24</sub> атома углерода триола **8a** (24(*S*)-изомер) и триола **7a** (24(*R*)-изомер) составила 0.67 м.д.

Обработка диолов **7** и **8** MsCl в пиридине дала соответствующие 24-мезилаты, выдерживание которых в водном метаноле в присутствии карбоната калия привело к образованию эпоксидов **9** и **10** (рисунок 4).

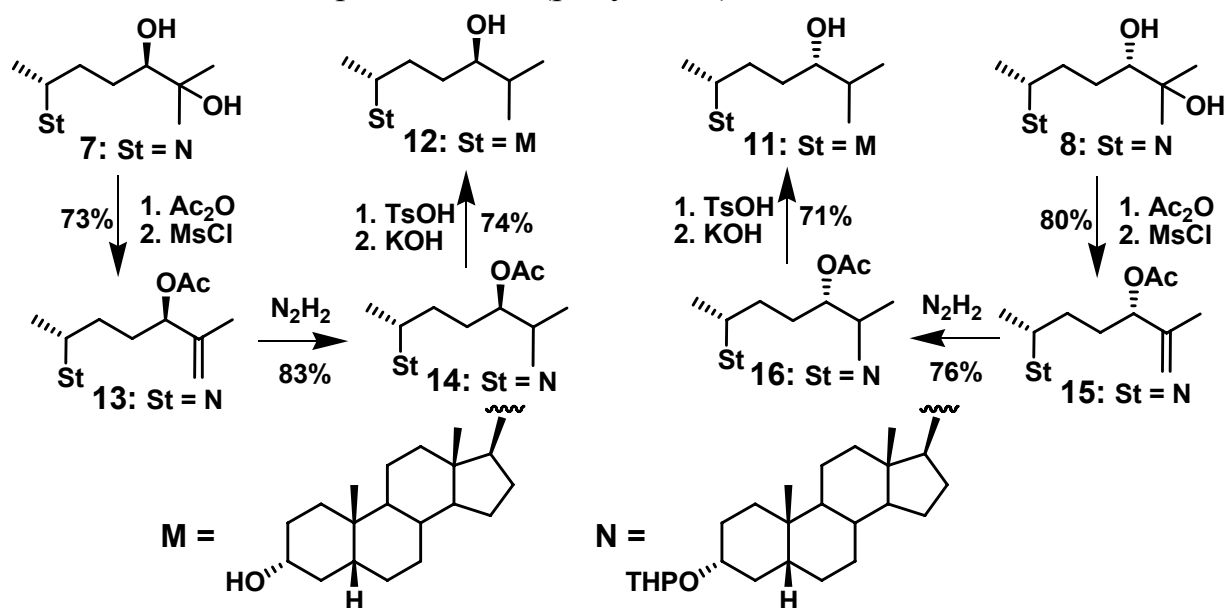


**Рисунок 4**

При этом в результате внутримолекулярного нуклеофильного замещения конфигурация асимметрического центра при  $C_{24}$  изменялась на противоположную.

Следующей задачей являлось превращение эпоксидов **9** и **10** в соответствующие 24-гидроксипроизводные **11** и **12**. В настоящей работе для решения этой задачи была использована реакция анти-Марковниковского восстановления эпоксидов **9** и **10** под действием  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  в присутствии эфира трехфтористого бора. После удаления тетрагидропиранильной защиты 24-спирты **11** и **12** были получены с выходами 66% и 72% соответственно.

Нами был также исследован альтернативный метод превращения диолов **7** и **8** в 24-спирты **12** и **11** (рисунок 5).



**Рисунок 5**

Региоселективное ацетилирование вторичной гидроксильной группы диолов **7** и **8** привело к соответствующим 24-ацетокси производным, элиминирование гидроксильной группы которых под действием MsCl в присутствии Et<sub>3</sub>N дало Δ<sup>25</sup>-олефины **13** и **15**. Восстановление двойной связи последних диимидом дало насыщенные соединения **14** и **16**. Удаление защитной тетрагидропиранильной группировки и последующий щелочной гидролиз привели к 24-спиртам **12** и **11**. Сравнение спектральных данных и температур плавления полученных спиртов с соединениями **12** и **11**, полученными в результате анти-Марковниковского восстановления эпоксидов **10** и **9**, показало, что были синтезированы идентичные соединения.

## 2 Синтез церебростерина и его C<sub>24</sub>-эпимера [2-A]

Изучение биологических свойств церебростерина предполагает наличие в качестве стандартов как самого соединения, так и ряда его аналогов.

Для синтеза церебростерина в качестве исходного соединения нами был использован спирт **17**, который был получен в результате кислотного гидролиза тетрагидропиранильного эфира **6**, синтез которого описан в предыдущем разделе. Окисление спирта **17** по Сверну и затем гидроксילирование по Шарплесу смесью AD-mixα дали 24(S),25-дигидрокси-3-кетон **18** (рисунок 6).

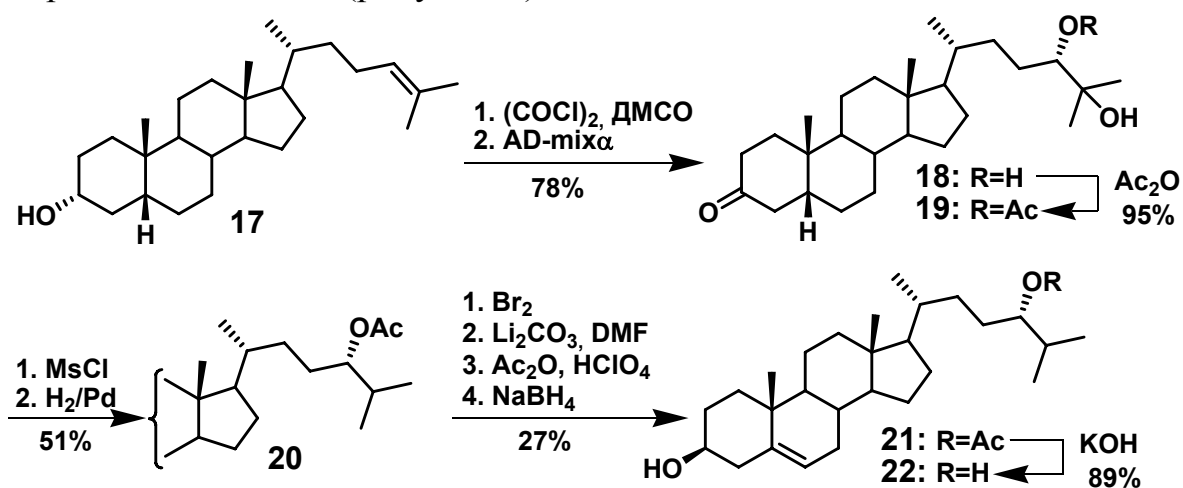


Рисунок 6

Ацетилирование последнего привело к гидроксиацетату **19**, который обрабатывали MsCl в присутствии Et<sub>3</sub>N. Образующийся продукт элиминирования гидрировали на палладии с образованием соединения **20**. Введение 3β-гидрокси-Δ<sup>5</sup>-функциональности в циклическую часть осуществляли путем последовательного бромирования кетона **20** в 4-ое



положение, дегидробромирования 4-бромпроизводного, обработки образующегося 3-кето- $\Delta^4$ -стероида уксусным ангидридом в присутствии следов  $\text{HClO}_4$  и, наконец, восстановления  $\text{NaBH}_4$ , что в итоге дало 24-ацетат церебростерина **21**. Щелочной гидролиз последнего  $\text{KOH}$  в метаноле привел к целевому церебростерину **22**.

24-Эпичеребростерин **26** был синтезирован по модифицированной схеме (рисунок 7) с использованием в качестве ключевого интермедиата соединения **23**, синтез которого приведен в предыдущем разделе.

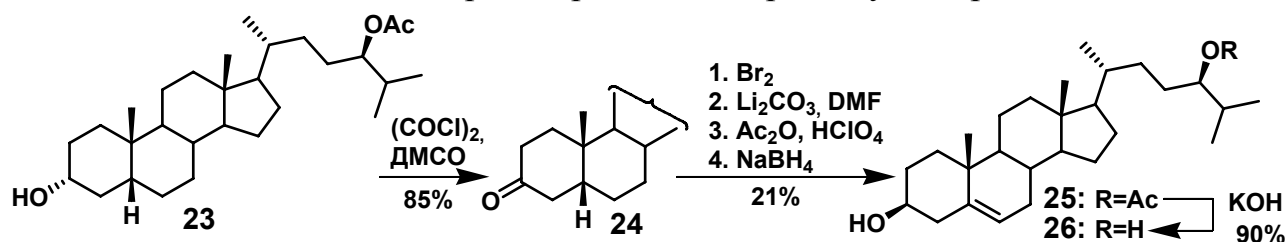


Рисунок 7

Приложение к ацетату **23** описанной выше последовательности реакций, включающей образование кетона **24** и  $3\beta$ -гидрокси- $\Delta^5$ -стероида **25**, дало целевой продукт **26**.

### 3 Исследование $\text{C}_{24}$ -функционализированных стероидов с помощью ЯМР

Интересная закономерность была обнаружена при исследовании ПМР-спектров 24-ацетокси соединений холестеранового ряда (рисунок 8).

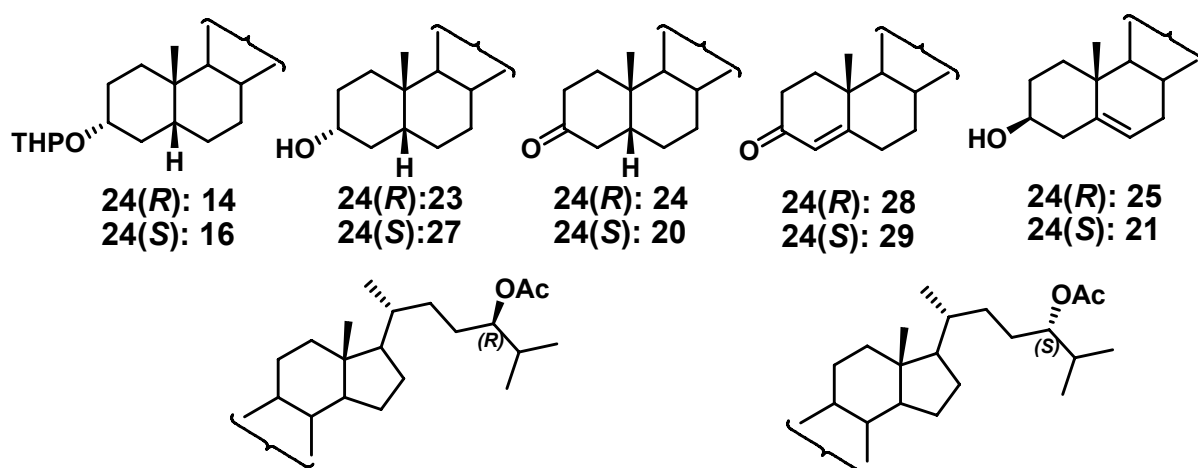
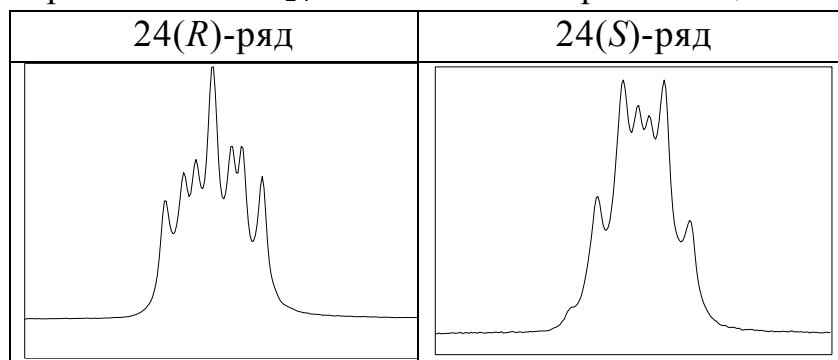


Рисунок 8

Оказалось, что для каждого из  $24(R)$  и  $24(S)$  изомеров форма сигнала протона при  $\text{C}_{24}$  в спектре  $^1\text{H}$  строго специфична и не изменяется при различной функционализации циклов А и В (таблица 1).

Таблица 1 – Форма сигнала  $C_{24}$ -H в ПМР-спектрах 24-ацетоксистероидов



Так как в данном случае сигнал протона при  $C_{24}$  можно было рассматривать в приближении первого порядка (КССВ малы по сравнению с разницей хим. сдвигов взаимодействующих ядер), КССВ можно извлекать из спектра напрямую. Для 24(S)-ацетокси стероидов характерен мультиплет в виде суперпозиции триплета дублетов с  $\delta$  4.67-4.68 и КССВ 4.9, 4.9 и 7.8 Гц. Для 24(R)-ацетокси стероидов характерен мультиплет в виде суперпозиции дублета дублетов дублетов с  $\delta$  4.68-4.69 и КССВ 3.5, 5.5 и 8.7 Гц.

Похожая закономерность была обнаружена при исследовании 24,25-дигидроксистероидов холестанового ряда (рисунок 9).

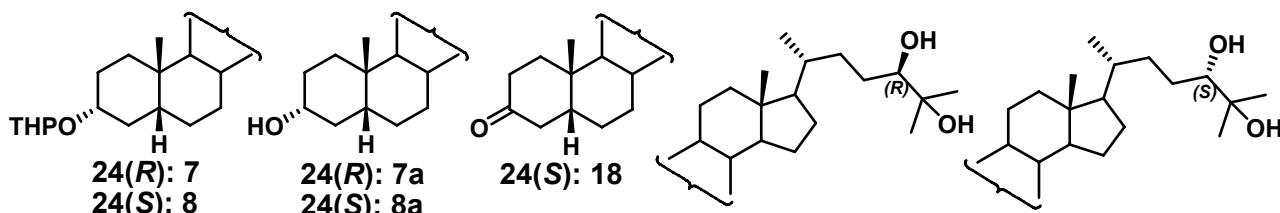
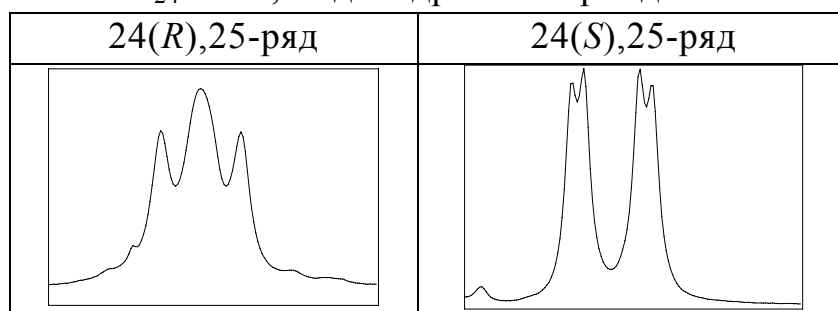


Рисунок 9

В данном случае также наблюдалось разная форма сигнала протона при  $C_{24}$  в ПМР-спектрах у 24(R) и 24(S) изомеров (таблица 2).

Таблица 2 – Сигнал  $C_{24}$ -H 24,25-дигидроксистероидов в  $^1H$ -спектрах



Для 24(R),25-дигидрокси производных протон при  $C_{24}$  представлен в виде псевдотриплета с  $\delta$  3.32-3.33 и КССВ 6.09 Гц, для 24(S),25-дигидрокси производных – в виде дублета дублетов с  $\delta$  3.27-3.28 м.д. и КССВ 1.8-1.9 и 10.1 Гц.

## 4 Синтез 26-функционализированных стероидов [3-А, 4-А]

Хотя основные интермедиаты биосинтеза и метаболизма желчных кислот были установлены достаточно давно, множество тонких деталей остались неизученными. Поэтому возникла необходимость в стереоселективном синтезе обеих 25(*R*) и 25(*S*) эимерных C<sub>26</sub>-кислот, содержащих 3β-гидрокси-Δ<sup>5</sup>- или Δ<sup>4</sup>-3-кето-функциональности. По-нашему мнению, при получении указанных соединений лучшие результаты могут быть достигнуты при использовании конвергентного подхода, когда низкомолекулярный фрагмент присоединяется к стероидной части.

Синтез циклической части основывался на использовании кислот **30** и **31** (рисунок 10).

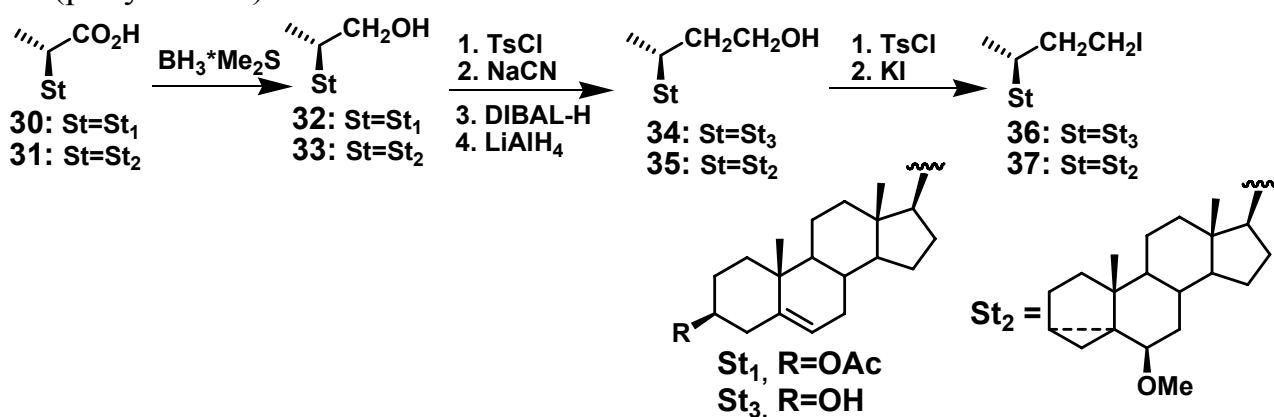


Рисунок 10

Первые реакции были направлены на удлинение боковой цепи на одно метиленовое звено. Восстановление карбоксильных групп кислот **30** и **31** комплексом BH<sub>3</sub>\*Me<sub>2</sub>S проходило гладко. Для синтеза 23-спиртов **34** и **35** соединения **32** и **33** последовательно тозилеровали, замещали тозильную группу на цианид, восстанавливали образующийся 22-цианид DIBAL-H и затем алюмогидридом лития. Тозилирование спиртов **34** и **35** привело к соответствующим тозилатам, замещение тозильной группы которых на йодид привело к 23-йодидам **36** и **37**.

Реакция анионов, полученных из сульфонов **38** и **43**, с йодидами **36** и **37** дала соответствующие аддукты **39**, **40** и **44**, десульфуризация которых литием в жидком аммиаке привела к соединениям **41**, **42** и **45** (рисунок 11).

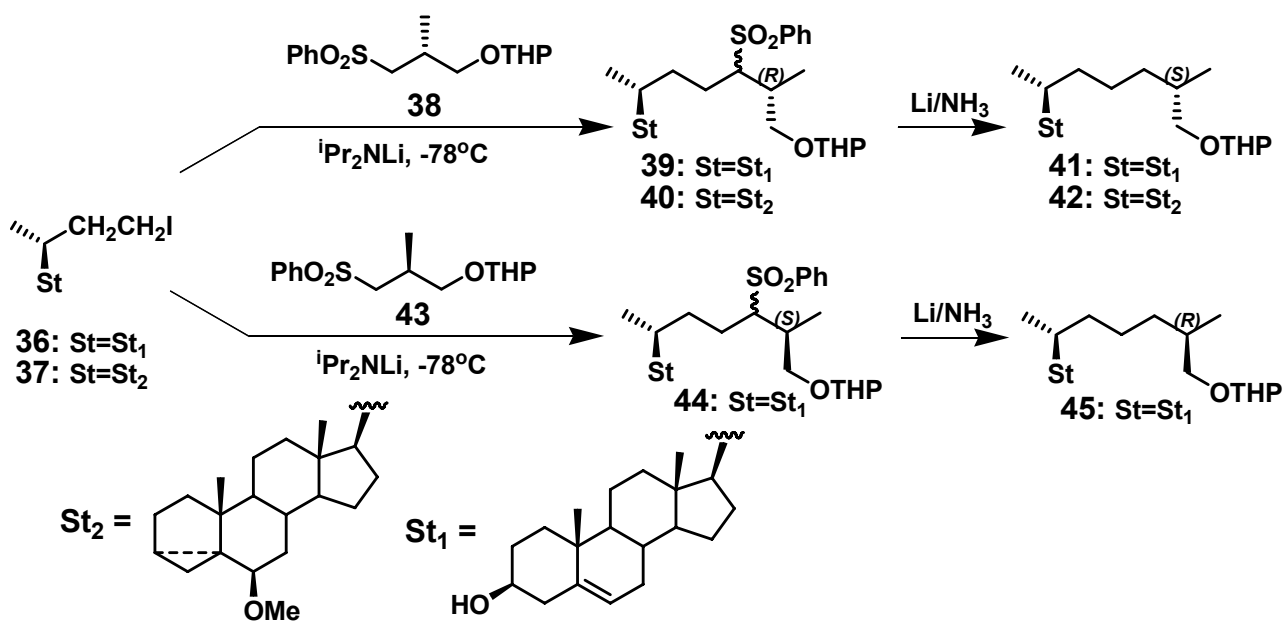


Рисунок 11

С точки зрения общего выхода целевых продуктов, использование в качестве исходного соединения  $3\alpha,5$ -цикло производного **31** более предпочтительно (при превращении **31**  $\Rightarrow$  **42** общий выход составил 17%), чем использование  $3\beta$ -ацетокси производного **30** (при превращении **30**  $\Rightarrow$  **41** общий выход составил 12%). Однако необходимость регенерации циклической части в первом случае изменяет эту предпочтительность на противоположную. Превращение эфира **42** в спирт **46** протекало только с 39%-ным выходом (рисунок 12).

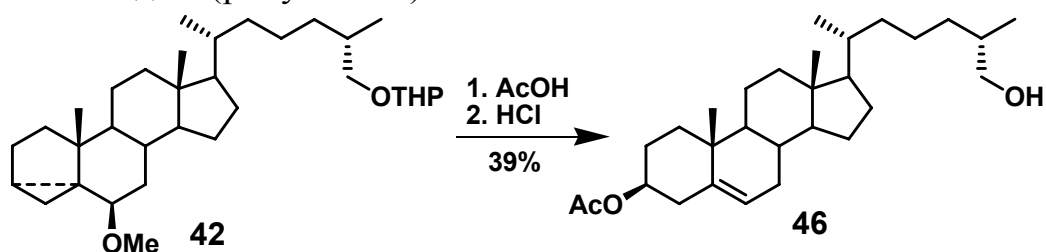


Рисунок 12

Последующее превращение соединений **41** и **45** в целевые вещества было достаточно простым (рисунок 13). Кислотный гидролиз спирта **45** привел к  $25(R)$ -26-гидроксихолестерину **47**. Ацетилирование спирта **45** дало ацетат **48**, последующий кислотный гидролиз которого дал 26-спирт **50**. Окисление этого спирта в карбоновую кислоту нужно было осуществить при таких условиях, чтобы сохранилась стереохимия  $C_{25}$  центра и функциональные группы в циклической части. Наиболее оптимальным решением этой проблемы являлось использование катализируемого ТЕМПО (2,2,6,6-тетраметилпиперидин-N-оксил) окисления хлоритом натрия в качестве стехиометрического окислителя.

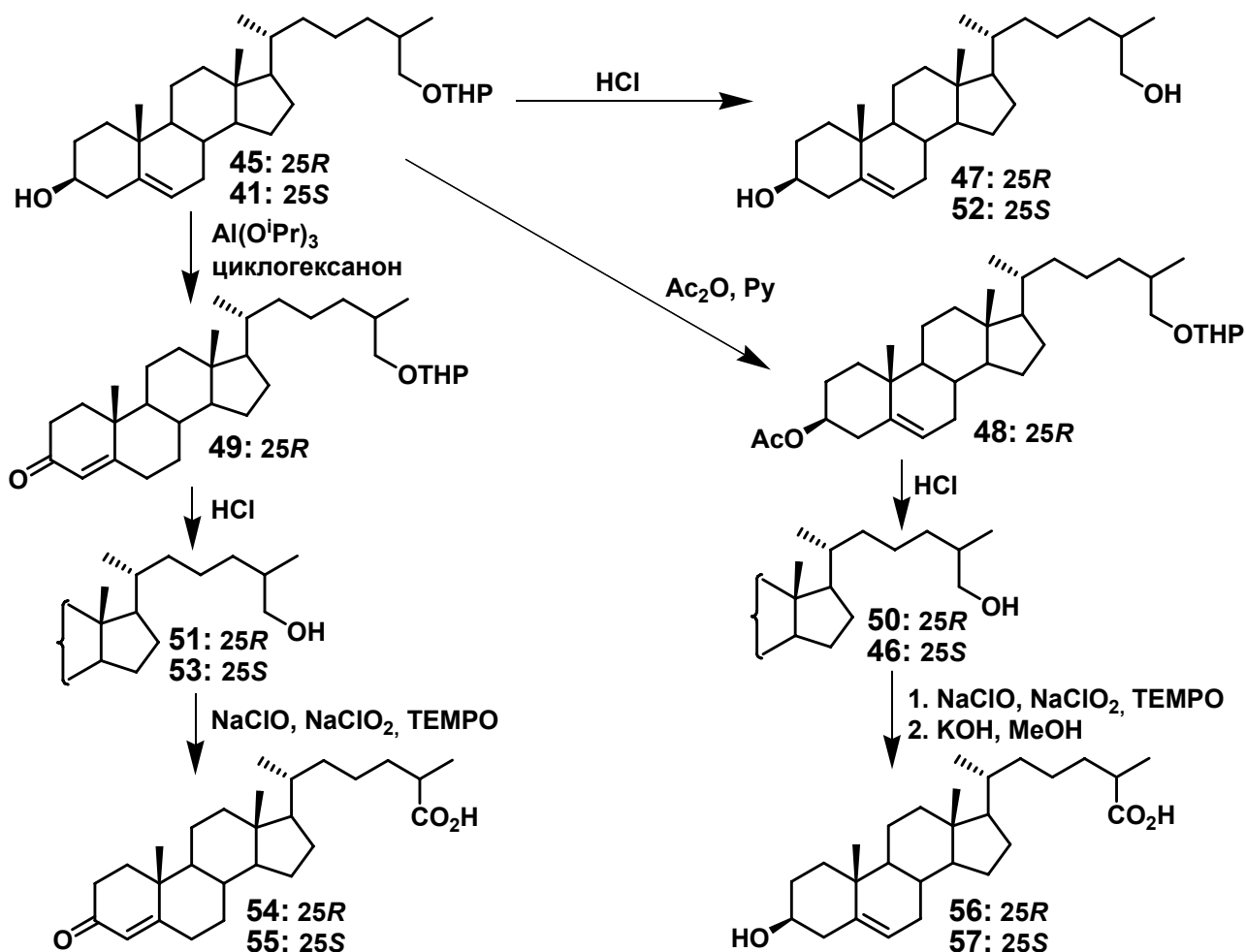


Рисунок 13

В результате проведения реакции окисления и последующего гидролиза промежуточного  $3\beta$ -ацетата была выделена целевая  $25(R)$ -холестеновая кислота **56**. Окисление по Оппенауэру спирта **45** дало енон **49**, последующий кислотный гидролиз которого привел к спирту **51**. Окисление последнего по схожей методике (как и в случае синтеза кислоты **56**) привело к кислоте **54**.

В случае использования вещества **41** в той же последовательности реакций был получен набор  $25(S)$ -производных **52**, **53**, **55** и **57**.

## 5 Синтез гаптенов brassinостероидов [6-A, 7-A]

Для проведения иммуноферментного анализа нужны библиотеки стероидных гаптенов, единственным методом получения которых является регио- и стереоселективный синтез соответствующих производных природных стероидов. В рамках создания таких библиотек нами были синтезированы производные brassinостероидов с линкером в терминальной части боковой цепи для связывания с белком.

В качестве исходного соединения для синтеза гаптенов нами был использован альдегид **58**, доступный в несколько стадий из 23,24-биснорхол-5-ен-22-овой кислоты. Присоединение к данному альдегиду винилмагнийбромида привело к образованию двух C<sub>22</sub>-эпимерных спиртов **59** и **60**. (рисунок 14).

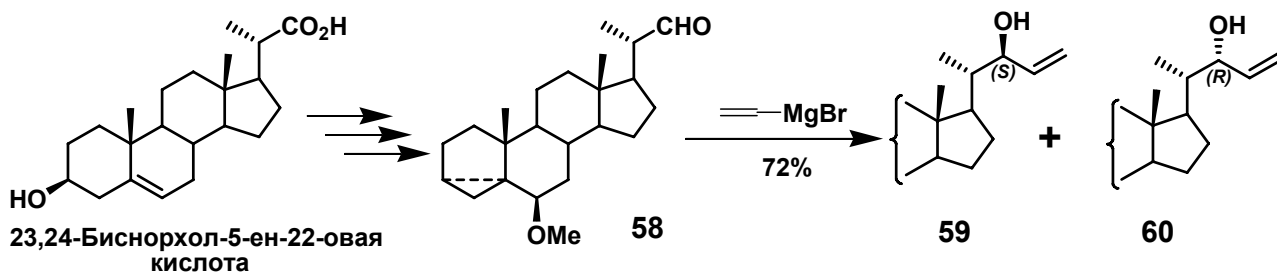


Рисунок 14

Для дальнейшего построения боковой цепи с помощью перегруппировки Кляйзена мы использовали спирт **59** (рисунок 15). Кипячение данного спирта в бензоле в присутствии триэтилортопропионата и пропионовой кислоты привело к образованию продукта перегруппировки Кляйзена, восстановление которого алюмогидридом лития и последующее ацетилирование дали ацетат **60** с общим выходом 94%.

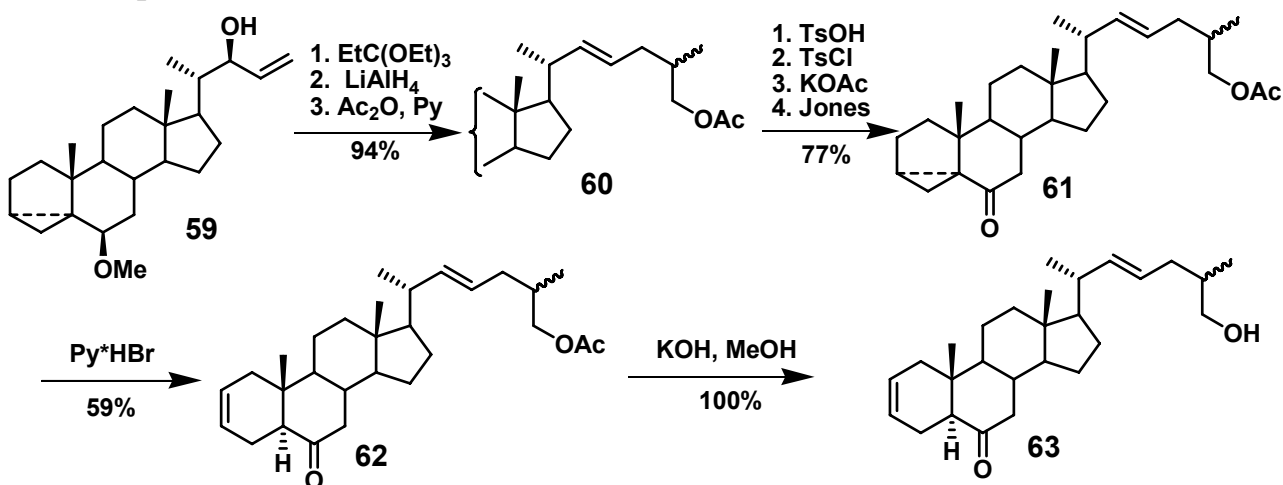


Рисунок 15

Кислотный гидролиз соединения **60** привел к 3 $\beta$ -гидрокси- $\Delta^5$ -стероиду, тозилрование которого дало соответствующий тозилат, который далее подвергали изо-стероидной перегруппировке. Продукт перегруппировки окисляли по Джонсу, что дало 6-кетон **61**. Одностадийный переход к  $\Delta^2$ -6-кетону **62** был достигнут в результате кипячения кетона **61** с пиридиный бромидом в диметилформамиде. Удаление ацетатной защитной группировки с помощью щелочного гидролиза привело к спирту **63**.

В результате окисления диена **63** коммерческой смесью AD-mix $\beta$ , содержащей *n*-хлорбензоат дигидрохинидина, был выделен один продукт – предположительно пентаол **64** (рисунок 16).

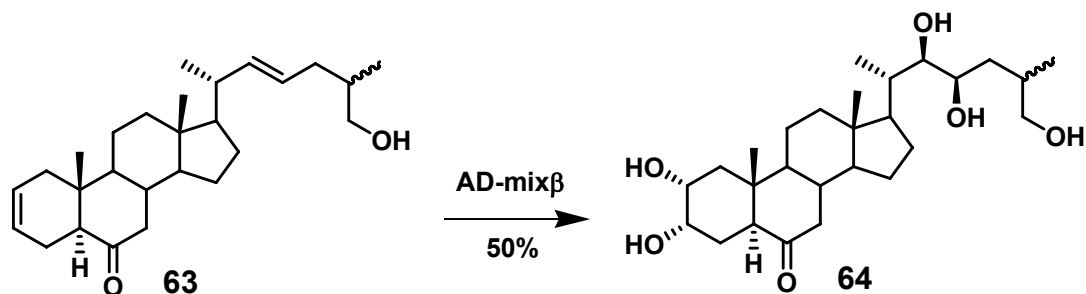


Рисунок 16

Так как полученный продукт представлял собой смесь диастереомеров по C<sub>25</sub>, в спектрах ЯМР ряд сигналов был удвоен. По этой причине доказать структуру пентаола **64** с помощью ЯМР было затруднительно. Для доказательства структуры мы решили превратить полученный продукт в 28-норкастастерон и 28-норбрассинолид, спектральные данные и температуры плавления которых описаны в литературе. Данные природные брассиностероиды также были бы полезны в качестве стандартов для проведения иммуноферментного анализа.

Для синтеза 28-норбрассинолида пентаол **64** обработали 2,2-диметоксипропаном в присутствии метанола и TsOH, что привело к диацетониду **65** (рисунок 17).

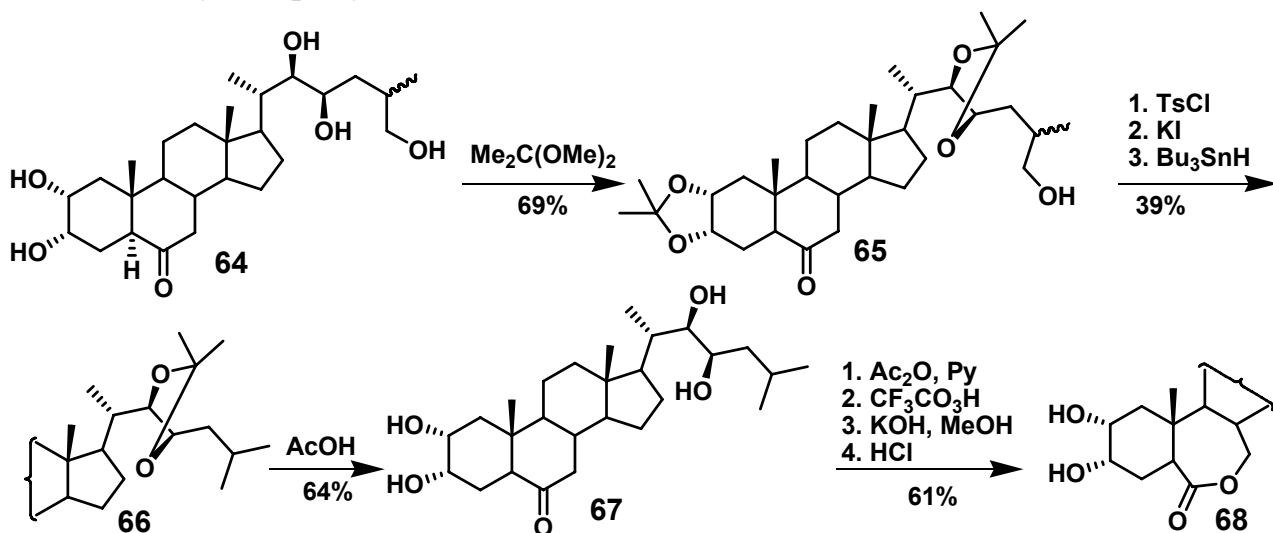


Рисунок 17

Обработка последнего TsCl в пиридине дала 26-тозилат, кипячение которого в ацетоне в присутствии иодида калия привело к 26-йодиду, который далее восстанавливали трибутилоловогидридом, что дало диацетонид 28-норкастастерона **66**. Удаление защитных изопропилиденовых группировок кипячением в разбавленной уксусной кислоте привело к 28-норкастастерону **67**. Сравнение спектральных данных

и температуры плавления данного соединения с литературными данными показало, что был получен именно 28-норкастастерон. Таким образом, мы доказали, что в результате дигидроксилирования по Шапрлесу диена **63** с выходом до 50% образуется именно 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22*R*,23*R*-изомер **64**.

Для синтеза 28-норбрасинолида 28-норкастастерон **67** последовательно ацетилировали, окисляли образующийся тетраацетат по Байеру-Виллигеру трифторнадуксусной кислотой, что дало лактон, который обрабатывали гидроокисью калия в метаноле и затем соляной кислотой. Сравнение спектральных данных и температуры плавления с литературными данными показало, что был получен именно 28-норбрасинолид **68**.

Для синтеза гаптенос с циклической частью 28-норкастастерона диацетонид **65** обработали янтарным ангидридом, что дало соответствующий гемисукцинат **69** (рисунок 18).

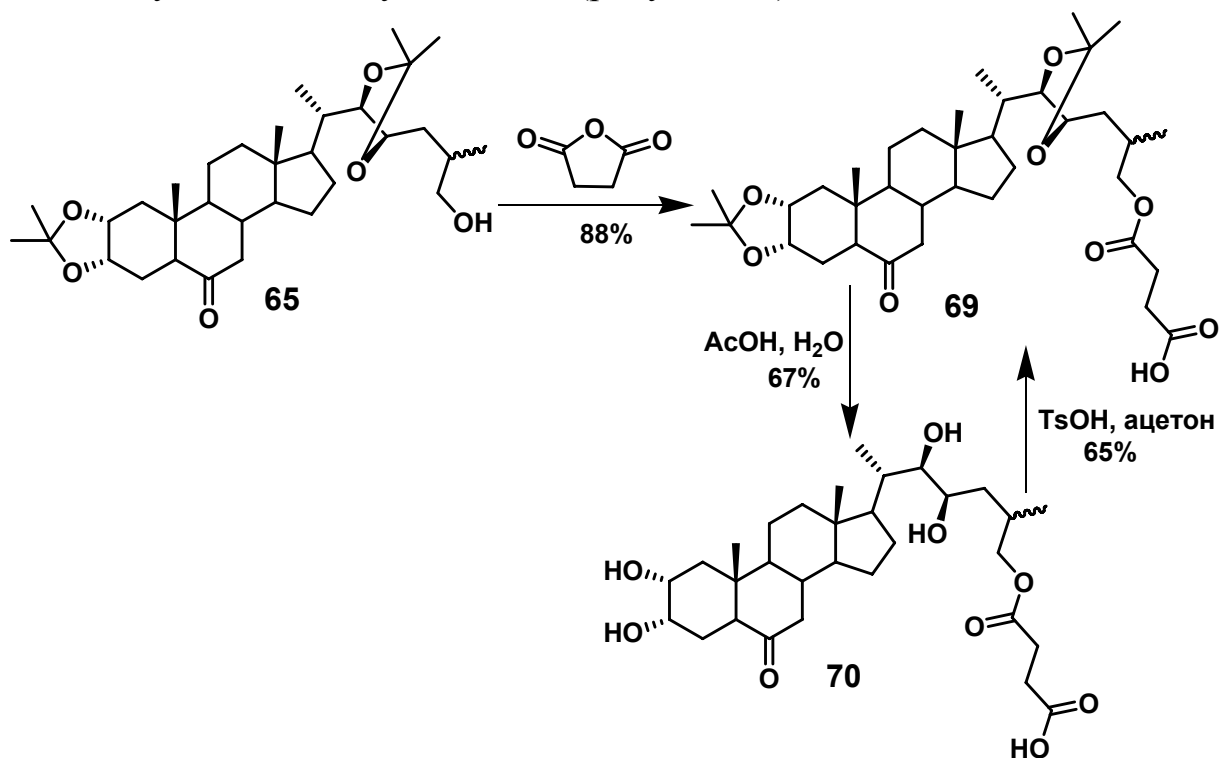


Рисунок 18

Удаление защитных изопропилиденовых группировок кипячением в разбавленной уксусной кислоте привело к гаптену **70**. Существовала вероятность, что при снятии защитных группировок в кислой среде остаток янтарной кислоты мог полностью мигрировать, например, к гидроксильной группе при C<sub>23</sub> или C<sub>22</sub>. Соединение **70** представляло собой смесь эпимеров по C<sub>25</sub>, из-за этого строго доказать к какому атому присоединен остаток янтарной кислоты по спектрам ЯМР было затруднительно. Для строгого доказательства структуры гаптен **70** обработали ацетоном в присутствии TsOH, что привело к диацетониду **69**. По спектрам ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C



выделенный продукт полностью совпадал с диацетонидом **69**, полученным из соединения **65**. Таким образом, была доказана структура гаптена **70**.

Для синтеза гаптенов с циклической частью 28-норбрасинолида пентаол **64** превратили в В-гомо-7-окса-лактон **71**. Региоселективная защита вторичных гидроксильных групп в виде ацетонидов была достигнута при обработке 2,2-диметоксипропаном в присутствии метанола и TsOH. Присоединение к диацетониду **72** остатка янтарной кислоты привело к гемисукцинату, удаление ацетонидных группировок которого кипячением в разбавленной уксусной кислоте привело к гаптену **73**.

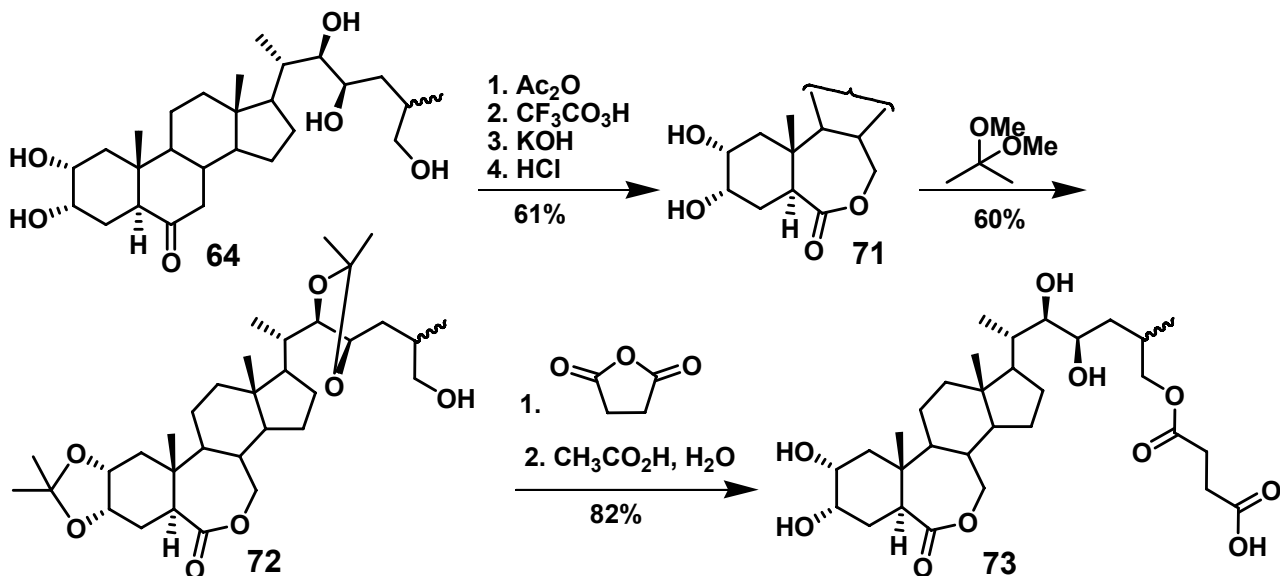


Рисунок 19

Хотя оба соединения **70** и **73** представляют собой смесь изомеров по  $C_{25}$ , любое из них, а также их смесь в равной степени пригодны для решения поставленной задачи – использования в качестве гаптенов для создания иммунохимических тест-систем для определения брасиностероидов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

- Метод синтеза церебростерина, основанный на использовании доступной и недорогой литохоловой кислоты [2-А].
- Синтез ряда новых 24-функционализированных стероидов, потенциальных агонистов LXR-рецепторов, сочетающих в себе структурные элементы окистеринов и литохоловой кислоты [1-А, 5-А].

- Новый синтез ряда 25(*R*)- и 25(*S*)-эпимеров 26-гидроксихолестерина, 26-холестеновой кислоты и соответствующих  $\Delta^4$ -3-кето производных в качестве инструмента для изучения особенностей биосинтеза желчных кислот [3-А, 4-А].
- Синтез brassinosteroidных гаптенов нового типа с циклической частью 28-норкастастерона и 28-норбрасинолида, содержащих линкер в терминальном фрагменте боковой цепи, для применения в иммунохимическом анализе [6-А, 7-А].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

Ряд 24(*S*)- и 24(*R*)-функционализированных стероидов представляет интерес для изучения зависимости «структура-функция» в качестве LXR агонистов, которые в настоящее время считаются перспективными для лечения и предупреждения атеросклероза.

Ряд 26-функционализированных стероидов предназначен для изучения биотрансформаций холестерина, другим их применением может быть исследование на активность в качестве LXR агонистов.

Предложенный новый метод определения абсолютной конфигурации C<sub>24</sub> положения 24-ацетокси- и 24,25-дигидроксистероидов холестанового ряда по ПМР-спектру значительно упрощает трудоемкую процедуру установления структуры 24-замещенных стероидов. Полученный результат позволяет ускорить и облегчить процедуру идентификации продуктов при исследовании асимметрических реакций и реагентов в стереоселективном синтезе стероидов и родственных соединений.

На основе полученных гаптенов brassinosteroidов предполагается получение иммунохимических наборов способных различать структурные особенности соединений данного класса в цикле В. Полученные наборы могут быть использованы, например, для осуществления контроля качества препарата ЭПИН, для экспрессного определения brassinosteroidов в растениях.

## **СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ**

### **Статьи:**

- 1-А Синтез аналогов (24*S*)-гидрокси- и (24*S*)-24,25-эпоксихолестерина – потенциальных агонистов ядерных рецепторов LXR / В.А. Хрипач, В.Н. Жабинский, А.В. Антончик, А.П. Антончик // Биоорг. химия. – 2006. – Том 32, № 6. – С. 651–659. (Synthesis of (24*S*)-hydroxy- and

(24*S*)-24,25-epoxycholesterol analogues, potential agonists on nuclear LXR receptors / V.A. Khripach, V.N. Zhabinskii, A.V. Antonchick, A.P. Antonchick // *Rus. J. Bioorg. Chem.* – 2006. – Vol. 32, № 6. – P. 586–594).

- 2-А Хрипач, В.А. Новый синтез церебростерина и его 24-эпимера из литохолевой кислоты / В.А. Хрипач, В.Н. Жабинский, А.В. Антончик // *Биоорг. химия.* – 2007. – Том 33, № 2. – С. 277–282. (Khripach, V.A. A new synthesis of cerebrosterol and its 24-epimer from lithocholic acid / V.A. Khripach, V.N. Zhabinskii, A.V. Antonchick // *Rus. J. Bioorg. Chem.* – 2007. – Vol. 33, № 2. – P. 258–262).
- 3-А Preparation of (25*R*)- and (25*S*)-26-functionalized steroids as tools for biosynthetic studies of cholic acids / V.A. Khripach, V.N. Zhabinskii, O.V. Konstantinova, N.B. Khripach, A.V. Antonchick, A.P. Antonchick, B. Schneider // *Steroids.* – 2005. – Vol. 70, №. 8. – P. 551–562.

#### **Тезисы:**

- 4-А Формирование стереохимии C25-углеродного центра в синтезе холестеновых кислот / О.В. Константинова, В.А. Хрипач, В.Н. Жабинский, Н.Б. Хрипач, А.В. Антончик // материалы V Молодежной науч. школы-конф. по орг. химии, Екатеринбург, 22-26 апреля 2002 г. / Инст. орг. синтеза Уро РАН; редкол.: Ю.Ю. Морженин (сост. сборника) [и др.]. – Екатеринбург, 2002. – С. 250.
- 5-А Синтез стероидов, функционализированных при C-24 / А.В. Антончик, В.А. Хрипач, В.Н. Жабинский, О.В. Константинова, Ю.Ю. Жибуртович, А.П. Антончик, Н.Б. Хрипач // *Химия, структура и функция биомолекул: материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 30-летию ИБОХ НАН Беларуси, Минск, 29-30 июня 2004 г.* // *Весці НАН Беларусі.* – 2004. – № 2. – С. 24.
- 6-А Антончик, А.В. Синтез производных 28-норкастастерона / А.В. Антончик, В.А. Хрипач, В.Н. Жабинский // материалы VII Молодежной науч. школы-конф. по орг. химии, Екатеринбург, 6-10 июня 2004 г. / Уральский гос. тех. ун-т; редкол.: Ю.Ю. Морженин (сост. сборника) [и др.]. – Екатеринбург, 2004. – С. 215.
- 7-А Антончик, А.В. Исследование асимметрического гидроксирования  $\Delta^{22}$ -связи 26-гидроксистероидов холестанового ряда // А.В. Антончик, В.Н. Жабинский, В.А. Хрипач // *Химия, структура и функция биомолекул: материалы II Междунар. науч. конф., Минск, 3-5 окт. 2006 г.* // Инст. биоорг. химии НАН Беларуси – Минск, 2006. – РР. 6.

## РЕЗЮМЕ

Антончик Алексей Владимирович

Стероидные С-22 и С-24 карбоновые кислоты в синтезе оксигенированных стероидов

Ключевые слова: стероиды, оксистерины, брассиностероиды, гаптены, оксигенированные стерины, асимметрическое гидроксирование, стереоселективный синтез.

Целью настоящей работы являлась разработка новых эффективных методов регио- и стереоселективного построения боковых цепей стероидов для последующего их использования в синтезе 24- и 26-функционализированных стероидов, принадлежащих к оксистеринам, холестеновым кислотам и брассиностероидам.

При выполнении данной работы использовались следующие методы исследования: ЯМР-, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия и аппаратура, необходимая для их выполнения.

Основные полученные результаты:

- Новый метод синтеза церебростерина, основанный на использовании литохолевой кислоты.
- Синтез ряда новых 24(*R*)- и 24(*S*)-функционализированных стероидов, потенциальных агонистов LXR-рецепторов.
- Эффективный синтез ряда 25(*R*)- и 25(*S*)-26-оксигенированных стероидов в качестве инструмента для детального изучения особенностей биосинтеза желчных кислот.
- Синтез брассиностероидных гаптеннов нового типа, содержащих линкер в терминальном фрагменте боковой цепи, для применения в иммунохимическом анализе.

Полученные в настоящей работе функционализированные стероиды в виде индивидуальных диастереомеров по С-24 и С-25 представляют интерес для изучения биотрансформаций холестерина, а также перспективны в качестве LXR-агонистов.

Новые брассиностероидные гаптены являются основой для разработки иммуноаналитических систем, способных различать структурные особенности соединений данного класса в цикле В. Указанные системы могут быть использованы, например, для осуществления контроля качества препарата ЭПИН, для экспрессного определения брассиностероидов в растениях.

## SUMMARY

Antonchick Alexey Vladimirovich

Steroidal C-22 and C-24 carboxylic acids in synthesis of oxygenated sterols

Key words: steroids, oxysterols, brassinosteroids, haptens, oxygenic sterols, asymmetric hydroxylation, stereoselective synthesis.

The development of new effective methods regio- and stereoselective construction of side chains of steroids for application in synthesis of 24- and 26-functionalised steroids related to oxysterols, cholestenic acids and brassinosteroids was the purpose of the present work.

NMR-, IR-spectroscopy, mass-spectrometry and equipment necessary for their performance were used in the present work as methods of research.

Summary of the main results:

- A new method for preparation of cerebrosterol using lithocholic acid as starting material.
- Synthesis of new 24(*R*)- and 24(*S*)-functionalised steroids as potential agonists of LXR.
- Effective synthesis of a set of 25(*R*)- and 25(*S*)-26-oxygenic steroids as tools for detailed studies of bile acid biosynthesis.
- Synthesis of new type brassinosteroid haptens, containing linker in a terminal part of side chain, for application in immunochemical analysis.

Individual C-24 and C-25 diastereomers of functionalised steroids described in the present work are interesting as biochemical tools for studies of cholesterol biotransformation and as potential LXR agonists.

New brassinosteroid haptens are considered to be key intermediates for development of immunochemical systems which could distinguish structural features of these compounds in the cycle B. Such analytical systems are expected to be used for quality control of agrochemicals (EPIN), for express determination of brassinosteroids in plants.

## РЭЗІЮМЭ

Антончык Аляксей Уладзіміравіч

Стэроідныя С-22 і С-24 карбонавыя кіслоты ў сінтэзе аксігеніраваных стэрынаў

Ключавыя словы: стэроіды, оксістэрыны, брасінастэроіды, гаптэны, аксігеніраваныя стэрыны, асіметрычнае гідракіліраванне, стэрэаселектыўны сінтэз.

Мэтай дадзенай работы з'яўлялася распрацоўка новых эфектыўных метадаў рэгія- і стэрэаселектыўнага пабудавання бакавых ланцугоў стэроідаў для наступнага іх выкарыстання для атрымання 24- і 26-функцыяналізаваных стэроідаў, вытворных оксістэрынаў, холестэнавых кіслот і брасінастэроідаў.

Пры выкананні дадзенай работы ўжываліся наступныя метады: ЯМР-, ІЧ-спектраскапія, масс-спектраметрыя і апаратура, неабходная для іх выканання.

Асноўныя атрыманыя вынікі:

- Новы метадаў сінтэза цэрэбрастэрына, заснаваны на выкарыстанні літахалевай кіслаты.
- Эфектыўны сінтэз шэрагу 24(*R*)- і 24(*S*)-функцыяналізаваных стэроідаў, патэнцыяльных аганістаў LXR-рэцэптараў.
- Новы сінтэз шэрагу 25(*R*)- і 25(*S*)-26-оксігеніраваных стэрынаў у якасці прылады для дэталёвага вывучэння асаблівасцей біясінтэзу жэлчных кіслот.
- Сінтэз брасінастэроідных гаптэнаў новага тыпу, якія утрымоўваюць лінкер у тэрмінальным фрагменце бакавога ланцуга, для ужывання ў імунахімічным аналізе.

Атрыманыя ў дадзенай рабоце функцыяналізаваныя стэроіды ў выглядзе асобных дэстаэрамераў па С-24 і С-25 прадстаўляюць цікаўнасць для вывучэння біятрансфармацый халестэрына, а таксама з'яўляюцца перспектыўнымі аб'ектамі ў якасці LXR-аганістаў.

Новыя брасінастэроідныя гаптэны з'яўляюцца асновай для распрацоўкі імунахімічных сістэм, якія маюць магчымасць адрозніваць структурныя асаблівасці злучэнняў дадзенага класу ў цыкле В. Гэтыя сістэмы могуць быць выкарыстаны, напрыклад, для ажыццяўлення кантроля якасці прэпарата ЭПН, для экспрэснага выяўлення брасінастэроідаў ў раслінах.

\*\*\*\*\*

Автор выражае глыбокую благодарность научным руководителям член-корреспонденту НАН Беларуси, д.х.н., профессору В.А. Хрипачу и д.х.н. В.Н. Жабинскому за постоянное внимание к проделанной работе и практическую помощь. Благодарю к.х.н. О.В. Константинову, к.х.н. Н.Б. Хрипач, к.х.н. А.П. Антончика, принявших участие в проведении совместных исследований и позволивших провести данную работу на необходимом уровне. Выражаю признательность сотрудникам Лаборатории химии стероидов за оказанное содействие и дружескую атмосферу.