

Р. П. Литвиновская, Н. В. Коваль, В. А. Хрипач

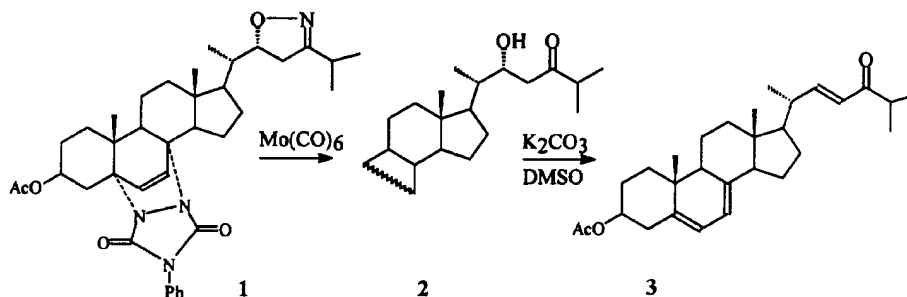
СИНТЕЗ МОДИФИЦИРОВАННЫХ
ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ВИТАМИНОВ D

На основе синтезированных ранее 20-изоксазолин-3'-ил- и 20-изоксазолин-5'-ил-стероидов получены модифицированные предшественники витаминов D с кислородсодержащими заместителями в различных положениях боковой цепи.

Ключевые слова: изоксазолинилстероиды, полиоксистероиды, провитамины D, расщепление изоксазолинов.

Бурное развитие исследований в области новых аналогов витаминов группы D обусловлено широким спектром биологического действия их активных метаболитов и исключительным значением для практической медицины аналогов с направленным характером действия [1]. Настоящая работа является частью наших исследований по синтезу аналогов витаминов группы D и их метаболитов и посвящена синтезу модифицированных предшественников витаминов D. Ранее мы сообщали о синтезе ряда провитаминов D, боковая цепь которых модифицирована изоксазолиновым циклом [2]. Представляло интерес изучить возможность применения указанных изоксазолинилстероидов в синтезе новых аналогов провитаминов D с открытой боковой цепью.

Расщепление изоксазолинового цикла под действием гексакарбонилмолибдена [3] исследовалось на примере полученного в работе [2] 20-изоксазолин-5'-илстероида **1**. Так, кипячение последнего с небольшим избытком гексакарбонилмолибдена в водном ацетонитриле в течение 30 мин с выходом более 70% приводит к образованию β -кетола **2**. Доказательством структуры последнего служит сравнение его спектральных характеристик с данными, полученными для аналогичных соединений с отличающимся строением колец A,B [4]. В спектре ЯМР ^1H соединения **2** сигналы метиленовых протонов при $\text{C}_{(23)}$ смещаются в более сильную область “метиленового горба” и практически не идентифицируются, а сигнал метинового протона при $\text{C}_{(22)}$ смещается в более сильное поле по отношению к циклическому предшественнику **1**. В ИК спектре усложняется форма сигнала в области валентных колебаний карбонильной группы ($1700\text{--}1745\text{ см}^{-1}$) и появляется полоса поглощения гидроксильной группы (3400 см^{-1}).

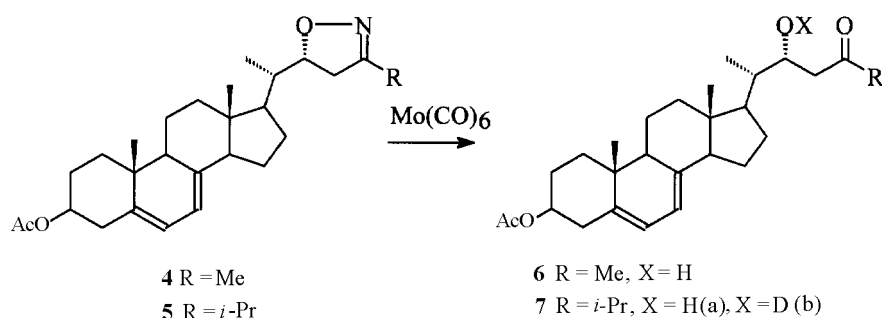


При восстановительном расщеплении изоксазолина **1** на никеле Ренея в

присутствии борной кислоты кроме β -кетона **2** наблюдается образование небольшого количества Δ^{22} -24-кетона — продукта дегидратации вторичной гидроксильной группы [4]. Дегидратация с элиминированием гидроксильной группы при $C_{(22)}$ отмечена также в условиях снятия триазолидиновой защиты под действием карбоната калия в кипящем диметилсульфоксиде. В качестве основного продукта при этом выделен 5,7,22-триен-24-кетон **3**, для которого характерно наличие в спектре ЯМР 1H сигналов четырех винильных протонов: два однопротонных мультиплета при 5.40 и 5.58 м. д. (протоны при $C_{(6)}$ и $C_{(7)}$), однопротонный дублет при 6.08 м. д. с константой спин-спинового взаимодействия (КССВ) $J = 16$ Гц и однопротонный дублет дублета при 6.70 м. д. с $J_1 = 16$ и $J_2 = 6$ Гц (протоны при $C_{(23)}$ и $C_{(22)}$). В ИК спектре появляется полоса валентных колебаний сопряженной карбонильной группы (1690 см^{-1}) и отсутствует полоса поглощения гидроксильной группы.

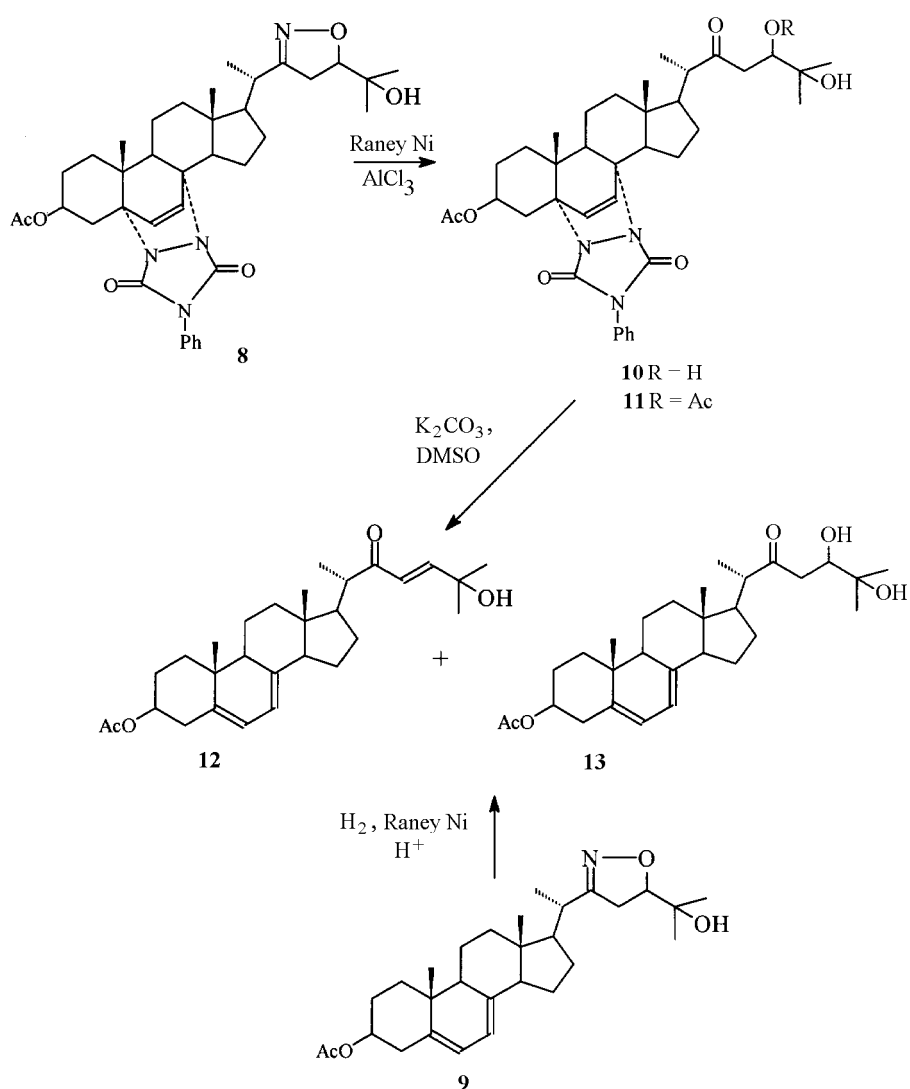
Рассмотренный путь представляет собой новый метод синтеза провитамина D с Δ^{22} -24-кетонной группировкой в боковой цепи, который описан в литературе как промежуточное соединение в синтезе активных аналогов витаминов группы D [5].

Аналоги провитаминов D ($\Delta^{5,7}$ -стероиды) с β -кетольной группировкой в боковой цепи были получены альтернативным путем исходя из $\Delta^{5,7}$ -стероидных изоксазолинов **4** и **5** [2]. Расщепление гетероцикла последних под действием гексакарбонилмолибдена приводит к 22-гидрокси-24-кетонам **6** и **7** соответственно. Спектры ЯМР 1H полученных соединений подобны спектру β -кетона **2** (наличие характерного для протона при $C_{(22)}$ однопротонного мультиплета в области 4.13—4.17 м. д.), однако два однопротонных мультиплета протонов при $C_{(6)}$ и $C_{(7)}$ смещены в более сильное поле (5.39 и 5.58 м. д.), что характерно для соединений с регенерированной 5,7-диеновой группировкой [2]. Смещен в более сильное поле относительно соединения с триазолидиновой защитой и сигнал протона при $C_{(3)}$ (4.71 м. д.). Отметим, что для обоих соединений наблюдается сигнал протона гидроксильной группы — уширенный однопротонный синглет при 3.00 м. д. для соединения **6** и при 3.10 м. д. для соединения **7a**. Идентификация этого сигнала проведена путем встряхивания образца **7a** с D_2O , в результате чего гидроксильные протоны замещаются на дейтерий, а резонансный сигнал гидроксильных протонов в спектре ЯМР 1H соединения **7b** отсутствует. В ИК спектрах соединений **6** и **7** появляются дополнительные сигналы в области валентных колебаний карбонильной группы при 1710 см^{-1} ($C_{(24)}$ -кетонная группа). В области $3450\text{—}3510\text{ см}^{-1}$ отмечены полосы валентных колебаний гидроксильных групп боковой цепи.



Синтез производных с $C_{(25)}$ -гидроксильной группой, характерной для витаминов группы D, осуществляли исходя из 20-изоксазолин-3'-илстероидов

8 и **9** [2]. Расщепление изоксазолинового цикла соединения **8** на никеле Ренея в присутствии хлористого алюминия [6] с выходом 40% привело к 24,25-дигидрокси-24-кетону **10**, для спектра ЯМР ^1H которого характерны наличие однопротонного мультиплета при 3.84 м. д., принадлежащего протону при $\text{C}_{(24)}$, и отсутствие сигналов метиленовых протонов гетероцикла. В ИК спектре присутствуют полосы поглощения гидроксильной группы (3450 см^{-1}) и усложняется область валентных колебаний карбонильной группы (уширенный сигнал карбонильной группы при 1705 см^{-1}). Ацелирование вторичной гидроксильной группы приводит к 3,24-диацетоксипроизводному **11**, в спектре ЯМР ^1H которого появляется второй трехпротонный сигнал ацетильной группы, а сигнал протона при $\text{C}_{(24)}$ смещается в более слабое поле (5.26 м. д.).



Регенерация 5,7-диеновой группировки с целью выхода к аналогам провитаминов D, как и в случае β -кетона **2**, приводит не только к удалению триазолидиновой защиты, но и к дегидратации $\text{C}_{(24)}$ -гидроксильной группы.

Образующийся при этом сопряженный кетон **12** характеризуется наличием четырех сигналов винильных протонов, два из которых (при 5.39 и 5.58 м. д.) принадлежат протонам при C₍₆₎ и C₍₇₎, а два других проявляются в виде двух однопротонных дублетов (при 6.40 и 6.84 м. д.) с КССВ $J = 16$ Гц, что говорит о *транс*-конфигурации образующейся Δ^{23} -связи. В ИК спектре присутствуют полосы поглощения карбонила ацетильной группы (1735 и 1250 см⁻¹), сопряженного кетона (1695 и 1630 см⁻¹) и гидроксильной группы (3450 см⁻¹).

Восстановительное расщепление на никеле Ренея изоксазолина **9** позволило получить 24,25-дигидрокси-22-кетон **13** с 5,7-диеновой группировкой. В качестве побочного продукта при этом выделен сопряженный кетон **12**.

Таким образом, исходя из 20-изоксазолинилстероидов получены модифицированные предшественники витаминов D, боковые цепи которых характеризуются наличием кислородсодержащих функций в положениях C₍₂₂₎, C₍₂₄₎ и C₍₂₅₎. Разработанный метод является простым и удобным, а также перспективным для синтеза других провитаминов и новых аналогов витаминов группы D при использовании изоксазолинилстероидов различного строения [7].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуры плавления определены на блоке Кофлера. ИК спектры записаны на приборе UR-20, спектры ЯМР ¹H — на спектрометре AC-200 Bruker с рабочей частотой 200 МГц в CDCl₃ с Me₄Si в качестве внутреннего стандарта. Масс-спектры записаны на приборе Shimadzu QP-5000 в системе прямого ввода с нагревом 20 °С/мин от 30 до 350 °С при энергии ионизирующего излучения 70 эВ. Ход реакций контролировали ТСХ на пластинках Merck (Kieselgel 60 F₂₅₄). Хроматографическое разделение проведено на силикагеле 40/100 мкм (Chemapol) или 40/60 мкм (Kieselgel 60, Merck).

Расщепление изоксазолинилстероидов. А. К раствору 0.04 ммоль изоксазолина в 5 мл ацетонитрила и 0.05 мл воды добавляют 0.044 ммоль гексакарбонилмолибдена. Реакционную смесь кипятят 30 мин, добавляют силикагель и упаривают растворитель, остаток хроматографируют на колонке с силикагелем (элюент толуол—этилацетат, 9 : 1).

Б. К раствору 0.28 ммоль изоксазолина в 18 мл смеси метанол—вода, 5 : 1, добавляют 1 г никеля Ренея, 1.125 ммоль безводного хлористого алюминия. Реакционную смесь перемешивают 2.5 ч, добавляют воду, экстрагируют этилацетатом, экстракты сушат безводным сульфатом натрия, фильтруют и упаривают растворитель. Остаток хроматографируют на колонке с силикагелем (элюент толуол—этилацетат, 2 : 1).

В. Никель Ренея марки W-2 насыщают водородом при перемешивании в этиловом спирте 2 ч. Затем добавляют 1 ммоль борной кислоты и 0.01 ммоль изоксазолинилстероида в этиловом спирте. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в атмосфере водорода 5 ч. После окончания реакции (контроль по ТСХ) катализатор отфильтровывают, растворитель упаривают. Остаток растворяют в этилацетате, промывают водой, сушат безводным сернокислым натрием. Очищают хроматографированием на силикагеле (элюент эфир—гексан, 2 : 7).

(22R)-3β-Ацетокси-22-гидрокси-5α,8α-(3',5'-диоксо-4'-фенил-1',2',4'-триаколидин)холест-6-ен-24-он (2). По методу А из 0,025 г изоксазолина **1** получают 0.018 г (72%) β-кетона **2** в виде масла. Спектр ЯМР ¹H: 0.85 (3H, с, 18-CH₃); 0.98 (3H, д, $J = 7$ Гц, 21-CH₃); 1.01 (3H, с, 19-CH₃); 1.14 (6H, д, $J = 7$ Гц, 26- и 27-CH₃); 2.02 (3H, с, OAc); 3.23 (1H, д, д, $J_1 = 15$, $J_2 = 6$ Гц, 9-H); 4.12 (1H, м, 22-H); 5.46 (1H, м, 3-H), 6.26 (1H, д, $J = 8$ Гц, 6-H); 6.42 (1H, д, $J = 8$ Гц, 7-H); 7.42 м. д. (5H, м, C₆H₅). ИК спектр (пленка): 3400, 1745, 1735, 1705 (уш.), 1250 см⁻¹. Масс-спектр (m/z): 456 [M-C₈H₅N₃O₂]⁺, 396 [M-C₈H₅N₃O₂-AcOH]⁺. Найдено, %: C 70.52; H 7.80; N 6.60. C₃₇H₄₉N₃O₆. Вычислено, %: C 70.34; H 7.82; N 6.65.

(22R)-3β-Ацетокси-22-гидрокси-26,27-динорхолест-5,7-диен-24-он (6). По методу А из 0,016 г изоксазолина **4** получают 0.005 г (31%) β-кетона **6** в виде масла. Спектр ЯМР ¹H: 0.65 (3H, с, 18-CH₃); 0.98 (3H, с, 19-CH₃); 1.00 (3H, д, $J = 7$ Гц, 21-CH₃); 2.05 (3H, с, OAc); 2.23 (3H, с,

25-CH₃); 3.00 (1H, уш. с, OH); 4.17 (1H, м, 22-H); 4.71 (1H, м, 3-H); 5.39 (1H, м, 6-H); 5.58 (1H, м, 7-H). ИК спектр (пленка): 3510, 1730, 1710, 1255 см⁻¹. Масс-спектр (*m/z*): 428 [M]⁺, 368 [M-AsOH]⁺. Найдено, %: С 75.50; Н 9.35. С₂₇H₄₀O₄. Вычислено, %: С 75.66; Н 9.41.

(22R)-3β-Ацетокси-22-гидроксихолест-5,7-диен-24-он (7a). По методу А из 0.014 г изоксазолина **5** получают 0.007 г (50%) β-кетона **7a** в виде масла. Спектр ЯМР ¹H: 0.65 (3H, с, 18-CH₃), 0.96 (3H, с, 19-CH₃), 0.98 (3H, д, *J* = 7 Гц, 21-CH₃), 1.13 (6H, д, *J* = 7 Гц, 26- и 27-CH₃); 2.04 (3H, с, OAc); 3.10 (1H, уш. с, OH); 4.13 (1H, м, 22-H); 4.71 (1H, м, 3-H); 5.39 и 5.58 (2H, два м, 6- и 7-H). ИК спектр (пленка): 3450, 1730, 1710, 1255 см⁻¹. Масс-спектр (*m/z*): 456 [M]⁺, 396 [M-AsOH]⁺. Найдено, %: С 76.32; Н 9.60. С₂₉H₄₄O₄. Вычислено, %: С 76.27; Н 9.71.

После встряхивания с D₂O получают дейтерированное соединение (**7b**). Спектр ЯМР ¹H: 0.65 (3H, с, 18-CH₃); 0.96 (3H, с, 19-CH₃); 0.98 (3H, д, *J* = 7 Гц, 21-CH₃); 1.13 (6H, д, *J* = 7 Гц, 26- и 27-CH₃); 2.04 (3H, с, OAc); 4.13 (1H, м, 22-H); 4.71 (1H, м, 3-H); 5.39 и 5.58 м. д. (2H, два м, 6- и 7-H).

(24ξ)-3β-Ацетокси-24,25-дигидрокси-5α,8α-(3',5'-диоксо-4'-фенил-1',2',4'-триаколидин)-холест-6-ен-22-он (10). По методу Б из 0.18 г изоксазолина **8** получают 0.072 г (40%) 24,25-дигидрокси-22-кетона **10** в виде масла. Спектр ЯМР ¹H: 0.84 (3H, с, 18-CH₃); 1.00 (3H, с, 19-CH₃); 1.19 и 1.21 (6H, два с, 26- и 27-CH₃); 1.24 (3H, д, *J* = 7 Гц, 21-CH₃); 2.04 (3H, с, OAc); 3.23 (1H, д, д, *J*₁ = 14, *J*₂ = 5 Гц, 9-H); 3.84 (1H, м, 24-H); 5.46 (1H, м, 3-H); 6.25 и 6.40 (2H, два д, *J* = 8 Гц, 6- и 7-H); 7.42 м. д. (5H, м, C₆H₅). ИК спектр (пленка): 3450, 1755, 1740, 1705 (уш.), 1250 см⁻¹. Масс-спектр (*m/z*): 472 [M-C₈H₅N₃O₂]⁺, 412 [M-C₈H₅N₃O₂-AsOH]⁺. Найдено, %: С 68.50; Н 7.53; N 6.43. С₃₇H₄₉N₃O₇. Вычислено, %: С 68.59. Н 7.62. N 6.49.

(24ξ)-3β-Ацетокси-24,25-дигидроксихолест-5,7-диен-22-он (13). По методу В из 0.047 г изоксазолина **9** получают 0.007 г (15%) ненасыщенного кетона **12** и 0.024 г (50%) диолкетона **13** в виде масла. Спектр ЯМР ¹H: 0.68 (3H, с, 18-CH₃); 1.00 (3H, с, 19-CH₃); 1.20 (6H, с, 26- и 27-CH₃); 1.24 (3H, д, *J* = 7 Гц, 21-CH₃); 2.05 (3H, с, OAc); 3.23 (1H, д, д, *J*₁ = 14, *J*₂ = 5 Гц, 9-H); 3.85 (1H, м, 24-H); 5.46 (1H, м, 3-H); 5.40 и 5.60 м. д. (2H, два д, *J* = 8 Гц, 6- и 7-H). ИК спектр (пленка): 3450, 1735, 1705, 1250 см⁻¹. Масс-спектр (*m/z*): 472 [M]⁺, 412 [M-AsOH]⁺, 352 [M-AsOH-H₂O]⁺. Найдено, %: С 73.52; Н 9.29. С₂₉H₄₄O₅. Вычислено, %: С 73.69; Н 9.38.

Снятие триаколидиновой защиты. К раствору 0.062 ммоль триаколидинового производного в 3.5 мл диметилсульфоксида добавляют 0.075 ммоль безводного карбоната калия. Реакционную смесь выдерживают 7 ч в токе азота при 120 °С, затем охлаждают до комнатной температуры, нейтрализуют 0.5% раствором соляной кислоты и экстрагируют этилацетатом. Экстракт промывают водой, сушат безводным сульфатом натрия, растворитель упаривают. Остаток хроматографируют на колонке с силикагелем (элюент толуол-этилацетат, 7 : 1).

(22ξ)-3β-Ацетоксихолест-5,7,22-триен-24-он (3). По указанной методике из 0.039 г β-кетона **2** получают 0.020 г (74%) 5,7,23-триен-22-кетона **3**. Т. пл. 133—136 °С (CH₂Cl₂-MeOH). Спектр ЯМР ¹H: 0.83 (3H, с, 18-CH₃); 1.00 (3H, с, 19-CH₃); 0.96 (3H, д, *J* = 7 Гц, 21-CH₃); 1.10 (6H, с, 26- и 27-CH₃); 2.05 (3H, с, OAc); 2.84 (3H, с, 25-H); 4.71 (1H, м, 3-H); 5.40 и 5.58 (2H, два м, 6- и 7-H); 6.08 (1H, д, *J* = 16 Гц, 23-H); 6.70 м. д. (1H, д, д, *J*₁ = 16, *J*₂ = 6 Гц, 22-H). ИК спектр (пленка): 1735, 1695, 1630, 1250 см⁻¹. Масс-спектр (*m/z*): 438 [M]⁺, 378 [M-AsOH]⁺. Найдено, %: С 79.42; Н 9.60. С₂₉H₄₂O₃. Вычислено, %: С 79.40; Н 9.65.

(22ξ)-3β-Ацетокси-25-гидроксихолест-5,7,23-триен-22-он (12). По указанной методике из 0.04 г триаколидинового производного **10** получают 0.021 г (75%) 5,7,23-триен-22-кетона **12**. Т. пл. 144—146 °С (CH₂Cl₂-MeOH). Спектр ЯМР ¹H: 0.66 (3H, с, 18-CH₃); 0.97 (3H, с, 19-CH₃); 1.18 (3H, д, *J* = 7 Гц, 21-CH₃); 1.40 (6H, с, 26- и 27-CH₃); 2.05 (3H, с, OAc); 4.71 (1H, м, 3-H); 5.39 и 5.58 (2H, два м, 6- и 7-H); 6.40 и 6.84 (2H, два д, *J* = 16 Гц, 23- и 24-H). ИК спектр (пленка): 3450, 1735, 1695, 1670, 1630, 1250 см⁻¹. Масс-спектр (*m/z*): 454 [M]⁺, 394 [M-AsOH]⁺. Найдено, %: С 76.42; Н 9.28. С₂₉H₄₂O₄. Вычислено, %: С 76.61; Н 9.31.

Ацетилирование вторичного спирта (24ξ)-3β,24-Дицетокси-25-гидрокси-5α,8α-(3',5'-диоксо-4'-фенил-1',2',4'-триаколидин)-холест-6-ен-22-он (11). В 0.5 мл пиридина растворяют 0.012 г (0.02 ммоль) стероидного спирта **10** и добавляют 0.25 мл уксусного ангидрида. Реакционную смесь оставляют на 18—20 ч, обрабатывают водой (10 мл), экстрагируют эфиром, промывают 0.5% раствором соляной кислоты до нейтральной реакции. Сушат над безводным сульфатом натрия, растворитель упаривают, остаток растворяют в небольшом количестве хлороформа и очищают, пропуская через слой силикагеля. Получают 0.010 г (92%) 24-ацетоксипроизводного **11** в виде масла. Спектр ЯМР ¹H: 0.84 (3H, с, 18-CH₃); 1.00 (3H, с, 19-CH₃); 1.20 (3H, д, *J* = 7 Гц, 21-CH₃); 1.23 (6H, д, *J* = 7 Гц, 26- и 27-CH₃); 2.04 и 2.05 (6H, два с, 2OAc); 3.24 (1H, д, д, *J*₁ = 14, *J*₂ = 5 Гц, 9-H); 5.26 (1H, м, 24-H); 5.46 (1H, м, 3-H); 6.25 и 6.40 (2H, два д, *J* = 8 Гц, 6- и 7-H); 7.42 м. д. (5H, м, C₆H₅). ИК спектр (пленка): 3450, 1755 (уш.), 1710 (уш.), 1250 см⁻¹. Масс-спектр (*m/z*): 689 [M]⁺, 514 [M-C₈H₅N₃O₂]⁺, 454 [M-C₈H₅N₃O₂-AsOH]⁺, 394 [M-C₈H₅N₃O₂-2AsOH]⁺. Найдено, %: С 67.76; Н 7.43; N 6.00. С₃₉H₅₁N₃O₈. Вычислено, %: С 67.90; Н 7.45; N 6.09.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G.-D. Zhu, W. H. Okamura, *Chem. Rev.*, **95**, 1877 (1995).
2. Р. П. Литвиновская, Н. В. Коваль, В. А. Хрипач, *ХГС*, № 2, 267 (1998).
3. P. G. Varadi, A. Varco, S. Benetti, S. Mangredini, D. S. Simoni, *Synthesis*, 276 (1987).
4. В. А. Хрипач, Р. П. Литвиновская, С. В. Драч, *ЖОрХ*, **29**, 717 (1993).
5. K. Katsumi, T. Orfno, Y. Ono, E. Maegski, K. Nashimura, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 970 (1987).
6. A. P. Kozikowski, M. Adamczyk, *Tetrah. Lett.*, **23**, 3123 (1982).
7. А. В. Барановский, Р. П. Литвиновская, В. А. Хрипач, *Успехи химии*, **62**, 704 (1993).

*Институт биоорганической химии
НАН Беларуси,
Минск 220141
e-mail: litvin@ns.iboch.ac.by*

Поступило в редакцию 20.11.98